

**УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**

Анкица М. Вујовић

**ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ
КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЦИТОКИНА
ОСОВИНЕ IL-23/IL-17 У НАПРЕДОВАЊУ
ФИБРОЗЕ ЈЕТРЕ КОД БОЛЕСНИКА СА
ХРОНИЧНИМ ХЕПАТИТИСОМ Ц И
НЕАЛКОХОЛНИМ
СТЕАТОХЕПАТИТИСОМ**

докторска дисертација

Београд, 2024

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE**

Ankica M. Vujović

**PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE IL-
23/IL-17 AXIS CYTOKIN
CONCENTRATIONS IN THE LIVER
FIBROSIS PROGRESSION IN PATIENTS
WITH CHRONIC HEPATITIS C AND NON-
ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2024

МЕНТОРИ

1. **Проф. др Ивана Милошевић**, ванредни професор
Универзитет у Београду, Медицински факултет
2. **Проф. др Марина Ђелић**, ванредни професор
Универзитет у Београду, Медицински факултет

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Милош Кораћ**, редовни професор
Универзитет у Београду, Медицински факултет
2. **Проф. др Душан Попадић**, редовни професор
Универзитет у Београду, Медицински факултет
3. **Проф. др Александар Клашња**, редовни професор
Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет

Датум одбране: _____

Захвалница

Драгој проф. др Марини Ђелић дугујем неизмерну захвалност на томе што ме је као студента, у току наставе из Медицинске физиологије, научила аналитичком начину размишљања, чиме је поставила темељ за надоградњу свих касније стечених знања, а уједно препознала мој истраживачки таленат и била главни мотив да закорачим у свет науке. У њему ме је, захваљујући својој стручности, као и несебичној и безусловној подршци, научила првим корацима, потом ме је кроз њега пажљиво водила и омогућила моје даље самостално и сигурно корачање. Сваки постављени циљ на том путу учинила је остваривим, па тако и све циљеве везане за процес стварања и израде ове докторске дисертације. Посебну захвалност јој дугујем за пријатељство, сву љубав и доброту коју ми је пружила у свим тешким животним тренуцима.

Драгој проф. др Ивани Милошевић дугујем неизмерну захвалност на несебичној подршци и помоћи у развоју идеје и реализацији ове докторске дисертације. Велику захвалност дугујем на несебично пруженом знању и подршци током мог клиничког развоја.

Велику захвалност дугујем драгој доц. др Анђелки Исаковић и проф. др Соњи Мисирлић-Денчић на свим корисним саветима и сугестијама, а посебно на несебичној помоћи и знању које ми је пружила у току лабораторијске обраде узорака на Институту за медицинску и клиничку биохемију.

Велика захвалност драгој доц. др Анђи Ђирковић на помоћи у току статистичке обраде и приказа резултата.

Захвалност дугујем кл. асистенту др Јовану Јулоском и др Милану Мирковићу на помоћи око прикупљања узорака и обраде података.

Уваженим члановима комисије, проф. др Милошу Кораћу, проф. др Душану Попадићу и проф. др Александру Клашњи дугујем велику захвалност на критичком мишљењу, корисним саветима и сугестијама које су употпуниле ову дисертацију.

Неизмерну захвалност дугујем мојој породици за сву љубав и подршку коју ми свакодневно пружају, посебно бескрајно хвала мојој Анђи на разумевању за све тренутке које због свог професионалног развоја нисам са њом провела.

Посвећено мојим родитељима...

Назив докторске дисертације

ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЦИТОКИНА ОСОВИНЕ IL-23/IL-17 У НАПРЕДОВАЊУ ФИБРОЗЕ ЈЕТРЕ КОД БОЛЕСНИКА СА ХРОНИЧНИМ ХЕПАТИТИСОМ Ц И НЕАЛКОХОЛНИМ СТЕАТОХЕПАТИТИСОМ

Сажетак

Преваленција хроничних болести јетре је у порасту последњих деценија, а водеће међу њима су хронични хепатитис Ц и неалкохолни стеатохепатитис.

Циљ овог истраживања био је да се утврди концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 код болесника са ХХЦ-ом, НАСХ-ом и здравих контрола, као и могућа корелација цитокина ове осовине на развој фиброзе јетре.

У истраживање је укључено укупно 216 испитаника који су подељени у три групе. Након пажљиве селекције у прву групу коју су чинили испитаници са ХХЦ-ом укључено је 100 испитаника (79 са несигнификантном (Ф0/Ф1/Ф2) фиброзом (ХХЦ-НСФ) и 21 са сигнификантном (Ф3/Ф4) фиброзом (ХХЦ-СФ)), у другу групу од укупно 56 укључено је 20 испитаника са НАСХ-ом (Ф0/Ф1/Ф2 стадијуми фиброзе), док је од 60 у контролну групу (КГ) укључено 28 испитаника. Свим испитаницима је узоркована периферна венска крв за потребе лабораторијских и имунолошких анализа, док је испитаницима са ХБЈ рађена и биопсија јетре ради патохистолошке потврде једне од две испитиване ХБЈ као и испитивања ткивног имунског одговора.

Пронађене су повишене концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 у плазми код НАСХ и ХХЦ групе испитаника у односу на КГ, као и више концентрације IL-17A и ниже концентрације IL-10 у плазми код ХХЦ испитаника у поређењу са НАСХ групом испитаника. Нижа концентрација IL-10 у плазми била је специфична за ХХЦ-НСФ, док је виша концентрација IL-17A у плазми била специфична за ХХЦ-СФ у поређењу са КГ. ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ групе су се разликовале од НАСХ групе према нижим концентрацијама IL-17A у плазми. Концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 у ткиву јетре у ХХЦ-НСФ били су значајно нижи у поређењу са НАСХ групом, без обзира на исти стадијум фиброзе јетре, док су концентрације IL-6 и IL-17A у ткиву показале разлику између ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ група (нижа концентрација у ХХЦ-НСФ у поређењу са ХХЦ-СФ групом). У ХХЦ-СФ и НАСХ ткивне концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 су биле значајно веће у поређењу са плазмом. У ХХЦ групи испитаника постоји негативна корелација између стадијума фиброзе јетре и концентрације IL-10 у плазми. Анализа дијагностичке тачности је показала да би плазма концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 могли бити могући маркери којима би се разликовали пацијенти са ХХЦ-ом од здравих испитаника. Плазма концентрација IL-23 може се сматрати могућим биомаркером пацијената са ХХЦ-НСФ у поређењу са контролама, док би IL-6 и IL-17A у плазми могли бити биомаркери инфламације код пацијената са ХХЦ-СФ у поређењу са контролама. Најсофистициранија разлика је била између ХХЦ-СФ и ХХЦ-НСФ групе у концентрацији IL-10 у плазми, те би овај цитокин могао бити користан биомаркер степена фиброзе јетре.

Кључне речи: Хронични хепатитис Ц, Неалкохолни стеатохепатитис, IL-23/IL-17 оса, цитокини, фиброза

Научна област: Медицина

Ужа научна област: Физиолошке науке

УДК број: _____

Title of doctoral dissertation

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF IL-23/IL-17 AXIS CYTOKIN CONCENTRATIONS IN THE PROGRESSION OF LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C AND NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

Abstract

The prevalence of chronic liver diseases has been increasing in recent decade. The leading ones being chronic hepatitis C and non-alcoholic steatohepatitis.

The aim of this research was to determine the concentration of cytokines of the IL-23/IL-17 axis in patients with CHC, NASH and healthy controls, as well as the possible correlation of cytokines of this axis to the development of liver fibrosis.

A total of 216 respondents who were divided into three groups were included in the research. After careful selection, 100 subjects (79 with insignificant (F0/F1/F2) fibrosis (CHC-NSF) and 21 with significant (F3/F4) fibrosis (CHC-SF) were included in the first group consisting of subjects with CHC. The second group out of a total of 56, included 20 subjects with NASH (F0/F1/F2 stages of fibrosis), while the control group (CG) out of 60, included 28. Peripheral venous blood was sampled from all subjects for the laboratory and immunological analyses, while subjects with CLD underwent a liver biopsy for pathohistological confirmation of one of the two examined CLD as well as tissue immune response tests.

Elevated concentrations of IL-6, IL-17A and IL-23 in plasma were found in NASH and CHC subjects compared to CG, as well as higher concentrations of IL-17A and lower concentrations of IL-10 in plasma in CHC subjects compared to NASH group. A lower concentration of IL-10 in plasma was specific for CHC-NSF, while a higher concentration of IL-17A in plasma was specific for CHC-SF compared to CG. The CHC-NSF and CHC-SF groups differed from the NASH group according to lower plasma IL-17A concentrations. The levels of IL-6, IL-17A and IL-23 in the liver tissue in CHC-NSF were significantly lower compared to the NASH group, regardless of the same stage of liver fibrosis, while the level of IL-6 and IL-17A in the tissue showed difference between CHC-NSF and CHC-SF groups (lower concentration in CHC-NSF compared to CHC-SF group). In CHC-SF and NASH tissue levels of IL-6, IL-17A and IL-23 were significantly higher compared to plasma. In the CHC group, there is a negative correlation between the stage of liver fibrosis and IL-10 concentration in plasma. Analysis of diagnostic accuracy showed that plasma concentrations of IL-6, IL-17A and IL-23 could be possible markers to distinguish patients with CHC from healthy controls. Plasma concentration of IL-23 can be considered as a possible biomarker of patients with CHC-NSF compared to controls, while IL-6 and IL-17-A in plasma could be biomarkers of inflammation in patients with CHC-SF compared to controls. The most sophisticated difference was between the CHC-SF and CHC-NSF groups in the level of IL-10 in plasma, and this cytokine could be a useful biomarker of the degree of liver fibrosis.

Key words: Chronic hepatitis C, Nonalcoholic steatohepatitis, IL-23/IL-17 axis, cytokines, fibrosis.

Scientific field: Medicine

Scientific subfield: Physiological sciences

UDC number: _____

Садржај

| | |
|---|----|
| 1. УВОД | 1 |
| 1.1 Физиологија јетре | 1 |
| 1.1.1 Функционална анатомија јетре | 1 |
| 1.1.2 Функције јетре..... | 3 |
| 1.1.2.1 Продукција жучи..... | 3 |
| 1.1.2.2 Складиштење и/или метаболизам витамина растворљивих у мастима | 4 |
| 1.1.2.3 Метаболизам лекова | 4 |
| 1.1.2.4 Метаболизам билирубина | 4 |
| 1.1.2.5 Друге функције..... | 5 |
| 1.2 Патофизиологија фиброзе јетре..... | 5 |
| 1.2.1 Историја фиброзе јетре..... | 5 |
| 1.2.2 Дефиниција и етиологија фиброзе јетре | 5 |
| 1.2.3 Молекуларни механизми настанка фиброзе јетре | 5 |
| 1.2.4 Генетски механизми настанка фиброзе јетре | 7 |
| 1.2.5 Реверзибилност фиброзе јетре | 8 |
| 1.2.6 Цироза јетре..... | 9 |
| 1.3 Хроничне болести јетре..... | 9 |
| 1.3.1 Дефиниција хроничне болести јетре..... | 9 |
| 1.3.2 Епидемиологија хроничних болести јетре | 9 |
| 1.3.3 Клиничка слика хроничних болести јетре..... | 9 |
| 1.3.4 Дијагностика хроничних болести јетре | 10 |
| 1.4 Хронични хепатитис Ц..... | 11 |
| 1.4.1 Дефиниција хроничног хепатитиса Ц..... | 11 |
| 1.4.2 Епидемиологија ХЦВ инфекције..... | 11 |
| 1.4.3 Патофизиологија хроничног хепатитиса Ц | 12 |
| 1.4.3.1 Урођени имунитет..... | 12 |
| 1.4.3.2 Адаптивни имунитет..... | 12 |
| 1.4.3.3 Улога Т регулаторних ћелија у адаптивном имунитету..... | 13 |
| 1.4.3.4 ХЦВ-индукована инсулинска резистенција | 14 |
| 1.4.3.5 Оксидативни стрес повезан са ХЦВ-ом..... | 14 |
| 1.4.3.6 Стеатоза изазвана ХЦВ-ом..... | 15 |
| 1.4.4 Клиничка слика хроничног хепатитиса Ц | 16 |
| 1.4.5 Дијагностика ХХЦ | 16 |
| 1.5 Неалкохолни стеатохепатитис | 17 |
| 1.5.1 Дефиниција неалкохолног стеатохепатитиса..... | 17 |
| 1.5.2 Епидемиологија НАМБЈ/НАСХ-а | 17 |
| 1.5.3 Патогенеза НАСХ-а | 18 |
| 1.5.3.1 Теорија „више паралелних погодака” | 18 |

| | | |
|---------|--|----|
| 1.5.3.2 | Имунолошки одговор у неалкохолном стеатохепатитису | 19 |
| 1.5.4 | Клиничка слика неалкохолног стеатохепатитиса | 21 |
| 1.5.5 | Дијагносика неалкохолног стеатохепатитиса | 21 |
| 1.6 | IL-23/IL-17 осовина у хроничном хепатитису Ц и неалкохолном стеатохепатитису .. | 21 |
| 2. | ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА | 24 |
| 3. | МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ | 26 |
| 3.1 | Испитаници | 27 |
| 3.1.1 | ХХЦ група испитаника | 27 |
| 3.1.2 | НАСХ група испитаника | 28 |
| 3.1.3 | Контролна група | 28 |
| 3.2 | Антропометријска мерења | 29 |
| 3.3 | Биохемијске анализе | 29 |
| 3.4 | Детекција антитела, броја копија и генотипа ХЦВ инфекције | 30 |
| 3.5 | Биопсија јетре и патохистолошка анализа ткива јетре | 30 |
| 3.6 | Мерење цитокина у плазми и ткиву (IL-6, IL-10, IL-17А и IL-23) | 32 |
| 3.7 | Статистичка анализа | 33 |
| 4. | РЕЗУЛТАТИ | 35 |
| 4.1 | Социо-демографске карактеристике испитаника | 36 |
| 4.1.1 | Дистрибуција испитаника према полу | 36 |
| 4.1.2 | Дистрибуција испитаника према старости | 36 |
| 4.1.3 | Присуство коморбидитета | 36 |
| 4.2 | Испитивање концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 | 37 |
| 4.2.1 | Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 | 37 |
| 4.2.1.1 | Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код ХХЦ, НАСХ и контролне групе | 37 |
| 4.2.1.2 | Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код подгрупе ХХЦ (ХХЦ-НСФ И ХХЦ-СФ), НАСХ и контролне групе | 38 |
| 4.2.2 | Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 | 40 |
| 4.2.2.1 | Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код ХХЦ и НАСХ групе | 40 |
| 4.2.2.2 | Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код подгрупа ХХЦ (ХХЦ-НСФ И ХХЦ-СФ) и НАСХ групе | 41 |
| 4.2.3 | Поређење плазма и ткивних концентрација цитокина код ХХЦ и НАСХ групе .. | 42 |
| 4.3 | Корелација концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе | 45 |
| 4.3.1 | Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре | 45 |
| 4.3.1.1 | Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код ХХЦ групе испитаника | 45 |
| 4.3.1.2 | Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код НАСХ групе испитаника | 46 |
| 4.3.2 | Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре | 47 |

| | | |
|---------|---|----|
| 4.3.2.1 | Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код ХХЦ групе испитаника..... | 47 |
| 4.3.2.2 | Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код НАСХ групе испитаника | 48 |
| 4.4 | Логистичка регресиона анализа..... | 49 |
| 4.5 | Анализа дијагностичке тачности..... | 50 |
| 4.6 | Карактеристике телесног састава испитаника | 52 |
| 4.6.1 | Карактеристике телесног састава ХХЦ, НАСХ и контролне групе..... | 52 |
| 4.6.2 | Карактеристике телесног састава испитаника подгрупе ХХЦ (ХХЦ-НСФ И ХХЦ-СФ), НАСХ и контролне групе..... | 53 |
| 4.7 | Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара | 54 |
| 4.7.1 | Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара код ХХЦ, НАСХ и контролне групе | 54 |
| 4.7.1.1 | Параметри крвне слике..... | 55 |
| 4.7.1.2 | Биохемијски параметри некрозе хепатоцита..... | 56 |
| 4.7.1.3 | Биохемијски параметри синтетске функције јетре | 57 |
| 4.7.1.4 | Туморкси маркери..... | 58 |
| 4.7.1.5 | Биохемијски параметри метаболичког синдрома | 58 |
| 4.7.1.6 | Параметри бубрежне функције..... | 60 |
| 4.7.1.7 | Биохемијски инфламаторни маркер..... | 60 |
| 4.7.1.8 | Остали биохемијски параметри..... | 61 |
| 4.7.2 | Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара код подгрупа ХХЦ (ХХЦ-НСФ И ХХЦ-СФ), НАСХ и контролне групе..... | 62 |
| 4.7.2.1 | Параметри крвне слике..... | 63 |
| 4.7.2.2 | Биохемијски параметри некрозе хепатоцита..... | 63 |
| 4.7.2.3 | Биохемијски параметри синтетске функције јетре | 64 |
| 4.7.2.4 | Туморкси маркери..... | 65 |
| 4.7.2.5 | Биохемијски параметри метаболичког синдрома | 66 |
| 4.7.2.6 | Параметри бубрежне функције..... | 67 |
| 4.7.2.7 | Биохемијски инфламаторни маркер..... | 68 |
| 4.7.2.8 | Остали биохемијски параметри..... | 68 |
| 4.8 | Корелација концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 са биохемијским параметрима | 69 |
| 5. | ДИСКУСИЈА..... | 71 |
| 6. | ЗАКЉУЧЦИ | 82 |
| 7. | ЛИТЕРАТУРА..... | 85 |

1. УВОД

1.1 Физиологија јетре

1.1.1 Функционална анатомија јетре

Јетра је највећи чврсти орган у људском телу. Тешка је око 1,200–1,500 грама и чини око 1/50 укупне телесне тежине одрасле особе. Разумевање сложене грађе јетре кључно је за разумевање процеса фиброзе јетре и њених последица. Јетра је инкапсулирана Глисоновом капсулом која се углавном састоји од везивног ткива (Abdel-Misih и сар. 2010). То је један од најпрокрвљенијих органа који у мировању прима око 25% минутног волумена срца. Има јединствено, двоструко снабдевање крвљу - нутритивно богату крв порталне вене из црева и слезине, која чини око 75% циркулације јетре и кисеоником богату крв хепатичне артерије из целијачног сплета, која чини око 25% циркулације. Артеријска и портална крв се на крају мешају унутар јетрених синусоида пре него што се улију у системску циркулацију преко хепатичног венског система (Kogure и сар. 2007). Синусоиди јетре, као што је напоменуто, чине комплекс васкуларних судова за транспорт крви од порте хепатис до доње шупље вене кроз јетру. У нормалним условима, притисци порталне вене и хепатичне артерије се изједначавају унутар синусоида, кисеоник и хранљиве материје из системске циркулације се испоручују паренхимским ћелијама и различито распоређују по ацинусима јетре, а метаболити настали у јетри се преносе у системску циркулацију. Унутар наведене Глисонове капсуле, јетра је подељена на десни и леви лобус, а даље унутар њих се налазе карактеристично распоређени хексагонални делови који се називају лобулуси и представљају функционалну јединицу грађе јетре. Лобулуси су међусобно такође одвојени везивним ткивом (Kruerunga и сар. 2019).

Микроскопски, грађа јетре се може поделити на три сегмента (Krishna и сар. 2013) (Слика 1):

1. Класични (хепатични) лобулуси
2. Портални лобулуси
3. Хепатични ацинуси.

Класични (хепатични) лобулуси се заснивају на протоку крви. Они су организовани као „шестоуглови“, са централном венном (ЦВ) у центру лобулуса и порталним трактом (ПТ) на његовој периферији (углови хексагона). ПТ се састоји од тријаде: хепатичне артерије (ХА), порталне вене (ПВ) и жучног канала (ЖК). Крв улази у јетру преко ПВ и ХА, одводи се у ЦВ и излази из јетре преко хепатичне вене у доњу шупљу вену.

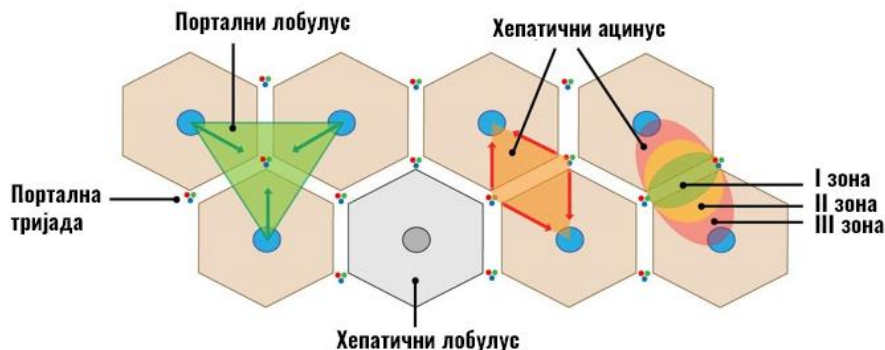
Портални лобулуси се заснивају на протоку жучи. Они су организовани као „троуглови“, са ПТ у центру и ЦВ на периферији лобулуса (углови троугла). Хепатоцити производе жуч која се дренира из жучних каналића следећим током: Херингови канали > жучни канали > интерлобуларни жучни канали > интрахепатични канали > десни и леви јетрени канали > заједнички јетрени канал > спаја се са цистичним каналом и формира заједнички жучни канал > дуоденум. Ток жучи иде супротним смером у односу на проток крви.

Хепатични ацинус се заснива на перфузији крви кроз паренхим јетре. Ацинус је организован као „дијамант“, са ПТ на угловима кратке осе и ЦВ на угловима дуге осе. Ацинус је произвољно подељен у три зоне на основу квалитета перфузије:

Зона I се сматра перипорталним регионом хепатоцита, најбоље је прокрвљена и прва се регенерише због близине крви богате хранљивим материјама и кисеоником. Због велике перфузије, ова зона игра велику улогу у оксидативном метаболизму учествујући у β-оксидацији, глуконеогенези, формирању жучи, синтези холестерола и катаболизму аминокиселина.

Зона II је дефинисана као периферални регион хепатоцита и налази се између зона I и III.

Зона III има најнижу перфузију због удаљености од порталне тријаде. Учествоје у детоксикацији, биотрансформацији лекова, кетогенези, гликолизи, липогенези, синтези гликогена и формирању глутамин.



Слика 1. Микроскопски приказ грађе јетре.

Шематски приказ грађе јетре са функционалним поделом на хепатични лобулу, портални лобулу и хепатични ацинус и приказ поделе хепатичног ацинуса на три зоне. Преузето и модификовано према: Josef и сар. 2020.

Остале кључне структуре су портални тракт, централна вена, хепатоцити, непаренхимске ћелије јетре, синусоиди и Дисеов простор (Shiota и сар. 2021).

Портални тракт се састоји од ХА, ПВ и ЖК. ХА и ПВ су обложене ендотелним ћелијама. ХА је мањег промера са дебелим зидовима, док је ПВ већег промера са танким зидовима. ЖК је отприлике исте величине као хепатична артерија и обложен је једним слојем кубоидног епитела. У близини ових структура могу се видети и лимфни канали. Структуре у порталном тракту су окружене влакнастим везивним ткивом. Иако је нормално видети неколико неправилно распоређених инфламаторних ћелија (нпр. лимфоцита), неутрофили или плазма ћелије не би требало да буду присутни у овим структурама.

Централна вена је обложена једним слојем ендотелних ћелија и одводи крв која долази из ПТ преко синусоида.

Хепатоцити су полигоналне ћелије (20-30 μm) са обилном грануларном ружичастом цитоплазмом. Претстављају паренхимске ћелије јетре које су најзаступљеније у овом органу, чинећи око 60% од укупног броја ћелија. Нормални хепатоцити могу показати бинуклеацију и плеоморфизам. Распоређени су у плоче дебљине једне ћелије. Плазма мембране хепатоцита су подељене на синусоидне, каналикуларне и апиколateralне делове. Синусоидни (базални) део садржи микровиле и окренут је ка Дисеовом простору, док каналикуларни (апикални) део формира жучни каналић. Апиколateralни део је између синусоидног и каналикуларног.

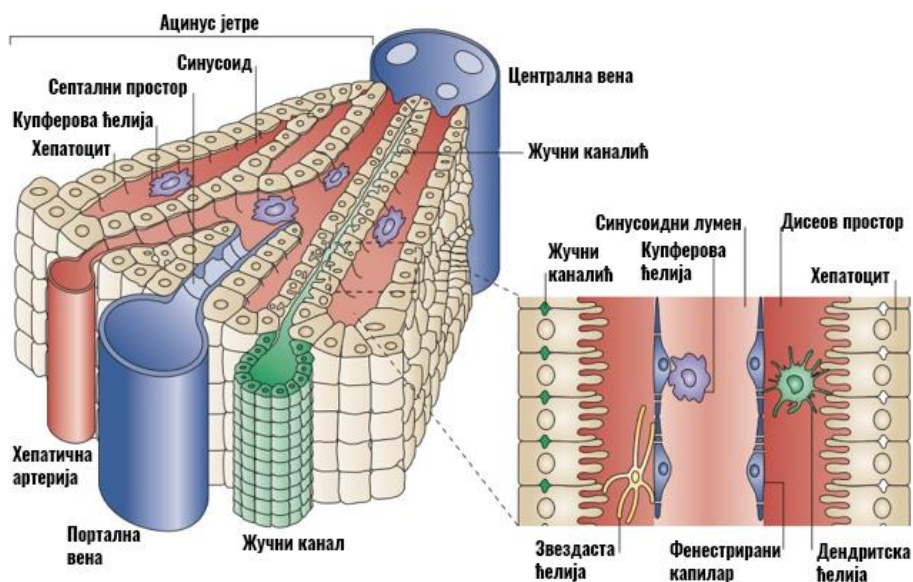
Непаренхимске ћелије јетре као што су Купферове ћелије (*Kupffer cells* енгл. КС), звездасте ћелије јетре (*Hepatic stellate cells* енгл. HSCs) и природне ћелије убице (*Natural killer* енгл. НК ћелије) налазе се унутар синусоида.

Синусоиди су простори обложени фенестрираним ендотелним ћелијама које транспортују крв од ПТ до ЦВ а које раздвајају хепатоците. Синусоиди садрже и ћелије имунског система.

Дисеов простор (ДП) је простор између ендотела и хепатоцита. Има улогу у транспорту лимфне течности до лимфних капиlara у порталном тракту и садржи ретикулинска влакна. ДП садржи КС и HSCs. КС имјају улогу филтрирања непотребног или

патолошког материјала из циркулације, док HSCs у нормалним условима служе као резервоар продуката масти као што је витамин А, а у одређеним условима могу послужити и као миофибробласти и помоћи у регенерацији јетре.

Интеракције између паренхимских и непаренхимских ћелија у овој пажљиво очуваној архитектури су кључне за ефикасно функционисање јетре (Слика 2).



Слика 2. Приказ односа најважнијих функционално-анатомских структура јетре.

Хепатоцити су одвојени синусоидима, који су обложени фенестрираним ендотелним ћелијама. Дисеов простор „лежи“ између ендотелних ћелија и хепатоцита. Преузето и модификовано према: Adams и сар. 2006.

1.1.2 Функције јетре

Јетра учествује у остваривању функције готово сваког органског система. У интеракцији је са ендокриним и гастроинтестиналним системом помажући у процесима варења и метаболизма. Јетра је место акумулације гвожђа, бакра, витамина растворљивих у мастима и место одржавања хомеостазе холестерола. Са аспекта хематолошког система, има важну улогу у производњи фактора коагулације и синтези протеина, док са аспекта респираторног система има важну улогу у метаболизму хемоглобина. Значајна је улога и у метаболизму полних хормона, производњи протеине носаче који су важни у развоју репродуктивног система. Коначно, остварује веома важну улогу у имунолошком систему посредством Купферових, дендритских (*Dendrit cells* енгл. DC) и звездастих ћелија (O'Brien и сар. 2015).

1.1.2.1 Продукција жучи

Жуч је важна течност која помаже у излучивању материја које се не излучују путем бубрега, као и у апсорпцији и варењу липида путем лучења жучних соли и киселина. Жуч производе хепатоцити и углавном се састоји од воде, електролита, жучних соли, жучних киселина, холестерола, жучног пигмента, билирубина и фосфолипида. Жуч се излучује из хепатоцита у жучне каналиће и на крају завршава у дванаестопалачном цреву или се складишти у жучној кеси. Након излучивања жучи у дуоденум, она пролази кроз ентерохепатичну циркулацију, где обавља свој посао у цревима, а компоненте жучи које се не излуче се рециклирају претварањем у жучне

киселине од стране цревних бактерија, те се у илеуму апсорбују и транспортују назад у јетру ради поновне употребе (Hoekstra и сар. 2013).

1.1.2.2 Складиштење и/или метаболизам витамина растворљивих у мастима

Већина витамина растворљивих у мастима стиже до јетре након цревне апсорпције у облику хиломикрона или липопротеина врло ниске густине (*Very low density cholesterol* енгл. VLDL). Јетра складишти и/или метаболише витамине растворљиве у мастима. Као што је раније речено, витамин А се складишти у HSCs. Може да се подвргне оксидацији у ретинол или се ретиноична киселина може конјуговати у глукуронид. Витамин Д3, без обзира на то да ли долази из коже, животињских или биљних производа, мора да прође 25-хидроксилацију помоћу хепатичног цитохрома *P-450* (CYP-450) система, који уз даљу хидроксилацију у бубрезима постиже свој функционални облик. Витамин Е се у јетри дистрибуира у облику α - и γ -токоферола. α -токоферол се интегрише са VLDL, липопротеин ниске густине (*Low density cholesterol* енгл. LDL) или липопротеин велике густине (*High density cholesterol* енгл. HDL), који се затим излучују у циркулацију. Витамин К се не складишти нити метаболише у јетри, али је његово присуство неопходно за γ -карбоксилацију фактора коагулације II, VII, протеина Ц и протеина С у јетри (Trefits и сар. 2017).

1.1.2.3 Метаболизам лекова

Следећа веома значајна функција јетре је метаболизам и/или детоксикација ксенобиотика. Јетра користи лизозоме за неке од ових супстанци, али главни пут метаболизма и детоксикације је биотрансформација. У јетри се врши трансформација ксенобиотика из липофилног у хидрофилни облик кроз фазу I и фазу II. Ове реакције се углавном одвијају у глатком ендоплазматском ретикулуму хепатоцита. Реакције фазе I врше оксидацију, редукују и хидролизу користећи првенствено фамилију ензима CYP-450 система. Реакције фазе II конјугују метаболите створене у фази I чинећи их хидрофилнијим за излучивање у крв или жуч. Транспорт метаболита произведених из ових реакција чини фазу III. Фактори као што су старост, пол, интеракције лекова, дијабетес мелитус, трудноћа, болести јетре или бубрега, могу негативно утицати на метаболизам лекова (Almazroo и сар. 2017).

1.1.2.4 Метаболизам билирубина

Јетра игра значајну улогу у разградњи хема. Хемолиза се одвија на више места у организму, укључујући јетру, слезину и коштану срж. Хем се конвертује у биливердин, који се затим редукује у некоњуговани билирубин. Некоњуговани билирубин везан за албумин се транспортује у јетру где се подвргава конјугацији преко система уридин-дифосфат глукуронил-трансферазе, како би постао хидрофилан. Коњуговани билирубин се затим излучује путем жучних каналића у жуч или се мале количине растварају у крви где се филтрира и излучује преко бубрега. Већина коњугованог билирубина улази у жуч и излучује се путем фецеса, док се део билирубина се претвара у уробилиноген који се транспортује путем урина или стеркобилиноген који се излучује путем фецеса (Stec и сар. 2016).

1.1.2.5 Друге функције

Јетра има значајну улогу у функцији тиреоидних хормона као место дејодинације тирозина у тријодтиронин. Управља синтезом скоро сваког протеина плазме укључујући албумине, глобулине, протеин Ц, протеин С, као и све факторе унутрашњег и спољашњег пута коагулације, осим фактора VIII.

1.2 Патофизиологија фиброзе јетре

1.2.1 Историја фиброзе јетре

Фиброза јетре настаје као последица хроничног оштећења јетре услед акумулације протеина екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ), што је карактеристика већине хроничних обољења јетре (Bataller и сар. 2005). Раније се сматрало да је фиброза јетре пасиван и иреверзибилан процес услед пропадања јетреног паренхима и његове замене ткивом које је богато колагеном (Schaffner и сар. 1968). Рани клинички извештаји још из 1970-их сугеришу да је узнапредовала фиброза јетре потенцијално реверзибилна (Soyer и сар. 1976). Међутим, фибрози јетре је пружено мало пажње све до 1980-их, када су HSCs, раније познате као липоцити, Ито ћелије или перисинусоидне ћелије, идентификоване као главне ћелије које производе колаген у јетри (Friedman сар. 1985). Овај тип ћелије, који је први описао вон Купфер 1876. године, током активације у току развоја хроничне болести јетре (ХБЈ) стиче фиброгена својстава (Geerts и сар. 2001). Поред HSCs, пре више од две деценије је показано да портални миофибробласти и ћелије порекла коштане сржи такође испољавају фиброгени потенцијал (Ramadori сар. 2004). Почетак фиброзе јетре је обично подмукао, а већина морбидитета и морталитета се јавља након развоја цирозе (Poynard и сар. 2001).

1.2.2 Дефиниција и етиологија фиброзе јетре

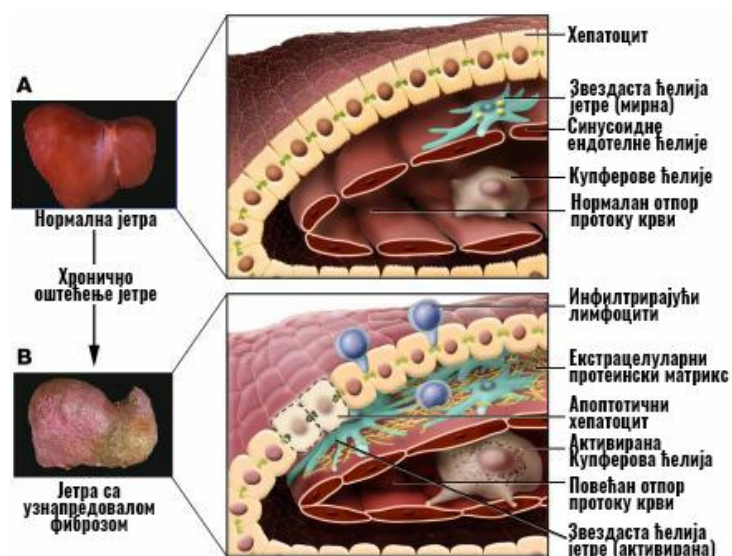
Фиброза јетре је прекомерна акумулација протеина ЕЦМ-а, укључујући колаген, која се јавља код већине ХБЈ. Представља промену структуре и функције ткива јетре настале услед понављаних оштећења хепатоцита. Може, сходно механизму оштећења настати на два начина: хепатотоксичним и холестатским оштећењем. Хепатотоксично оштећење је изазвано неким од спољашњих фактора као што су инфекције вирусом хепатитиса Б (ХБВ) и вирусом хепатитиса Ц (ХЦВ), алкохолни стеатохепатитис (АСХ) и неалкохолни стеатохепатитис (НАСХ). Холестатска повреда, коју карактерише редукован или опструисан проток жучи кроз јетру, узрокована је примарно неком од билијарних болести (Bataller и сар. 2005).

1.2.3 Молекуларни механизми настанка фиброзе јетре

Без обзира на етиологију, фиброзу јетре карактеришу исти молекуларни механизми као што су: смрт хепатоцита, хронична инфламација са ослобађањем цитокина, активација HSCs и поремећај епителне и ендотелне баријере (Dhar и сар. 2000). Наиме, после акутног оштећења јетре (нпр. вирусни хепатитис), паренхимске ћелије се регенеришу и замењују некротичне или апоптотичне хепатоците. Овај процес је повезан са инфламаторним одговором и ограниченом акумулацијом ЕЦМ-а. Међутим, ако оштећење јетре и даље траје, механизми регенерације ткива се исрпљују и процес прелази у фиброгенезу где се хепатоцити замењују обилним ЕЦМ-ом. Дистрибуција

овог влакнастог материјала зависи од порекла оштећења јетре. Код хроничног вирусног хепатитиса и хроничних холестатских поремећаја, фиброзно ткиво се иницијално налази око порталног тракта, док се код болести јетре изазване алкохолом и повећаном акумулацијом масти, налази у перичентралним и перисинусоидалним подручјима (Bataller и сар. 2005). Активација и пролиферација миофибробласта који су главни извор ЕЦМ-а, су од суштинског значаја у фиброгенези. Миофибробласти који производе ЕЦМ налазе се само у патолошки измењеној јетри, али не и у нормалним физиолошким условима. Главни извор миофибробласта су активирани звездасте ћелије јетре (aHSCs). Наиме, у здравој јетри, HSCs су локализоване у Дисеовом простору, где показују мирни фенотип (mHSCs). mHSCs складиште витамин А у виду липидних капљица и генерално су главна места депоновања витамина А у организму (Kisseleva и сар. 2006). У одговору на некроинфламацију долази до фиброгене стимулације посредством повећаних нивоа трансформишућег фактора раста бета (*Transforming growth factor beta* енгл. TGF β) из Купферових ћелија и фактора раста тромбоцита (*Platelet-derived growth factor* енгл. PDGF), те активације HSCs које пролиферишу и трансдиференцирају се у миофибробласте. Они мигрирају на место оштећења, где експримирају фиброгене попут виментина, колагена $\alpha 1$ (Colla1) и α актина глатких мишића (*α smooth muscle actin* енгл. α -SMA), стичући контрактилна, проинфламаторна и фиброгена својства (Forbes и сар. 2004). Прелазак HSCs у миофибробласте карактерише и смањена експресија липогених гена, као што је пероксизому-сличан активирани рецептор гама (*Like peroxisome proliferator-activated receptor gamma* енгл. PPAR γ), смањено складиштење витамина А, а са друге стране појачана експресија фиброгена, као што су поменути Colla1 и α -SMA. Сматра се да се витамин А ускладиштен у HSCs хидролизује, чиме аутокринно подстиче континуирану активацију HSCs. Међутим, и HSCs којима недостаје резервоар витамина А такође су сачувале способност активације у миофибробласте, што указује да метаболизам витамина А није неопходан за њихову активацију (Kluwe и сар. 2011). Идентификовано је неколико гена који су различито експримирани у mHSCs и aHSCs и могу се користити за њихово разликовање. Штавише, у поређењу са оригиналним mHSCs, aHSCs су више осетљиве на фиброгене стимулусе и могу ефикасније допринети прогресији фиброзе јетре (Sun и сар. 2015). Показало се да исцрпљивање HSCs значајно смањује оштећење јетре током процеса фиброзе у експерименталним моделима у којима је фиброза изазвана CC14 (угљентетрахлорид) и лигатуром жучних канала (Puche и сарс 2013). Иако су HSCs важне у фиброгенези, оне нису једини извор миофибробласта. И портални фибробласти и ћелије коштане сржи које производе колаген могу се диференцирати у миофибробласте, а важна је и чињеница да порекло миофибробласта у току фиброзе јетре узроковане различитим етиолошким факторима, може бити различито. Тако на експерименталном моделу фиброзе јетре изазване CC14, HSCs су главни извор миофибробласта (Iwaisako и сар. 2012). Међутим, код фиброзе јетре изазване лигатуром жучних путева, више од 70% миофибробласта најпре потиче од порталних фибробласта. Са даљом прогресијом холестатског оштећења јетре, HSCs се активирају и на крају постају највећи извор миофибробласта и у овом случају (Iwaisako и сар. 2014). Важна је и чињеница да је акумулација ЕЦМ-а резултат повећане синтезе а смањене деградације, јер током фиброзе долази до прекомерне експресије специфичних инхибитора матрикс-металопротеиназа (ММП) које у нормалним условима имају улогу у уклањању ЕЦМ (Слика 3). Поред великих промена у количини, током процеса фиброзе долази и до великих промена у саставу ЕЦМ-а. У узнапредовалим стадијумима, јетра садржи приближно шест пута више ЕЦМ-а него што је нормално, а његов састав укључује колаген типа I, III и IV, фибронектин, ундулин, еластин, ламинин, хијалуронан и протеогликане (Issa и сар. 2004).

Током фиброгенезе јетре одвија се и сложена интеракција између различитих типова јетрених ћелија. Хепатоцити су мета већине хепатотоксичних агенаса, укључујући вирусе хепатитиса, метаболите алкохола и жучне киселине. Оштећени хепатоцити ослобађају реактивни молекул кисеоника (*Reactive oxygen species* енгл. ROS) и фиброгене медијаторе који индукују регрутовање белих крвних зрнаца од стране инфламаторних ћелија. Инфламаторне ћелије, било лимфоцити или полиморфонуклеарне ћелије, на претходно описан начин активирају HSCs да луче колаген. Значајне су различите Т помоћне (*T-helper* енгл. Th) подгрупе ћелија, при чему је описано да је Th2 одговор повезан са активнијом фиброгенезом, као и да КС које играју главну улогу у инфламацији јетре тако што ослобађају ROS и цитокине (Коуата и сар. 2017). Активирани HSCs даље луче инфламаторне хемокине, експримирају молекуле ћелијске адхезије и модулирају активацију лимфоцита (Pellicoro и сар. 2014.). Стога долази до зачараног круга у коме инфламаторне и фиброгене ћелије стимулишу једна другу.



Слика 3. Промене у архитектури јетре повезане са узнапредовалом фиброзоом јетре. Након хроничног оштећења јетре, лимфоцити инфилтрирају јетрен паренхим. Поједини хепатоцити пролазе кроз процес апоптозе. Долази до активације Купферових ћелија које ослобађају фиброгене медијаторе. Звездасте ћелије јетре пролиферишу, те пролазе кроз фенотипску активацију, лучећи велике количине протеина екстрацелуларног матрикса. Синусоидне ендотелне ћелије губе своје фенестрације, а тоничка контракција звездастих ћелија изазива повећану отпорност протоку крви унутар синусоида јетре. Презето и модификовано према: *Battler и сар. 2005.*

1.2.4 Генетски механизми настанка фиброзе јетре

Недавне хумане епидемиолошке студије су идентификовале могуће полиморфизме у великом броју гена који утичу на прогресију фиброзе јетре. Ови генетски фактори могу да објасне широк спектар одговора на исти етиолошки агенс који се налази код пацијената са хроничним обољењима јетре. Полиморфизми у генима који кодирају имунорегулаторне протеине, проинфламаторне цитокине и фиброгене факторе могу утицати на прогресију болести код пацијената са алкохолом изазваном болешћу јетре, примарном билијарном цирозом или хроничним хепатитисом Ц (Хiao и сар. 2023). Опсежне студије које су користиле моделе фиброзе јетре код трансгених мишева откриле су кључне гене који посредују у фиброгенези јетре. Гени који регулишу хепатоцелуларну апоптозу и/или некрозу (нпр. *Bcl-xL*, *Fas*) утичу на степен оштећења

јетре и каснији фиброгени одговор (Chung и сар. 2016; Hemmann и сар. 2007), док гени који регулишу инфламаторни одговор на повреду, нпр. интерлеукини (*Interleukin* енгл. IL) IL-1 β , IL-6, IL-10 и IL-13, интерферон γ (IFN- γ) управо одређују фиброгени одговор на оштећење ткива (Roderfeld и сар. 2018). Даље, гени који посредују у генерисању ROS (нпр. *NADPH*-оксидаза) регулишу и инфламацију и таложeње ЕЦМ-а. За развој фиброзе потребни су фиброгени фактори раста (нпр. TGF- β 1), вазоактивне супстанце (ангиотензин II, норепинефрин) и адипокини (лептин и адипонектин) (Nabeshima и сар. 2006). Коначно, уклањање вишка колагена након престанка оштећења јетре регулисано је TGF- β 1 (Czochra и сар. 2006). Генетичке студије су истраживале улогу полиморфизма гена у прогресији фиброзе јетре код пацијената са хроничним обољењима јетре (Bataller и сар. 2003; Weber и сар. 2010). Код алкохолне болести јетре, активирани су гени који кодирају ензиме укључене у метаболизам алкохола и протеине укључене у развој хепатотоксичности. Полиморфизми гена који кодирају алкохол-дехидрогеназу, алдехид-дехидрогеназу и цитохром P450 су важни за индивидуалну осетљивост на алкохол, али њихова улога у напредовању болести јетре остаје контроверзна (Ng и сар. 2023). Код ХЦВ инфекције, генетске варијације су кључне за осетљивост на вирус, одговор на антивирусну терапију и прогресију болести јетре. Различите студије су показале да полиморфизми у генима укљученим у имуни одговор на ХЦВ инфекцију и фиброгеним агонистима (ангиотензиноген и TGF- β 1) утичу на прогресију фиброзе (Lee и сар. 2021; Lара и сар. 2019). Коначно, мало се зна о генетским факторима и HSC-у, а полиморфизми фиброгених медијатора као што су ангиотензиноген и TGF- β 1 могу бити повезани са тежим степеном оштећења јетре код ове болести (Eslam и сар. 2018). Цитокини који регулишу инфламаторни одговор на оштећење модулирају фиброгенезу јетре *in vivo* и *in vitro*. Моноцитни хемотактички протеин типа 1 и RANTES стимулишу фиброгенезу, док IL-10 и IFN- γ испољавају супротан ефекат. Међу факторима раста, чини се да је TGF- β 1 кључни медијатор у хуманој фиброгенези (Wang и сар. 2023). Такође је показано да су полиморфизми гена за одређене имунолошке маркере као што су IL-10 (-1082 GA + AA и AA), IL-18 (-137 GG), TGF- β 1 (-509 T) и IFN- γ (+874 T) у вези са повећаном осетљивошћу на цирозу код особа изложених хепатотоксичним агенсима различите етиологије (Xiao и сар. 2023).

1.2.5 Реверзибилност фиброзе јетре

За разлику од традиционалног аспекта да је цироза јетре иреверзибилан процес, последњих година све више студија је показало да је чак и унапредовала фиброза реверзибилна (Arthur и сар. 2002; Sun и сар. 2015; Wang и сар. 2020). Issa и сарадници су показали да у експериментално индукованој фибрози, престанак оштећења јетре доводи до регресије фиброзе (Issa и сар. 2004). У хуманој медицини, спонтана регресија фиброзе јетре може бити могућа након успешног лечења основне болести, што је показано код ХХЦ-а, ХХБ-а, хемохроматозе, Вилсонове болести, АБЈ и HSC-а (Arthur и сар. 2002; Issa и сар. 2004; Dixon и сар. 2004). Како се оштећење јетре смањује, активирани HSCs се уклањају из јетре процесом апоптозе или деактивације (Troeger и сар. 2012; Kisseleva и сар. 2012). Апоптоза активираних HSCs је регулисани процес који балансира унутрашње и спољашње интрацелуларне путеве, односно сигнале „за смрт“ наспрам сигнала „за преживљавање“. Много се мање зна о томе шта регулише деактивацију HSCs. Конкретно, нејасно је да ли је деактивација HSCs активан процес (тј. регулисана специфичним сигналним путевима), као што је сугерисала недавна студија која показује одложену резолуцију фиброзе код нокаут животиња (Liu и сар. 2020), или пасиван процес (тј. једноставно смањење регулације) истих сигналних путева који одржавају активирани HSCs. Такође је непознато да ли и како деактивирани HSCs

доприносе повећаној деградацији колагена, ћелијском старењу и смањеној инфламацији која прати регресију фиброзе, или како деактивирани HSCs врше експресију гена које контролишу исти транскрипциони фактори као и мHSCs. Упркос сазнањима о могућој регресији фиброзе јетре, и даље није познато да ли је овај благотворан ефекат повезан са побољшањем дугорочног клиничког исхода, укључујући смањење порталне хипертензије, као главне компликације узнапредовале фиброзе јетре.

1.2.6 Цироза јетре

Током процеса фиброзе описаним сложеним механизмима, на рачун функционалног, настаје ожиљно ткиво које болест у крајњем стадијуму уводи у завршну фазу, тј. цирозу јетре. Долази до нарушавања архитектонике ткива, формирања широко распрострањених нодула, васкуларне реорганизације, нео-ангиогенезе и депозиције ЕСМ-а. Код већине пацијената, прогресија до цирозе се дешава након периода од 15-20 година, а процес се често завшава канцерогенезом и развојем хепатоцелуларног карцинома (ХЦЦ) (Ramakrishna и сар. 2013).

1.3 Хроничне болести јетре

1.3.1 Дефиниција хроничне болести јетре

ХБЈ је прогресивно погоршање функција јетре трајања дужег од шест месеци, која укључује поремећај функције синтезе фактора коагулације, других протеина, детоксикације штетних продуката метаболизма и излучивања жучи (Sharma и сар. 2024). Патогенезу ХБЈ карактерише континуирани процес инфламације, деструкције и регенерације паренхима јетре, што за последицу има појаву фиброзе и у крајњем стадијуму, цирозе јетре. Спектар етиологије је широк за хронична обољења јетре. Укључује инфекције, метаболичке поремећаје, различите токсине, дуготрајну злоупотребу алкохола, аутоимуне и генетске болести.

1.3.2 Епидемиологија хроничних болести јетре

Данас се најчешћа хронична обољења јетре приписују неалкохолној масној болести јетре (НАМБЈ) / неалкохолном стеатохепатитису (НАСХ) (59%), затим вирусу хепатитиса Б (29%), вирусу хепатитиса Ц (9%) и алкохолној болести јетре (2%). Мање од 1% случајева узрокују остале болести јетре као што су примарни билијарни холангитис (ПБХ), примарни склерозирајући холангитис (ПСХ), недостатак α -1-антитрипсина, Вилсонова болест и аутоимун хепатитис. Водећи узрок ХБЈ до недавно су биле хроничне вирусне инфекције јетре, али су побољшане стратегије превенције у случају хепатитиса Б и лечења у случају хепатитиса Ц, довеле до промене трендова ХБЈ (Cheemarla и сар. 2021). Број случајева ХБЈ (укључујући било коју фазу болести) широм света процењује се на 1,5 милијарди (Moon и сар. 2020), изазивајући 1,32 милиона смртних случајева у 2017. години, отприлике две трећине међу мушкарцима и једну трећину међу женама (Cheemarla и сар. 2021). У 2019. години ХБЈ и цироза су били девети водећи узрок смрти код особа мушког пола (1,9%) (Heron, 2021).

1.3.3 Клиничка слика хроничних болести јетре

Хроничне болести јетре карактерише различит стадијум фиброзе јетре. Са клиничког аспекта, ово је најчешће асимптоматска болест све до тренутка док не уђе у

своју узрапредовалу фазу тешке фиброзе, тј. цирозе. Када говоримо о симптомима, у току фазе болести са нижим стадијумима фиброзе, ретко је могућа појава nelaгоде под десним ребарним луком, без других специфичних симптома, мада је болест у највећем проценту случајева асимптоматска и у осталим фазама, нерачунајући стадијум тешке фиброзе, те болесници клинички неприметно уђу у фазу узрапредовале болести. Природни ток цирозе карактерише најре такође асимптоматска фаза, која се назива „компензована цироза“, праћена прогресивном фазом у којој долази до развоја порталне хипертензије и/или дисфункције јетре, и назива се „декомпензована цироза“. Декомпензација се дефинише развојем асцитеса, порталним хипертензивним гастроинтестиналним крварењем, енцефалопатијом и жутицом. Последица цирозе јетре јесте поремећај производње фактора коагулације и других протеина, поремећај у детоксикацији штетних продуката метаболизма и поремећај варења. Такође, током процеса тешке фиброзе, венски проток у јетри се смањује, што изазива повишен притисак у портном систему. Портна хипертензија последично доводи до спленомегалије, изазивајући анемију и тромбоцитопенију, што све за последицу има појаву асцитеса, хепатореналног синдрома, варикозитета и хепатичне енцефалопатије. Медијана преживљавања пацијената са компензованом цирозом је 12 година, док је преживљавање декомпензованих пацијената мање од 2 године. Трансплантација јетре је једини третман који побољшава квалитет живота пацијената са декомпензованом цирозом јетре и утиче на морталитет (Shah и сар. 2017).

1.3.4 Дијагностика хроничних болести јетре

Без обзира на развијеност различитих неинвазивних процедура у дијагностици ХБЈ, биопсија јетре се и даље сматра златним стандардом за процену напредовања болести (Lai и сар. 2019). Хистолошки преглед је користан како у идентификацији основног узрока болести јетре тако и у процени некроинфламаторног степена оштећења и стадијума фиброзе. Фаза фиброзе се процењује коришћењем скала као што су *METAVIR* (стадијуми I–IV) и *Ishak* скор (стадијуми I–V), уз допунске системе скоровања одређених параметара у зависности од етиолошког узрочника, па се код хроничног хепатитиса Ц (ХХЦ) користи и процена активности вируса, док се код НАСХ-а поред стадијума фиброзе процењује и степен стеатозе, балонирајуће дегенерације и инфламације ткива. Биопсија јетре је инвазивна процедура у којој перзистира учесталост већих (2,4%) и мањих (9,5%) компликација, као и техничких неуспеха (0,91%) (Thomaides-Brears и сар. 2022). Такође, хистолошки преглед је склон варијацијама унутар и међу патолозима и не предвиђа прогресију болести. Због тога постоји потреба за поузданим, а једноставним и неинвазивним методама које процењују фиброзу јетре. Предложени су налази периферне крви који укључују рутинске лабораторијске тестове, као што су број тромбоцита, нивои серумских трансминаза, протромбинско време и серумски нивои протеина акутне фазе. Серумски нивои протеина који су директно повезани са фиброзом, такође се користе као маркери фиброзе јетре, укључујући N-терминални пропептид колагена типа III, хијалуронску киселину, ткивни инхибитор металопротеиназе типа 1. Иако су ови резултати корисни у откривању минималне и узрапредовале фиброзе (цирозе), нису ефикасни за разликовање средњих степена фиброзе (Fontana и сар. 2002). Фиброза јетре се може проценити и различитим неинвазивним радиолошким процедурама. Ултрасонографска еластографија, компјутерска томографија и магнетна резонанца могу открити промене паренхима јетре у умереној до тешкој фибрози (Lurie и сар. 2015).

Лабораторијска дијагностика ХБЈ је веома значајна у свакодневном клиничком раду. Најчешће се у нижим стадијумима фиброзе јетре дијагноза поставља на основу рутински

откривених повишених вредности серумских трансминаза, док се у каснијим фазама болести поред даљег пораста вредности серумских трансминаза јавља и њихова инверзија (однос АСТ/АЛТ<1), уз пораст вредности билирубина, а значајна је и лабораторијска процена снижене синтетске функције јетре, што се открива смањењем броја тромбоцита, вредности албумина и фибриногена и продужавањем протромбинског времена (Gupta и сар. 2014). У пракси се такође користе и различити скорови који процењују степен фиброзе. *APRI* скор означава индекс односа аспартат-аминотрансферазе (АСТ) и тромбоцита. Опсежно је испитиван код ХЦВ-а, где су недавне студије показале да је *APRI* био упоредив са другим, сложенијим установљеним панелима у искључивању узнапредовале, али не и умерене фиброзе (Usluer и сар. 2012). *FIB-4* је комбинација четири једноставне варијабле: АСТ-а, аланин-аминотрансферазе (АЛТ), старости болесника и броја тромбоцита. Користан је у процени фиброзе јетре у узнапредовалој фази и фази цирозе (Stibbe и сар. 2011).

Због сличних механизма патогенетског оштећења јетре, истраживање у склопу ове докторске дисертације обухватило је две етиолошки различите ХБЈ – хронични хепатитис Ц и неалкохолни стеатохепатитис.

1.4 Хронични хепатитис Ц

1.4.1 Дефиниција хроничног хепатитиса Ц

ХХЦ представља хроничну болест јетре изазвану хепатитис Ц вирусном инфекцијом, код које перзистирају позитивни серолошки и вирусолошки маркери инфекције дуже од шест месеци са или без појаве биохемијских и клиничких параметара инфекције (*European Association for the Study of the Liver* енгл. EASL, 2014).

1.4.2 Епидемиологија ХЦВ инфекције

ХЦВ је једноланчани рибонуклеински (РНК) флавивирус са седам познатих подтипова дефинисаних према различитим генотиповима - 1а, 1б, 2, 3, 4, 5 и 6 (Keikha и сар. 2020). Ови генотипови имају различиту преваленцију у различитим земљама. ХЦВ је био водећи узрок пост-трансфузионог не-А/не-Б хепатитиса стеченог у заједници све до његовог откривања 1989. године и увођења скрининга 1990. године. Покретање крвног скрининга на ХЦВ значајно је смањило његову инциденцију услед смањења броја случајева који инфекцију добију услед трансфузије крви. Међутим, и даље остаје значајан проблем код интравенских уживалаца психоактивних супстанци. Са клиничког аспекта, веома је важна чињеница да је ХЦВ инфекција најчешћи узрок трансплантације јетре код одраслих. Глобално је процењено да је 62 милиона људи било инфицирано ХЦВ инфекцијом (хронично заражено) током 2019. године. Иако се квалитет епидемиолошких података и процене преваленције увелико разликују између различитих земаља, најновије глобалне процене из 2019. године указују да је преваленција ХЦВ инфекције мања од 1,0% у већини развијених земаља, док је преваленција знатно већа у земљама у развоју и неразвијеним земљама (до 5,9% у Габону) (Yang и сар. 2023). Преваленција анти-ХЦВ позитивности у општој популацији Србије износи 1,13%, са најважнијим предиктивним факторима ризика као што су интравенска употреба дрога, трансфузија крви, инвазивни стоматолошки третман и низак ниво образовања (Mitrović и сар. 2018).

1.4.3 Патофизиологија хроничног хепатитиса Ц

Патогенеза фиброзе јетре изазване ХЦВ-ом је непотпуно схваћена због недостатка модела перзистентне ХЦВ инфекције на глодарима. ХЦВ је нецитопатогени вирус који улази у ћелију јетре и подлеже репликацији истовремено изазивајући ћелијску некрозу помоћу неколико механизма, укључујући имунски посредовану цитолizu поред разних других феномена као што су стеатоза јетре, оксидативни стрес и инсулинска резистенција (Irshad и сар. 2006). Протеини/пептиди кодирани различитим субгеномским регионима ХЦВ генома утичу на горе наведени механизам, и стога имају значајну улогу у патогенези ХЦВ-а. ХЦВ је вирус који се преноси крвљу и доспева у јетру путем циркулације. Молекул CD81 на површини хепатоцита претставља вирусни рецептор, за који се везује вирусна честица преко протеина омотача вируса (E2) који олакшава њен улазак у ћелију јетре (Zeisel и сар. 2013). ХЦВ такође може да се веже и за неколико других молекула као што су рецептор за липопротеин ниске густине и интерћелијски адхезиони молекул специфичан за дендритске ћелије (Lozach и сар. 2003). E2 је најваријабилнији вирусни протеин, и стога се наводи да су његове интеракције са CD81 молекулом специфичне за сој вируса. Поседује два хипер-варијабилна региона, ХВР-1 и ХВР-2 који пролазе кроз честе мутације, вероватно стимулисане неутралишућим антителима и ХЦВ-специфичним цитотоксичним Т лимфоцима (ЦТЛ). ХЦВ такође има високу стопу мутација и због недостатка способности корекције РНК-зависне-РНК-полимеразе (Roccasecca и сар. 2003). Стога се сматра да овај вирус постоји у неколико различитих, али блиско повезаних врста унутар заражене особе које се називају ХЦВ квазиврсте (Irshad и сар. 2013).

1.4.3.1 Урођени имунитет

Урођени имунитет представља прву линију одбране против ХЦВ инфекције. Током ХЦВ инфекције, долази до производње типа 1 IFN-а који индукује ћелије да се одупру инфекцији, спречавајући репликацију вируса, промовишући адаптивни имунитет и активирајући NK, DC и KC (Saito и сар. 2008). Урођени имунитет се током ХЦВ инфекције покреће кроз препознавање вирусних макромолекуларних стимулуса, познатих као молекуларни обрасци повезани са патогеном (*Pathogen-Associated Molecular Patterns* енгл. PAMPs), од стране ћелијских рецептора за препознавање патогена. Долази до претходно описаног лучења IFN-а, активације NK, DC и KC (Liu и сар. 2010). ХЦВ може ефикасно да избегне урођени имунитет што доводи до развоја вирусне инфекције јер услед активације погрешних сигналних путева, ћелије више не производе IFN. Ова појава је разлог развоја хроничитета код већине пацијената заражених ХЦВ-ом. NK ћелије, главни део урођеног имунитета, играју важну улогу у искорењивању ХЦВ-а. Јетра је обогаћена NK ћелијама које се обично активирају у раној фази ХЦВ инфекције. Активирани NK ћелије регрутују Т ћелије специфичне за вирус и индукују антивирусни имунитет у ткиву јетре. Оне такође елиминишу хепатоците инфициране вирусом директно цитолитичким механизмима или индиректно лучењем цитокина укључујући IFN- γ и TNF- α (Golden-Mason и сар. 2013).

1.4.3.2 Адаптивни имунитет

Након уласка и репликације вируса унутар ћелија јетре, вирусни молекули се транспортују у ендоплазматски ретикулум и повезују се са молекулима главног комплекса хистокомпатибилности (*Major histocompatibility complex* енгл. MHC), који се потом транспортују до површине ћелије. Већина ЦТЛ-а су CD8⁺ и препознају антигене

представљене на МНС молекулима класе II. Ови ЦТЛ елиминишу ћелије инфициране вирусом. Међутим, наводи се да ХЦВ има развијене механизме за избегавање препознавања од стране ЦТЛ-а који смањују експресију МНС молекула или спречавају да се вирусни пептид представи на површини ћелије. Може се закључити да ЦТЛ играју важну улогу у ерадикацији вируса и имунопатогенези ХЦВ инфекције (Neumann-Haefelin и сар. 2013). Други механизам јесте уништавање хепатоцита инфицираних ХЦВ-ом ослобађањем фрагмената вируса које преузимају мијелоидне DC. Ове ћелије потом мигрирају у дренажне лимфне чворове и експримирају ХЦВ антигене на молекулима HLA класе II. Након тога, повећавају експресију ко-стимулаторних молекула (CD80, CD86) који активирају антиген-специфичне Th ћелије (Malta и сар. 2013). Ове активирани Th ћелије промовишу сазревање DC и повећавају експресију CD40 лиганда и фактор туморске некрозе алфа (*Tumor necrosis factor* енгл. TNF). Зреле DC индукују активацију Т-ћелија прекомерном експресијом њихових површинских молекула. Они такође повећавају капацитет презентације антигена преко HLA-I и производњу цитокина који стимулишу активацију Т-ћелија. Показало се да IL-12 игра важну улогу у стимулацији производње IFN- γ из активираних Т ћелија, и на тај начин индукује развој имуног одговора типа 1 (Th1) карактеристичног за активацију ЦТЛ (Jaime-Ramirez и сар. 2011; Neuffer и сар. 1996). Ефекторски ЦТЛ ослобађају перфорин, гранзим и TNF- α , или експримирају Fas лиганд, чиме иницирају директну везу са инфицираним хепатоцитима (Zhang и сар. 2013). Хепатоцити инфицирани ХЦВ-ом и DC производе тип I IFN-а који сузбија репликацију вируса индукујући ензиме као што су 2'-5' олигоаденилат синтетаза и РНК зависна протеин киназа у хепатоцитима. Када ХЦВ-специфични ЦТЛ одговори нису довољно јаки да искорене вирус, настаје хронична инфекција (Liu и сар. 2001). Успешно уклањање ХЦВ-а током акутне ХЦВ инфекције зависи од јачине и постојаности Th1 имуног одговора (Fahey и сар. 2013). Пацијенти који су развили јак Th1 одговор показали су ефикасно уклањање вируса и самоограничен ток болести. Насупрот томе, они којима је недостајала производња IL-12 и IFN- γ развијали су хроничну перзистентност вируса. Оштећена функција DC-а, као ћелија које представљају антиген при покретању имуног одговора, може бити одговорна и за његово неадекватно покретање. У ранијим студијама је откривено да протеини језгра вируса, укључујући E1, инхибирају сазревање DC (Sarobe и сар. 2003). ЦТЛ активирани вирусним протеинима не само да убијају ћелије инфициране вирусом, већ и доприносе контроли вируса нецитолитичким механизмом тако што луче цитокине, нпр. IFN- γ , IFN- α/β и TNF- α .

1.4.3.3 Улога Т регулаторних ћелија у адаптивном имунитету

Претходне студије су истакле могућу улогу различитих регулаторних популација Т ћелија у перзистентности ХЦВ инфекције. Ове студије су показале већу учесталост CD4+CD25+ регулаторних Т ћелија у крви и CD4+FoxP3+ Т ћелија у јетри хронично ХЦВ инфицираних пацијената (Sugimoto и сар. 2003; Ward и сар. 2007). CD4+CD25+ регулаторне Т ћелије потискују ХЦВ специфичне CD8+ Т ћелије уз смањење секреције IFN- γ (Volacchi и сар. 2006). Након стимулације ХЦВ антигеном, регулаторне Т ћелије (*T regulatory lymphocytes* енгл. Treg) луче IL-10 и TGF- β који заједно потискују вирус специфични Т ћелијски одговор (Haseda и сар. 2013). CD4+CD25+ Treg ћелије хронично инфицираних ХЦВ пацијената показале су већу супресивну активност против ХЦВ специфичних CD8+ Т ћелија у поређењу са Treg ћелијама изолованим код пацијената са акутном ХЦВ инфекцијом. Међутим, супресивни ефекат примећен код пацијената који су успешно уклонили вирус и даље је био значајан (Missale и сар. 2004). ХЦВ-специфичне CD8+CD25+FoxP3+ Т ћелије из крви хронично инфицираних пацијената

сузбијају ХЦВ-специфичне Т ћелије путем секреције TGF- β . Блокада TGF- β значајно је појачала ХЦВ специфичну секрецију IFN- γ од стране CD4+ и CD8+ Т ћелија (Clément и сар. 2009). Неколико других студија је показало да хронична ХЦВ инфекција доводи до исцрпљености или оштећења CD8+ Т ћелија специфичних за ХЦВ. Током хроничне ХЦВ инфекције, CD8+ Т ћелије не успевају да пролиферишу или да луче антивирусне цитокине, укључујући IFN- γ . Овај феномен настаје услед недостатка CD4+ Т ћелија и услед експресије имуномодулаторних цитокина као што је IL-10 (Clément и сар. 2009). Главни узрок оштећења CD8+ Т ћелија специфичних за ХЦВ се приписује експресији инхибиторних рецептора као што су рецептор за програмирану смрт-1, ген за активацију лимфоцита-3, CTLA-4 (члан CD28 рецептора породица), Т-ћелијски имуноглобулин мучин-3 на ХЦВ-специфичним CD8+ Т ћелијама у крви и јетри (Irshad и сар. 2013). Експресија ових инхибиторних рецептора је повезана са ниским нивоом експресије CD127 и поремећеном пролиферацијом и диференцијацијом Т ћелија. Дакле, различити механизми доприносе дисфункцији ХЦВ-специфичних CD8+ Т ћелија у хроничној ХЦВ инфекцији. Поред цитотоксичних Т лимфоцита, присутан је и хуморални имуни одговор против вирусних и ћелијских компоненти током ХЦВ инфекције. Иако је ХЦВ хепатотропни вирус и инфицира хепатоците, вирусни геном и његови репликативни интермедијери су често присутни у мононуклеарним ћелијама периферне крви и лимфоидним ткивима хронично инфицираних особа. Вирусни гликопротеин Е2 се налази у олигоклоналској експанзији неколико ћелија лимфома (Zhang и сар. 2023).

Поред описане имунолошки посредоване патогенезе ХЦВ-а, постоји неколико других значајних клиничких и метаболичких стања повезаних са патогенезом ХЦВ-а. Она укључују инсулинску резистенцију изазвану ХЦВ-ом, оксидативни стрес и стеатозу јетре (Слика 4).

1.4.3.4 ХЦВ-индукована инсулинска резистенција

ХЦВ инфекција утиче на метаболизам на више различитих нивоа, што доводи до повећане стеатозе, фиброзе, инфламације, апоптозе и инсулинске резистенције (ИР) током болести (Bose и сар. 2014). Протеини језгра ХЦВ-а, било директно или преко повећаног лучења TNF- α , изазивају ИР (Pal и сар. 2010). ИР показује модулирајући утицај на патогенезу ХЦВ инфекције. Повећава *de novo* липогенезу, тј. синтезу масних киселина преко прекомерне експресије и sazревања регулаторног везујућег протеина стерола (*Sterol regulatory element-binding protein 1* енгл. SREBP-1) (Kim и сар. 2007). Ово заузврат повећава активност липогених ензима укључујући ацетил коензим А карбоксилазу и синтазу масних киселина. Истовремено, интермедијери биосинтезе триглицерида такође активирају инхибиторе инсулинске сигнализације путем ХЦВ језгра, укључујући супресор сигнализације цитокина (SOCS)-3 и С-Jun Н-терминална киназа (ЈНК) (Kawaguchi и сар. 2004). Активација ЈНК језгром ХЦВ-а може пратити директан или индиректан проинфламаторни механизам посредован цитокинима (Bernsmeier и сар. 2008).

1.4.3.5 Оксидативни стрес повезан са ХЦВ-ом

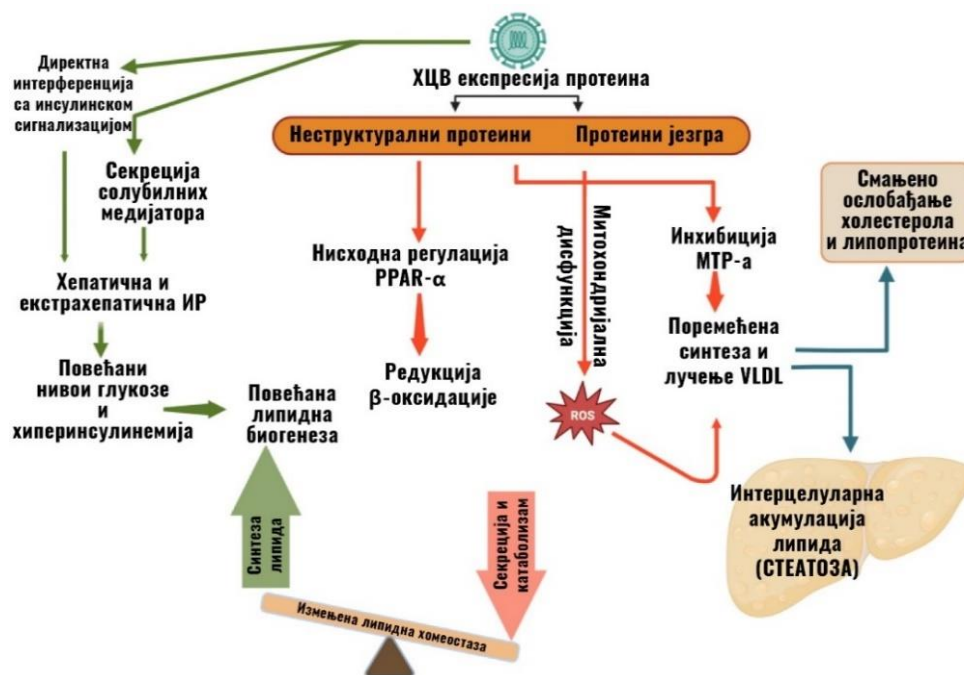
Важан део оштећења јетре изазваног ХЦВ-ом претставља и оксидативни стрес (Schank и сар. 2021). Претходне студије су истраживале улогу различитих молекула вируса хепатитиса Ц у модулацији оксидативног стреса током ХЦВ инфекције (Gerresheim и сар. 2019; Piccoli и сар. 2007). Откривено је да протеин језгра присутан унутар спољашње мембране митохондрија, индукује оксидацију глутатиона и

промовише унос калцијумових јона у митохондрије. Клемент и сарадници објаснили су да након оксидације глутатиона долази до повећане производње ROS-а услед транспорта електрона митохондријалним комплексом (Clément и сар. 2009). Неструктурни протеин вируса, NS5А, промовише производњу ROS-а у мембрани ендоплазматског ретикулума (ER). Долази до слобађања јона калцијума из ER, чиме се изазива оксидативни стрес. Са друге стране, NS3 протеин индукује производњу ROS-а активацијом NADPH оксидазе (Bengsch и сар. 2010). Повећана производња ROS-а и последични оксидативни стрес је евидентиран присуством повећаних нивоа маркера оксидативног стреса у крви, као што су 8-хидрокси деоксигуанозина и 4-хидрокси-2-ноненола (Gabbay и сар. 2007). Из наведених студија се може закључити да структурне и неструктурне компоненте ХЦВ-а изазивају значајно повећање оксидативног стреса, што доводи до деструкције хепатоцита током ХЦВ инфекције.

1.4.3.6 Стеатоза изазвана ХЦВ-ом

Откривена је повезаност ХЦВ инфекције са стеатозом јетре (Moderesi и сар. 2016). Студије на експерименталним животињама су показале да протеин језгра ХЦВ-а промовише стеатозу јетре (Rubbia-Brand и сар. 2004; Roingeard и сар. 2013). Када је стеатоза проучавана у односу на ХЦВ-генотипове, примећено је да иако стеатозу индукују сви ХЦВ-генотипови, она се чини израженија и учесталија код инфекције ХЦВ-генотипом 3 (Adinolfi и сар. 2001). Код пацијената са инфекцијом генотипом 3, постојала је јака позитивна корелација између степена стеатозе и нивоа репликације вируса (Chan и сар. 2017; Abenavoli и сар. 2014). Поред тога, показано је да је код пацијената са генотипом 3 дошло до регресије стеатозе након успешног лечења ХЦВ инфекције у поређењу са болесницима са другим генотиповима код којих се стеатоза одржавала и након лечења (Roynard и сар. 2003; Kumar и сар. 2002). Ово јасно показује да одређени ХЦВ-генотипови имају већи стеатогени потенцијал. Оно што издваја механизам стеатозе изазване генотипом 3 јесте редукција лучења VLDL-а (Hofer и сар. 2002). Наведене студије су довеле до закључка да ХЦВ изазива стеатозу на три различита начина: (1) Оштећеним лучењем липида из хепатоцита; (2) Повећаном *de novo* синтезом слободних масних киселина; (3) Смањеном деградацијом масних киселина.

На слици 1.4.3.1 су приказане промене у метаболизму липида до којих доводи нелечена ХЦВ инфекција, а које доводе до настанка стеатозе јетре.



Слика 4. ХЦВ-ом индуковане промене у метаболизму липида и настанку стеатозе
 Скраћенице: PPAR- α (Peroxisome proliferator-activated receptor- α рецептор- α енгл) - активиран пролифератором пероксизома; ROS (Reactive oxygen species енгл) - реактивне врсте кисеоника; MTP (Microsomal triglyceride transfer protein енгл) - микрозомални протеин за пренос триглицерида; VLDL (Very-low density lipoproteins енгл) - липопротеини веома ниске густине. ХЦВ- хепатитис Ц вирус. Преузето и модификовано према: Elgretli и сар. 2023.

1.4.4 Клиничка слика хроничног хепатитиса Ц

Као што је напоменуто, акутна ХЦВ инфекција ретко пролази спонтано. Приближно 80% инфицираних особа постају хронични носиоци, од којих ће 10-20% пацијената развити цирозу јетре, а 1-5% ће развити хепатоцелуларни карцином у року од 20-30 година (Gupta и сар. 2014). Већина пацијената са хроничним хепатитисом Ц је без симптома или може имати неспецифичне симптоме као што су умор или малаксалост у одсуству синтетске дисфункције јетре. Пацијенти са узнапредовалом болешћу и декомпенованом цирозом изазваном ХЦВ инфекцијом, често имају симптоме који се типично виђају и код других пацијената са декомпенованом болешћу јетре, а односе се на поремећај синтетске функције и порталну хипертензију. То укључује промене менталног статуса (хепатична енцефалопатија), периферне едеме, асцитес и хематемезу или мелену услед крварења из варикса једњака. Најчешће се симптоми ХХЦ прво развијају као клинички налази екстрахепатичних манифестација ХЦВ-а и укључују: артралгије (23%), парестезије (17%), мијалгије (15%), свраб (15%), Sicca синдром (11%) (Ghani и сар. 2020).

1.4.5 Дијагностика ХХЦ

За постављање дијагнозе ХХЦ-а, неопходно је присуство најпре анти-ХЦВ антитела, потом одређивање нивоа виремије тестом полимеразне ланчане реакције (*Polymerase chain reactio* енгл. PCR) ХЦВ РНК са генотипизацијом вируса. Након тога, ради патохистолошке верификације болести и одређивања њеног стадијума, ради се биопсија јетре, која је као што је претходно напоменуто, претставља златни стандард.

Користи се *METAVIR* скор којим се процењује степен фиброзе и креће се од Ф0 (без фиброзе) до Ф4 (цироза). Ниво Ф1 се сматра благом фиброзом, Ф2 умереном, док се Ф3 сматра унапредовалом фиброзом. Скор хистолошке активности генерише *METAVIR* алгоритам који представља неактивност (А0), благу (А1), умерену (А2) и велику активност (А3). Овај резултат активности се добија комбиновањем степена перипорталне и лобуларне некрозе у узорку јетре (Bedossa и сар. 1999). Одражава инфламацију и деструкцију хепатоцита који се граниче са порталним трактом. Значајна неинвазивна процедура у дијагностици ХХЦ је еластрографија јетре (*FibroScan*) који поред степена фиброзе процењује и степен стеатозе јетре, али је вероватноћа грешке већа у односу на биопсију јетре (de Lédinghen и сар. 2008).

1.5 Неалкохолни стеатохепатитис

1.5.1 Дефиниција неалкохолног стеатохепатитиса

Неалкохолни стеатохепатитис (НАСХ) претставља хроничну болест у којој долази до акумулације масти унутар парехнима јетре уз поремећај метаболизма и претставља најтежу форму спектра различитих облика НАМБЈ (Kim и сар. 2018). НАМБЈ, недавно преименована у болест масне јетре повезане са метаболичком дисфункцијом (*Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease* eng, MAFLD)*, је комплексна, мултифакторска болест која укључује једну или више компоненти метаболичког синдрома (МС), као што су системска хипертензија, дислипидемија, висцерална гојазност, инсулинска резистенција или дијабетес (Eslam и сар. 2020). Представља претерано накупљање триглицерида (преко 5-10% тежине јетре чине триглицериди) у хепатоцитима у одсуству истовремене конзумације алкохола (мање од 20-30 г/дневно), као и искључење свих осталих фактора који су узрок секундарне стеатозе јетре. Најблажи облик болести је неалкохолна масна јетра (НАМЈ) коју карактерише више од 5% макровезикуларне стеатозе, а чија прогресија доводи до НАСХ-а, који је праћен инфламацијом уз присуство балонираних хепатоцита (балонирајућа дегенерација) са или без пратеће фиброзе у зависности од стадијума болести. Цироза јетре представља завршни стадијум и ове хроничне болести јетре, а карактеришу је типично, траке фиброзових септи које доводе до формирања циротичних нодуса, а даљом прогресијом болести може доћи и до развоја хепатоцелуларног карцинома (Huang и сар. 2021).

1.5.2 Епидемиологија НАМБЈ/НАСХ-а

Процењена глобална преваленција НАМБЈ међу одраслима је 32% и већа је међу мушкарцима (40%) у поређењу са женама (26%). У периоду од 10 година преваленција НАМБЈ-а се повећала са 26% на 38%. Она значајно варира у зависности од региона света, чему доприносе различите стопе гојазности, као и генетски и социоекономски фактори, те у Америци и југоисточној Азији преваленција НАМБЈ-а прелази 40%. НАСХ је повезан са смањеном стопом преживљавања (Singh и сар. 2017) а најчешћи је узрок пораста инциденције хепатоцелуларног карцинома и постаје главна индикација за трансплантацију јетре у Америци (Teng и сар. 2023). Смањена стопа преживљавања је

* Током 2020.године је објављена нова класификација неалкохолне масне болести јетре која је преименована у болест масне јетре повезане са метаболичком дисфункцијом (*Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease* eng, MAFLD), али с обзиром да је истраживање спроведено у периоду од 2018-2019. године, када је важила претходна класификације према којој су регрутовани испитаници из НАСХ групе, у овој дисертацији је задржана стара ознака и дефиниција НАМБЈ/НАСХ-а.

показана у дугорочним студијама и може довести до цирозе јетре, инсуфицијенције и хепатоцелуларног карцинома уколико се не лечи (Dhamija и сар. 2019).

1.5.3 Патогенеза НАСХ-а

Добро је познато да је етиологија НАСХ-а хетерогена, те да су хепатоцити, КС и HSCs кључни у патогенези стеатозе, инфламације и фиброзе јетре (Kim и сар. 2018) (Слика 5).

1.5.3.1 Теорија „више паралелних погодака”

1. Акумулација липида у хепатоцитима

Стеатоза јетре настаје интеракцијом између генетских, метаболичких и фактора средине (Bruno и сар. 2015). Седентарни начин живота и неодговарајући унос калорија (велики проценат глукозе, фруктозе, исхрана са високим процентом масти) су добро познати фактори животне средине повезани са стеатозом јетре. Вишак глукозе или фруктозе из танког црева ентерохепатичном циркулацијом улази у јетру где се користи за производњу хепатичног триацилглицерола (ТГ) путем *de novo* синтезе масних киселина, а користи се и за складиштење гликогена у јетри. Масне киселине из исхране апсорбоване у танком цреву такође доприносе формирању јетрених ТГ преко два различита пута. У првом, слободне кратколанчане масне киселине које се транспортују у крв из танког црева преузима јетра преко транспортера масних киселина, заједно са слободним масним киселинама (СМК). У другом путу, хиломикронски ТГ који садрже средње/дуголанчане масне киселине се хидролизују помоћу липопротеинске липазе (ЛПЛ) у периферним ткивима као што су скелетни мишићи и масно ткиво и последично постају резервоари хиломикрона, које јетра преузима преко својих рецептора. Поред фактора спољашње средине, метаболички фактори као што су инсулинска резистенција, гојазност и дислипидемија повећавају ризик од стеатозе јетре и прогресије НАМБЈ-е (Luusks и сар. 2000; Marchesini и сар. 2001). Конкретно, инсулинска резистенција унутар масног ткива нарушава способност инсулина да потисне липолизу, те се СМК ослобођене из масног ткива транспортују у јетру. Хиперинсулинемија или хипергликемија, као кључне карактеристике инсулинске резистенције, такође повећавају синтезу *de novo* масних киселина у јетри преко регулације SREBP1 и SxRBER, нарушавају β -оксидацију унутар јетре и појачавају унос масних киселина посредован путем CD36, доприносећи тако развоју хепатичне стеатозе (Postic и сар. 2008).

2. Оксидативни стрес хепатоцита, липотоксичност и смрт ћелија

Прекомерна акумулација липида у јетри узрокује хепатоцелуларну липотоксичност преко ћелијског оксидативног стреса, укључујући стрес ЕР и митохондријалну дисфункцију, што на крају доводи до апоптозе хепатоцита (Mota и сар. 2016). Конкретно, стрес ЕР је важан у развоју и напредовању НАМБЈ (Zhang и сар. 2014). Када су ћелије изложене стресу ЕР-а, интегрисани сигнал стреса посредован са три сензора стреса (PERK, IRE1 α и ATF6) покреће протеински одговор, који служи као компензаторни механизам за одржавање хомеостазе ЕР-а. Међутим, продужени или прекомерни липотоксични стрес ЕР надмашује капацитет протеинског одговора и индукује смрт ћелија јетре преко два главна пута (интринзични пут завистан од митохондрија и екстринзични пут посредован рецептором смрти) (Akazawa и сар. 2016). Штавише, хронични ЕР стрес повећава производњу ROS-а и активира пут NF- κ B или с-

Jun N-терминалне киназе (ЈНК), што доводи до инфламације ткива јетре (Zhang и сар. 2014). Поред тога, хронични стрес ЕР доводи до акумулације липида у јетри путем активације *de novo* синтезе масних киселина на начин који зависи од путева осетљивости на стрес, што сугерише да зачарани круг између ЕР стреса и стеатозе јетре може подстаћи развој и напредовање НАМБЈ/НАСХ (Вајсеану и сар. 2016). Недавно су откривене улоге засићених масних киселина и других метаболита липида (лизосомални фосфатидил-холин (ЛФХ), керамид и слободни холестерол) као потенцијалних медијатора хепатоцелуларне липотоксичности код НАМБЈ/НАСХ-а (Mota и сар. 2016; Magee и сар. 2016). За палмитинску киселину, најзаступљенију дуголанчану засићену масну киселину *in vivo*, откривено је да изазива оксидативни стрес и ЕР/лизосомални/митохондријални стрес, узрокујући липотоксичну ћелијску смрт (Wei и сар. 2009). Неколико студија је потврдило да фактори (или молекули) добијени из хепатоцита могу деловати на непаренхимске ћелије као што су КС и HSCs, што заузврат може допринети напредовању НАСХ-а (Ibrahim и сар. 2018; Hirsova и сар. 2015). Као одговор на различите стимулусе као што су прекомерни липиди и липополисахариди (ЛПС), хепатоцити могу директно да производе хемокине и проинфламаторне цитокине (TNF α , IL-6 и IL-1 β), иако је количина хемокина/citoкина ослобођених из хепатоцита мања у поређењу са количином истих ослобођених из непаренхимских ћелија. Након тога, повећана производња хемокина/citoкина доводи до инфилтрације макрофага у јетру и активације КС/HSCs (Hirsova и сар. 2015).

3. Купферове ћелије/инфилтрирајући макрофаги и НАСХ

Поред фактора добијених из самих хепатоцита, липотоксичне масне киселине као што су палмитинска киселина и керамид могу да активирају КС и потом подстичу производњу проинфламаторних цитокина (TNF- α и IL-6) (Tang и сар. 2013). Купферове ћелије такође луче неколико хемокина као што су CCL2, хемокински лиганд 16, ради регрутовања периферних макрофага, природних НК ћелија и неутрофила (Wehr и сар. 2013). Сходно томе, КС и регрутоване ћелије урођеног имунитета могу погоршати инфламацију у јетри. TNF- α и IL-1 β подстакнути палмитинском киселином у инфилтрирајућим макрофагима, могу изазвати акумулацију липида и инсулинску резистенцију унутар хепатоцита. Због кључне улоге цитокина/хемокина добијених из КС/инфилтрирајућих макрофага у стеатози, инфламацији и фибрози, функционална инхибиција ових секреторних протеина сматра се обећавајућим терапијским приступом за лечење НАСХ-а (Kim и сар. 2017; Del Campo и сар. 2018).

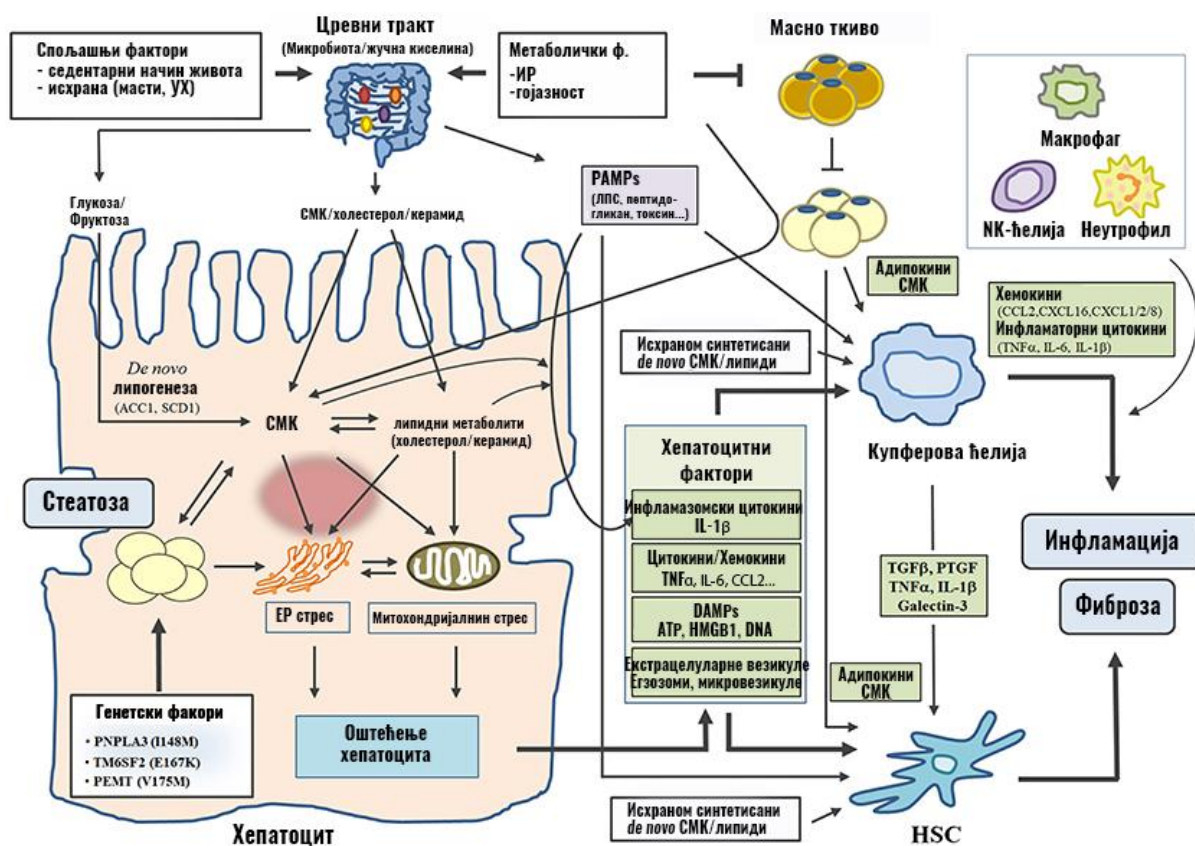
4. HSCs, фиброза и НАСХ

HSCs ћелије, главни извор колагена типа I у јетри, играју кључну улогу и у фибрози повезаној са НАСХ-ом, као што је случај и са осталим ХБЈ (Tsuchida и сар. 2017). Активирани HSCs повећавају лучење колагена и других протеина екстрацелуларног матрикса, што доводи до фибрози и на крају хроничне фиброзе у јетри. Дакле, једна од потенцијалних стратегија за инхибицију фиброзе повезане са НАСХ-ом је сузбијање акумулације протеина екстрацелуларног матрикса укључујући колаген или директно инхибирање активације HSCs.

1.5.3.2 Имунолошки одговор у неалкохолном стеатохепатитису

Ћелије урођеног имунског одговора јетре, које се састоје од КС, неутрофила, DC и НК ћелија, играју значајну улогу у патогенези НАСХ-а. На претходно описан начин активације ових имунских ћелија, као и у осталим ХБЈ, долази до ослобађања

проинфламаторних цитокина, као што су $TNF\alpha$, $IL-6$ и $IL-1\beta$, који доводе до активације Т ћелија, HSCs и индукције апоптозе. Оно што је специфично за процес инфламације у НАСХ-у јесте повећање односа М1 макрофага („класично активирани” макрофаги, који играју важну улогу у хуморалном имунском одговору) и М2 макрофага („алтернативно активирани” макрофаги, који имају антиинфламаторна својства). Повећање М1/М2 односа је забележено како у масном ткиву тако и у јетри у одговору на исхрану са високим садржајем масти и у одговору на гојазност. Активирани неутрофили ослобађају проинфламаторне цитокине и мијелопероксидазу, што доводи до оксидативног оштећења хепатоцита. Лиганди који активирају НК ћелије су бројнији код пацијената са НАСХ-ом, а гојазни пацијенти имају и смањење нивоа НК ћелија у циркулацији и поремећену цитотоксичну функцију ових ћелија у поређењу са контролама које су нормално ухрањене (O'Shea и сар. 2010). Биопсија јетре код пацијената са НАМБЈ је показала да је популација НК ћелија смањена у умереној до тешкој стеатози (Kremmer и сар. 2010). Када говоримо о адаптивном имунолошком одговору, важну улогу у настанку фиброзе у НАСХ-у имају и Treg ћелије које супресијом CD4 и CD8 Т лимфоцита смањују инфламацију, али је на експерименталним моделима показано да у НАСХ-у постепено долази до смањења Treg ћелија што је патогенетски важан корак у брзој прогресији стеатозе у стеатохепатитис (Ma и сар. 2007). Tang и сарадници су показали да код експерименталних модела постоји повећан број Th17 ћелија у јетри након 8-недељног режима исхране богате мастима, те да је повећан број ових ћелија повезан са прогресијом стеатозе и инфламације јетре путем секреције $IL-17$. Иста група аутора сугерише да би равнотежа између ћелија Th17 и Treg могла бити значајна у напредовању НАСХ-а, али у литератури нема јасних потврда оваквог имунолошког аспекта (Tang и сар. 2011).



Слика 5. Мултифакторијална патогенеза НАСХ-а.

Три фактора (фактори спољашње средине, метаболички и генетски фактори) доприносе развоју и напредовању НАСХ-а утичући на различите органе као што су јетра, црева и масно ткиво. Конкретно, вишак калорија или неодговарајући унос (фактор животне средине) повећава токсичне слободне масне киселине (СМК) и метаболите липида (ЛПЦ, холестерол и керамид) у хепатоцитима, што доводи до стеатозе јетре и сублеталних/смртоносних оштећења хепатоцита. Након тога, фактори изведени из хепатоцита (као што су цитокини/хемокини, DAMPs и екстрацелуларни везикули) стимулишу инфламаторни одговор у Купферовој ћелији и фиброзни одговор у HSCs, што доводи до развоја упале и фиброзе у јетри. СМК и липидни метаболити добијени исхраном или синтетисани де ново такође активирају КС и HSCs. Поред тога, инсулинска резистенција и гојазност (метаболички фактор) утичу на преслушавање органа између црева/масног ткива и јетре, доприносећи развоју и напредовању НАСХ. ИР-инсулинска резистенција; УХ-угљени хидрати; ЕР-ендоплазматски ретикулум; СМК-слободне масне киселине; НК- природне ћелије убице; PAMP/DAMP- молекуларни обрасци повезани са патогеном; TNF-фактор туморске некрозе; IL-интерлеукин; TGF-трансформишући фактора раста бета; PTGF - фактор раста тромбоцита Према: Kim и сар. 2018.

1.5.4 Клиничка слика неалкохолног стеатохепатитиса

Пацијенти са НАСХ-ом се обично јављају лекару у четвртој или петој деценији живота услед благог пораста аминотрансфераза у серуму, иако се болест може јавити и у детињству (Harrison и сар. 2004). Чини се да постоји једнака полна дистрибуција, али жене могу имати већи ризик од прогресије у узнапредовалом стадијуму болести услед (Harrison и сар. 2004). Клиничка стања која се обично јављају код пацијената са НАСХ-ом, укључују она која обухватају метаболички синдром. Најчешће се идентификује гојазност удружена са дислипидемијом, дијабетесом и хипертензијом. Већина пацијената је асимптоматска, док ће мали проценат осећати умор или неспецифичан бол у десном горњем квадранту трбуха. Хепатомегалија се јавља у приближно 10% случајева (Stengel и сар. 2006).

1.5.5 Дијагностика неалкохолног стеатохепатитиса

Патохистолошка верификација болести и одређивање њеног стадијума, претстављају златни стандард у дијагностици НАСХ-а. Процена активности НАСХ-а подразумева збир стеатозе, балонирања хепатоцита и лобуларне инфламације (укључене су и друге различите карактеристике). Укупан резултат (може бити од 0 до 8) се добија сабирањем резултата ове три карактеристике. Поред наведеног, процењује се и стадијум фиброзе јетре (0-4). Неинвазивне процедуре које се користе у дијагностици НАСХ-а су еластрографија јетре (FibroScan) који поред степена фиброзе процењује и степен стеатозе јетре, али је вероватноћа грешке већа у односу на биопсију јетре (de Lédinghen и сар. 2008).

1.6 IL-23/IL-17 осовина у хроничном хепатитису Ц и неалкохолном стеатохепатитису

Имунолошки вид патогенезе, напредовања, дијагностике и терапије многих ХБЈ предмет су све већег научног интересовања (Rong и сар. 2009; Chang и сар. 2012; Engin и сар. 2017). Упркос томе, у хроничним болестима јетре какви су ХХЦ, представник орган специфичног обољења са потенцијалним системским манифестацијама и НАСХ, као хепатична манифестација системског обољења, имунски одговор је недовољно

истражен. Са имунопатогенетског аспекта, подаци из литературе показују контроверзне резултате о обе наведене хроничне болести јетре.

Код обољења јетре, пре него што се успостави цироза, активирају се вишеструки путеви фиброгенезе као резултат континуиране интеракције између фактора повезаних са патогеном, генетике домаћина (одређени *HLA* хаплотипови и полиморфизми гена цитокина), резидуалних ћелија јетре и имуног система. У истраживању које је обухватила ова докторска дисертација фокусирали смо се на осу *IL-23/IL-17*, која представља важан спектар инфламаторног одговора на хроничну стимулацију. Улога ове осовине је добро позната и у другим хроничним болестима, као што су реуматске болести, инфламаторне болести црева, хроничне инфламаторне болести коже и хронична лимфоцитна леукемија (Li и сар. 2021; Catana и сар. 2015; Menter и сар. 2021).

Код хроничне инфламације, антигеном стимулисане дендритске ћелије и макрофаги производе *IL-23*, који промовише развој *Th17/Th-IL-17* ћелија. Ове ћелије потом продукују *IL-17*, који појачава стимулацију Т-ћелија и покреће снажан инфламаторни одговор индукујући производњу различитих инфламаторних медијатора. *IL-23* такође делује и на дендритске ћелије и макрофаге на аутокрини/паракрини начин како би стимулисао стварање проинфламаторних цитокина, као што су *IL-1*, *IL-6*, *IL-17* и *TNF*. Са друге стране, *Th1* ћелије које су стимулисане посредством *IL-12* производе *IFN- γ* и потискују диференцијацију *Th17/Th-IL-17* ћелија, те могу имати имунорегулаторну, тачније заштитну улогу у развоју хроничне инфламације (Kolls и сар. 2004; Iwakura и сар. 2006). Када се говори о хепатичној инфламацији, присуство различитих молекула активира ћелије имуног система у јетри и то антиген презентујуће ћелије и лимфоците у које спадају $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-ћелије, као и Б лимфоцити (Mark и сар. 2016). $CD4^+$ Т ћелије се приликом дејства патогеног агенса диференцирају у *Th1*, *Th2*, *Th17* ћелије и то под утицајем различитих локално произведених молекула или *Treg* ћелија које имају улогу у контроли активности других ћелија имуног система (Zhu и сар. 2008).

Бројне студије су описивале утицај осовине *IL-23/IL-17* на развој фиброзе јетре са хетерогеним резултатима. Тако су Meng и сарадници описали повишене нивое *IL-23* и *IL-17* код хроничне болести јетре (Meng и сар. 2016), док су Heredia и сарадници објавили да *IL-23* није повишен код хроничне инфламације хепатоцита (Heredia и сар. 2022). Ове студије су поред патофизиологије, узимале у обзир и потенцијалне имунотерапијске опције наведене осовине. Најконтрадикторнији резултати објављени у актуелним студијама које се баве овом темом односе се на ХХЦ и НАСХ.

Увођење директних антивирусних лекова (*Direct-acting antiviral antivirals*, енг, ДАА) променило је парадигму ХЦВ инфекције и омогућило излечење ХХЦ. Иако је ова терапија значајно побољшала ток ХХЦ-а захваљујући одржавању стабилног вирусолошког одговора, оно што је још увек непознато је да ли ће се тиме у потпуности избећи прогресија болести, посебно код пацијената са високим степеном фиброзе (Krassenburg и сар. 2021). Ово је разлог континуиране потребе за истраживањем различитих фактора који карактеришу ХХЦ, а на првом месту имунолошких. Иако имунопатогенеза ХЦВ-а није у потпуности разјашњена, показало се да $CD4^+$ Т ћелије које производе *IL-17*, имају значајну улогу у процесу имуногенезе (Balanescu и сар. 2012). Поред тога, истраживање Rios-а и сарадника открило је да је једина подгрупа лимфоцита повезана са узнапредовалом фиброзом управо *Th17* (Rios и сар. 2021). Међутим, у литератури је свега неколико студија испитивало *IL-17* као потенцијални биомаркер фиброзе јетре, али не и остале цитокине осовине *IL-23/IL-17*. Тако је познато да су у серуму болесника са ХХЦ више концентрације *IL-17*, и да корелишу са стадијумом фиброзе јетре (Wu и сар. 2017). Chang и сарадници (Chang и сар. 2012) су показали позитивну повезаност између стадијума фиброзе јетре и инфилтрације јетре

Th17 ћелијама, као и статистичку значајност између серумског нивоа IL-17 код ХХЦ болесника и здраве контроле. Међутим, још увек је нејасно да ли постоје варијације у концентрацији проинфламаторних цитокина на локалном и системском нивоу у ХХЦ које потенцијално могу усмеравати имунотерапијске стратегије код ових пацијената.

Са друге стране, код НАСХ-а, услед оштећења хепатоцита, долази до активације инфламазома, који представљају мулти-протеински комплекс састављен од каспаза и молекула насталих ослобађањем из оштећених ћелија. Инфламазоми у НАСХ-у индукују продукцију IL-1 β преко активације КС и индиректно ћелијску смрт преко TNF- α . Поред инсулинске резистенције, и други фактори ризика као што су метаболички синдром, гојазност, дијабетес мелитус, доводе до активације цитокина осовине IL-23/IL-17. У овим стањима, КС и НК ћелије у јетри појачано експримирају рецептор за IL-17, али не и за остале цитокине у овој осовини, те се предпоставља да IL-17 повећава производњу медијатора који могу довести до фиброзе јетре код НАСХ-а (Buzzeti и сар. 2016; Giles и сар. 2015). У студији Vonghia и сарадника мерена је концентрација проинфламаторних цитокина у системској и хепатичкој циркулацији код болесника са неалкохолном масном болешћу јетре и утврђено је да је концентрација IL-6 значајно виша у системској него у хепатичкој циркулацији, док за остале цитокине, укључујући IL-17, то није показано (Vonghia и сар. 2015).

Из горе наведеног, могуће је да ће појединачно или заједно цитокини осовине IL-23/IL-17 моћи да се користе као биомаркери фиброзе у обољењима јетре различите етиологије, као што су ХХЦ и НАСХ, што би значајно олакшало праћење ових болесника у прогностичком и потенцијално терапијском смислу.

2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Циљеви истраживања

Циљеви истраживања ове дисертације били су:

- 1 Утврђивање серумске концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код болесника са ХХЦ и НАСХ и здраве контроле.
- 2 Корелација стадијума фиброзе јетре и серумске концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код болесника са ХХЦ и НАСХ.

3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

Ова студија пресека била је спроведена у периоду од октобра 2018. године до јануара 2020. године.

3.1 Испитаници

У истраживање је укључено укупно 216 испитаника старијих од 20 година (Графикон 1). Испитаници су селектовани у Клиници за инфективне и тропске болести Универзитетског клиничког центра Србије и били су подељени у три групе. Код укупно 156 испитаника је клинички и лабораторијски дијагностикована ХБЈ. Прву групу је чинило 100 испитаника са серолошки доказаним ХХЦ код којих је након биопсије јетре патохистолошки потврђена болест. Код свих је урађена лабораторијска обрада, а случајним узорком је њих 50 селектовано је за имунолошке анализе. Коначно, након обраде и процене валидности узорака 36 испитаника из ове групе је имунолошки испитано. Код преосталих 56 испитаника са ХБЈ је на основу анамнезе, клиничке слике и лабораторијских анализа постављена сумња на НАСХ, те је након биопсије јетре код њих 20 потврђена дијагноза и они су сачињавали другу групу испитаника. Код свих је учињена лабораторијска обрада, док је због валидности узорака њих 19 укључено у имунолошки део истраживања. Случајним узорком је одабрано 60 здравих контрола али је због искључујућих критеријума у контролну, трећу групу коначно укључено њих 28. Ради селекције испитаника, сви су би били подвргнути клиничкој обради, која је обухватала физикални преглед, лабораторијске и серолошке анализе, потом испитивање присуства/одсуства аутоантитела, и свима је био урађен ултразвук абдомена. Такође, свим испитаницима је узоркована периферна венска крв за потребе лабораторијских и имунолошких анализа, док је испитаницима са ХБЈ рађена и слепа перкутана биопсија јетре ради патохистолошке потврде једне од две испитиване ХБЈ као и испитивања локалног, тј. ткивног имунског одговора.

Критеријуми за искључење из истраживања били су:

1. Трудноћа;
2. Присуство декомпензоване цирозе јетре;
3. Коинфекција вирусом хумане имунодефицијенције (ХИВ) и коинфекција вирусом хепатитиса А, Б или Д за ХХЦ групу испитаника
4. инфекција ХИВ-ом, хепатитисом А, Б, Ц или Д за НАСХ и контролну групу испитаника;
5. Претходна примена антивирусне терапије код пацијената са ХЦВ инфекцијом;
6. Злоупотреба алкохола;
7. Друге хроничне или акутне болести јетре (аутоимуне/токсичне);
8. Присуство било каквог имунокомпромитованог стања;
9. Пацијенти са ХЦЦ-ом;
10. Присуство било ког метаболичког, системског и имунолошког обољења у контролној групи испитаника.

Пре започињања испитивања сви испитаници су потписали Информисани пристанак. Протокол истраживања је претходно одобрен од стране Етичке комисије Клинике за инфективне и тропске болести, Универзитетског клиничког центра Србије као и Етичке комисије при Медицинском факултету Универзитета у Београду (број Одлуке: 2650/Х-2 од 04.10.2018).

3.1.1 ХХЦ група испитаника

Дијагноза ХХЦ-а постављена је коришћењем Смерница клиничке праксе европског удружења за болести јетре (EASL, 2014) за лечење ХЦВ инфекције и

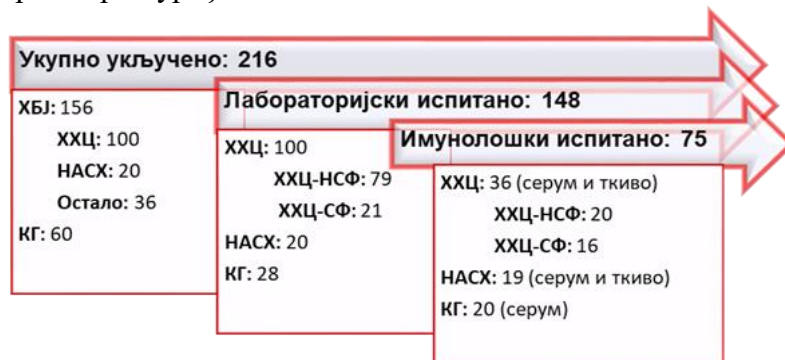
укључивала је налаз позитивних анти-ХЦВ антитела током најмање 6 месеци са позитивним PCR ХЦВ РНК, а потом је одрађена и генотипизација вируса. Пацијенти који су укључени у истраживање су пре започињања истог, редовно контролирани у Клиници за инфективне и тропске болести минимално шест месеци пре започињања истраживања, те су укључени са већ потсављеном дијагнозом хроничног хепатитиса Ц. Свим испитаницима из ове групе је у склопу истраживања одређен генотип вируса и у тренутку укључивања у истраживање, одређен ниво виремије. Након биопсије јетре и патохистолошке верификације ХХЦ, пацијенти су подељени у две подгрупе - подгрупу са несигнификантном фиброзом- ХХЦ-НСФ (стадијум фиброзе: Ф0/Ф1/Ф2) коју је сачињавало 79 пацијената, и подгрупу са сигнификантном фиброзом/цирозом - ХХЦ-СФ (стадијум фиброзе: Ф3/Ф4) која је бројала 21 пацијента. Лабораторијске анализе статистички су обрађене за све испитанике из ове групе, док су имунолошке анализе из плазме и ткива јетре рађене за 36 пацијената – 20 са несигнификантном и 16 са сигнификантном фиброзом јетре.

3.1.2 НАСХ група испитаника

Дијагноза НАСХ-а је постављена коришћењем Смерница клиничке праксе EASL за лечење неалкохолне болести масне јетре (EASL, 2016). Након патохистолошке верификације из ткива јетре добијеног биопсијом, у ову групу је укључено 20 пацијената (13 пацијената са стадијумом фиброзе Ф0, 5 пацијената са стадијумом Ф1 и два са стадијумом Ф2) . Код свих су урађене лабораторијске анализе, док је код 19 пацијената урађена имунолошка анализа крви и биоптата јетре, јер су узорци једног испитаника били технички неподобни након обраде.

3.1.3 Контролна група

У контролну групу је укључено 28 здравих испитаника прилагођених према старости и полу. Из етичких разлога испитаницима из контролне групе није рађена биопсија јетре. Статистички су обрађени резултати лабораторијских анализа за све испитанике, док је имунолошка обрада крви урађена за 20 испитаника.



Графикон 1. Динамика укључивања испитаника у лабораторијска и имунолошка испитивања.

ХБЈ- хронична болест јетре; КГ-контролна група; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; ХХЦ- хронични хепатитис Ц; ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном цирозом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном цирозом.

3.2 Антропометријска мерења

У овој студији испитивани су следећи антропометријски параметри:

1. Телесна висина (ТВ) мерена је на антропометру (*Seca 217*, Хамбург, Немачка) према упутствима Интернационалног биолошког програма (IBP- International Biological Programme, Weiner i Lourie, 1981) и изражена је у сантиметрима (цм).
2. Телесна маса (ТМ) мерена је према стандардној процедури на телесном анализатору (*In body 970*, Јужна Кореја) и изражена је у килограмима (кг).
3. Индекс телесне масе (ИТМ) је израчунат према формули $ТМ(кг)/(ТВ(цм))^2$. Вредности ИТМ према класификацији Центра за контролу и превенцију болести (*Centers for Disease Control and Prevention* енгл. CDC) (Blackwell и сар. 2014) приказане су на Табели 1.

Табела 1. Вредности ИТМ-а према CDC класификацији.

| Вредност ИТМ-а | Статус |
|----------------|-----------------------|
| Испод 18,5 | Неухрањеност |
| 18,5 – 24,9 | Нормална ухрањеност |
| 25.0 – 29.9 | Прекомерна ухрањеност |
| 30,0 и изнад | Гојазност |

Скраћенице: ИТМ- индекс телесне масе.

4. Свим испитаницима је мерен обим струка (ОС) у сантиметрима ради процене абдоминалних телесних масти које су ризик за развој кардиоваскуларних болести повезаних са гојазношћу. Мерење се вршило на средини простора између ребарног лука и илијачне кости. Вредности обима струка према класификацији CDC-а (Blackwell и сар. 2014) које доводе до повећаног ризика за развој дијабетеса типа 2, високог крвног притиска и коронарне болести срца приказане су на Табели 2.

Табела 2. Вредности ИТМ-а према CDC класификацији које су ризик за настанак дијабетеса типа 2, високог крвног притиска и коронарне болести срца.

| Пол | Обим (цм) |
|----------|-----------|
| Мушкарци | >100 |
| Жене | >88 |

3.3 Биохемијске анализе

Биохемијске анализе рађене су у Биохемијској лабораторији Клинике за инфективне и тропске болести Универзитетског клиничког центра Србије. Према

стандардима установе, коришћена је плазма болесника и рађене су стандардним методама према препорукама произвођача тестова, и то еритроцити (број ћелија по милилитру (бр.ћел/мЛ)), хемоглобин (грама по литру (г/Л)), леукоцити (бр.ћел/мЛ), тромбоцити (бр.ћел/мЛ), гликемија (мили-мола по литру (ммол/Л)), уреа(ммол/Л), креатинин (микро-мола по литру (μмол/Л)), укупни холестерол (ммол/Л), холестерол липопротеина ниске густине (ммол/Л); холестерол липопротеина високе густине (ммол/Л), триглицериди (ммол/Л), укупни протеини (г/Л), албумин (г/Л), укупни билирубин (μмол/Л), директни билирубин (μмол/Л), фибриноген (г/Л), аспартат аминотрансфераза (ензимске јединице по литру (У/Л)), аланин аминотрансфераза (У/Л), γ-глутамил транспептидаза (У/Л), алкална фосфатаза (У/Л); алфа фетопротеин микрограма по литру ((μг/Л)); ТСХ (мили-интернационалне јединице по литру (МИЈ/Л)); ИНР; протромбинско време (%) и Ц-реактивни протеин (мг/Л)).

3.4 Детекција антитела, броја копија и генотипа ХЦВ инфекције

Вирусолошке анализе су рађене у Вирусолошкој лабораторији Клинике за инфективне и тропске болести. Коришћен је ELISA (*Roche, Branchburg*, Њујорк, САД) тест за анализу антитела код свих испитаника. Код испитаника код којих су детектована анти-ХЦВ антитела, рађен је RT-PCR тест којим је детектована и квантификована геномска ХЦВ РНК (*Roche*, Њујорк, САД) са осетљивошћу од 50 IU/мЛ, а даље је урађена генотипизација путем *In-house RT-nested PCR* и *RFLP* анализе (*Amplicor HCV Monitor, Roche*, Њујорк, САД) са подацима израженим као интернационалне јединице по милилитру (ИЈ/мЛ).

3.5 Биопсија јетре и патохистолошка анализа ткива јетре

У циљу патохистолошке потврде болести и одређивања локалног, тј. ткивног имунолошког одговора, испитаницима из ХХЦ и НАСХ група рађена је слепа перкутана биопсија јетре у Клиници за инфективне и тропске болести Универзитетског клиничког центра Србије. Примењен је стандардни протокол установе за извођење ове процедуре који је подразумевао хоспитализацију болесника на дан интервенције. Након урађеног ултразвучног прегледа абдомена, у стерилним условима приступало се слепој, аспирационој биопсији јетре. Иста је рађена интеркосталним приступом у пределу између осмог и десетог међуребарног простора. Перкусионом методом након добијања максималне потмулости, у средњој аксиларној линији одређено је место убода, које је потом стерилисано антисептицима. Након давања локалне анестезије (1% раствор прокаина) у околину планираног места биопсије, урађена је инцизија коже до 1цм дубине. Потом се уводила *Menghini*-јева игла којом се пажљиво долазило до капсуле јетре а затим се игла уводила у јетрин паренхим уз аспирацију ткива којом се завршавала интервенција. Узорци јетриног паренхима су били просечне дужине око 4цм (Слика 6). Део узорка је одмах третиран формалином ради слања на патохистолошку обраду у Институт за Патологију Медицинског факултета Универзитета у Београду, а други део је у епендорфама истовремено стављан у течни азот ради постизања дубоког замрзавања на -194°C. Узорци су истог дана транспортовани у Институт за биохемију Медицинског факултета Универзитета у Београду где су чувани на -80°C до финалне обраде.



Слика 6. Оригинална слика узорка биоптата јетре узоркованог у Клиници за инфективне болести УКЦС.

За класификацију фиброзе јетре код пацијената са ХХЦ коришћен је METAVIR скор (Bedossa и сар. 1996) (Слика 7).

| Стадијум фиброзе | Опис промена | Патохистолошка слика |
|------------------|------------------------------------|----------------------|
| Ф0 | Без фиброзе | |
| Ф1 | Портална фиброза без септи | |
| Ф2 | Портална фиброза са ретким септама | |
| Ф3 | Бројне септе, без цирозе | |
| Ф4 | Цироза | |

Слика 7. Класификација фиброзе јетре према METAVIR систему.
Патохистолошке слике су преузете из рада: Bedossa и сар. 2014.

Код пацијената са НАСХ-ом коришћен је Систем скоровања Америчког удружења за проучавање болести јетре (*American Association for the Study of Liver Diseases* енгл. AASLD) (Chalasani и сар. 2018) (Слика 8).

| Оцена | Врста промене | Патохистолошка слика |
|-----------------------|---|----------------------|
| 0 1 2 3 | Стеатоза <5% 5-33% 33-66% >66% | |
| 0 1 2 | Балонирајућа дегенерација Без Неколико балонирајућих ћелија Мноштво балонирајућих ћелија | |
| 0 1 2 3 | Лобуларна инфламација Без <2 жаришта/20 видних поља 2-4 жаришта/20 видних поља >4 жаришта у 20 видних поља | |
| 0 1 2 3 4 | Фиброза Без Синусоидална Синусоидална и перипортална/портална <i>Bridging</i> фиброза Цироза | |

Слика 8. Класификација НАСХ-а према уистему скоровања AASLD.

Патохистолошке слике преузете из специјалног извештаја: *Association of Pathologists for Guidebook of NASH and NAFLD, 2015.*

3.6 Мерење цитокина у плазми и ткиву (IL-6, IL-10, IL-17A и IL-23)

За испитивање цитокина у крви коришћена је плазма уместо серума с обзиром да је крв за све остале анализе узимана у епрувете за узорковање плазме, те из етичких разлога, испитаницима није додатно узимана пуна крв за издвајање серума.

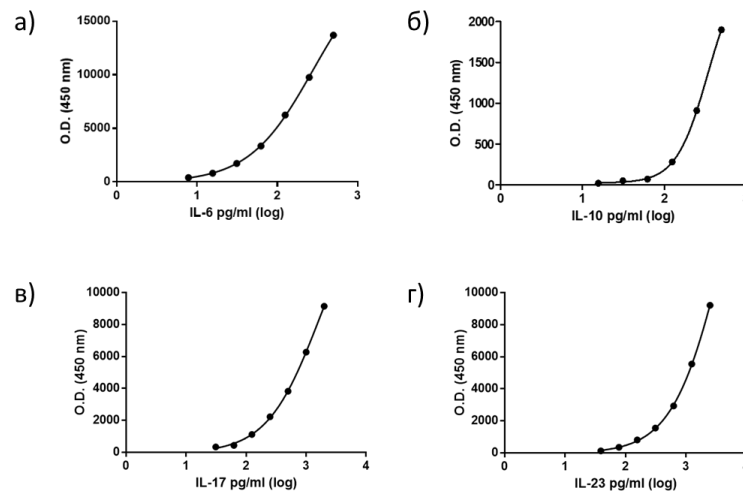
Испитивања концентрације цитокина у плазми и ткиву урађена су у Институту за медицинску и клиничку биохемију Медицинског факултета Универзитета у Београду.

Узорци крви испитаника су прикупљани у епрувете које су садржале EDTA као антикоагуланс. Одмах након узорковања епрувете су центрифугиране на 3000 обротаја у минути у трајању од 10 минута, на собној температури. Након центрифугирања, крвна плазма је издвојена и аликвотирана у микроцентрифушке епрувете запремине 1,5 mL. Плазме су затим замрзнуте најпре у течном азоту до транспорта у Институт за медицинску и клиничку биохемију Медицинског факултета Универзитета у Београду где су чуване на -80 °C до извођења ELISA тестова. На исти начин су транспортовани и узорци биоптата јетре до Института за медицинску и клиничку биохемију где су такође до обраде чувани на -80°C. Непосредно пре анализе, узорци ткива су одмрзнути на собној температури, а затим њихова маса измерена на аналитичкој ваги. Након тога, сваком од узорака је додат пуферу за лизирање у циљу изолације протеина (150 mM NaCl, 25 mM Tris-HCl pH 7,6, 1% IGEPAL, 0,1% натријум додецил сулфат- SDS, 1% натријум деоксихолат, 1 mM EDTA) и то 100 µL пуфера по mg ткива. Узорци су затим прошли кроз поновљене циклусе (4-5) замрзавања-одмрзавања што је подразумевало замрзавање у течном азоту а затим одмрзавање у воденом купатилу на 37 °C. У сваком циклусу одмрзавања узорци су механички додатно хомогенизовани провлачењем кроз наставке аутоматских пипета од 1 mL и 200 µL, сваки узорак на исти начин. По добијању хомогених раствора, узорци су центрифугирани на 14000 обротаја на 4 °C током 15 минута. Овако добијени супернатанти су коришћени за даље анализе и пренети у нове микроцентрифушке епрувете и чувани на -80 °C до извођења ELISA тестова.

Мерење концентрације цитокина је урађено комерцијално доступним сендвич-ELISA тестовима тачно према упутству произвођача (*Elabscience*). Узорци плазме и хомогената ткива су најпре одмрзнути на собној температури, а затим су вршене анализе. Укратко, у микротитарске ELISA плоче претходно обложене антителим специфичним за одређени интерлеукин се додају узорци и стандарни раствори, плоче се инкубирају, те долази до реакције антиген-антитело. По одливању микротитарских плоча у сваки бунарић се додаје биотиниловано антитело за детекцију које се везује за наглашене антиген-антитело комплексе и плоче инкубирају. По испирању, у бунариће се додаје конјугат стрептавидин-пероксидаза рена, плоче се инкубирају и долази до реакције повезивања биотин-авидин. Након поновног испирања плоча, додаје се супстрат за пероксидазу и плоче инкубирају. У овој реакцији пероксидације се развија жута боја а интензитет боје одговара концентрацији цитокина. Реакција ензим-супстрат се завршава додавањем заустављајућег раствора (енгл. *stop solution*), при чему се жута боја мења у плаву. Интензитет развијене плаве боје је директно пропорционалан концентрацији измереног цитокина. Апсорбанција (оптичка густина, О.Г.) узорака и стандарда је измерена одмах по додавању заустављајућег раствора, на таласној дужини од 450 nm на аутоматизованом читачу плоча (*Tecan*, Дорсет, УК).

Концентрације цитокина су израчунате поређењем О.Г. вредности узорака са стандардима коришћењем логистичке криве са четири параметра у рачунарском програму *GraphPad Prism* верзија 5.0. Добити резултати за узорке плазме су изражени као *pg/mL*, док су резултати за хомогенате ткива изражени као *pg/mL/mg* тежине влажног ткива.

Стандардне криве за сваки измерени цитокин су конструисане у програму *GraphPadPrism*, на основу 5 или 6 раствора познатих концентрација. Затим је у истом програму извршено интерполирање за израчунавање концентрације одговарајућег цитокина у узорцима (интервал поверења 95%) (Графикон 2). За узорке IL-17A чија је оптичка густина била испод границе детекције (*Limit of detection* енгл. LOD), концентрације су у циљу статистичке анализе изражене као 0. Овај приступ је раније коришћен у студији која је истраживала системску склерозу, где су КГ и група болести мањег степена имале нивое IL-17A испод LOD и стога су користиле 0 пг/мЛ као медијану да би извршиле статистичку анализу (Robak и сар. 2019).



Графикон 2. Стандардне криве за одређивање концентрације интерлеукина у узорцима.

а) Стандардна крива на основу које су рачунате концентрације IL-6. На у-оси су приказане измерене вредности оптичке густине на 450 nm, док је на x-оси приказан логаритам концентрације IL-6 (пг/мЛ). Коефицијент детерминације (R^2) за дату стандардну криву је износио 0,9999. Доња граница детекције за овај есеј износи 7,81 пг/мЛ. б) Стандардна крива на основу које су рачунате концентрације IL-10. На у-оси су приказане измерене вредности оптичке густине на 450 nm, док је на x-оси приказан логаритам концентрације IL-10 (пг/мЛ). Коефицијент детерминације (R^2) за дату стандардну криву је износио 0,9999. Доња граница детекције за овај есеј износи 7,81 пг/мЛ. в) Стандардна крива на основу које су рачунате концентрације IL-17. На у-оси су приказане измерене вредности оптичке густине на 450 nm, док је на x-оси приказан логаритам концентрације IL-17 (пг/мЛ). Коефицијент детерминације (R^2) за дату стандардну криву је износио 0,9996. Доња граница детекције за овај есеј износи 31,25 пг/мЛ. г) Стандардна крива на основу које су рачунате концентрације IL-23. На у-оси су приказане измерене вредности оптичке густине на 450 nm, док је на x-оси приказан логаритам концентрације IL-23 (пг/мЛ). Коефицијент детерминације (R^2) за дату стандардну криву је износио 0,9999. Доња граница детекције за овај есеј износи 39,06 пг/мЛ.

3.7 Статистичка анализа

Подаци категоријалног типа су приказана као апсолутни и релативни бројеви у форми процента. Нумерички подаци су представљени као средња вредност (\pm СД) или као медијана (интерквartilни опсег, минимална/максимална вредност), у зависности од расподеле података. За процену нормалности расподеле нумеричких података коришћен је *Shapiro–Wilk* тест. Постојање разлике између четири независне групе је процењивано једнофакторском *ANOVA*-ом са *Bonferroni* тестом за међугрупно поређење за све параметре са нормалном расподелом. За непараметарске податке, разлике између група

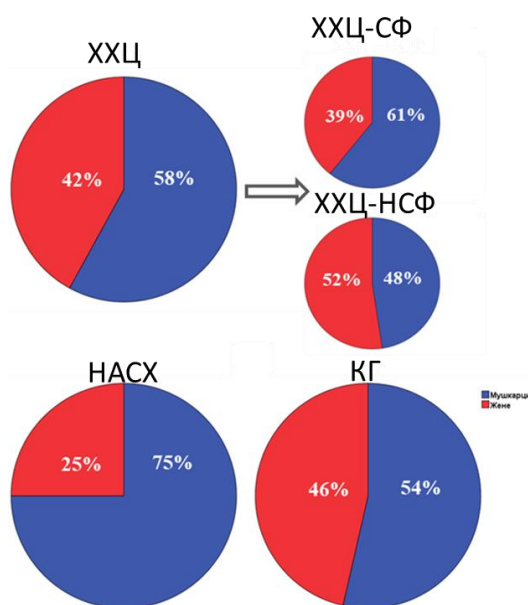
су процењене коришћењем *Kruskal–Wallis* непараметарског теста, са *Mann–Whitney* тестом за међугрупна поређења. *Pearson's* тест корелације је коришћен у циљу утврђивања облика повезаности између нивоа испитиваних цитокина са лабораторијским параметрима и патохистолошким стадијумума фиброзе јетре између група, а резултати графички обрађени у статистичком софтверу *StatSoft Statistica 12.0*. Да би се проценили могући фактори повезани са различитим хроничним обољењима јетре (ХХЦ и НАСХ), као и разлике између подгрупа (ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ), изведена је логистичка регресиона анализа. Најпре је урађено униваријантно, а затим мултиваријантно моделовање *Backward Wald* методом. Као резултат регресионе анализе наведени су однос шансе (*engl. odds ratio / OR*), 95% интервал поверења односа шансе (95% CI OR) и *p* вредност. Процењена је и област испод *ROC* криве, *p* вредност, сензитивност и специфичност за цитокине плазме и ткива као потенцијалне биомаркере за разликовање ХБЈ (ХХЦ, НАСХ, ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ) од здравих контрола, као и између подгрупа болести. Препоручена гранична вредност је процењена на основу Јуденовог индекса и одређена за све цитокине који су показали површину испод *ROC* криве од најмање 50%. Такође, графички је приказана *ROC* крива за разликовање ХХЦ-НСФ од ХХЦ-СФ пацијената. Све статистичке методе су сматране значајним на нивоу од 0,05. Комплетна статистичка анализа је изедена у статистичком софтверу *IBM SPSS* вер. 26

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 Социо-демографске карактеристике испитаника

4.1.1 Дистрибуција испитаника према полу

У ХХЦ групи испитаника учествовало је 58% мушкараца и 42% жена, од којих је 61% особа мушког, а 39% особа женског пола имало сигнификантну фиброзу јетре (стадијум Ф3 или Ф4). У НАСХ групи испитаника такође је преовладавао мушки пол са учесталашћу од 75%, док је у групи здравих испитаника било 54% особа мушког а 46% особа женског пола (Графикон 3).



Графикон 3. Дистрибуција испитаника према полу у свим испитиваним групама.
ХХЦ- хронични хепатитис Ц; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

4.1.2 Дистрибуција испитаника према старости

Просечна старост у ХХЦ групи испитаника била је $48,0 \pm 14,2$ година. У подгрупи ХХЦ пацијената са сигнификантном фиброзом $46,3 \pm 13,6$ година, док је у подгрупи са несигнификантном фиброзом била $54,2 \pm 15,3$ година. У НАСХ групи испитаника средња вредност узраста била је $45,9 \pm 9,8$ година, док је у контролној групи била $42,5 \pm 13,3$ године. Између испитиваних група није било статистички значајне разлике у просечној старости ($p=0,167$).

4.1.3 Присуство коморбидитета

Удружене болести имало је укупно 39 испитаника из ХХЦ и НАСХ групе, што је претстављало 32%. Најучесталија била је хипертензија која се у ХХЦ-НСФ групи јављала са учесталашћу од 27%, у ХХЦ-СФ групи 13%, док се у НАСХ групи јављала са учесталашћу од 30%. Дијабетес мелитус је друга најчешћа удружена болест која се на највећом учесталашћу од 20% јављала у НАСХ групи, док је у ХХЦ групи била

заступљена у мањем проценту и то 10% у ХХЦ-СФ и 6% у ХХЦ-НСФ групи испитаника. Хипотиреозу је имао један испитаник из НАСХ групе, те је њена затупљеност била свега 5%. Није било јављања других удружених болести.

4.2 Испитивање концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17

Из узорака плазме свих испитаника, као из узорака ткива испитаника са ХБЈ, одређение су концентрације проинфламаторних цитокина (IL-23, IL-17A, IL-6) и једног антиинфламаторног цитокина (IL-10).

4.2.1 Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17

4.2.1.1 Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код ХХЦ, НАСХ и контролне групе

Након добијених резултата, непараметарским тестовима извршено је поређење медијане добијених вредности између три испитиване групе- ХХЦ, НАСХ и КГ. Вредности су приказане као средње вредности (\pm стандардна девијација) и као медијана (минимална/максимална вредност) а *p* вредност као групно поређење коришћењем ANOVA и пост-хок Mann–Whitney testa и приказани су у Табели 3.

Табела 3. Вредности концентрација цитокина IL-6, IL-10, IL-17A, IL-23 у плазми у три испитиване групе.

| Цитокини (пг/мЛ) | ХХЦ (n=36) | НАСХ (n=19) | КГ (n=20) | <i>p</i> вредност* |
|---------------------|---|--|--|--------------------|
| IL-6 | 15,6 \pm 24,2 (9,3 (1,0-129,9)) | 12,7 \pm 8,7 (12,6 (2,2-33,4)) | 6,0 \pm 4,3 (3,9 (1,0-17,6)) | <0,001 |
| IL-10 | 85,2 \pm 64,7 (74,7 (7,8-315,8)) | 134,5 \pm 57,5 (137,5 (7,8-229,4)) | 155,9 \pm 66,4 (162,6 (31,3-279,5)) | <0,001 |
| IL-17A | 11,3 \pm 16,6 (17,5 (5,4-84,1)) | 29,5 \pm 13,0 (25,6 (13,6-65,8)) | 1,7 \pm 4,2 ** (12,0 (0,0-13,5)) | <0,001 |
| IL-23 | 139,1 \pm 190,3 (92,6 (15,2-1145,4)) | 133,0 \pm 71,4 (131,8 (35,4-349,8)) | 68,4 \pm 40,2 (66,1 (6,8-157,3)) | 0,019 |

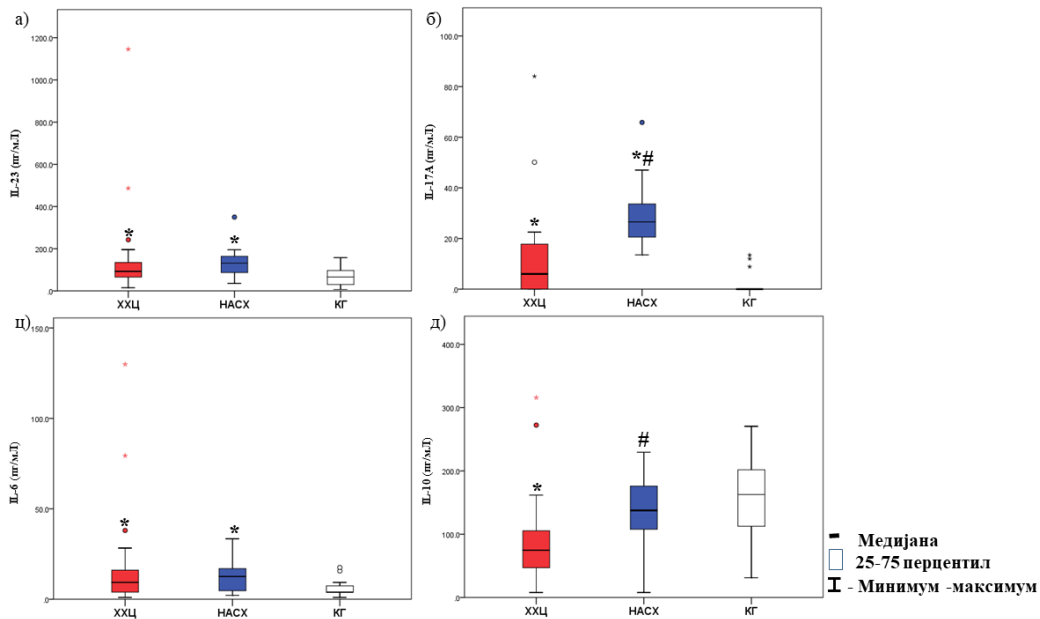
*за ниво значајности од 0,05

** Већина пацијената из КГ групе је имала нивое испод нивоа детекције, те су за те испитанике средње вредности у плазми рачунате као нула.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; IL-интерлеукин.

Између испитиваних група уочена је статистичка значајност за све испитиване цитокине. Вредности плазма концентрација сва три проинфламаторна цитокина (IL-23, IL-17A и IL-6) биле су статистички значајно веће у ХХЦ у поређењу са здравим контролама ($p=0,019$, $p=0,002$ и $p=0,028$, редом), као и у НАСХ групи такође у поређењу са здравим контролама ($p=0,001$, $p<0,001$ и $p=0,018$, редом). Поред тога, статистички веће концентрације IL-17A су измерене у НАСХ групи у односу на ХХЦ групу испитаника ($p<0,001$). Концентрације антиинфламаторног IL-10 биле су статистички значајно ниже у ХХЦ групи у односу на НАСХ као и у односу на контролну групу ($p<0,001$ и $p=0,001$, редом). Између осталих група нису забележене статистичке

значајности. Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 4).



Графикон 4. Вредности IL-23 (а), IL-17A (б), IL-6 (ц) и IL-10 (д) у у плазми у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохонепатитис; КГ- контролна група; IL-интерлеукин; * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

4.2.1.2 Испитивање плазма концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код подгрупе ХХЦ (ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ), НАСХ и контролне групе

Вредности испитиваних цитокина (IL-23, IL-17A, IL-6 и IL-10) за НАСХ и КГ претходно су приказане у Табели 3, док су вредности за подгрупе ХХЦ – ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ приказане у Табели 4, такође као средње вредности \pm СД и као медијана (минимална/максимална вредност) а p вредност као групно поређење коришћењем ANOVA и пост-хок Mann–Whitney теста.

Табела 4. Вредности концентрација цитокина IL-6, IL-10, IL-17A, IL-23 у плазми за ХХЦ подгрупе- ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ.

| Цитокини (пг/мЛ) | ХХЦ-НСФ (n=20) | ХХЦ-СФ (n=16) | p вредност* |
|------------------|---|--|---------------|
| IL-6 | 19,2 \pm 31,7*** (7,3 (1,0-129,9)) | 11,2 \pm 7,1 (10,1 (1,0-28,3)) | 0,626 |
| IL-10 | 98,7 \pm 54,2 (79,4 (33,3-272,4)) | 68,4 \pm 74,2 (59,4 (7,8-315,8)) | 0,020 |
| IL-17A | 4,9 \pm 18,8** (8,9 (5,4-84,1)) | 19,4 \pm 9,0 (17,8 (6,6-50,1)) | <0,001 |
| IL-23 | 170,7 \pm 250,4 (92,6 (37,4-1145,4)) | 99,5 \pm 45,4 (88,7 (15,2-195,8)) | 0,789 |

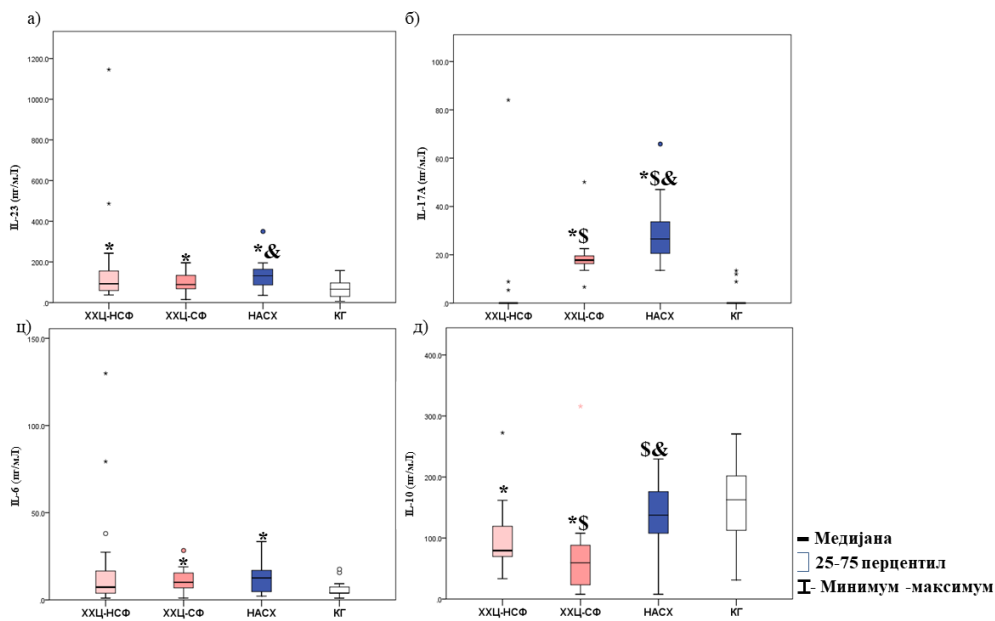
*за ниво значајности од 0,05

** Већина пацијената из НСФ групе је имала нивое испод нивоа детекције, те су за те испитанике средње вредности у плазми рачунате као нула.

***Испитаници из КГ су имали најниже измерен ниво у плазми, при чему је 8 од 20 узорака имало вредности испод нивоа детекције (Level of detection енгл. LOD)

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; ИЛ-интерлеукин.

Између испитиваних група уочена је различита статистичка значајност за све испитиване цитокине. Вредности ИЛ-23 у плазми биле су статистички значајно веће у све три групе испитаника са ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ у односу на здраве испитанике ($p=0,030$, $p=0,050$ и $p=0,001$, редом). Вредност овог цитокина је, поред тога, била је статистички већа и у НАСХ групи у односу на ХХЦ-СФ групу болесника ($p=0,050$). Ниво ИЛ-17А био је значајно већи у ХХЦ-СФ и НАСХ групама у односу на КГ ($p<0,001$ у оба случаја) али и у односу на ХХЦ-НСФ групу испитаника ($p<0,001$ у оба случаја), док је значајно већи ниво забележен и у НАСХ групи у односу на ХХЦ-СФ групу болесника ($p=0,003$). Вредност ИЛ-6 у плазми била је значајно већа у ХХЦ-СФ и НАСХ групама у односу на здраве испитанике ($p=0,012$ и $p=0,018$), док између других група није забележена статистичка значајност. Ниво антиинфламаторног ИЛ-10 био је статистички значајно нижи у ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ групама у односу на контролну групу ($p=0,05$ и $p<0,001$, редом). У ХХЦ-НСФ групи је овај цитокин имао ниже вредности у односу на ХХЦ-СФ групу ($p=0,020$), док је у НАСХ групи вредност ИЛ-10 била статистички значајно већа у односу на ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ подгрупе ($p=0,019$ и $p=0,001$). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 5).



Графикон 5. Вредности ИЛ-23 (а), ИЛ-17А (б), ИЛ-6 (ц) и ИЛ-10 (д) у плазми у четири испитиване групе.

Скраћенице; ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ИЛ-интерлеукин; * $p<0,05$ у односу на КГ; \$ $p<0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p<0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

4.2.2 Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17

4.2.2.1 Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код ХХЦ и НАСХ групе

Након добијених резултата непараметарским тестовима извршено је поређење медијане добијених вредности између две испитиване групе- ХХЦ и НАСХ. Вредности су приказане као средње вредности (\pm стандардна девијација) и као медијана (минимална/максимална вредност) а p вредност као групно поређење коришћењем ANOVA и пост-хок *Mann-Whitney* testa и приказани су у Табели 5.

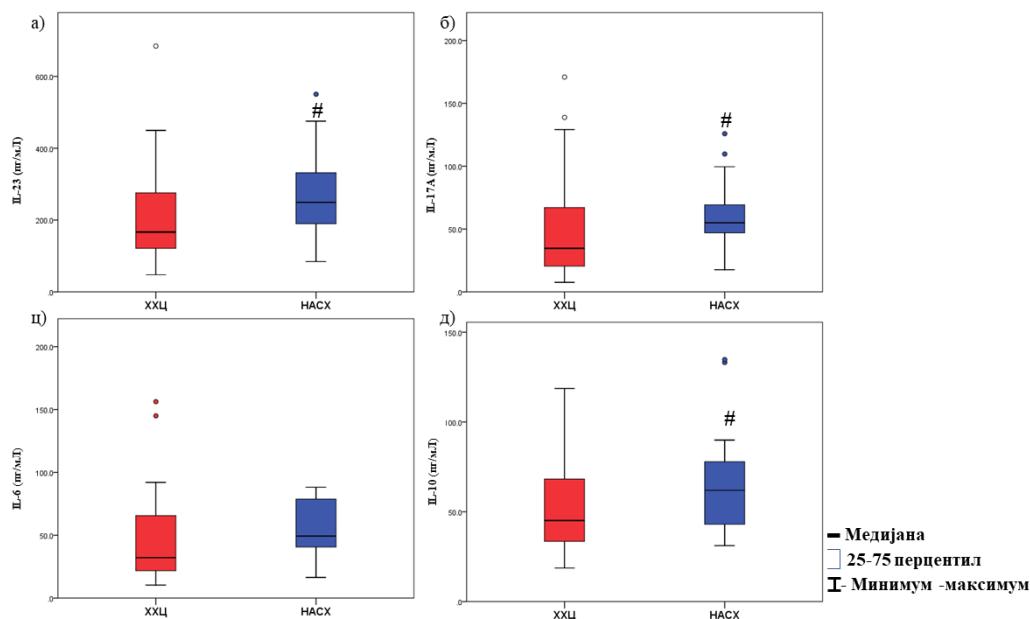
Табела 5. Вредности ткивних концентрација цитокина IL-6, IL-10, IL-17A, IL-23 у две испитиване групе.

| Цитокини (пг/мЛ) | ХХЦ (n=36) | НАСХ (n=19) | p вредност* |
|---------------------|---|---|------------------|
| IL-6 | 45,5 \pm 36,3 (32,2 (10,4-156,2)) | 54,1 \pm 22,6 (49,4 (16,4-88,1)) | 0,091 |
| IL-10 | 49,9 \pm 23,23 (45,1 (10,4-118,6)) | 68,0 \pm 32,5 (61,9 (31,1-134,7)) | 0,053 |
| IL-17A | 47,5 \pm 39,5 (34,6 (10,4-170,9)) | 63,0 \pm 29,1 (54,9 (17,7-125,8)) | 0,036 |
| IL-23 | 203,6 \pm 131,8 (166,6 (10,4-684,4)) | 276,1 \pm 134,9 (249,2 (84,2-550,3)) | 0,052 |

*за ниво значајности од 0,05

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; IL-интерлеукин.

Између испитиваних група уочена је статистичка значајност за три испитивана цитокина. Концентрације IL-23, IL-17A и IL-10 биле су статистички значајно веће у НАСХ групи у односу на ХХЦ групу болесника ($p=0,052$, $p=0,036$ и $p=0,053$, редом), док вредности IL-6 нису показале статистичку значајност. Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 6).



Графикон 6. Вредности IL-23 (а), IL-17А (б), IL-6 (ц) и IL-10 (д) у ткиву јетре у две испитиване групе.

Скраћенице: XXЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; # $p < 0,05$ у односу на XXЦ.

4.2.2.2 Испитивање ткивне концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 код подгрупа XXЦ (XXЦ-НСФ И XXЦ-СФ) и НАСХ групе

Ткивне вредности испитиваних цитокина (IL-23, IL-17А, IL-6 и IL-10) у НАСХ групи претходно су приказане у Табели 5, док су вредности за подгрупе XXЦ – XXЦ-НСФ и XXЦ-СФ приказане у Табели 6, такође као средње вредности \pm СД и као медијана (минимална/максимална вредност) а p вредност као групно поређење коришћењем ANOVA и пост-хок Mann–Whitney теста.

Табела 6. Вредности ткивних концентрација цитокина IL-6, IL-10, IL-17А, IL-23 за XXЦ подгрупе- XXЦ-НСФ и XXЦ-СФ.

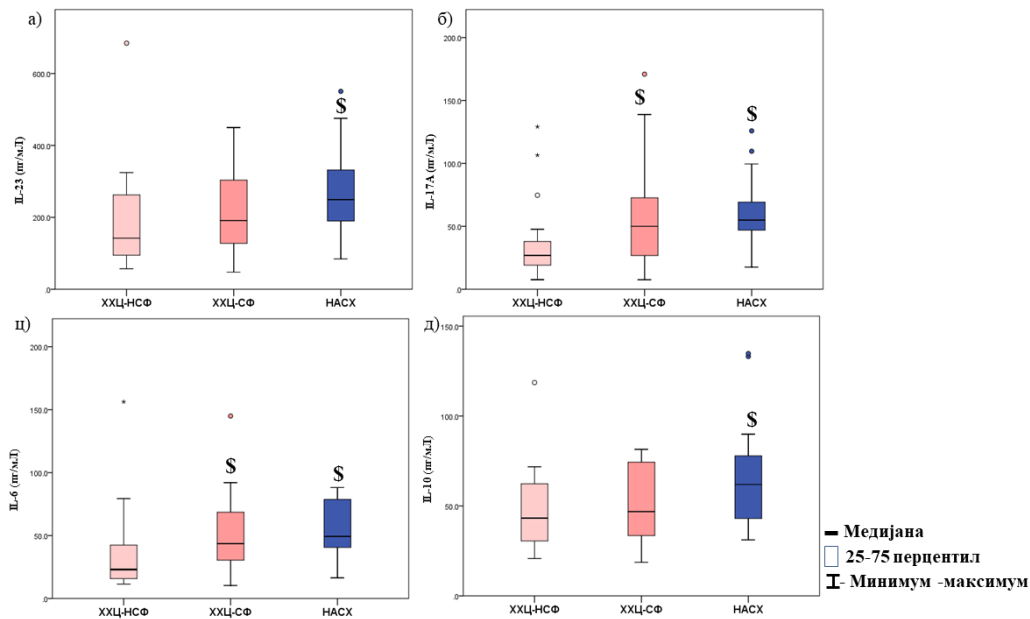
| Цитокини (пг/мЛ) | XXЦ-НСФ (n=20) | XXЦ-СФ (n=16) | p вредност* |
|------------------|---|---|---------------|
| IL-6 | 38,0 \pm 37,4 (23,06 (11,5-156,2)) | 54,1 \pm 34,2 (43,5 (10,4-145,0)) | 0,050 |
| IL-10 | 48,6 \pm 23,7 (43,3 (7,6-118,6)) | 51,7 \pm 23,4 (46,9 (18,7-81,5)) | 0,553 |
| IL-17А | 37,8 \pm 32,1 (26,7 (7,6-130,1)) | 60,7 \pm 45,7 (50,0 (7,5-170,9)) | 0,050 |
| IL-23 | 195,3 \pm 147,1 (142,2 (56,9-684,4)) | 215,0 \pm 112,2 (191,2 (47,5-449,7)) | 0,304 |

*за ниво значајности од 0,05

Скраћенице: XXЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; XXЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; IL-интерлеукин.

Вредности IL-23, IL-17А, IL-6 и IL-10 у ткиву јетре биле су статистички значајно веће у НАСХ групи у односу на XXЦ-НСФ групу болесника ($p=0,043$, $p=0,003$, $p=0,017$

и $p=0,050$, редом), док су концентрације IL-17A и IL-6 биле веће и у групи ХХЦ-СФ у односу на ХХЦ-НСФ групу испитаника ($p=0,050$ у оба случаја). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 7).



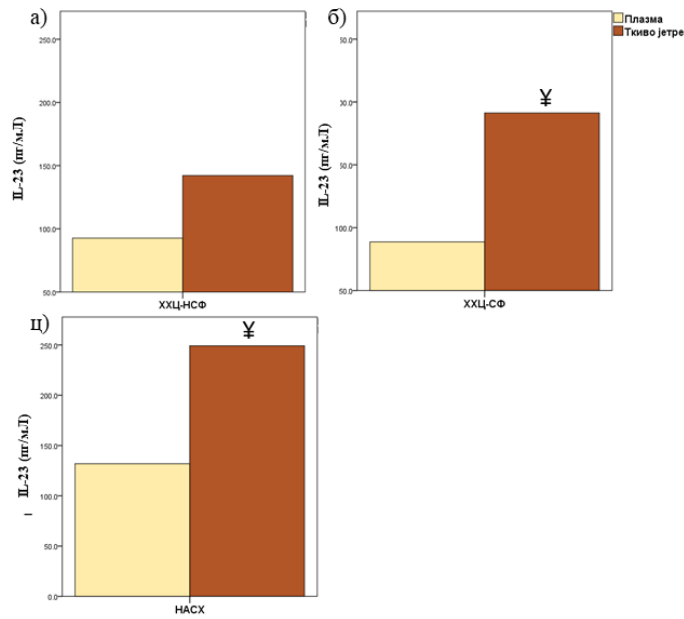
Графикон 7. Вредности IL-23 (а), IL-17A (б), IL-6 (ц) и IL-10 (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; * $p<0,05$ у односу на КГ; \$ $p<0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p<0,05$ у односу на ХХЦ-СФ

4.2.3 Поређење плазма и ткивних концентрација цитокина код ХХЦ и НАСХ групе

Након добијених резултата плазма и ткивних концентрација испитиваних цитокона (IL-6, IL-10, IL-17A и IL-23) у ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ групама, непараметарским тестовима учињено је поређење медијане њихових вредности.

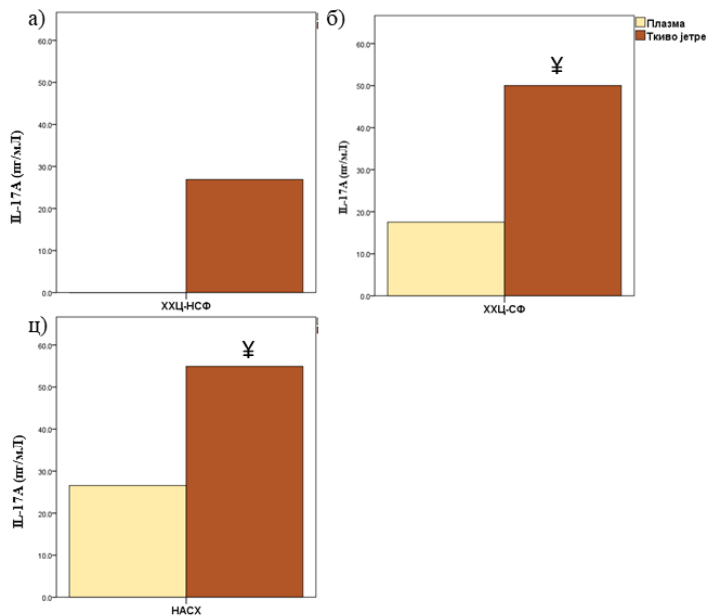
IL-23 био је статистички значајно већи у ткиву јетре у односу на плазму у ХХЦ-СФ ($p=0,008$) и НАСХ групи болесника ($p=0,004$), док у ХХЦ-НСФ групи није показао статистичку значајност ($p=0,099$). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 8).



Графикон 8. Вредности IL-23 у ХХЦ-НСФ (а), ХХЦ-СФ (б) и НАСХ (ц) групама испитаника.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; ¥ $p < 0,05$ у односу на плазму.

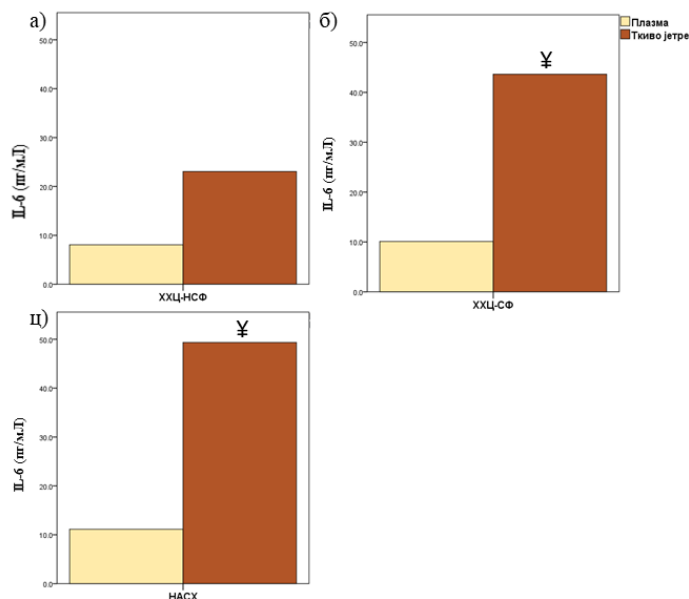
IL-17A био је статистички значајно већи у ткиву јетре у односу на плазму у све три групе болесника – ХХЦ-НСФ ($p=0,001$), ХХЦ-СФ ($p=0,002$) и НАСХ ($p=0,002$). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 9).



Графикон 9. Вредности IL-17A у ХХЦ-НСФ (а), ХХЦ-СФ (б) и НАСХ (ц) групама испитаника.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; ¥ $p < 0,05$ у односу на плазму.

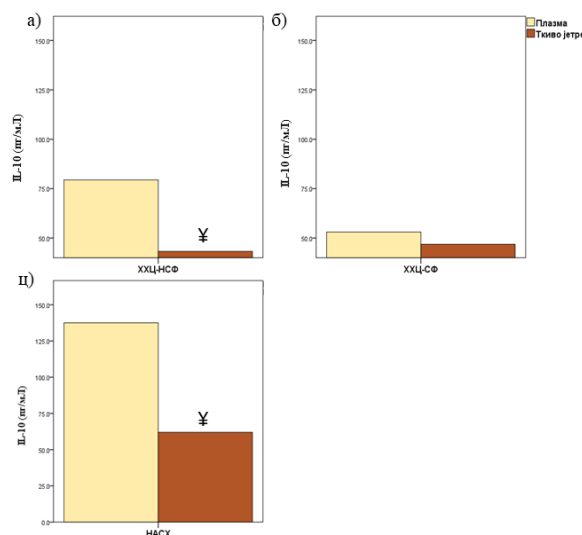
Концентрација IL-6 била је статистички значајно већа у ткиву јетре у односу на плазму у ХХЦ-СФ ($p=0,001$) и НАСХ групама болесника ($p=0,001$). У ХХЦ-НСФ групи није било статистичке значајности ($p=0,109$). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 10).



Графикон 10. Вредности IL-6 у ХХЦ-НСФ (а), ХХЦ-СФ (б) и НАСХ (ц) групама испитаника.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; ¥ $p < 0,05$ у односу на плазму.

Концентрације IL-10 биле су статистички значајно ниже у ткиву јетре у односу на плазму у ХХЦ-НСФ ($p=0,001$) и НАСХ групама болесника ($p=0,011$), док у ХХЦ групи болесника са сигнификантном фиброзом није било значајности у концентрацији овог цитокина у плазми у односу на ткиво јетре ($p=0,875$). Вредности су приказане као медијана (минимална/максимална вредност) (Графикон 11).



Графикон 11. Вредности IL-10 у ХХЦ-НСФ (а), ХХЦ-СФ (б) и НАСХ (ц) групама испитаника.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; IL-интерлеукин; ¥ $p < 0,05$ у односу на плазма.

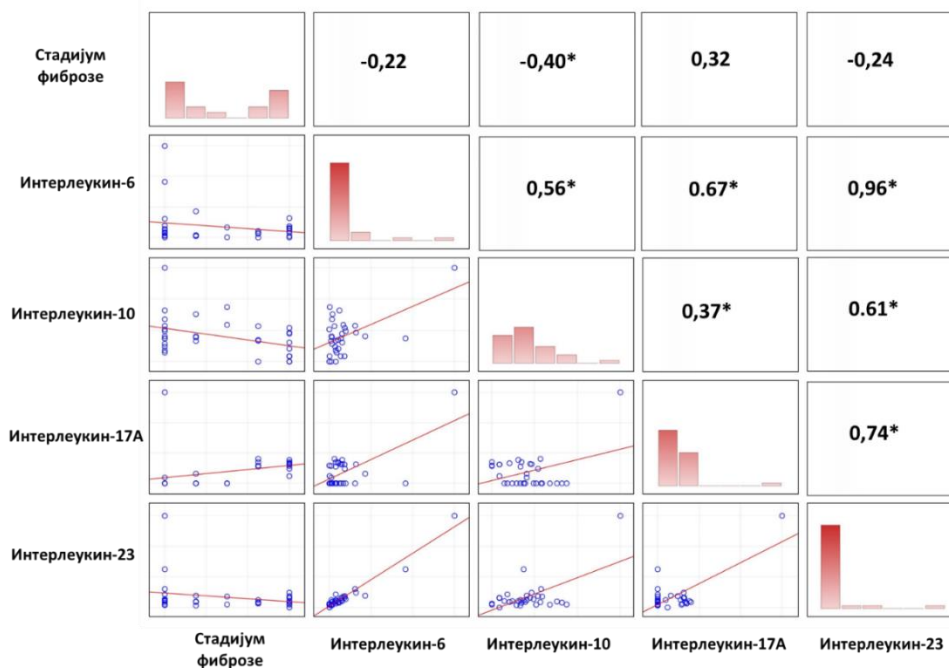
4.3 Корелација концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе

У циљу процене повезаности између нивоа цитокина осовине IL-23/IL-17 са биохемијским параметрима и стадијумом фиброзе, урађене су корелационе матрице. За сваку корелациону анализу израчунати су *Pearson's* коефицијенти корелације. Резултати корелационе анализе су представљени корелационом матрицом. Дистрибуција варијабли приказана је хистиограмима који су на матрици позиционирани дијагонално. Доњи троугаони део матрице је састављен од биваријатних дијаграма дистрибуције са интерполарном линијом регресије, која показује међусобни однос између варијабли. Горњи троугаони део матрице је састављен од Пирсонових коефицијената корелације.

4.3.1 Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре

4.3.1.1 Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код ХХЦ групе испитаника

На Слици 9. у групи испитаника са ХХЦ приказана је повезаност стадијума фиброзе и плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у плазми. Корелациона анализа показала је да постоји негативна повезаност између стадијума фиброзе јетре и концентрације IL-10 у плазми. Такође показана је позитивна повезаност концентрације IL-6 у плазми са концентрацијама IL-10, IL-17A и IL-23.

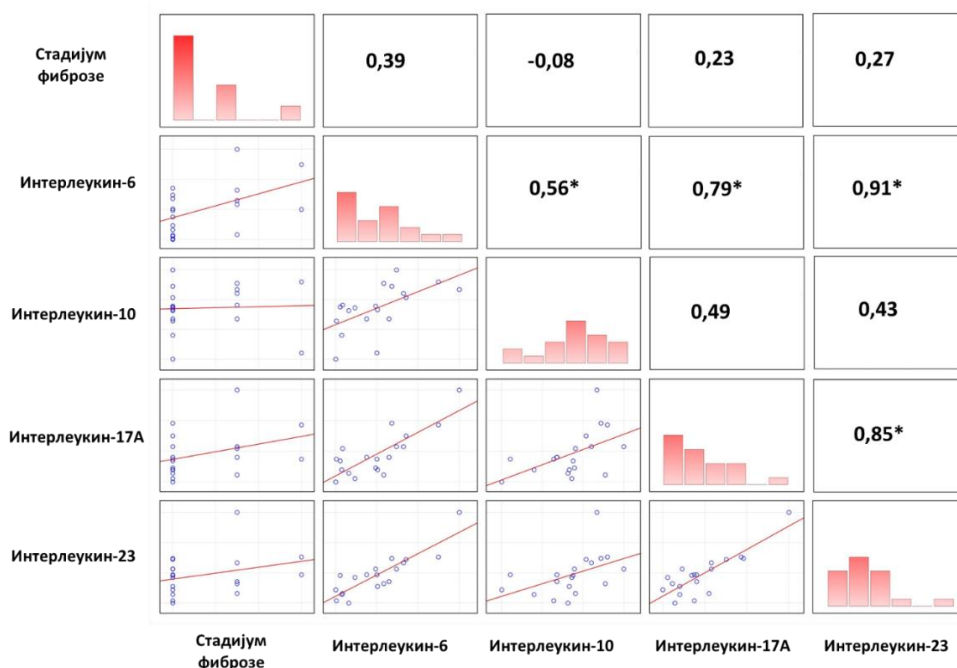


Слика 9. Повезаност стадијума фиброзе и концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у плазми у ХХЦ групи.

Корелациона матрица показује међусобну зависност између варијабли укључених у факторску анализу: стадијума фиброзе јетре и концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 у плазми. Хистограми који показују дистрибуцију укључених варијабли су дијагонално на 1:1 линији матрице. Доњу троугаону матрицу представљају биваријатни дијаграми расејања са глатком линијом регресије која показује међусобни однос између варијабли. Горња троугаона матрица је састављена од Пирсонових продукт-момент коефицијената корелације који показују међусобни однос између варијабли. Статистички значајни нивои корелације су обележени: * $p < 0,05$.

4.3.1.2 Корелација плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код НАСХ групе испитаника

На Слици 10. у групи испитаника са НАСХ приказана је повезаност стадијума фиброзе и плазма концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у плазми. Корелациона анализа показала је да не постоји значајна повезаност стадијума фиброзе са концентрацијама цитокина осовине IL-23/IL-17 у плазми. Постоји позитивна повезаност између плазма концентрација IL-6 са IL-10, IL-17А и IL-23, као и позитивна повезаност између концентрација IL-17А и IL-23 у плазми.



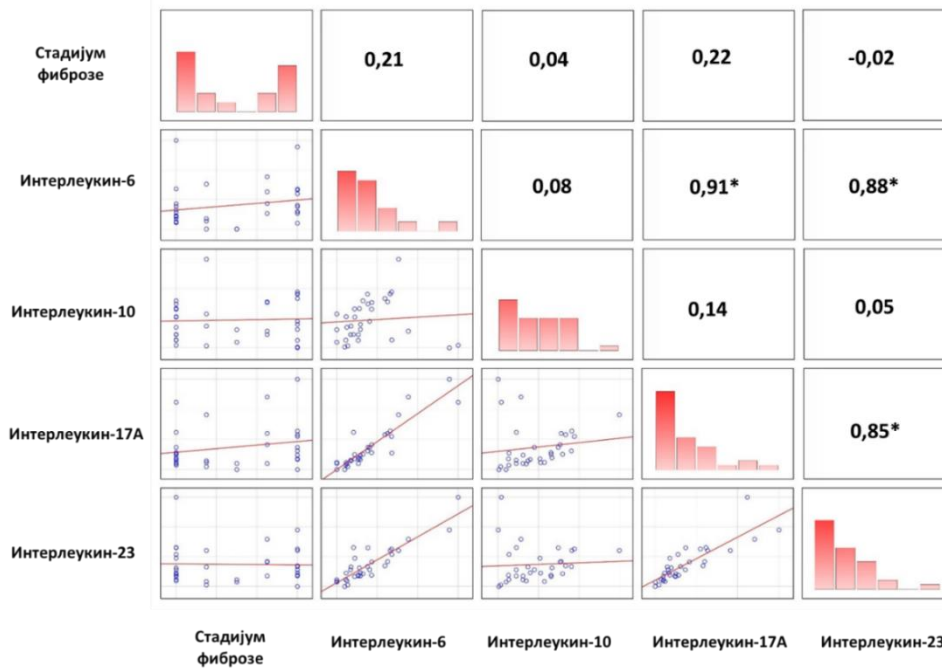
Слика 10. Повезаност стадијума фиброзе и концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у плазми у НАСХ групи.

Корелациона матрица показује међусобну зависност између варијабли укључених у факторску анализу: стадијума фиброзе јетре и концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 у плазми. Хистограми који показују дистрибуцију укључених варијабли су дијагонално на 1:1 линији матрице. Доњу троугаону матрицу представљају биваријатни дијаграми расејања са глатком линијом регресије која показује међусобни однос између варијабли. Горња троугаона матрица је састављена од Пирсонових продукт-момент коефицијената корелације који показују међусобни однос између варијабли. Статистички значајни нивои корелације су обележени: * $p < 0,05$.

4.3.2 Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре

4.3.2.1 Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код ХХЦ групе испитаника

На Слици 11. у групи испитаника са ХХЦ приказана је повезаност стадијума фиброзе и ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у ткиву јетре. Корелациона анализа показала је да не постоји значајна повезаност стадијума фиброзе са ткивним концентрацијама цитокина осовине IL-23/IL-17. Показана је позитивна повезаност концентрација IL-6 у ткиву јетре са концентрацијама IL-17А и IL-23, као и позитивна повезаност ткивних концентрација IL-17А и IL-23.

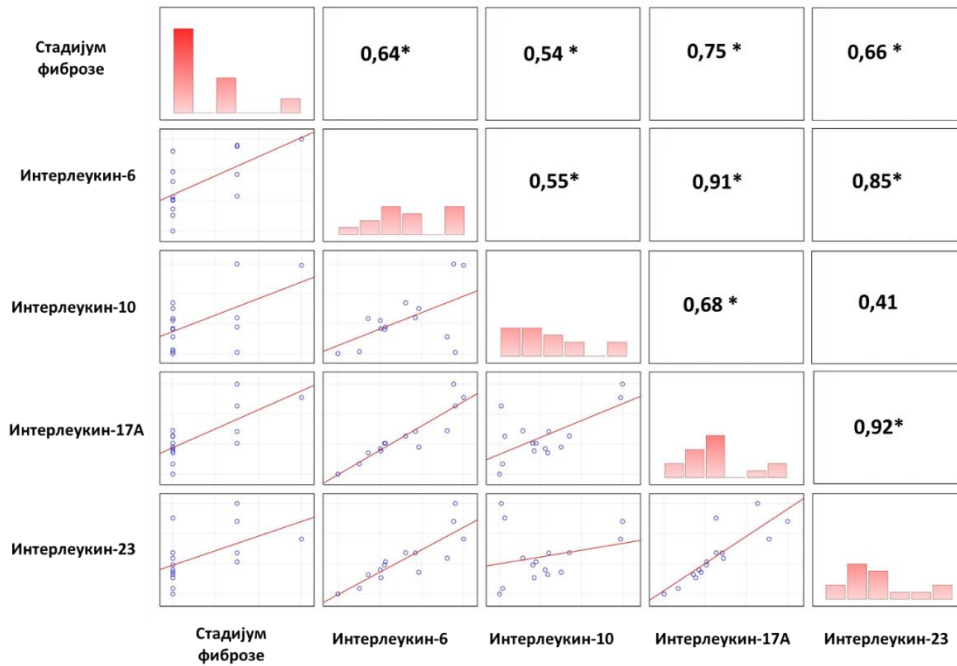


Слика 11. Повезаност стадијума фиброзе и концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у ткиву јетре у ХХЦ групи.

Корелациона матрица показује међусобну зависност између варијабли укључених у факторску анализу: стадијума фиброзе јетре и концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 у ткиву јетре. Хистограми који показују дистрибуцију укључених варијабли су дијагонално на 1:1 линији матрице. Доњу троугаону матрицу представљају биваријатни дијаграми расејања са глатком линијом регресије која показује међусобни однос између варијабли. Горња троугаона матрица је састављена од Пирсонових продукт-момент коефицијената корелације који показују међусобни однос између варијабли. Статистички значајни нивои корелације су обележени: * $p < 0,05$.

4.3.2.2 Корелација ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 са стадијумом фиброзе јетре код НАСХ групе испитаника

На Слици 12. у групи испитаника са НАСХ приказана је повезаност стадијума фиброзе и ткивних концентрација цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у ткиву јетре. Корелациона анализа показала је да постоји значајна повезаност стадијума фиброзе са ткивним концентрацијама цитокина осовине IL-23/IL-17 (IL-6, IL-17A, IL-23 и IL-10). Показана је позитивна повезаност концентрације IL-6 у ткиву јетре са концентрацијама IL-10, IL-17A и IL-23, позитивна повезаност ткивних концентрација IL-17A и IL-10, као и концентрација IL-17A и IL-23.



Слика 12. Повезаност стадијума фиброзе и концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 као и међусобна повезаност цитокина у ткиву јетре у НАСХ групи.

Корелациона матрица показује међусобну зависност између варијабли укључених у факторску анализу: стадијума фиброзе јетре и концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 у ткиву јетре. Хистограми који показују дистрибуцију укључених варијабли су дијагонално на 1:1 линији матрице. Доњу троугаону матрицу представљају биваријатни дијаграми расејања са глатком линијом регресије која показује међусобни однос између варијабли. Горња троугаона матрица је састављена од Пирсонових продукт-момент коефицијената корелације који показују међусобни однос између варијабли. Статистички значајни нивои корелације су обележени: * $p < 0,05$.

4.4 Логистичка регресиона анализа

Како би се разликовале главне студијске групе (ХХЦ и НАСХ) од здраве популације (КГ), као и како би се утврдила разлика између ХХЦ подгрупа (ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ) према концентрацији цитокина у плазми/ткиву, извршена је логистичка регресиона анализа, а резултати су приказани у Табели 7. Веће концентрације IL-23 у плазми је биле су повезане са НАСХ-ом ($p < 0,05$), док су веће концентрације IL-17А у плазми и ниже концентрације IL-10 биле повезане са ХХЦ-ом ($p < 0,05$), све у поређењу са здравим контролама. Такође, ниже концентрације IL-10 у плазми биле су специфичне за ХХЦ-НСФ, док су веће концентрације плазма IL-17А биле специфичне за ХХЦ-СФ у поређењу са здравим контролама ($p < 0,05$). ХХЦ пацијенти збирно, као и испитаници из подгрупа ХХЦ, ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ разликују се од болесника са НАСХ-ом према нижим концентрацијама IL-17А у плазми ($p < 0,05$ у свим случајевима). Користан параметар за разликовање пацијената ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ био је IL-10 у плазми, где су ниже вредности биле повезане са ХХЦ-СФ. Сви закључци су изведени након прилагођавања старости и пола.

Табела 7. Логистичка регресија у свим испитиваним групама.

| | OR | 95%CI OR | p вредност | Прилагођена p вредност |
|---------------------------|-------|-----------|--------------|------------------------|
| КГ vs. ХХЦ | | | | |
| Плазма IL-10 | 0,974 | 0,96-0,99 | 0,001 | 0,001 |
| Плазма IL-17A | 1,176 | 1,03-1,34 | 0,016 | 0,035 |
| КГ vs. НАСХ | | | | |
| Плазма IL-23 | 1,026 | 1,01-1,04 | 0,005 | 0,009 |
| КГ vs. ХХЦ-НСФ | | | | |
| Плазма IL-10 | 0,984 | 0,97-0,99 | 0,012 | 0,014 |
| КГ vs. ХХЦ-СФ | | | | |
| Плазма IL-17A | 1,566 | 1,14-2,14 | 0,005 | 0,005 |
| НАСХ vs. ХХЦ | | | | |
| Плазма IL-17A | 0,915 | 0,86-0,98 | 0,007 | 0,005 |
| НАСХ vs. ХХЦ-НСФ | | | | |
| Плазма IL-17A | 0,900 | 0,84-0,97 | 0,004 | 0,007 |
| НАСХ vs. ХХЦ-СФ | | | | |
| Плазма IL-17A | 0,763 | 0,61-0,96 | 0,021 | 0,020 |
| ХХЦ-НСФ vs. ХХЦ-СФ | | | | |
| Плазма IL-10 | 0,983 | 0,97-0,99 | 0,013 | 0,032 |

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ-контролна група; IL-интерлеукин; OR- Odds Ratio; CI-интервал поверења (Confidence interval, енгл)

4.5 Анализа дијагностичке тачности

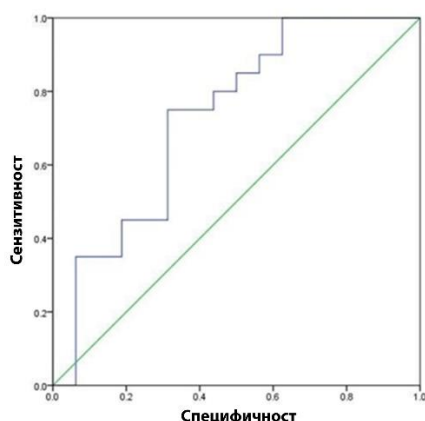
Како би се пронашли могући биомаркери међу испитиваним цитокинима у плазми и ткиву, урађена је анализа дијагностичке тачности (Табела 8). Цитокини су сматрани могућим биомаркерима ако је подручје испод криве најмање 50% и са највећим збиром осетљивости (Сн) и специфичности (Сп) према Јуденовом правилу. IL-6 (*cutt-off* 4,1; Сн 72,2%, Сп 55%), IL-17A (*cutt-off* 2,7; Сн 52,8%, Сп 85%) и IL-23 (*cutt-off* 47,3; Сн 91,7%, Сп 40%) у плазми били би могући маркери који би могли разликовати ХХЦ пацијенте од здраве популације. Плазма концентрације IL-23 (*cutt-off* 66,14; Сн 75%, Сп 50%) би се могле сматрати могућим биомаркером за процену ХХЦ-а са нижим стадијумима фиброзе (Ф0, Ф1 и Ф2), док би концентрације IL-6 (*cutt-off* 6,1; Сн 81,3%, Сп 65%) и IL-17A (*cutt-off* 3,3; Сн 100%, Сп 85%) у плазми могли бити биомаркери за предикцију ХХЦ-а са значајном фиброзом и цирозом (Ф3 и Ф4). Између ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ болесника пронађена је најсофистициранија разлика и то у концентрацији

цитокина IL-10 у плазми (*cutt-off* 47; Сн 90%, Сп 43,7%), те би концентрације овог цитокина испод наведене вредности могле сугерисати на ХХЦ са узнатредовалом фиброзом или цирозом јетре. *ROC* крива за IL-10 у плазми приказана је на Слици 13. Није било значајних потенцијалних биомаркера за диференцијацију између осталих група.

Табела 8. Анализа дијагностичке тачности

| Цитокини | П испод криве (%), <i>p</i> вредност | Препоручени <i>cut-off</i> | Сн (%) | Сп (%) |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------|--------|
| КГ vs. ХХЦ | | | | |
| Плазма IL-6 | 67,8; 0,028 | ≥4,12 | 72,2 | 55,0 |
| Плазма IL-17А | 71,7; <i>p</i> =0,008 | ≥2,68 | 52,8 | 85,0 |
| Плазма IL-23 | 69,0; <i>p</i> =0,019 | ≥47,32 | 91,7 | 40,0 |
| КГ vs. ХХЦ-НСФ | | | | |
| Плазма IL-23 | 70,0; <i>p</i> =0,030 | ≥66,14 | 75,0 | 50,0 |
| КГ vs. ХХЦ-СФ | | | | |
| Плазма IL-6 | 74,4; 0,013 | ≥6,09 | 81,3 | 65,0 |
| Плазма IL-17А | 99,1; <i>p</i> <0,001 | ≥3,32 | 100,0 | 85,0 |
| ХХЦ-НСФ vs. ХХЦ-СФ | | | | |
| Плазма IL-10 | 72,8; <i>p</i> =0,020 | ≥47,00 | 90,0 | 43,7 |

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; КГ-контролна група; IL-интерлеукин; П- површина; Сн-сензитивност; Сп- специфичност.



Слика 13. *ROC* крива за IL-10 у плазми.

4.6 Карактеристике телесног састава испитаника

4.6.1 Карактеристике телесног састава ХХЦ, НАСХ и контролне групе

Из непосредно измерених вредности телесне масе (ТМ) и телесне висине (ТВ), израчунат је индекс телесне масе (ИТМ), а измерен је и обим струка (ОС) код испитаника из све три испитиване групе. Резултати су приказани као средње вредности (\pm стандардна девијација) и приказани су у Табели 9.

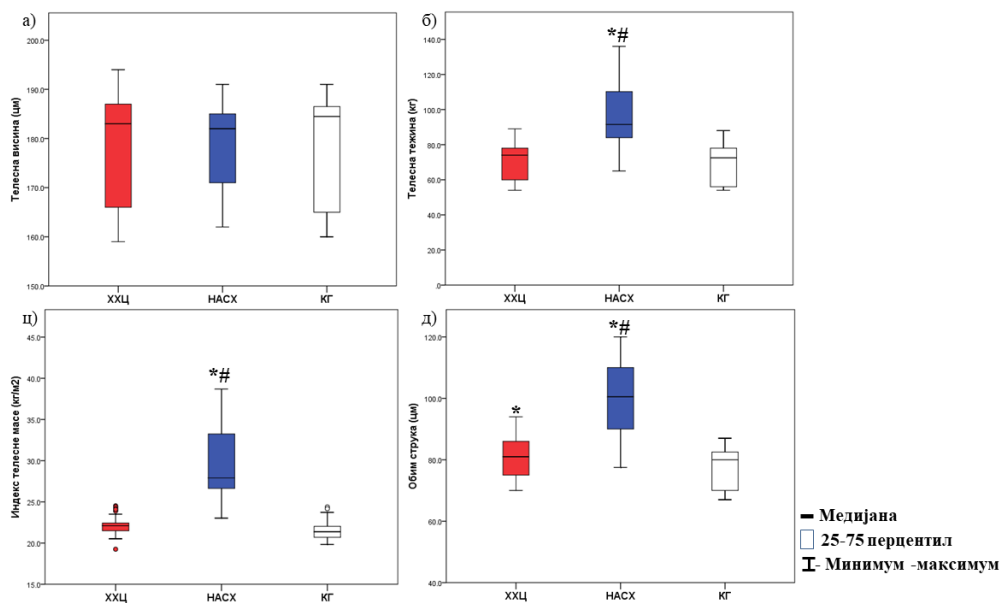
Табела 9. Телесни састав у три испитиване групе

| Телесни састав испитаника | ХХЦ (n=100) | НАСХ (n=20) | КГ (n=28) | p вредност* |
|---------------------------|----------------|------------------|------------------|-------------|
| Телесна маса (кг) | 70,0 \pm 9,5 | 96,7 \pm 19,4 | 67,8 \pm 11,1 | <0,001 |
| Телесна висина (цм) | 177,5 \pm 11 | 179,0 \pm 7,9 | 176,6 \pm 11,6 | 0,755 |
| ИТМ (кг/цм ²) | 22,1 \pm 0,9 | 30,1 \pm 5,5 | 21,5 \pm 1,2 | <0,001 |
| Обим струка (цм) | 81,0 \pm 6,6 | 100,8 \pm 12,4 | 77,1 \pm 6,5 | <0,001 |

*за ниво значајности од 0,05

Скраћенице: ИТМ- индекс телесне масе; кг- килограми; цм- центиметри; ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; n- број испитаника.

Између испитиваних група није било статистички значајне разлике у телесној висини, док су телесна маса и индекс телесне масе били значајно већи у НАСХ групи у односу на ХХЦ и КГ ($p < 0,001$ у свим наведеним случајевима). Обим струка је такође значајно већи у НАСХ у односу на ХХЦ и КГ, као и у ХХЦ групи у односу на КГ ($p < 0,001$ у свим наведеним случајевима). Вредности су приказане на Графикону 12.



Графикон 12. Телесна висина (а), телесна тежина (б), индекс телесне масе (ц), обим струка (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: XXЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на XXЦ.

4.6.2 Карактеристике телесног састава испитаника подгрупе XXЦ (XXЦ-НСФ И XXЦ-СФ), НАСХ и контролне групе

Резултати карактеристика телесног састава НАСХ и КГ су претходно приказане у Табели 1, док су за подгрупе XXЦ групе (XXЦ-НСФ и XXЦ-СФ) приказане у Табели 10 такође као средње вредности (\pm стандардна девијација).

Табела 10.Телесни састав у подгрупама XXЦ групе- XXЦ-НСФ и XXЦ-СФ.

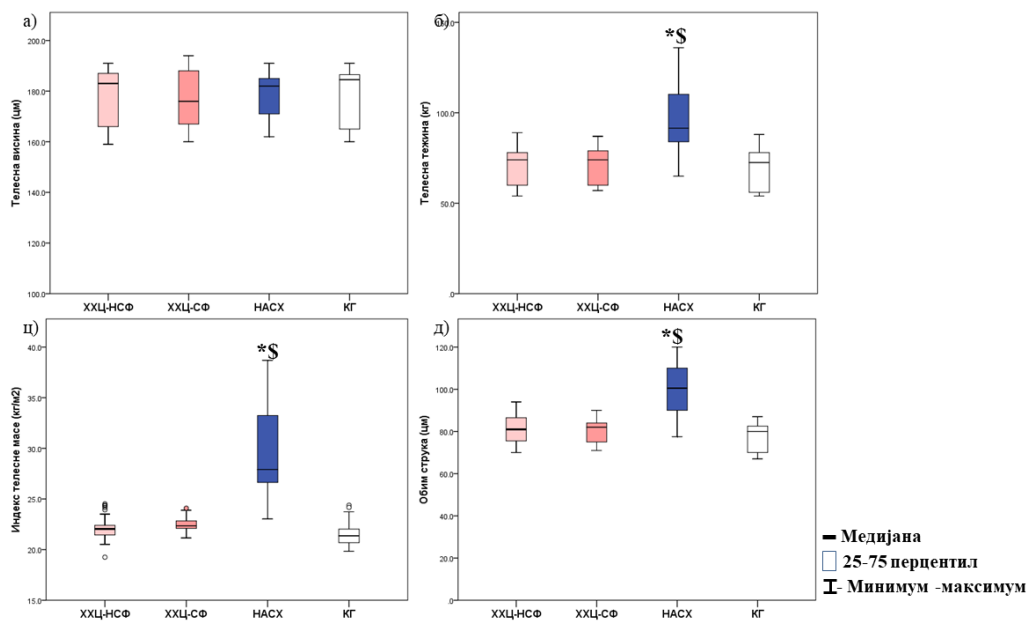
| Телесни састав испитаника | XXЦ-НСФ (n=79) | XXЦ-СФ (n=21) | <i>p</i> вредност* |
|---------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| Телесна маса (кг) | 70,0 \pm 9.6 | 70,1 \pm 9.5 | 1,000 |
| Телесна висина (цм) | 177,8 \pm 10,9 | 176,4 \pm 11,6 | 1,000 |
| ИТМ (кг/цм ²) | 22,0 \pm 0,9 | 22,4 \pm 0,8 | 1,000 |
| Обим струка (цм) | 81,1 \pm 6,8 | 80,7 \pm 5,9 | 1,000 |

*за ниво значајности од 0,05

Скраћенице: ИТМ- индекс телесне масе; кг- килограми; цм- центиметри; XXЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

Након поделе групе болесника са XXЦ према стадијуму фиброзе јетре на групу са несигнификантном и групу са сигнификантном фиброзом и поређења испитиваних варијабли телесног састава између њих, није пронађена статистички значајна разлика ($p=1,000$ у свим испитиваним случајевима). Међутим, након поређења са НАСХ и КГ, вредности телесне тежине, индекса телесне масе и обима струка показале су статистички

значајно веће вредности у НАСХ групи у односу са ХХЦ-НСФ и КГ ($p < 0,001$ за све испитиване параметре). Вредности су приказане на Графикону 13.



Графикон 13. Телесна висина (а), телесна тежина (б), индекс телесне масе (ц), обим струка (д) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; \$ $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ.

4.7 Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара

4.7.1 Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара код ХХЦ, НАСХ и контролне групе

Вредности лабораторијских и биохемијских параметара за три испитиване групе су приказане у Табели 11. Вредности су приказане као средње вредности \pm СД, а p вредност као групно поређење коришћењем ANOVA и пост-хок Mann–Whitney testa.

Табела 11. Вредности лабораторијских и биохемијских параметара за три испитиване групе.

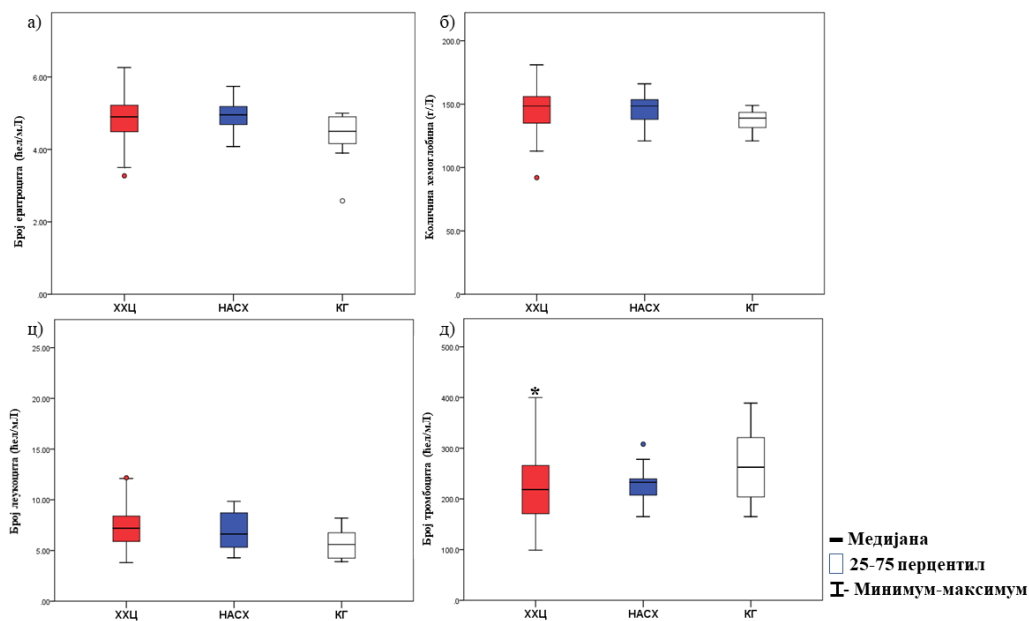
| Лабораторијски и биохемијски параметри | ХХЦ (n=100) | НАСХ (n=20) | КГ (n=28) | p вредност* |
|--|-------------|--------------|-------------|-------------|
| Еритроцити (бр.ћел/мЛ) | 4,8±0,5 | 5,0 ± 0,5 | 4,4 ±0,5 | 0,142 |
| Хемоглобин (г/Л) | 146,5±15,1 | 144,3 ± 14,2 | 137,8 ± 7,6 | 0,153 |
| Леукоцити (бр.ћел/мЛ) | 7,5±2,5 | 6,6 ± 1,6 | 5,6 ± 1,4 | 0,789 |
| Тромбоцити (бр.ћел/мЛ) | 200,4±64,8 | 220,1 ± 41,0 | 263,7 ±66,7 | 0,006 |
| АСТ (У/Л) | 54,6±47,2 | 50,1 ±15,7 | 22,5 ± 5,6 | 0,001 |
| АЛТ (У/Л) | 81,3±65,6 | 88,8 ± 44,2 | 33,9 ± 11,1 | <0,001 |
| γ-ГТ (У/Л) | 70,6±91,5 | 61,1 ± 45,9 | 24,3 ± 5,1 | 0,022 |
| АФ (У/Л) | 69,4±33,2 | 67,1 ± 17,5 | 71,4 ± 14,3 | 0,736 |
| АФП (μг/Л) | 81,3±65,6 | 2,9 ± 1,1 | 1,9 ± 0,6 | 0,023 |
| ТСХ (мИЈ/Л) | 1,5±0,7 | 1,7 ± 0,9 | 2,5 ± 0,5 | <0,001 |
| Т4 (нмол/Л) | 125,9±29,5 | 105,2±15,1 | 101,1±6,9 | <0,001 |
| Гликемија (ммол/Л) | 5,7±1,4 | 5,4 ± 0,7 | 4,7 ± 0,5 | <0,001 |
| ХБА1ц (ммол/мол) | 30,0±5,0 | 35,9±7,1 | 27,8±3,3 | <0,001 |
| Уреа (ммол/Л) | 5,5±2,0 | 5,6 ± 1,5 | 4,7 ± 1,2 | 0,095 |
| Креатинин (μмол/Л) | 79,2±19,1 | 81,5 ± 14,6 | 67,4 ± 10,8 | 0,074 |
| ЛДХ (У/Л) | 166,2±43,2 | 172,1±31,1 | 138,9±33,6 | 0,004 |
| КК (У/Л) | 110,6±32,7 | 112,3±69,6 | 92,6±22,2 | 0,744 |
| Укупни холестерол (ммол/Л) | 4,6±1,1 | 7,1 ± 0,8 | 3,6 ± 0,7 | <0,001 |
| LDL (ммол/Л) | 2,6±1,0 | 4,7 ± 0,8 | 2,5 ± 0,5 | <0,001 |
| HDL (ммол/Л) | 1,5±0,4 | 1,3 ± 0,7 | 2,0 ± 0,5 | <0,001 |
| Триглицериди (ммол/Л) | 1,3±0,7 | 4,13±1,13 | 1,14±0,2 | <0,001 |
| Укупни протеини (г/Л) | 76,3±6,7 | 76,3 ± 7,7 | 75,9 ± 6,1 | 0,948 |
| Албумин (г/Л) | 37,3±4,3 | 43,3 ± 5,5 | 42,6 ± 3,9 | <0,001 |
| Укупни билирубин (μмол/Л) | 10,6±4,2 | 13,7 ± 9,3 | 10,5 ± 3,3 | 0,236 |
| Директни билирубин (μмол/Л) | 4,0±1,7 | 3,9 ± 1,5 | 2,1 ± 1,5 | 0,348 |
| ИНР | 1,1±0,2 | 1,0 ± 0,1 | 1,0 ± 0,1 | 0,584 |
| ПВ (%) | 94,4±14,8 | 99,0±11,5 | 97,4±2,0 | 0,254 |
| Д-димер | 0,4±0,3 | 0,4±0,3 | 0,2±0,1 | 0,077 |
| Фибриноген (г/Л) | 2,9±0,5 | 3,1 ± 0,4 | 2,6 ± 0,4 | 0,178 |
| ЦРП (мг/Л) | 2,8±3,5 | 3,8 ± 2,3 | 1,3 ± 0,6 | 0,033 |

*за ниво значајности од 0,05

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; АСТ-аспартат аминок-трансфераза; АЛТ-аланил аминок-трансфераза; γ-ГТ- гама глутамил трансфераза; АФ-алкална фосфатаза; АФП-алфа-фето протеин; ТСХ- тиреостимулирајући хормон; Т4-тиреотоксин; ХБА1ц-гликозилирани хемоглобин; ЛДХ- лактат-дехидрогеназа; КК- креатин.киназа; LDL-липопротеин ниске густине; HDL- липопротеин велике густине; ПВ- протромбинско време; ЦРП-Ц реактивни протеин; Л- литар; мЛ-милилитар; г- грам; У- ензимска јединица; μг- микрограм; мИЈ- мили-интернационалне јединице; ммол- мили-мол.

4.7.1.1 Параметри крвне слике

У испитиваним групама вредности леукоцита, еритроцита и хемоглобина нису показале статистички значајне разлике (у групном поређењу $p=0,789$), за разлику од броја тромбоцита. Број тромбоцита је у групи пацијената са ХХЦ био статистички значајно нижи у односу на КГ ($p=0,004$). Између ХХЦ и НАСХ групе није било значајне разлике у броју тромбоцита ($p=1,000$), као ни између НАСХ и КГ ($p=0,104$), али је забележен тренд пада броја тромбоцита такође у ХХЦ групи у односу на НАСХ групу. Вредности су приказане на Графикону 14.

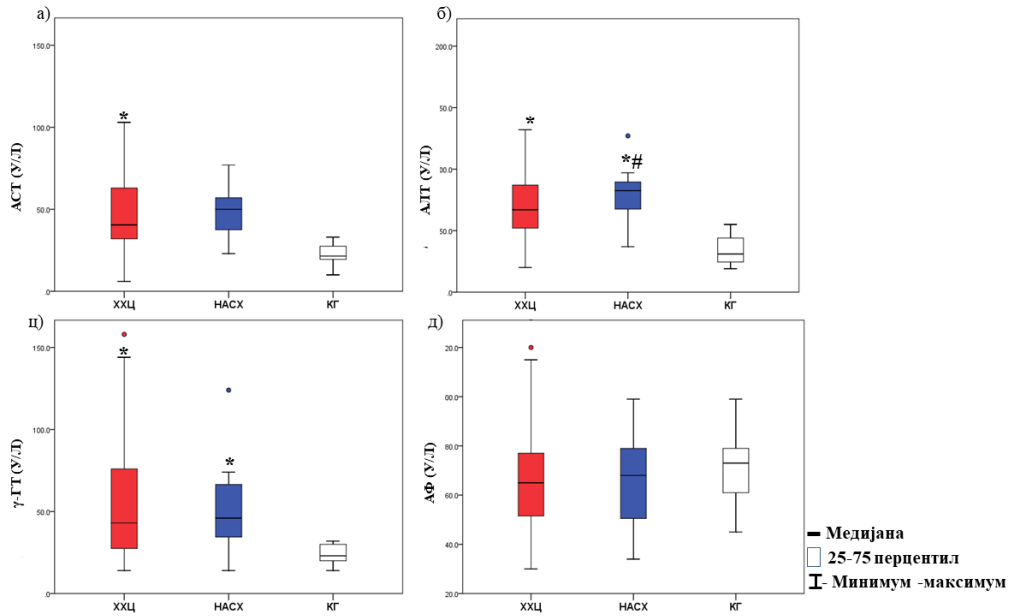


Графикон 14. Број еритроцита (а), количина хемоглобина (б), број леукоцита (ц), број тромбоцита (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: XXЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група. * $p < 0,05$ у односу на КГ.

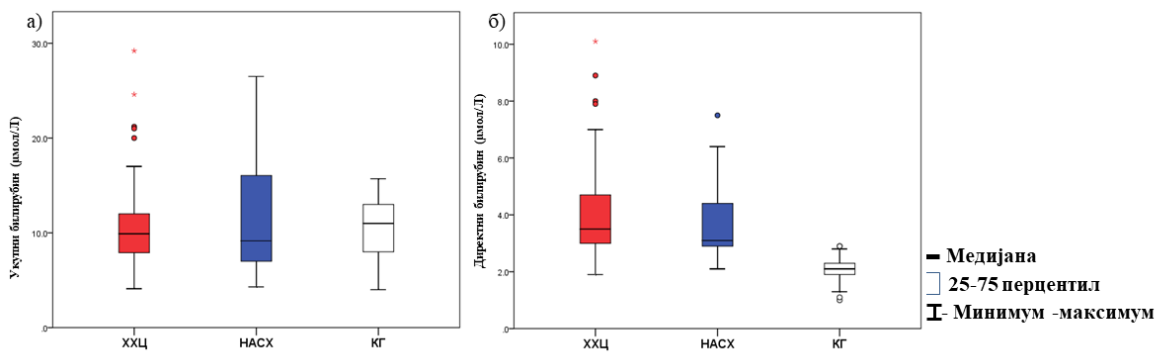
4.7.1.2 Биохемијски параметри некрозе хепатоцита

Биохемијски параметри некрозе хепатоцита коју су испитивани су трансаминазе (АСТ, АЛТ), ензими холестазае (γ -ГТ, АФ), као и тотални и директни билирубини. Вредности АСТ-а и АЛТ-а показале су статистичку значајност између испитиваних група. У групи болесника са XXЦ вредност АСТ-а значајно је већа у односу на КГ ($p=0,001$), док је статистички већа вредност АЛТ-а измерена такође у групи XXЦ у односу на КГ ($p < 0,001$), али и у групи пацијената са НАСХ-ом у односу на КГ ($p=0,006$). Иницијално није пронађена статистичка значајност између XXЦ и НАСХ групе, али је након урађеног непараметарског теста забележена статистички значајно већа вредност АЛТ-а у НАСХ у односу на XXЦ групу испитаника ($p=0,045$). Вредност γ -ГТ-а била је статистички значајно већа у обе групе болесника са ХБЈ у односу на здраве контроле (XXЦ и КГ $p=0,017$; НАСХ и КГ $p=0,042$), док вредности ензима АФ, као и укупног и директног билирубина нису показале статистички значајне разлике између испитиваних група ($p=1,000$ у свим случајевима). Вредности су приказане на Графикону 15 и Графикону 16.



Графикон 15. Вредности АСТ-а (а), АЛТ-а (б), γ-ГТ-а (ц), АФ (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; АСТ-аспартат аминокиселин-трансфераза; АЛТ-аланил аминокиселин-трансфераза; γ-ГТ-гама глутамил трансфераза; АФ-алкална фосфатаза. * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

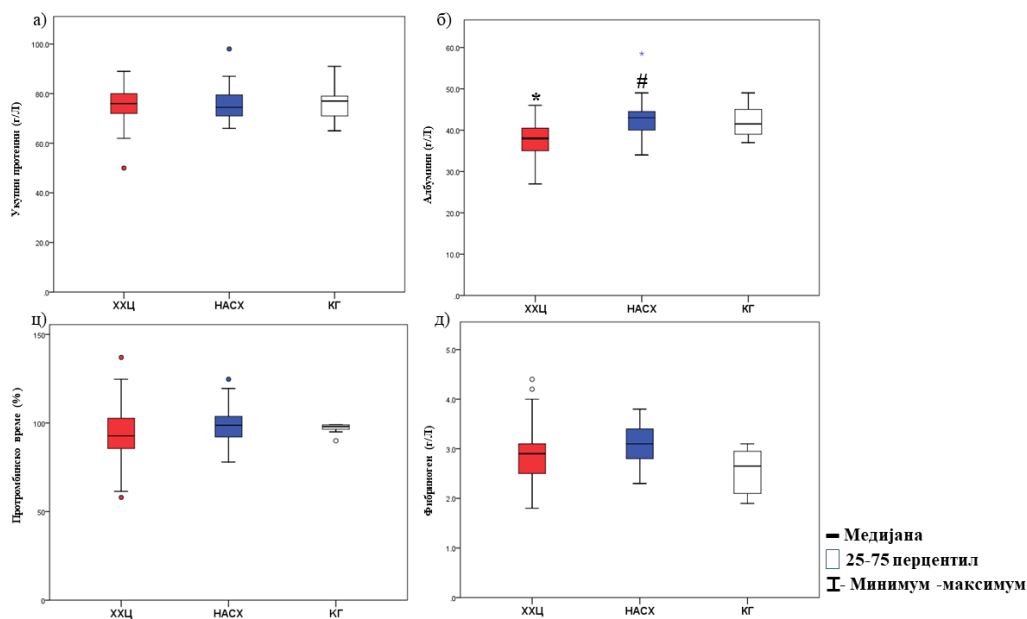


Графикон 16. Вредности укупног билирубина (а) и директног билирубина (б) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

4.7.1.3 Биохемијски параметри синтетске функције јетре

Испитивани биохемијски параметри синтетске функције јетре били су вредности укупних протеина, албумина, фибриногена, протромбинског времена и ИНР-а. Вредности укупних протеина нису се разликовале између испитиваних група (у групном поређењу $p=0,948$), док су вредности албумина биле статистички значајно ниже у групи болесника са ХХЦ у односу на НАСХ групу ($p < 0,001$) као и у односу на групу здравих испитаника ($p < 0,001$). Вредности осталих испитиваних параметара синтетске функције јетре (протромбинско време, ИНР, фибриноген) нису показивале статистичку значајност између испитиваних група ($p=0,584$, $p=0,178$, редом). Вредности су приказане на Графикону 17.

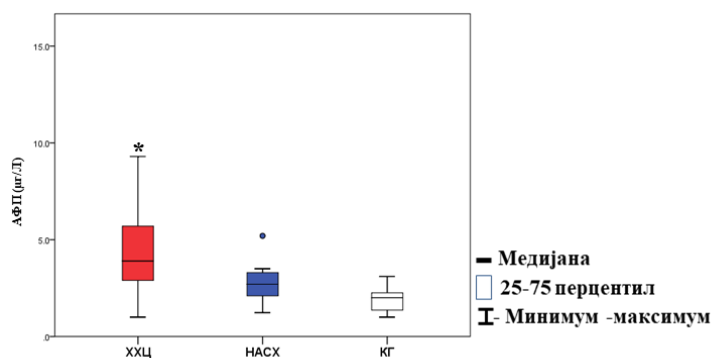


Графикон 17. Вредности укупних протеина (а), албумина (б), протромбинског времена (в), фибриногена (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група. * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

4.7.1.4 Туморкси маркери

Туморски маркер који је испитиван у истраживању био је алфа-фето протеин. Његова вредност била је статистички значајно већа у групи болесника са ХХЦ у односу на КГ ($p=0,039$), док је у односу на НАСХ групу забележен тренд пораста АФП-а али без статистичке значајности ($p=0,303$). Измђу НАСХ и КГ није било статистички значајне разлике ($p=1,000$). Вредности су приказане Графикону 18.



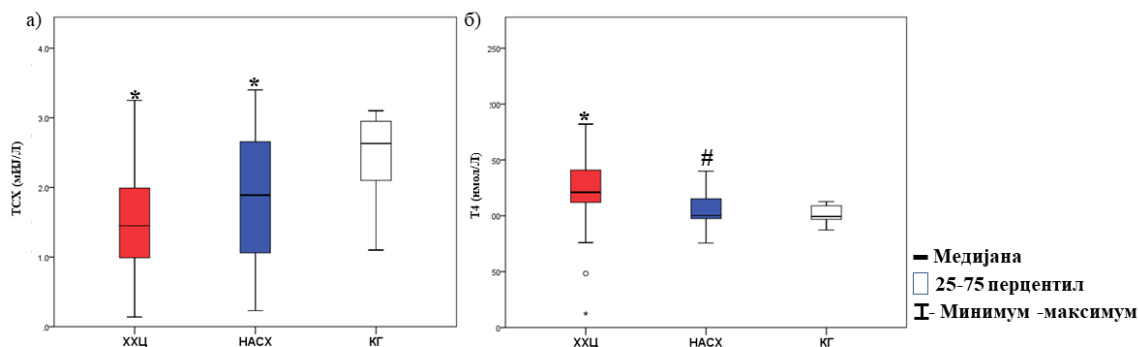
Графикон 18. Вредности АФП у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; АФП- алфа-фето протеин; * $p < 0,05$ у односу на КГ.

4.7.1.5 Биохемијски параметри метаболичког синдрома

Испитивани су биохемијски параметри метаболичког синдрома и то: тиреоидни статус (ТСХ, Т4), гликемијски статус (гликемија ناشте, гликозилирани хемоглобин),

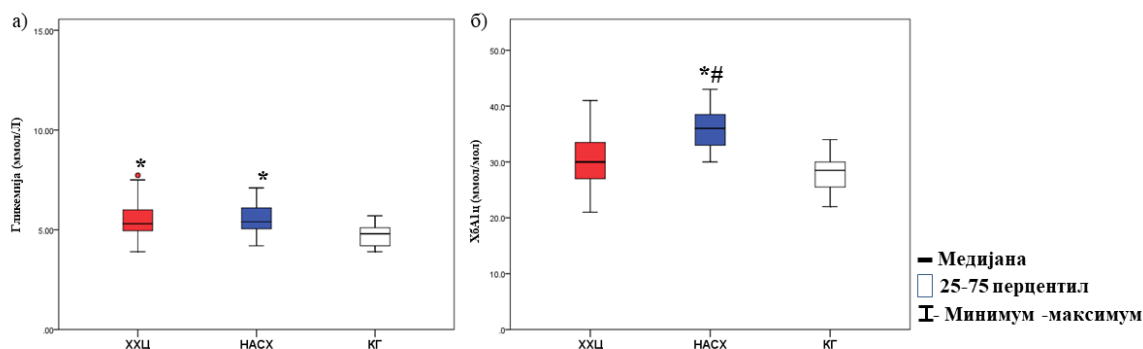
липидни статус (укупни холестерол, LDL, HDL, триглицериди). Вредности тиреостимулирајућег хормона у свим групама су биле у границама референтног опсега, али су примећени статистички већи нивои овог хормона у КГ у односу на ХХЦ и НАСХ групу испитаника ($p < 0,001$, $p = 0,009$, редом). Тиреотксин је такође у свим испитиваним групама показао нормалан референтни опсег, али су значајно више вредности измерене у ХХЦ групи у односу на НАСХ као и у односу на КГ ($p = 0,003$, $p < 0,00$, редом). Вредности су приказане на Графикону 19.



Графикон 19. Вредности ТСХ (а) и Т4 хормона (б) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

Нивои гликемије узете наше били су значајно већи у обе групе са ХБЈ, дакле и ХХЦ и НАСХ у односу на КГ ($p < 0,001$, $p = 0,050$, редом), док између две групе са ХБЈ није забележена статистичка значајност ($p = 1,000$). ХбА1ц је показао значајно више новое у НАСХ групи у односу на ХХЦ и КГ ($p < 0,001$ у оба случаја), док између КГ и ХХЦ није било статистичке значајности ($p = 0,135$). Вредности су приказане на Графикону 20.

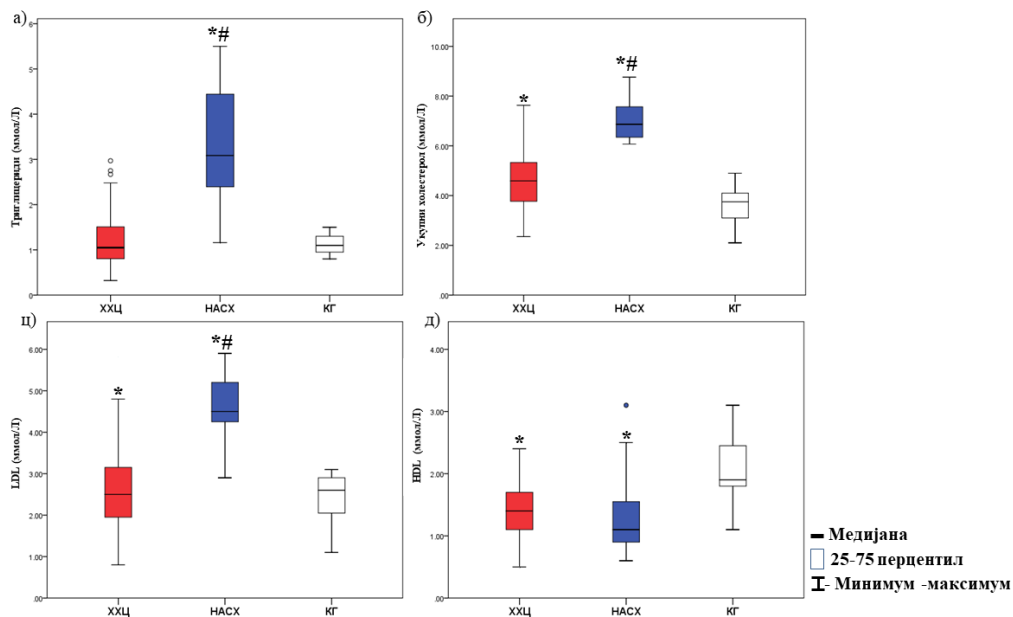


Графикон 20. Вредности гликемије (а) и хемоглобинА1ц (б) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

Вредности липидног статуса су варирале између група. Највише вредности укупног холестерола, триглицерида и LDL холестерола измерене су код пацијената у НАСХ групи показујући статистичку значајност у односу на обе преостале две групе, ХХЦ и КГ ($p < 0,001$ за све наведене случајеве). Такође, у ХХЦ групи је забележена статистички значајно већа вредност укупног и LDL холестерола у односу на здраве контроле ($p < 0,001$). Најниже вредности HDL-а измерене су такође у НАСХ групи, али су статистичку значајност показале само у односу на КГ, у односу на коју је и ХХЦ група

имала значајно снижене нивое овог холестерола ($p < 0,001$ у оба случаја). Вредности су приказане на Графикону 21.

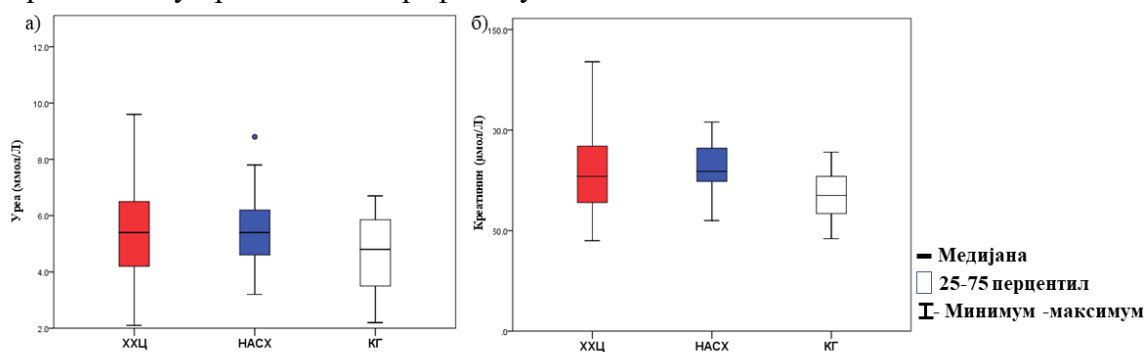


Графикон 21. Вредности триглицерина (а), укупног холестерола (б), LDL холестерола (ц) и HDL холестерола (д) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; HАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; LDL- холестерол мале густине; HDL- хоелстерол велике густине; * $p < 0,05$ у односу на КГ; # $p < 0,05$ у односу на ХХЦ.

4.7.1.6 Параметри бубрежне функције

Вредности испитиваних параметара бубрежне функције, урее и креатинина, биле су у границама референтних опсега код свих испитаника и нису показале статистички значајну разлику између испитиваних група (у групном поређењу $p = 0,095$, $p = 0,074$, редом). Вредности су приказане на Графикону 22.



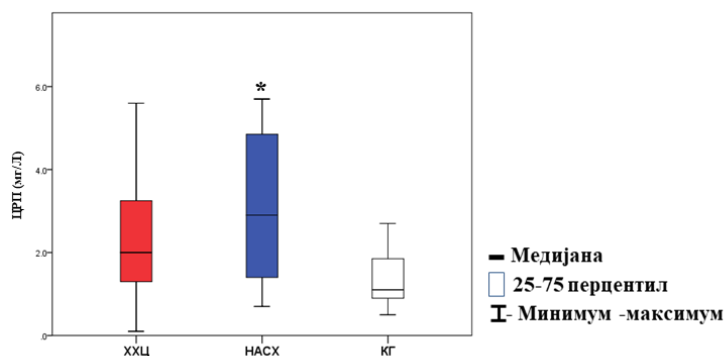
Графикон 22. Вредности урее (а) и креатинина (б) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; HАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

4.7.1.7 Биохемијски инфламаторни маркер

Вредности испитиваног биохемијског инфламаторног маркера, Ц-реактивног протеина, биле су у границама референтног опсега код свих испитаника, али је вредност овог параметра била статистички значајно већа у HАСХ у односу на КГ ($p = 0,039$), док

између НАСХ и ХХЦ као ни ХХЦ и КГ није постојала статистички значајна разлика између испитиваних група ($p=0,737$, $p=0,112$, редом). Вредности су приказане на Графикону 23.

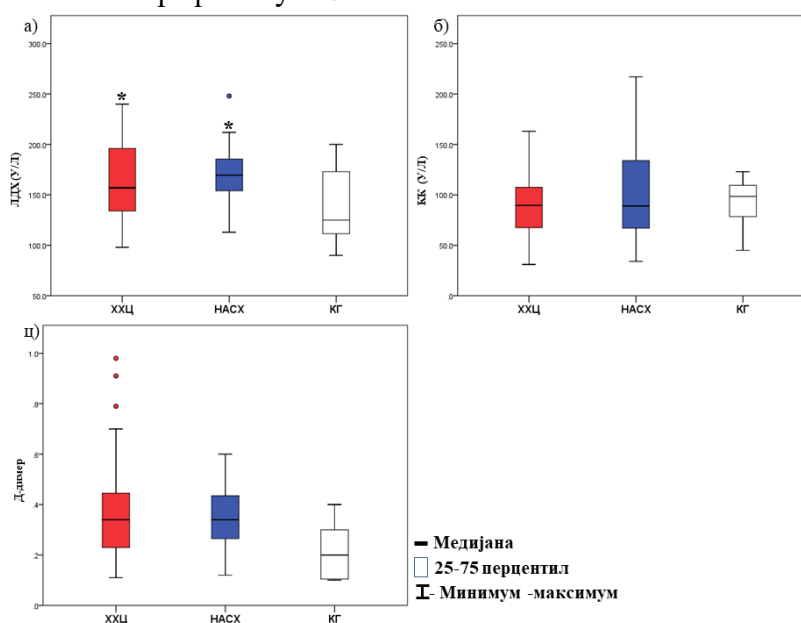


Графикон 23. Вредности ЦРП-а у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ЦРП-Ц-реактивни протеин; * $p<0,05$ у односу на КГ

4.7.1.8 Остали биохемијски параметри

Остали испитивани биохемијски параметри били су ЛДХ, КК и Д-димер. Вредности ЛДХ биле су статистички значајно веће у групама ХХЦ и НАСХ у односу на КГ ($p=0,05$, $p=0,016$, редом), док КК и Д-димер параметра нису показала статистички значајне разлике између група (у групним поређењима $p=0,744$, $p=0,077$, редом). Вредности су приказане на Графикону 24.



Графикон 24. Вредности лактат-деhidрогеназе (а), креатин-киназе (б) и Д-димера (ц) у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ- хронични хепатитис Ц; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ЛДХ- лактат-деhidрогеназа; КК-креатин киназа; * $p<0,05$ у односу на КГ.

4.7.2 Испитивање лабораторијских и биохемијских параметара код подгрупа ХХЦ (ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ), НАСХ и контролне групе

Вредности лабораторијских и биохемијских параметара претходно су приказане у Табели 11, док су вредности за подгрупе ХХЦ – ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ приказане у Табели 12. Вредности су приказане као средње вредности \pm СД, а *p* вредност као групно поређење коришћењем *ANOVA* и пост-хок *Mann-Whitney* testa.

Табела 12. Вредности лабораторијских и биохемијских параметара за ХХЦ подгрупе- ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ.

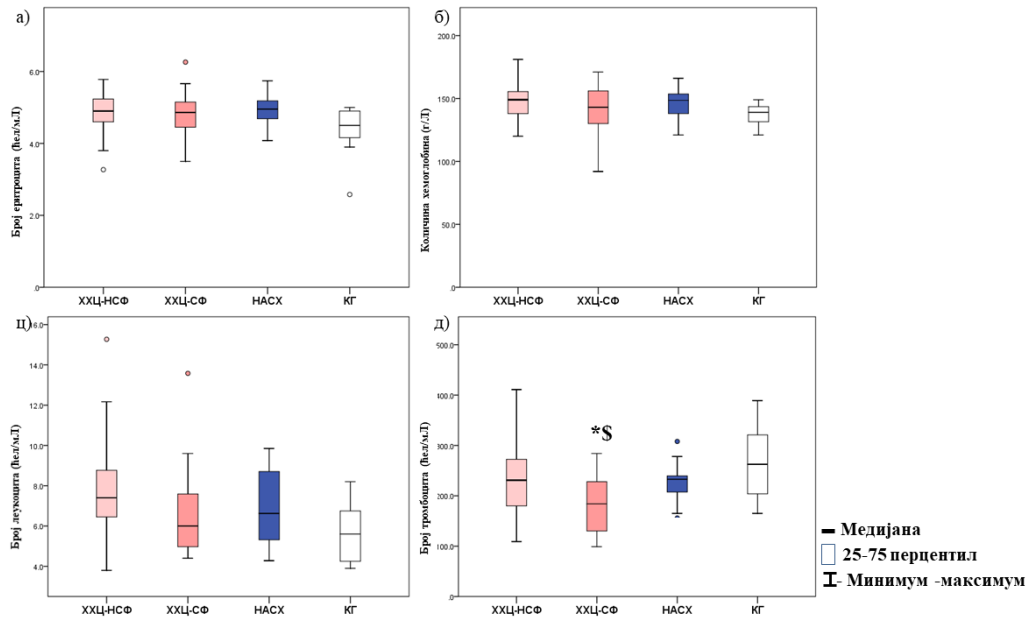
| Лабораторијски и биохемијски параметри | ХХЦ-НСФ (n=79) | ХХЦ-СФ (n=21) | <i>p</i> вредност* |
|--|-------------------|------------------|--------------------|
| Еритроцити (бр.ћел/мЛ) | 4,9 \pm 0,5 | 4,8 \pm 0,6 | 1,000 |
| Хемоглобин (г/Л) | 147,7 \pm 13,7 | 142,1 \pm 19,3 | 0,617 |
| Леукоцити (бр.ћел/мЛ) | 7,8 \pm 2,5 | 6,5 \pm 2,2 | 0,129 |
| Тромбоцити (бр.ћел/мЛ) | 230,6 \pm 63,2 | 182,2 \pm 57,4 | 0,009 |
| АСТ (У/Л) | 41,3 \pm 39,9 | 104,5 \pm 38,8 | <0,001 |
| АЛТ (У/Л) | 61,1 \pm 28,7 | 157,1 \pm 29,9 | <0,001 |
| γ -ГТ (У/Л) | 67,8 \pm 94,0 | 81,0 \pm 82,8 | 1,000 |
| АФ (У/Л) | 66,6 \pm 24,9 | 80,0 \pm 53,9 | 0,358 |
| АФП (μг/Л) | 4,4 \pm 2,4 | 11,8 \pm 8,2 | <0,001 |
| ТСХ (мИЈ/Л) | 1,5 \pm 0,8 | 1,6 \pm 0,6 | 1,000 |
| Т4 (нмол/Л) | 124,5 \pm 30,1 | 131 \pm 27,3 | 1,000 |
| Гликемија (ммол/Л) | 5,7 \pm 1,5 | 5,8 \pm 1,1 | 1,000 |
| ХБА1ц (ммол/мол) | 29,1 \pm 5,1 | 33,1 \pm 3,7 | 0,009 |
| Уреа (ммол/Л) | 5,3 \pm 2,1 | 6,2 \pm 1,6 | 0,304 |
| Креатинин (μмол/Л) | 79,8 \pm 19,6 | 76,6 \pm 17,2 | 1,000 |
| ЛДХ (У/Л) | 159,9 \pm 35,3 | 190,2 \pm 60,3 | 0,111 |
| КК (У/Л) | 112,7 \pm 148,3 | 102,4 \pm 35,8 | 1,000 |
| Укупни холестерол (ммол/Л) | 4,7 \pm 1,1 | 4,2 \pm 1,0 | 0,438 |
| LDL (ммол/Л) | 2,6 \pm 1,0 | 2,4 \pm 0,8 | 1,000 |
| HDL (ммол/Л) | 1,5 \pm 0,5 | 1,4 \pm 0,3 | 1,000 |
| Триглицериди (ммол/Л) | 1,25 \pm 0,8 | 1,20 \pm 0,8 | 1,000 |
| Укупни протеини (г/Л) | 76,6 \pm 6,5 | 75,1 \pm 7,6 | 1,000 |
| Албумин (г/Л) | 38,9 \pm 3,1 | 31,1 \pm 2,4 | <0,001 |
| Укупни билирубин (μмол/Л) | 10,6 \pm 4,5 | 10,9 \pm 2,7 | 1,000 |
| Директни билирубин (μмол/Л) | 3,9 \pm 1,8 | 4,6 \pm 1,4 | 0,308 |
| ИНР | 1,0 \pm 0,2 | 1,1 \pm 0,2 | 0,189 |
| ПВ (%) | 97,2 \pm 14,1 | 83,9 \pm 13,1 | <0,001 |
| Д-димер | 0,4 \pm 0,3 | 0,5 \pm 0,2 | 1,000 |
| Фибриноген (г/Л) | 2,9 \pm 0,5 | 2,8 \pm 0,5 | 1,000 |
| ЦРП (мг/Л) | 2,5 \pm 2,0 | 3,7 \pm 2,0 | 0,952 |

*за ниво значајности од 0.05

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзома; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзома; АСТ-аспартат аминок-трансфераза; АЛТ-аланил аминок-трансфераза; γ -ГТ-гама глутамил трансфераза; АФ-алкална фосфатаза; АФП-алфа-фето протеин; ТСХ-тиреостимулирајући хормон; Т4-тиреотоксин; ХБА1ц- гликозилирани хемоглобин; ЛДХ- лактат-дехидрогеназа; КК- креатин.киназа; LDL- липопротеин ниске густине ; HDL-липопротеин велике густине; ИНР ; ПВ- протромбинско време; ЦРП-Ц реактивни протеин; Л- литар; мЛ-милилитар; г- грам; У- ензимска јединица; μ - микрограм; мИЈ- мили-интернационалне јединице; ммол- мили-мол.

4.7.2.1 Параметри крвне слике

У испитиване четири групе вредности леукоцита, еритроцита и хемоглобина нису показале статистички значајне разлике (у групном поређењу $p=0,065$, $p=0,178$ и $p=0,511$, редом), за разлику од броја тромбоцита. Број тромбоцита је у групи ХХЦ пацијената са сигнификантном фиброзом био статистички значајно нижи у односу на групу ХХЦ пацијената са несигнификантном фиброзом и КГ ($p=0,009$ и $p<0,001$, редом), док између осталих група није забележена статистичка значајност (НАСХ и ХХЦ-НСФ $p=1,00$; НАСХ и ХХЦ-СФ $p=0,158$; НАСХ и КГ $p=0,175$) (Графикон 25).

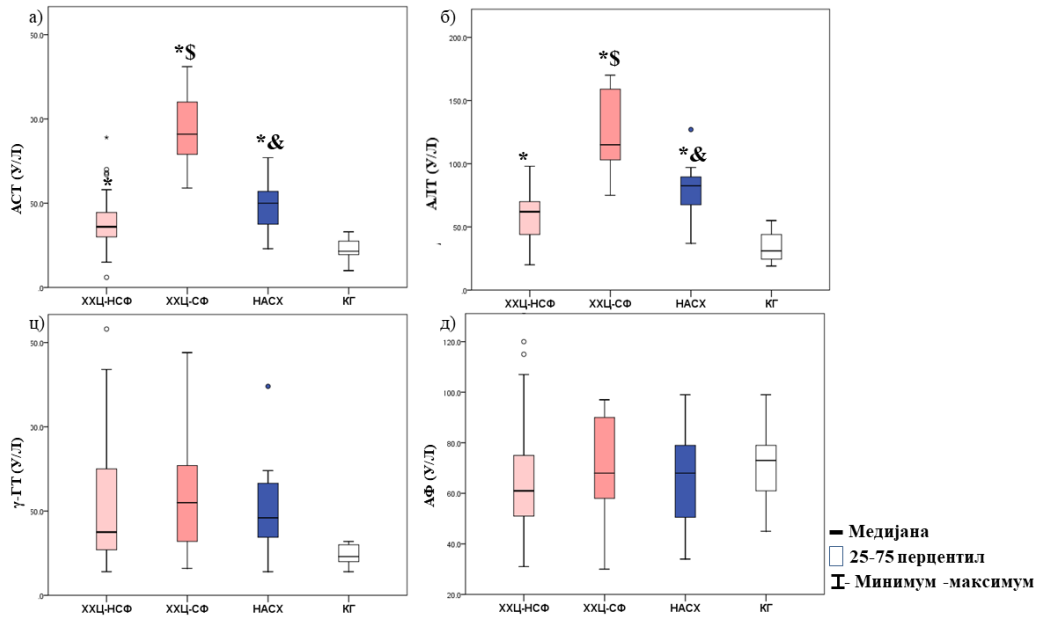


Графикон 25. Број еритроцита (а), количина хемоглобина (б), број леукоцита (ц), број тромбоцита (д) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ. хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ. хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p<0,05$ у односу на КГ; \$ $p<0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ.

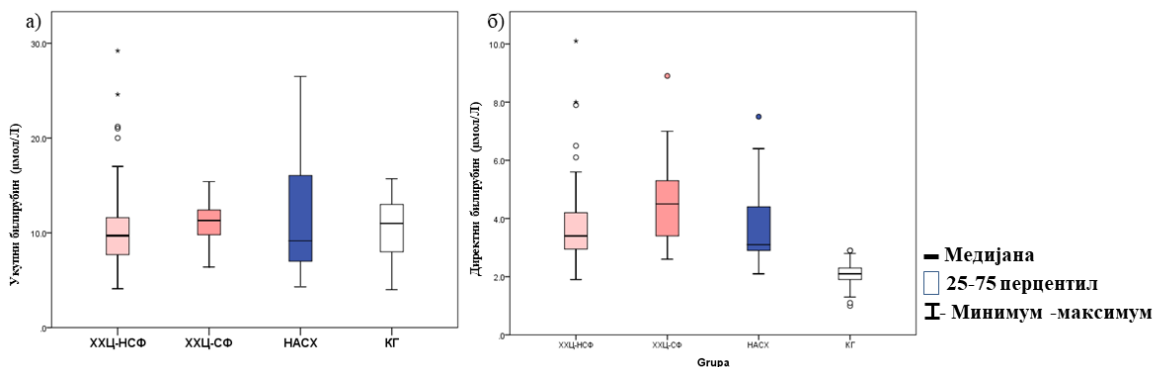
4.7.2.2 Биохемијски параметри некрозе хепатоцита

Вредности АСТ-а и АЛТ-а показале су статистичку значајност између испитиваних група. У ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ групи вредност АСТ-а била је статистички значајно већа у односу на КГ ($p=0,057$, $p<0,001$ и $p=0,037$, редом). Такође у ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ групи вредност АЛТ-а била је статистички значајно већа у односу на КГ ($p=0,050$, $p<0,001$ и $p=0,002$, редом). У групи ХХЦ-СФ у односу на ХХЦ-НСФ и НАСХ групу испитаника забележена је значајно већа вредност АСТ-а ($p<0,001$ у оба случаја), као и АЛТ-а ($p<0,001$ у оба случаја). Вредности γ -ГТ-а, АФ, као и укупног и директног билирубина нису показале статистички значајне разлике између испитиваних група (γ -ГТ у групном поређењу $p=0,053$; АФ у групном поређењу $p=0,242$; укупни билирубин у групном поређењу $p=0,400$; директни билирубин у групном поређењу $p=0,125$). Вредности су приказане на Графикону 26 и Графикону 27.



Графикон 26. Вредности АСТ-а (а), АЛТ-а (б), γ-ГТ-а (ц), АФ (д) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ. хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ. хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; \$ $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.



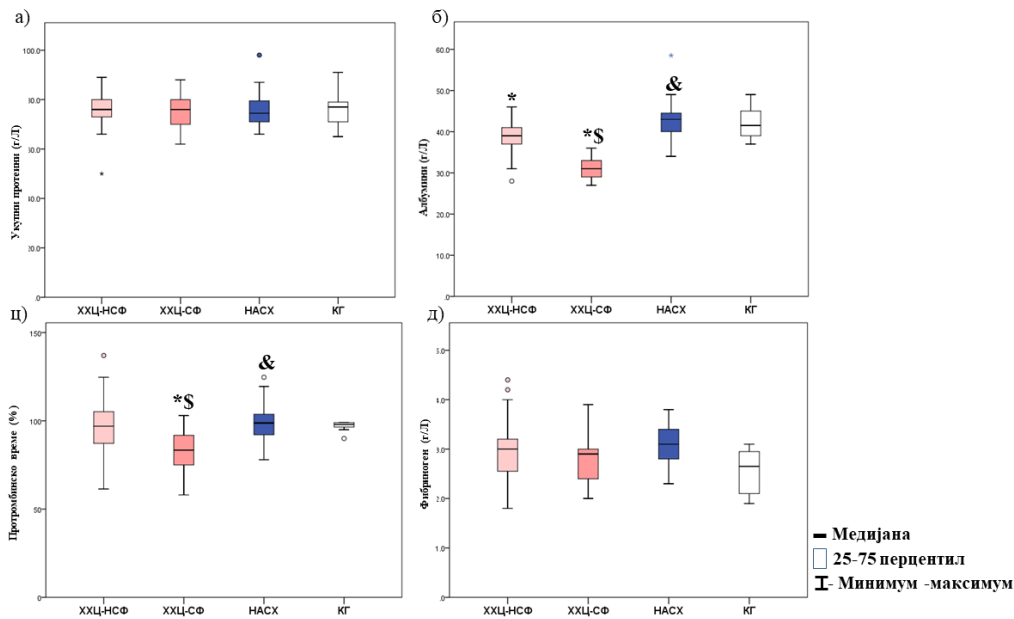
Графикон 27. Вредности укупног билирубина (а) и директног билирубина (б) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ. хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ. хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

4.7.2.3 Биохемијски параметри синтетске функције јетре

Вредности укупних протеина нису се разликовале између испитиваних група (у групном поређењу $p = 0,823$), док су вредности албумина биле статистички значајно ниже у ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ групама болесника у односу на контролну групу ($p < 0,001$ у свим испитиваним случајевима), али су забележене и ниже вредности овог параметра у ХХЦ-СФ групи у односу на ХХЦ-НСФ и НАСХ групу болесника ($p < 0,001$ у свим испитиваним случајевима). Вредност протромбинског времена је била значајно већа у ХХЦ-СФ у односу на ХХЦ-НСФ, НАСХ и КГ ($p < 0,001$, $p = 0,001$, $p = 0,001$, редом). Вредности осталих испитиваних параметара синтетске функције јетре (ИНР, фибриноген) нису

показивале статистичку значајност између испитиваних група (у групном поређењу $p=0,125$, $p=0,178$, редом). Вредности су приказане на Графикону 28.

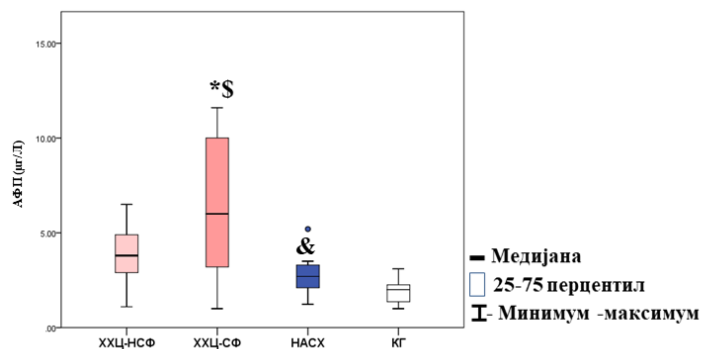


Графикон 28. Вредности укупних протеина (а), албумина (б), протромбинског времена (ц) и фибриногена (д) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ. хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ. хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p<0,05$ у односу на КГ; \$ $p<0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p<0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

4.7.2.4 Туморкси маркери

Вредност АФП-а била је статистички значајно већа у групи ХХЦ испитаника са сигнификантном фиброзом у односу на ХХЦ-НСФ, НАСХ и КГ ($p<0,001$, $p=0,001$ и $p<0,001$, редом). Вредности су приказане на Графикону 29.

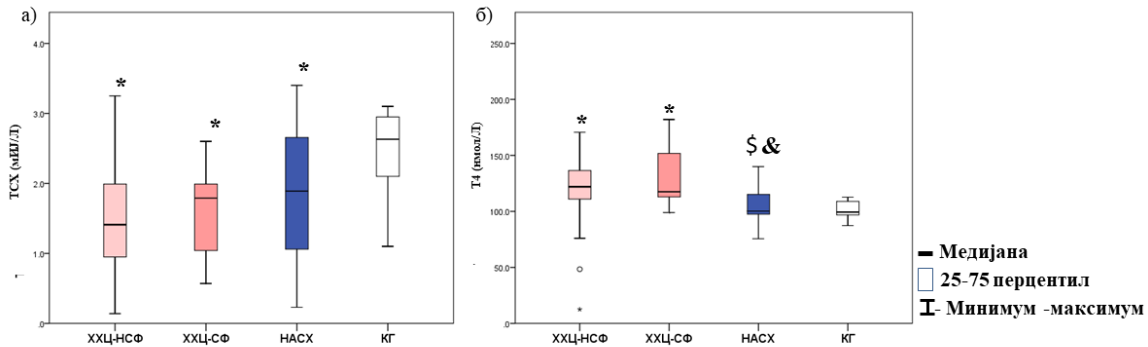


Графикон 29. Вредности АФП у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; АФП- алфа-фето протеин; * $p<0,05$ у односу на КГ; \$ $p<0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p<0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

4.7.2.5 Биохемијски параметри метаболичког синдрома

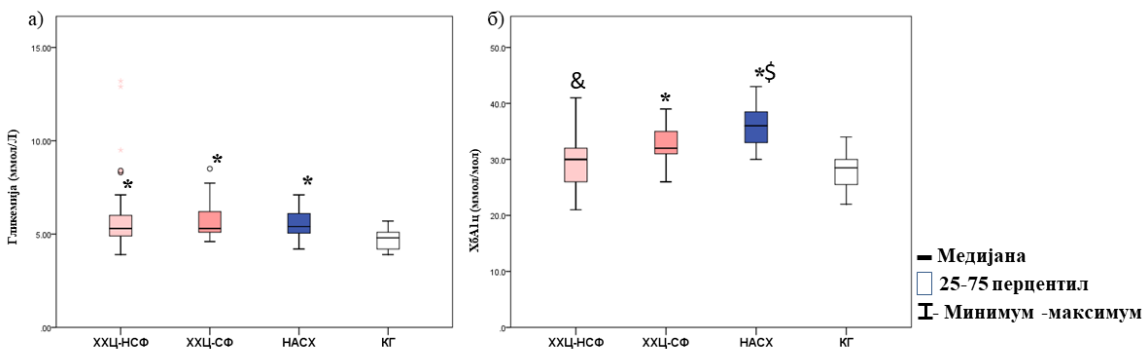
Вредности тиреостимулирајућег хормона у свим групама су биле у границама референтног опсега, али су забележени статистички већи нивои овог хормона у КГ у односу на ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ групу испитаника ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,018$, редом). Тиреотксин је такође у свим испитиваним групама показао нормалан референтни опсег, али су значајно више вредности измерене у ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ у односу на КГ ($p < 0,001$ у оба испитивана случаја), у НАСХ групи у односу на ХХЦ-НСФ и ХХЦ-СФ ($p = 0,016$, $p = 0,008$, редом). Вредности су приказане на Графикону 30.



Графикон 30. Вредности ТСХ (а) и Т4 хормона (б) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ТСХ- тиреостимулирајући хормон; Т4- тиреотоксин. * $p < 0,05$ у односу на КГ; \$ $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

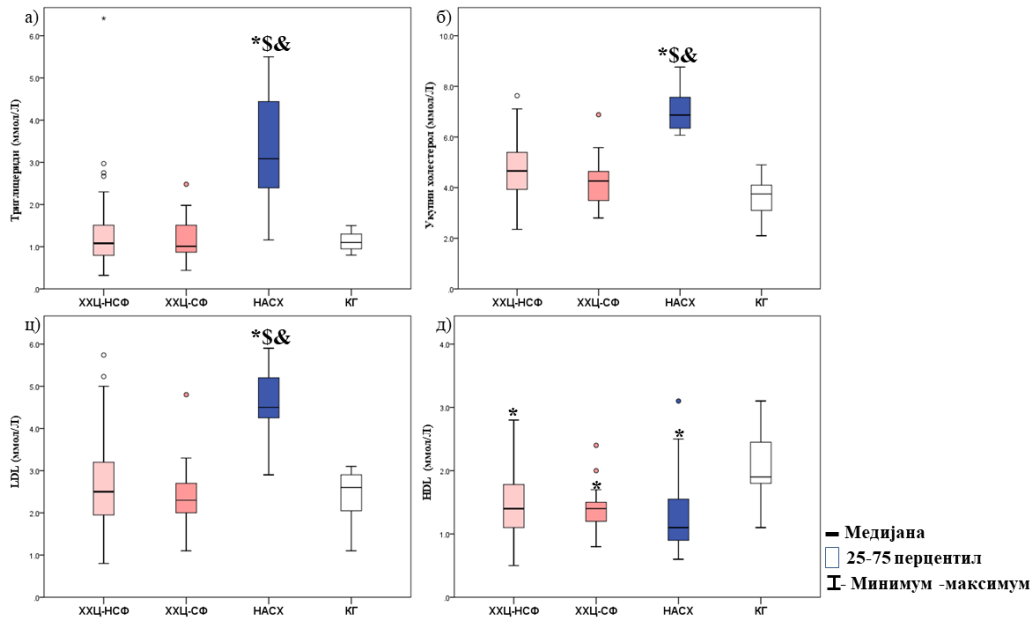
Нивои гликемије узете наше били су значајно већи у ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и НАСХ у односу на КГ ($p = 0,001$, $p = 0,10$ и $p = 0,050$ редом), док између осталих група није забележена статистичка значајност ($p = 1,000$ у свим испитиваним поређењима). ХБА1ц је показао значајно нижи ниво у КГ групи у односу ХХЦ-СФ и НАСХ ($p = 0,002$ и $p < 0,001$, редом), као и нижи ниво у ХХЦ-НСФ у односу на ХХЦ-СФ и НАСХ групу ($p = 0,009$ и $p < 0,001$, редом). Вредности су приказане на Графикону 31.



Графикон 31. Вредности гликемије (а) и хемоглобинА1ц (б) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; * $p < 0,05$ у односу на КГ; \$ $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

Вредности липидног статуса су варирале између група. Највише вредности укупног холестерола, триглицерида и LDL-а су биле у НАСХ групи са забележеном статистичком значајношћу у односу на ХХЦ-НСФ, ХХЦ-СФ и КГ ($p < 0,001$ у свим испитиваним случајевима). Вредности HDL-а биле су статистички значајно ниже у све три групе са ХБЈ у односу на здраве контроле ($p < 0,001$ у сва три случаја). Остала поређења нису показала статистичку значајност ($p = 1,000$ у свим испитиваним случајевима). Вредности су приказане на Графикону 32.

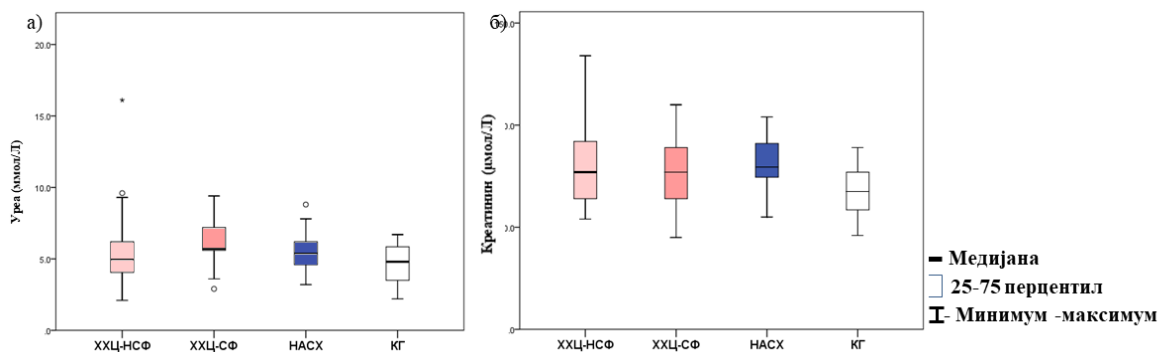


Графикон 32. Вредности триглицерина (а), укупног холестерола (б), LDL холестерола (ц) и HDL холестерола (д) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ. хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ. хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом нс; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; LDL- холестерол мале густине; HDL- холестерол велике густине; * $p < 0,05$ у односу на КГ; \$ $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-НСФ; & $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

4.7.2.6 Параметри бубрежне функције

Вредности испитиваних параметара бубрежне функције, урее и креатинина, биле су у границама референтних опсега код свих испитаника и нису показале статистички значајну разлику између испитиваних група (у групном поређењу $p = 0,056$ и $p = 0,178$ редом). Вредности су приказане на Графикону 33.

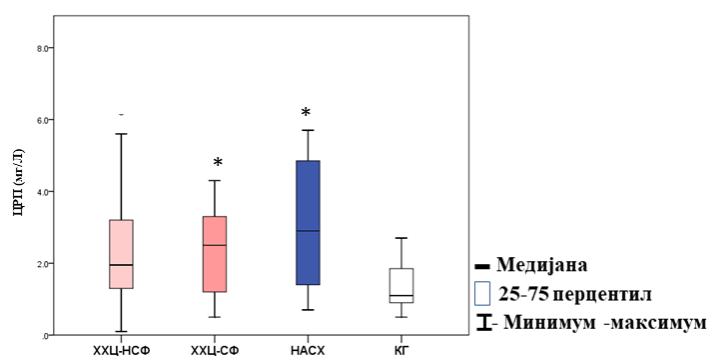


Графикон 33. Вредности урее (а) и креатинина (б) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група.

4.7.2.7 Биохемијски инфламаторни маркер

Вредности испитиваног биохемијског инфламаторног маркера, Ц-реактивног протеина, биле су у границама референтног опсега код свих испитаника, али су забележени значајно нижи нивои у КГ у односу на ХХЦ-СФ и НАСХ ($p=0,050$ у оба случаја). Између осталих испитиваних група није пронађена статистичка значајност ($p=1,000$ у свим испитиваним случајевима). Вредности су приказане на Графикону 34.

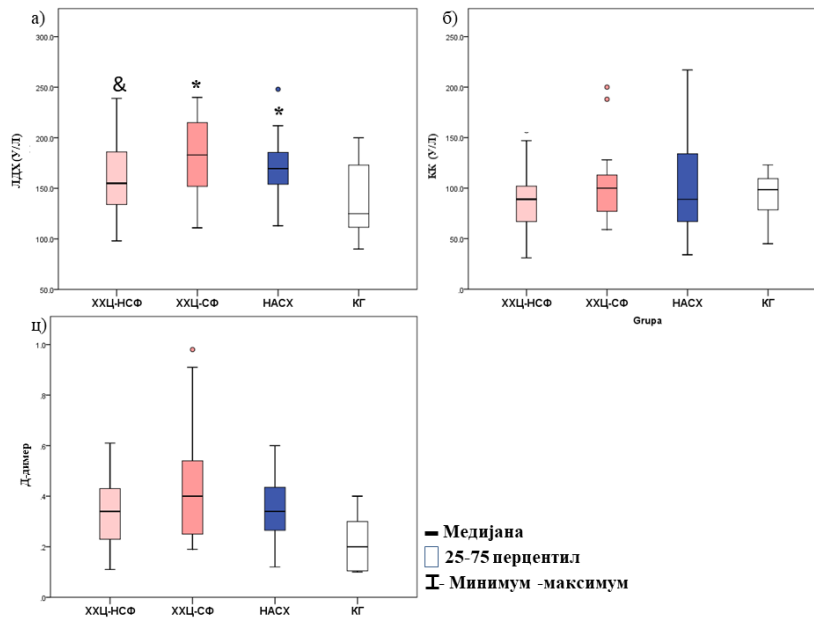


Графикон 34. Вредности ЦРП-а у три испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ЦРП-Ц реактивни протеин. * $p<0,05$ у односу на КГ.

4.7.2.8 Остали биохемијски параметри

Вредности осталих испитиваних биохемијски параметара били су ЛДХ, КК и Д-димер. Вредности ЛДХ биле су статистички значајно веће у групама ХХЦ-СФ и НАСХ у односу на КГ ($p<0,001$ и $p=0,025$). У ХХЦ-СФ забележен је значајно виши ниво ЛДХ у односу на ХХЦ-НСФ групу ($p=0,011$), док остала два параметра нису показала статистички значајне разлике између група ($p=1,000$ за све испитиване параметре). Вредности су приказане на Графикону 35.



Графикон 35. Вредности лактат-дехидрогеназе (а), креатин-киназе (б) и Д-димера (ц) у четири испитиване групе.

Скраћенице: ХХЦ-НСФ- хронични хепатитис Ц са несигнификантном фиброзом; ХХЦ-СФ- хронични хепатитис Ц са сигнификантном фиброзом; НАСХ- неалкохолни стеатохепатитис; КГ- контролна група; ЛДХ- лактат-дехидрогеназа. * $p < 0,05$ у односу на КГ; & $p < 0,05$ у односу на ХХЦ-СФ.

4.8 Корелација концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 са биохемијским параметрима

Анализа повезаности у групи пацијената са ХХЦ-ом је показала да концентрације АСТ-а и АЛТ-а у плазми јако позитивно корелирају са концентрацијама IL-17A ($\rho = 0,716, p < 0,01$; $\rho = 0,691, p < 0,01$, редом), као и да постоји умерена позитивна корелација са концентрацијама IL-17A у ткиву ($\rho = 0,393, p < 0,05$; $\rho = 0,377, p < 0,05$, редом). Такође, код пацијената са ХХЦ-ом, концентрације IL-17A у плазми су биле у умерено негативној корелацији са вредностима албуминима ($\rho = -0,646, p < 0,01$) и фибриногеном ($\rho = -0,363, p < 0,01$). У подгрупи ХХЦ-НСФ добили смо умерену позитивну повезаност између ЦРП-а и концентрације ткивног IL-10 ($\rho = 0,639, p = 0,003$) и између укупног холестерола и ткивног нивоа IL-23 ($\rho = 0,463, p = 0,046$), док је постојала умерена негативна повезаност између концентрације фибриногена и IL-6 у плазми ($\rho = -0,444, p = 0,050$). У студијској подгрупи ХХЦ-СФ, концентрација IL-6 у плазми била је у умерено позитивној корелацији са вредностима ТСХ-а ($\rho = 0,577, p = 0,019$), а концентрација IL-10 у плазми била је у умерено позитивној корелацији са хемоглобином и ТСХ ($\rho = 0,577, p = 0,019$ и $\rho = 0,533, p = 0,034$, редом). У истој студијској подгрупи, пронашли смо умерену негативну повезаност између IL-17A у плазми и АФ ($\rho = -0,649, p = 0,006$) и позитивну умерену повезаност између IL-23 у плазми и броја тромбоцита ($\rho = 0,559, p = 0,024$). Нивои АФ су били у умереној позитивној вези са нивоима IL-17A и IL-23 у ткивима ($\rho = 0,687, p = 0,007$ и $\rho = 0,676, p = 0,008$, редом). НАСХ подгрупа је била специфична по умереној позитивној корелацији између концентрације IL-10 у плазми и ЦРП-а као и урее ($\rho = 0,509, p = 0,026$ и $\rho = 0,567, p = 0,014$), потом концентрације IL-17A у плазми и LDL-а ($\rho = 0,458, p = 0,049$), и концентрације IL-23 у плазми и урее ($\rho = 0,556, p = 0,017$). Концентрације IL-6 у ткиву били су у умереној негативној корелацији са директним билирубином и албуминима ($\rho = -0,638, p = 0,014$ и $\rho = -0,642, p = 0,013$, редом). Ткивне

концентрације IL-17A такође су биле у умереној негативној корелацији са албуминима ($\rho = -0,614$, $p = 0,015$). Ткивне концентрације IL-23 су биле у умерено негативној корелацији са АЛТ-ом ($\rho = -0.583$, $p = 0.023$).

5. ДИСКУСИЈА

Посматрано са аспекта патогенезе, ова докторска дисертација је обухватила две хроничне болести јетре, ХХЦ и НАСХ, примарно узроковане потпуно различитим етиолошким факторима, једна инфективним, а друга метаболичким. Међутим, оно што прожима сваку њих понаособ, а уједно их тиме и спаја, јесте одговор на хроничну стимулацију, који се код обе на нивоу јетре огледа у равоју различитих стадијума инфламације, фиброзе и стеатозе, а на системском нивоу, такође код обе, у различитом степену развоја метаболичког синдрома.

У литератури је добро познат утицај метаболичког синдрома на развој и прогресију НАМБЈ из стеатозе у стеатохепатитис, што су Zohara и сарадници детаљно објаснили кроз систематски прегледни чланак. Наиме, у студијама које су пронашле повезаност између НАМБЈ и метаболичког синдрома, утврђено је да је код пацијената са метаболичким синдромом већа преваленција НАМБЈ (91,4%), односно да је НАМБЈ чешћа код људи са метаболичким синдромом (43,2%) и да се учесталост повећава са повећањем критеријума за дијагнозу метаболичког синдрома (са 43,2% на 67% код оних са максималним бројем испуњених критеријума). Штавише, узрапредовала фиброза јетре примећена је код 6,6% људи са умереном до тешком стеатозом, а скоро је удвостручена код особа са метаболичким синдромом достигавши чак 30% код особа са максималним бројем критеријума за метаболички синдром (Zohara и сар. 2023). Последњих година је актуелан утицај метаболичког синдрома и на развој ХХЦ, и то не само добро познатог генотипа 3 (Lim и сар. 2014), већ и осталих генотипова ХЦВ вируса и то код пацијената који нису гојазни и који немају дијабетес мелитус тип 2. Студија Oliveira и сарадника је обухватила 125 пацијената са генотипом 1 ХЦВ-а. Метаболички синдром је дијагностикован код 21,6% испитаника, од којих је 59,3% имало хипертензију, 77,8% инсулинску резистенцију, 85,2% је било гојазно, док је 48,1% имало већи обим струка. У биваријатној анализи, женски пол, повишен γ -ГТ, повишена вредност гликемије, ниска вредност HDL холестерола, хипертриглицеридемија, повишен обим струка и прекомерна тежина биле су независне детерминанте метаболичког синдрома. Такође, ризик од развоја метаболичког синдрома био је висок за оне пацијенте са гликемојом већом од 5,55 ммол/Л или HDL холестеролом мањим од 0,9 ммол/Л, без дијагностикованог дијабетес мелитуса типа 2 (Oliveira и сар. 2012).

У склопу овог истраживања су анализирани компоненте телесног састава код главних група испитаника са ХБЈ (ХХЦ и НАСХ) и здравих контрола.

Када се посматра група болесника са НАСХ-ом, телесна маса, индекс телесне масе и обим струка значајно су били већи у овој у односу на ХХЦ и контролну групу. Добро је познато да се код болесника са НАСХ-ом бележе значајно веће вредности ова три параметра у односу на здраву популацију због веће акумулације масти у периферним ткивима (Ismail и сар. 2023), те је овакав резултат био очекиван. Вредности гликемије и ХбА1ц као основних показатеља метаболичког синдрома, били су значајно већи у НАСХ групи болесника у односу на здраве контроле, док је само ХбА1ц показао значајно веће нивое у НАСХ у односу на ХХЦ групу испитаника, и то у односу на подгрупу са несигнификантном фиброзом. У недавно објављеној студији је закључено да повишене вредности ХбА1ц-а и обима струка могу бити предиктивни фактори развоја НАМБЈ са сензитивношћу од 70%, те да ХбА1ц може бити предиктивни биомаркер ове болести (Masroog и сар. 2021).

Анализиран је и тиреоидни статус, те су забележени нижи нивои ТСХ у НАСХ у односу на КГ, као и Т4 у односу на обе ХХЦ испитиване подгрупе. Када је тиреоидна функција у питању, у литератури се могу наћи различити подаци. Прегледни чланак Eshraghian и сарадника је испитивао повезаност између дисфункције штитасте жлезде и НАМБЈ/НАСХ-а. Хипотиреоза је била независни фактор ризика за НАМБЈ/НАСХ у

неким студијама, док друге студије нису успеле да пронађу такву повезаност (Eshraghian и сар. 2014).

Нивои липидног статуса такође су показале очекиване резултате у НАСХ групи, те су нивои укупног холестерола, LDL-а и триглицерида биле значајно веће у овој групи у односу на здраве контроле али и у односу на ХХЦ групу испитаника неvezано за степен фиброзе јетре, док је ниво HDL холестерола показао статистички нижи ниво у НАСХ у односу на контролну групу. Сви наведени параметри метаболичког синдрома су код НАСХ-а добро познати, описани као значајни у поређењу са здравом популацијом (Vonghia и сар. 2015; Peng и сар. 2020; Ismaiel и сар. 2023) и у складу су са резултатима добијеним у нашем истраживању, док до сада није поређена болест масне јетре са ХХЦ-ом, те из резултата добијених овим истраживањем можемо закључити да је развој најважнијих лабораторијских компоненти метаболичког синдрома значајнији код НАСХ-а у односу на ХХЦ болеснике, што је и очекивано с обзиром на патогенетски механизам развоја НАСХ-а који на првом месту укључује поремећај метаболизма масти и глукозе.

Анализа метаболичког синдрома у ХХЦ групи испитаника је показала веће вредности обима струка у односу на здраве контроле, што је такође добро познато у литератури с обзиром да је показано да болесници са ХХЦ имају већи проценат висцералних масти (Tsao и сар. 2017). Вредности гликемије биле су значајно веће у обе подгрупе ХХЦ испитаника у односу на контроле, док је вредност ХБА1ц била знајано већа у групи са сигнификантном фиброзом у односу на здраве испитанике али и у односу на ХХЦ групу са несигнификантном фиброзом, што може сугерисати да ХХЦ пацијенти, а посебно они са значајном фиброзом имају повећан ризик за настанак инсулинске резистенције и дијабетес мелитуса. Наиме, повезаност ХЦВ-а са инсулинском резистенцијом је раније препозната. Везивање инсулина за инсулински рецептор доводи до фосфорилације рецептора, односно фосфорилације тирозина интрацелуларног супстрата инсулинског рецептора (*Insulin receptor substrate* енгл. IRS), IRS-1 и IRS-2. Ово активира два главна ћелијска сигнална пута, фосфоинозитид-3 киназу (*Phosphoinositide-3 kinase* енгл. PI3K) и митоген-активирани протеин киназне путеве. Инхибирање гена за IRS-1 и IRS-2 у мишијим моделима индукује инсулинску резистенцију и доводи до хиперинсулинемије, што указује на важност ових молекула као медијатора деловања инсулина. ХЦВ директно ремети сигнализацију инсулина модулацијом инсулинског рецептора и IRS-1 и накнадном регулацијом PI3K. Испитивани су ефекти протеина језгра ХЦВ-а на експресију IRS-1 и IRS-2 код 357 пацијената са хроничним обољењем јетре, те је закључено да је присуство овог протеина у серуму било повезано са инсулинском резистенцијом. Исти аутори сматрају и да протеин језгра хепатитис Ц вируса такође може индуковати инсулинску резистенцију преко појачане регулације супресора сигнализације цитокина-3 и -7 (*Suppressor of cytokine signaling* енгл. SOCS) (Kawaguchi и сар. 2004). На крају, TNF- α такође индукује инсулинску резистенцију код ХЦВ инфекције нарушавањем сигнализације инсулина кроз фосфорилацију серина IRS-1 и IRS-2, чиме се смањује експресија гена транспортера глукозе (Pazienza и сар. 2017).

Вредности тиреоидног статуса биле су у границама референтног опсега у ХХЦ групи испитаника, али ТСХ значајно нижи, а Т4 значајно вишу у ХХЦ групи неvezано за стадијум фиброзе јетре у односу на контроле. У литератури је описана тиреоидна дисфункција код ХХЦ болесника током терапије пегилованим интерфероном (Tran и сар. 2013), али резултати нашег истраживања сугеришу да при праћењу нелечених ХХЦ болесника треба у обзир узети и потенцијални развој тиреоидне дисфункције као једне од екстрахепатичних манифестација болести.

Када је реч о липидном статусу, у ХХЦ групи испитаника забележене су веће концентрације укупног холестерола и LDL-а, као и ниже концентрације HDL-а у односу на здраве контроле. Ниже концентрације HDL холестерола су описане код ХХЦ пацијената и у претходним студијама, док за остала два параметра у литератури постоје опречни подаци (Elgretli и сар. 2023; Sipherho и сар. 2021). Зна се да липиди играју кључну улогу у више аспеката животног циклуса ХЦВ-а, те један од разлога за повишене нивое LDL холестерола може бити сама грађа ХЦВ вируса који у себи садржи липиде и естре холестерола, те је један од начина везивања вируса управо путем LDL рецептора на хепатоцитима. Наиме, у нормалним физиолошким условима, LDL рецептор је одговоран за интрацелуларни транспорт LDL-а богатог холестеролом путем ендцитозе. Компетиција ХЦВ-а и LDL-а за рецептор може бити разлог повишеним концентрацијама неметаболизованог LDL-а у серуму. Међутим, сматра се да управо везивање вируса за рецептор LDL-а повећава експресију гена овог рецептора чиме хепатоцити инфицирани ХЦВ-ом појачајно преузимају LDL холестерол из крвотока, узрокујућу супротно, хипохолестеролемију и хиполипипропротеинемију код ХХЦ пацијената (Syed и сар. 2014).). Такође, ХЦВ повећава биосинтезу липида, омета митохондријалну оксидацију и последично разградњу липида и смањује извоз аполипипропротеина, а посебно VLDL-а, што доводи до значајне интрацелуларне акумулације липида у јетри, а са друге стране смањења нивоа ових метаболита у циркулацији (Elgretli и сар. 2023). Такође, показано је и да језгро протеина интерагује са ћелијском „машинеријом“ укљученом у метаболизам липида као што су аполипипропротеини А1 и А2, који су укључени у акумулацију и складиштење триглицерида у хепатоцитима, као и да овај протеин језгра ХЦВ-а појачава регулацију гена укључених у синтезу ћелијских липида, чиме се промовише *де ново* липогенеза (Lim и сар. 2014). Сви наведени закључци нису у корелацији са добијеним повишеним вредностима LDL и укупног холестерола у нашем истраживању, али с обзиром на исхрану богату мастима у Србији као и седентарни начин живота, потребно је истраживање које би обухватило већи број испитаника као и анкету о начину исхране и осталим животним навикама испитаника, те би након тога могао да се донесе дефинитиван закључак о томе да ли је хиперхолестеролемија код наших испитаника повезана само са лошим животним навикама чиме се заобилази корисна хипохолестеролемија код ХХЦ болесника.

Када говоримо о биохемијским параметрима некрозе хепатоцита, обе испитиване болести јетре, ХХЦ и НАСХ, као једну од првих лабораторијских абнормалности акцидентално откривених у асимптоматској фази, показују повишене нивое серумских трансaminaза, као резултат некрозе хепатоцита. НАСХ карактерише асимптоматско повишење нивоа АЛТ-а и АСТ-а у око 90% случајева, када се искључе други узроци болести јетре (Edmison и сар. 2007), док су бројне студије показале да су нивои АЛТ-а и АСТ-а у серуму повишени код пацијената са ХХЦ-ом у различитим стадијумима болести и да могу имати флукуације неvezано за клиничку прогресију болести (Afify и сар. 2017; Taske и сар. 2022). У овој студији, вредности АСТ-а и АЛТ-а су биле значајно веће код испитаника свих група са болешћу јетре у поређењу са здравим контролама, што је било очекивано и у складу је са до сада објављеним студијама. Такође, веће вредности трансaminaза биле су у групи ХХЦ испитаника са значајном фиброзом и цирозом у поређењу са онима без значајне фиброзе, као и испитаницима из НАСХ групе, што је такође очекивано због већег степена фиброзе јетре а последично некрозе хепатоцита у овој групи (Ф3/Ф4 у ХХЦ-СФ у поређењу са Ф0/Ф1/Ф2 у групама ХХЦ-НСФ и НАСХ), с напоменом да су први пут поређени и објављени резултати вредности серумских трансaminaза између ХХЦ и НАСХ болесника у истраживању ове докторске дисертације (Vujić и сар. 2023).

Најзначајни параметри у клиничкој процени функционалног оштећења јетре су параметри њене синтетске функције. У овом истраживању, пацијенти из групе ХХЦ са значајним степеном фиброзе и цирозом јетре су показали ниже вредности протромбинског времена, албумина и тромбоцита у поређењу са ХХЦ-НСФ, НАСХ и контролном групом, што је у складу са до сада објављеним студијама које су се бавиле различитим параметрима смањене синтетске функције јетре у фази узрапредовале фиброзе и цирозе. Тако се смањен број тромбоцита код узрапредовале фиброзе доводи у везу са спленомегалијом, смањеним нивоима тромбопоетина и смањеном производњом тромбоцита у костној сржи у фази цирозе, а ниже концентрације албумина и продужено време крварења са смањеном способношћу јетре да метаболише протеине и производи факторе коагулације (Tana и сар. 2015; Nagao и сар. 2010).

Група ХХЦ болесника са сигнификантном фиброзом је показала значајно веће концентрације АФП-а у одсуству хепатоцелуларног карцинома у поређењу са преостале три групе. Налаз је у складу са објављеним подацима када говоримо о поређењу ХХЦ-НСФ групе испитаника са ХХЦ-СФ и здравим испитаницима (Cerdea-Reyes и сар. 2022; Rawi и сар. 2020; Manic и сар. 2020; Chu и сар. 2001), док аутори из ове области до сада нису поредили ХХЦ и НАСХ, али као што је наведено, с обзиром на патохистолошки нижи степен оштећења јетре у НАСХ у односу на ХХЦ-СФ групу (Ф3/Ф4 у поређењу са Ф0/Ф1/Ф2), и овај налаз је очекиван.

Параметар системске инфламације који се рутински највише користи у клиничкој пракси, ЦРП, био је значајно већи у ХХЦ групи са значајном фиброзом и НАСХ групи у односу на здраве контроле. Када говоримо о НАСХ-у, овај резултат је у складу са претходно објављеним, те је познато да пацијенти са НАСХ-ом имају веће вредности овог запаљенског параметра, као и да се на основу повишених вредности ЦРП-а могу разликовати НАМБЈ болесници са стеатозом од оних са стеатохепатитисом (Dogru и сар. 2012; Yeniova и сар. 2014). Међутим, када је реч о ХХЦ-у у литератури се јављају различити резултати. Вhуiуан и сарадници су кроз мултиваријантну анализу која је обухватила 5611 испитаника показали да болесници са ХХЦ-ом (без анализе о утицају стадијума фиброзе јетре) имају ниже концентрације ЦРП-а у односу на здраве испитанике, док је Моуга сугерисао да је ниво ЦРП-а нижи код узрапредовале фиброзе и да зависи од полиморфизма за ова протеин, те да код ХХЦ пацијената са тежим стадијумом болести постоји негативна корелација виремије и вредности ЦРП-а, највероватније услед такве форме ЦРП-а која му онемогућава главно дејство а то је опсонизација и фагоцитоза (Вhуiуан и сар. 2019; Моуга и сар. 2019). Са друге стране, Huang и сарадници су објавили да су код болесника са ХХЦ-ом повишене концентрације у односу на здраве испитанике, што је у складу са резултатима добијеним у нашем истраживању, с тим што наведена студија није у обзир узимала стадијум фиброзе јетре (Huang и сар. 2010), те не можемо донети дефинитивни закључак везан за улогу овог инфламаторног параметра у процесу фиброзе јетре.

С обзиром на то да је фокус истраживања инфламација и улога ИЛ-23/ИЛ-17 осе у патогенези хроничних болести јетре, анализирани су концентрације цитокина ове осовине у плазми и ткиву јетре код болесника са ХХЦ-ом и НАСХ-ом.

Недавно је испитивана улога наведене осовине на различитим експерименталним моделима оштећења јетре. Yan и сарадници су показали да делеција ИЛ-17 рецептора или неутрализација ИЛ-17А посредована антителом, може обезбедити заштиту од индукованог хепатитиса, као и да се нивои ИЛ-17 и ИЛ-6 повећавају паралелно са степеном фиброзе јетре (Yan и сар. 2012). Yamato и сарадници су на моделу експериментално индукованог НАСХ-а испитивали утицај анти-ИЛ-17 антитела и закључили да се блокирањем дејства ИЛ-17 смањује прогресија фиброзе јетре код ове болести (Yamato и сар. 2019). Meng и сарадници су показали да осовина ИЛ-23/Th17 игра

важну улогу у антивирусном одговору код хроничне ХЦВ инфекције. Тачније, IL-23 може да појача антивирусну активност терапије засноване на интерферону модулацијом експресије молекула повезаних са Th17 ћелијама, превасходно IL-17A и IFN- γ код пацијената инфицираних ХЦВ-ом (Meng и сар. 2016).

У истраживању које смо спровели, испитаници из ХХЦ и НАСХ групе су имали веће концентрације IL-23, IL-17A и IL-6 у плазми у односу на здраве испитанике, док је IL-17A био значајно већи и у НАСХ у односу на ХХЦ групу испитаника. Једна од објављених студија у којој је анализирано 66 пацијената са ХХЦ-ом и 20 здравих контрола је показала да пацијенти са ХХЦ-ом имају повећане концентрације IL-17A и IL-23 у поређењу са здравим испитаницима (Meng и сар. 2016). Такође, Elbaz и сарадници су описали да пацијенти са хроничним хепатитисом Ц имају повишене концентрације IL-17 у серуму у односу на здраве контроле као и у односу на пацијенте са окултном ХЦВ инфекцијом (Elbaz и сар. 2024). Студија Che Noh и сарадика испитала је тридесет девет испитаника са хроничном ХЦВ инфекцијом и здравих контрола. Концентрације серумског IL-6 биле су статистички значајно веће у групи испитаника са ХХЦ у односу на здраву популацију (Che Noh и сар. 2022). Када је НАСХ у питању, студије су показале да су нивои IL-6, IL-17 и IL-23 цитокина повећани и код пацијената са НАСХ-ом у поређењу са здравом популацијом, као и да су нивои IL-17 повезани са стеатозом јетре и проинфламаторним одговором код НАМБЈ олакшавајући прелазак из једноставне стеатозе у стеатохепатитис (Tang и сар. 2011; Belinchón-Romero и сар. 2021). Такође су Rau и сарадници су показали да су код пацијената са НАСХ-ом нивои IL-6 повећани у поређењу са здравом популацијом (Rau и сар. 2016) што је све у корелацији са нашим резултатима.

Ради бољег увида о утицају ове осовине на развој фиброзе јетре код ових болести, ХХЦ група је подељена у подгрупу испитаника са и ону без сигнификантне фиброзе. ХХЦ испитаници са сигнификантном фиброзом имали су значајно веће концентрације IL-17A у плазми у поређењу са ХХЦ пацијентима без значајне фиброзе и контролном групом, док су испитаници из обе ХХЦ подгрупе имали веће концентрације IL-23 у поређењу са здравим контролама. Raquissi је недавно објавио да је оса Th17/IL-17 у хроничној ХЦВ инфекцији укључена у неколико тачака ланца фиброгенезе и то од активације звездастих ћелија, повећане експресије профибротичких фактора, промоције миофибробластичне или епително-мезенхималне транзиције, стимулације синтезе колагена и индукције неравнотеже између матриксних металопротеиназа и ткивних инхибитора металопротеиназа. Ова оса такође подстиче регрутовање инфламаторних ћелија и повећава експресију проинфламаторних цитокина као што су IL-6 и IL-23, те су концентрације IL-6, IL-17 и IL-23 повећане код пацијената са ХХЦ-ом и веће су код оних пацијената са већим степеном фиброзе јетре (Raquissi 2017), што је у складу са резултатима добијеним у нашем истраживању. Нивои IL-6 у плазми били су значајно виши у групама ХХЦ-СФ и НАСХ у поређењу са здравим контролама. Према истраживању de Souza-Cruz и сарадника, ХХЦ пацијенти са тешком фиброзом јетре (Ф3/Ф4) имали су знатно више серумске нивое проинфламаторних цитокина као што су IL-6 и IL-17 (de Souza-Cruz и сар. 2016). Оба ова резултата су у складу са резултатима добијеним у нашој студији. ХХЦ пацијенти без значајне фиброзе имали су значајно мање концентрације IL-17A у плазми у поређењу са пацијентима са НАСХ-ом, без обзира на исти стадијум фиброзе јетре (Ф0/Ф1/Ф2 код обе групе испитаника). Поред тога, детектовали смо значајно веће концентрације IL-17A и IL-23 у плазми у НАСХ групи и у поређењу са ХХЦ-СФ групом, без обзира на виши степен фиброзе у ХХЦ-СФ групи (Ф3/Ф4 у ХХЦ-СФ у поређењу са Ф0/Ф1/Ф2 у НАСХ групи). До сада у литератури нису поређене ове две болести из аспекта имунолошког одговора, те је први пут објављен овакв резултат у истраживању које је обухватила ова докторска

дисертација (Vujić и сар. 2023). Оно што би се из оваквог резултата могло закључити јесте то да је осовина IL-23/IL-17 активирана на вишеструки, мултифакторијалан начин код НАСХ-а, с обзиром на сложену системску и метаболичку патогенезу ове болести. Она између осталог укључује и већи проценат телесних масти у НАСХ-у у односу на ХХЦ групу испитаника (што је показало и наше истраживање), а масно ткиво је само по себи извор проинфламаторних цитокина, те можемо закључити да је системски степен проинфламације изазване цитокинима осовине IL-23/IL-17 независтан од степена оштећења јетре када се пореде ХХЦ и НАСХ као две етиопатогенетски различите болести јетре.

Нисмо пронашли разлике у концентрацијама IL-6 и IL-23 у плазми између две ХХЦ подгрупе са различитим степеном оштећења јетре, али су концентрације IL-17А били значајно виши у ХХЦ-СФ групи него у ХХЦ-НСФ групи. Важност повећаних концентрација IL-17 у различитим стадијумима ХХЦ-а је раније препозната. Тачније, код узнатривалога оштећења јетре процењеног преко повишених нивоа серумских трансминаза (АСТ и АЛТ), индиректно је показано да постоји позитивна корелација концентрације IL-17 цитокина са овим биохемијским параметрима, те је сугерисано да равнотежа између различитих Т ћелија које производе IL-17, може бити значајна у процесу напредовања фиброзе код пацијената са хроничном ХЦВ инфекцијом (Sachet и сар. 2017; Sachet и сар. 2019). Повећане концентрације овог цитокина чини се да играју важну улогу не само у прогресији ХХЦ-а, већ и у карциногенези и развоју ХЦЦ-а. Наиме, Askoura и сарадници су објавили студију у којој је испитиван ниво IL-17 код 146 ХХЦ пацијената без ХЦЦ-а, 45 ХХЦ пацијената са ХЦЦ-ом и 32 здраве контроле. Повишен ниво IL-17А био је у корелацији са степеном фиброзе јетре, а значајно већи нивои овог цитокина били код ХХЦ пацијената са развијеним ХЦЦ-ом, те је закључено да се овај цитокин може сматрати биомаркером за развој ХЦЦ-а код ХХЦ пацијената (Askoura и сар. 2022). Када је реч о IL-6, French и сарадници су открили високе периферне нивое IL-6 код пацијената заражених ХЦВ-ом са тешким оштећењем јетре. Штавише, генетски полиморфизам за IL-6 је такође био повезан са брзим напредовањем оштећења јетре након ХЦВ инфекције (French и сар. 2013), те како у нашем истраживању није било статистички значајне разлике у концентрацији овог цитокина у подгрупама са различитим степеном оштећења јетре, не можемо јасно донети закључак о утицају овог цитокина у патогенези фиброзе јетре код ХХЦ болесника.

IL-10 је мултифункционални цитокин и моћан регулатор имунолошке функције кроз своје антиинфламаторно и антифибротично дејство. Верује се да је IL-10 један од кључних цитокина који посредују у имунолошком одговору домаћина на ХЦВ инфекцију. Недостатак или прекомерна продукција овог цитокина може довести до неколико патолошких стања, па тако низак ниво може повећати инфламаторну реакцију и помоћи при понтаном уклањању ХЦВ-а. Са друге стране, његова прекомерна експресија може инхибирати имунски одговор, омогућавајући вирусу да преживи чиме се повећава осетљивост на реинфекцију. IL-10 дакле може бити укључен у изостанак ерадикације ХЦВ-а а последично, у прогресију болести. Поред тога, овај цитокин игра суштинску улогу у сузбијању имунолошког одговора у раним фазама ХЦВ инфекције, с обзиром на то да потискује ХЦВ-специфичне CD4+ и CD8+Т ћелије (Khan и сар. 2015). У нашем истраживању, концентрација IL-10 била је значајно већа у контролној групи у поређењу са обе ХХЦ подгрупе, док је између подгрупа концентрација била већа у ХХЦ-НСФ у поређењу са ХХЦ-СФ групом. Једна од претходних студија је показала смањене концентрације IL-10 у здравој популацији у поређењу са испитаницима са хроничним хепатитисом. Наиме, 41 пацијент којем је дијагностикована ХБЈ (33 анти-ХЦВ позитивна и 8 анти-ХЦВ негативна пацијента) је укључен у ову студију. Пацијенти инфицирани ХЦВ-ом показали су повећану експресију IL-10 и IL-12 у поређењу са

здравим контролама. Серумске концентрације IL-10 и IL-12 биле су значајно веће код болесника са већим степеном оштећења јетре (El-Emshaty и сар. 2015), што није у корелацији са нашим резултатима. С друге стране, Owusu и сарадници су показали да се двадесет пет процената (41/163) анти-ХЦВ позитивних пацијената који су се успешно спонтано опоравили од ХЦВ-а, имали значајно веће концентрације IL-10 у серуму од пацијената са активном инфекцијом (Owusu и сар. 2020), те се може закључити да пацијенти са активним ХХЦ-ом имају ниже концентрације овог цитокина. Резултати добијени у нашем истраживању се могу објаснити повећаним антиинфламаторним одговором код болесника са ХХЦ без значајне фиброзе јер је очигледно да код узрапредовале фиброзе и цирозе доминантна компонента имунског одговора постаје проинфламација.

У групи пацијената са НАСХ-ом, концентрације IL-10 су биле веће у поређењу са обе подгрупе пацијената са ХХЦ-ом, али није било разлике између НАСХ и контролне групе. Једна од студија на експерименталним животињама је показала више серумске концентрације IL-10 у групи у којој је индукован НАСХ у поређењу са контролном групом (Tsujiimoto и сар. 2009), али Vonghia и сарадници нису показали статистичку разлику у нивоима IL-10 у серуму између пацијената са НАСХ-ом и здраве популације (Vonghia и сар. 2015), што је у корелацији са резултатима нашег истраживања. До сада је у литератури поређена концентрација IL-10 између ХХЦ и НАСХ болесника само у истраживању ове докторске дисертације (Vuјović и сар. 2023), те повећану вредност у НАСХ групи у односу на ХХЦ испитанике, неvezано за стадијум фиброзе јетре, као и за претходно описане остале испитиване цитокине у склопу овог истраживања, можемо објаснити мултифакторијалним инфламаторним одговором у патогенези НАСХ-а.

Управо у циљу разумевања системске инфламације која је порекла локалног, тј. ткивног инфламаторног одговора, мерене су концентрације испитиваних цитокина у ткиву јетре у групама испитаника са ХБЈ. При поређењу две главне групе, значајно веће ткивне концентрације IL-10, IL-23 и IL-17A биле су НАСХ у односу на ХХЦ групу испитаника. Након анализе ХХЦ подгрупа, уочили смо да су IL-6 и IL-17A у ткиву јетре већи у ХХЦ-СФ у поређењу са ХХЦ-НСФ групом, као и да су концентрације сва четири испитивана цитокона (IL-10, IL-6, IL-17A и IL-23) већа у НАСХ групи у односу на ХХЦ-НСФ подгрупу без обзира на исти степен фиброзе јетре у обе ове испитиване групе. С обзиром на то да су ови резултати први пут објављени у склопу нашег истраживања (Vuјović и сар. 2023), тачније да ове две болести до сада нису поређене на овом нивоу, у циљу закључка, анализирали смо доступне податке о ткивном инфламаторном одговору код сваке појединачно. Aboushousha и сарадници су показали да експресија IL-17 у ткиву јетре позитивно корелира са израженим степеном активности ХЦВ вируса и већим степеном фиброзе јетре (Aboushousha и сар. 2021). Такође, Тап и сарадници закључили су да је интрахепатична експресија IL-17 у позитивној корелацији са серумским индексима хепатичне фиброзе (Тап и сар. 2013). Оба резултата су у складу са анализом ткивних концентрација IL-6 и IL-17A у нашем истраживању које су повећане у фази тешке фиброзе и цирозе јетре изазване ХЦВ-ом. Такође смо детектовали повишене концентрације IL-6, IL-17A, IL-23 и IL-10 у НАСХ групи у поређењу са ХХЦ-НСФ групом испитаника, упркос истом степену фиброзе јетре у ове две испитиване групе (Ф0/Ф1/Ф2). Ако анализирамо ткивну инфламацију у НАСХ-у, студија Gomes-а и сарадника спроведена на експерименталним животињама сугерисала је да IL-17 у овој болести може иницирати стеатохепатитис који напредује до ХЦЦ-а. Тачније, блокирање IL-17A рецептора довело је до смањења хепатостеатозе и нивоа СМК-а, уз смањење лимфоцитне, гранулоцитне, КС и Т-ћелијске инфилтрације јетре, а последично до спречавања фиброзе и хепатоканцерогенезе (Gomes и сар. 2016). Ако се

осврнемо на чињеницу да су детектоване ниже концентрације у ХХЦ групи испитаника без значајне фиброзе у односу на оне са значајном фиброзом и НАСХ-ом, наведени резултати могу сугерисати на повезаност ткивног IL-17A са фиброзом јетре изазваном хроничним хепатитисом, али је потребно више претклиничких и кохортних клиничких студија да би се потврдила ова веза. Такође, као што је наведено, у литератури актуелно не постоје подаци који упоређују ткивне концентрације ових цитокина код пацијената са НАСХ-ом и ХХЦ-ом, али потенцијално објашњење за добијени резултат у нашем истраживању је то да је локални имунопатогенетски одговор у ткиву јетре код пацијената са НАСХ-ом комплексан, да доводи до већег степена инфилтрације а последично и инфламације јетре из различитих системских извора, као и брже прогресије болести у цирозу јетре, у поређењу са пацијентима са ХХЦ, јер је познато да је код ХХЦ потребно 20-30 година а код НАСХ-а око 8 година до прогресије боелсти у цирозу (Patel и сар. 2012).

Анализиране су и разлике између концентрације цитокина у плазми и ткиву јетре у свакој од група са ХБЈ. Код ХХЦ-НСФ групе није било значајних разлика између концентрације IL-6 и IL-23 у плазми у односу на ткиво јетре, док је концентрација IL-17A била већа, а IL-10 нижа у ткиву јетре у поређењу са нивоом у плазми. Са друге стране, у групи ХХЦ-СФ, као у НАСХ групи испитаника, измерене су значајно веће концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 у ткиву јетре у поређењу са нивоима у плазми, што би могло представљати виши степен локалног него системског инфламаторног одговора у ове две групе болесника. Недавно објављена студија је описала повећан однос циркулишућих Th17 ћелија и оних које инфилтрирају јетру код пацијената са ХХЦ-ом у поређењу са здравим испитаницима, а оба нивоа испитиваних имунолошких параметара била су у корелацији са степеном фиброзе јетре (Chang и сар. 2012). Студија Масек Јилкова и сарадника показала је да је код хроничног хепатитиса број IL-17(+) неутрофила у фибротичним септама и порталним сегментима у снажној позитивној корелацији са стадијумима фиброзе, што значајно доприноси укупној производњи IL-17 у ткиву јетре (Massek Jilkova и сар. 2016). Показано је да је експресија IL-6 у јетри у позитивној корелацији са степеном инфламације и фиброзе код пацијената са НАСХ-ом, заједно са чињеницом да засићене СМК индукују производњу IL-6 у хепатоцитима *in vitro* (Wieckowska и сар. 2008). Не и сарадници, као и Li и сарадници су показали да су нивои цитокина повезани са Th17 ћелијама (IL-6, IL-17 и IL-23) у серуму и у ткиву јетре повећани на експерименталним животињским НАСХ моделима у поређењу са здравом групом, али нису анализиране разлике између нивоа у серуму и ткиву јетре (He и сар. 2017; Li и сар. 2020). Сви ови резултати, као и резултати нашег истраживања, указују на већи степен локалне инфламације у ткиву јетре у односу на системски инфламаторни одговор код ХХЦ пацијената са сигнификантном фиброзом и НАСХ пацијената.

Испитивали смо и повезаност рутински коришћених биохемијских показатеља оштећења јетре са концентрацијама цитокина осовине IL-23/IL-17 код испитаника са ХБЈ.

У ХХЦ испитиваној групи, концентрације АСТ-а и АЛТ-а показују снажну позитивну корелацију са концентрацијама IL-17A у плазми, као и умерену позитивну корелацију са концентрацијама IL-17A у ткиву, што указује да је инфламација код ХХЦ болесника повезана са деструкцијом хепатоцита. Такође, у ХХЦ групи, концентрације IL-17A у плазми су показале негативну умерену корелацију са количином албумина и фибриногена, што може значити да повећани степен системске имнфламације уједно значи и одређени степен смањене синтетске функције јетре код ХХЦ болесника. Elbanan и сарадници описали су позитивну корелацију између нивоа IL-17 у серуму и

трансаминаза, као и негативну корелацију између IL-17 и серумских албумина, што је у складу са резултатима добијеним у нашем истраживању (Elbanan и сар. 2020).

Концентрације IL-17A у плазми су показале позитивну умерену корелацију са LDL-ом у НАСХ испитиваној групи. Једна од претходних студија је истраживала да ли LDL може директно утицати на инфламацију јетре код експерименталних животиња. Мишевима је убризган болус оксидованог LDL-а (окLDL) за чије се концентрације зна да су повећане код пацијената са НАСХ-ом, и жртвовани су након 2/6/24 сата од инјекције. Након 24 сата од инјекције окLDL, утврђено је да је дошло до повишене експресије гена за одређене инфламаторне параметаре у јетри. Наиме, окLDL се усмерава на лизозоме КС, где се акумулира преко механизма који нису јасно утврђени, али се зна да се не може претворити у слободни холестерол те да бива заробљен унутар лизозома, изазивајући инфламаторни одговор. Хепатична генска експресија инфламаторних маркера као што су TNF- α , серумски амилоид А1, TLR-4 и интрацелуларног адхезионог молекула-1 је била значајно већа код мишева који су примили болус окLDL (Bieghs и сар. 2013). Дакле, ови подаци указују на узрочну везу између LDL-а и инфламације јетре и пружају нове основе за даља истраживања у контексту превенције и лечења НАСХ-а.

Анализирана је и међусобна повезаност концентрације испитиваних цитокина са стадијумом фиброзе јетре као и међусобна повезаност концентрације различитих цитокина како у плазми тако и у ткиву јетре.

Није доказана повезаност ткивних концентрација цитокина са прогресијом фиброзе у ХХЦ испитиваној групи, али је у овој групи пронађена позитивна корелација између ткивних нивоа IL-17A и IL-23, као и IL-6 са оба цитокона, IL-17A и IL-23 што може бити значајан показатељ ткивне активације IL-23/IL-17 осе у патогенези ове болести.

Са друге стране, пронађена је позитивна корелација између ткивних нивоа сва четири испитивана цитокина у НАСХ испитиваној групи са стадијумом фиброзе јетре. Описани резултати сугеришу да је у патогенези ове болести стадијум фиброзе завистан од степена активације IL-23/IL-17 осе. Такође у овој испитиваној групи је пронађена позитивна корелација ткивних концентрација IL-6 са преостала три испитивана цитокина, потом између IL-10 и IL-17A, као и између IL-17A и IL-23, што указује на међусобну повезаност ових цитокина при покретању имунског одговора на хроничну стимулацију изазвану метаболичким синдромом.

Када је реч о концентрацијама цитокина у плазми, само је IL-10 показао негативну корелацију са стадијумом фиброзе јетре у ХХЦ групи испитаника, што би значило да већи степен фиброзе за последицу има ткивно смањење концентрације овог антиинфламаторног цитокина. У ХХЦ и у НАСХ испитиваним групама пронађена је позитивна корелација плазма нивоа IL-6 са преостала три цитокина, као и између IL-17A и IL-23, што патогенетски сугерише на симултану активацију цитокина осовине IL-23/IL-17 у ове две болести.

Даљом анализом, у циљу испитивања цитокина као потенцијалних биомаркера прогресије фиброзе јетре, учињена је логистичка регресиона анализа. Она је потврдила да су веће концентрације IL-23 у плазми биле повезане са НАСХ-ом. Веће концентрације IL-17A и ниже концентрације IL-10 у плазми биле повезане са ХХЦ-ом у поређењу са здравим контролама, а када су анализирани подгрупе, веће концентрације IL-17A у плазми биле специфичне за ХХЦ-СФ у поређењу са здравим контролама.

Анализом дијагностичке тачности процењено је да IL-6, IL-17A и IL-23 у плазми могу бити могући маркери којима би се разликовали пацијенти са ХХЦ-ом од здравих испитаника. Предложена *cutt-off* вредност за IL-6 је 4,1 пг/мЛ за проценат сензитивности од 72%, за IL-17A *cutt-off* вредност је 2,7 пг/мЛ са сензитивношћу од

52,8%, док је за IL-23 *cutt-off* 47,3 пг/мЛ при 91,7% сензитивности. Болесници са ХХЦ-ом без значајне фиброзе би од здраве популације могли да се разликују уколико имају ниво IL-23 у плазми већи од 66 пг/мЛ са сензитивношћу од 75%, док би ХХЦ болесници са значајним степеном фиброзе од здраве популације могли да се разликују по нивоу IL-6 већим од 6,1 пг/мЛ где је сензитивност 81% и IL-17A већим од 3,3 пг/мЛ са сензитивношћу од чак 100%. Наведени цитокини као потенцијални биомаркери нису до сада класификовани за ХХЦ.

Најзначајнија разлика у овој анализи је била у већим концентрацијама IL-10 у плазми код ХХЦ-НСФ у поређењу са ХХЦ-СФ групом, где је *cutt-off* вредност била 47 пг/мЛ са сензитивношћу од 90%. Можемо закључити да се IL-10 може користити као биомаркер фиброзе у ХХЦ како би се разликовали пацијенти са несигнификантном и сигнификантном фиброзом, што сугеришу и неке од претходних студија (El-Emshaty и сар. 2015; Santiago и сар. 2021). Значај овог цитокина у прогресији фиброзе јетре испитивали су и Ferreira у сарадници који су открили већу експресију IL-10 код пацијената са блажим облицима ХХЦ у односу на оне са тешком фиброзом. Поред тога, закључено је да IL-10 може смањити експресију проинфламаторних цитокина у Т ћелијама, смањити експресију колагена типа 1, испољавајући своје антифибротичке ефекте (Ferreira и сар. 2023).

Потребна су даља експериментална и кохортна клиничка истраживања која би потврдила утицај IL-23/IL-17 осе на развој фиброзе код хроничних болести јетре различите етиологије и потврдила нове увиде у имунохепатотоксичност осветљавајући тиме пут за циљану имунотерапију која би спречила прогресију фиброзе до цирозе и самим тим смањила индикације за трансплантацију јетре.

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата истраживања спроведених у оквиру ове докторске дисертације, могу се извести следећи закључци:

1. Антропометријске и биохемијске карактеристике пацијената са хроничним боелстима јетре су у складу са етиологијом и стадијумом обољења јетре.
2. ХХЦ пацијенти са узнапредовалом фиброзом и пацијенти са НАСХ-ом имају повећане концентрације IL-6, IL-17A и IL-23 у плазми и ткиву јетре, што указује на развој локалног и системског проинфламаторног одговора код ове болести јетре.
3. Пацијенти са НАСХ-ом имају повишене концентрације IL-17A и IL-23 цитокина у плазми у поређењу са ХХЦ болесницима са узнапредовалом фиброзом и цирозом, као и веће концентрације ових цитокина у ткиву јетре, без обзира на већи степен фиброзе у ХХЦ-СФ групи испитаника, што може значити да је испитивана осовина значајнија у развоју инфламације код НАСХ-а у односу на ХХЦ.
4. Пацијенти са НАСХ-ом имају повишене концентрације IL-17A у плазми, али и у ткиву јетре у поређењу са ХХЦ болесницима без значајне фиброзе. С обзиром на то да испитаници ове две групе имају истим стадијум фиброзе (Ф0-Ф2), овакав резултат одражава вероватно виши ниво системске и локалне мултифакторијалне инфламације код НАСХ-а у поређењу са ХХЦ болесницима.
5. Постоји позитивна корелација између ткивних нивоа цитокина осовине IL-23/IL-17 у НАСХ испитиваној групи са стадијумом фиброзе јетре, што указује на то да већи степен активације ове осе последично повећава степен фиброзе јетре.
6. Плазма концентрације IL-17A су у позитивној корелацији са некрозом хепатоцита и у негативној корелацији са параметрима синтетске функције јетре.

7. Више концентрације IL-23 у плазми повезане су са НАСХ-ом, док су високе концентрације IL-17A и ниске концентрације IL-10 у плазми повезане са ХХЦ-ом неvezано за стадијум фиброзе јетре.
8. Потенцијални биомаркери ХХЦ-а су IL-6, IL-17A и IL-23, док је IL-10 значајан биомаркер напредовања фиброзе који може служити за разликовање ХХЦ болесника без (Ф0/Ф1/Ф2) од оних са узрапредовалом фиброзом јетре (Ф3/Ф4).
9. Проинфламаторни путеви активирани у хроничним болестима јетре као што су ХХЦ и НАСХ могу бити важни фактори у прогресији болести, а разумевање улоге специфичних цитокина и њиховог потенцијала као терапијских циљева може побољшати терапијске опције, смањити потребу за трансплантацијом јетре и смањити смртност болесника.

7. ЛИТЕРАТУРА

A

Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *Surg Clin North Am.* 2010;90(4):643-53

Abenavoli L, Masarone M, Peta V, Milic N, Kobylak N, Rouabhia S, Persico M. Insulin resistance and liver steatosis in chronic hepatitis C infection genotype 3. *World J Gastroenterol.* 2014;20(41):15233-40

Aboushousha T, Emad M, Rizk G, Ragab K, Hammam O, Fouad, R, Helal N.S. IL-4, IL-17 and CD163 Immunoexpression and IL-6 Gene Polymorphism in Chronic Hepatitis C Patients and Associated Hepatocellular Carcinoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2021;22(4):1105–13

Abu-Freha N, Mathew Jacob B, Elhoashla A, Afawi Z, Abu-Hammad T, Elsana F, Paz S, Etzion O. Chronic hepatitis C: Diagnosis and treatment made easy. *Eur J Gen Pract.* 2022;28(1):102-8

Adams DH, Eksteen B. Aberrant homing of mucosal T cells and extra-intestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(3):244-51

Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology.* 2001;33(6):1358-64

Afify M, Hamza AH, Alomari RA. Correlation Between Serum Cytokines, Interferons, and Liver Functions in Hepatitis C Virus Patients. *J Interferon Cytokine Res.* 2017;37(1):32-8

Akazawa Y, Nakao K. Lipotoxicity pathways intersect in hepatocytes: Endoplasmic reticulum stress, c-Jun N-terminal kinase-1, and death receptors. *Hepatol Res.* 2016;46(10):977-84

Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug Metabolism in the Liver. *Clin Liver Dis.* 2017;21(1):1-20

Arthur MJ. Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C. *Gastroenterology.* 2002;122(5):1525-8

Askoura M, Abbas HA, Al Sadoun H, Abdulaal WH, Abu Lila AS, Almansour K, Alshammari F, Khafagy ES, Ibrahim TS, Hegazy WAH. Elevated Levels of IL-33, IL-17 and IL-25 Indicate the Progression from Chronicity to Hepatocellular Carcinoma in Hepatitis C Virus Patients. *Pathogens.* 2022;11(1):57

B

Baiceanu A, Mesdom P, Lagouge M, Fougelle F. Endoplasmic reticulum proteostasis in hepatic steatosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(12):710-22

Bălănescu P, Lădaru A, Voiosu T, Nicolau A, Ene M, Bălănescu E. Th17 and IL-17 immunity in chronic hepatitis C infection. *Rom J Intern Med.* 2012;50(1):13-8

Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest.* 2005;115(2):209-18

Battaller R, North KE, Brenner DA. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology.* 2003;37(3):493-503

Bedossa P, Patel K, Castera L. Histologic and noninvasive estimates of liver fibrosis. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2015;6(1):5-8

Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24(2):289-93

Belinchón-Romero I, Bellot P, Romero-Pérez D, Herraiz-Romero I, Marco F, Frances R, Ramos-Rincón JM. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with bacterial translocation and a higher inflammation response in psoriatic patients. *Sci Rep*. 2021;11(1):8593

Bengsch B, Seigel B, Ruhl M, Timm J, Kuntz M, Blum HE, Pircher H, Thimme R. Coexpression of PD-1, 2B4, CD160 and KLRG1 on exhausted HCV-specific CD8+ T cells is linked to antigen recognition and T cell differentiation. *PLoS Pathog*. 2010;6(6):e1000947

Bernsmeier C, Duong FH, Christen V, Pugnale P, Negro F, Terracciano L, Heim MH. Virus-induced over-expression of protein phosphatase 2A inhibits insulin signalling in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2008;49(3):429-40

Bhuiyan AR, Mitra AK, Ogungbe O, Kabir N. Association of HCV Infection with C-Reactive Protein: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2009-2010. *Diseases*. 2019;7(1):25

Bieghs V, Walenbergh SM, Hendriks T, van Gorp PJ, Verheyen F, Olde Damink SW, Masclee AA, Koek GH, Hofker MH, Binder CJ, Shiri-Sverdlov R. Trapping of oxidized LDL in lysosomes of Kupffer cells is a trigger for hepatic inflammation. *Liver Int*. 2013;33(7):1056-61

Blackwell DL, Lucas JW, Clarke TC. Summary health statistics for U.S. adults: national health interview survey, 2012. *Vital Health Stat* 10. 2014;(260):1-161

Bolacchi F, Sinistro A, Ciapriani C, Demin F, Capozzi M, Carducci FC, Drapeau CM, Rocchi G, Bergamini A. Increased hepatitis C virus (HCV)-specific CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes and reduced HCV-specific CD4+ T cell response in HCV-infected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels. *Clin Exp Immunol*. 2006;144(2):188-96

Bose SK, Ray R. Hepatitis C virus infection and insulin resistance. *World J Diabetes*. 2014;5(1):52-8

Brunt EM, Wong VW, Nobili V, Day CP, Sookoian S, Maher JJ, Bugianesi E, Sirlin CB, Neuschwander-Tetri BA, Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15080

Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038-48

C

Cachem FCOF, Dias AS, Monteiro C, Castro JR, Fernandes G, Delphim L, Almeida AJ, Tavares F, Maciel AMA, Amendola-Pires MM, Brandão-Mello CE, Bento CAM. The proportion of different interleukin-17-producing T-cell subsets is associated with liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Immunology*. 2017;151(2):167-176

Cachem FCOF, Dias AS, Monteiro C, Fernandes G, Delphim L, Tavares F, Maciel AMA, Amendola-Pires MM, Brandão-Mello CE, Andrade RM, Bento CAM. Different core-

specific T cell subsets are expanded in chronic hepatitis C with advanced liver disease. *Cytokine*. 2019;124:154456

Castro-Narro G, Moctezuma-Velázquez C, Male-Velázquez R, Trejo-Estrada R, Bosques FJ, Moreno-Alcántar R, Rodríguez-Hernández H, Bautista-Santos A, Córtez-Hernández C, Cerda-Reyes E, Pérez-Escobar J, Aldana-Ledesma JM, Aguirre-Valadez J, Ruiz-Velasco JAV, Contreras-Omaña R, Miranda-Zazueta G, Reyes-Bastidas MDR, Meza-Cardona JM, Chávez-Tapia N, Fernández-Pérez NJ, García-Jiménez ES, Torre A. Position statement on the use of albumin in liver cirrhosis. *Ann Hepatol*. 2022;27(4):100708

Cătană CS, Berindan Neagoe I, Cozma V, Magdaş C, Tăbăran F, Dumitraşcu DL. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(19):5823-30

Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328-57

Chan A, Patel K, Naggie S. Genotype 3 Infection: The Last Stand of Hepatitis C Virus. *Drugs*. 2017;77(2):131-44

Chang Q, Wang YK, Zhao Q, Wang CZ, Hu YZ, Wu BY. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27(2):273-8

Che Noh I, Avoi R, Abdullah Nurul A, Ahmad I, Abu Bakar R. Analysis of serum and gene expression profile of cytokines (IL-6, TNF- α and TGF- β 1) in chronic hepatitis C virus infection. *PeerJ*. 2022;10:e13330

Cheemerla S, Balakrishnan M. Global Epidemiology of Chronic Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021;17(5):365-70

Chu CW, Hwang SJ, Luo JC, Lai CR, Tsay SH, Li CP, Wu JC, Chang FY, Lee SD. Clinical, virologic, and pathologic significance of elevated serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32(3):240-4

Chung SI, Moon H, Ju HL, Cho KJ, Kim DY, Han KH, Eun JW, Nam SW, Ribback S, Dombrowski F, Calvisi DF, Ro SW. Hepatic expression of Sonic Hedgehog induces liver fibrosis and promotes hepatocarcinogenesis in a transgenic mouse model. *J Hepatol*. 2016;64(3):618-27

Clément S, Pascarella S, Negro F. Hepatitis C virus infection: molecular pathways to steatosis, insulin resistance and oxidative stress. *Viruses*. 2009;1(2):126-43

Czochra P, Klopčič B, Meyer E, Herkel J, Garcia-Lazaro JF, Thieringer F, Schirmacher P, Biesterfeld S, Galle PR, Lohse AW, Kanzler S. Liver fibrosis induced by hepatic overexpression of PDGF-B in transgenic mice. *J Hepatol*. 2006;45(3):419-28

D

de Lédinghen V, Vergniol J. Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Biol*. 2008 Sep;32(6 Suppl 1):58-67

de Souza-Cruz S, Victória MB, Tarragô AM, da Costa AG, Pimentel JP, Pires EF, Araújo Lde P, Coelho-dos-Reis JG, Gomes Mde S, Amaral LR, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Victória Fda S, Malheiro A. Liver and blood cytokine microenvironment in HCV patients is associated to liver fibrosis score: a proinflammatory cytokine ensemble orchestrated by TNF and tuned by IL-10. *BMC Microbiol.* 2016;16:3

Del Campo JA, Gallego P, Grande L. Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies. *World J Hepatol.* 2018;10(1):1-7

Dhamija E, Paul SB, Kedia S. Non-alcoholic fatty liver disease associated with hepatocellular carcinoma: An increasing concern. *Indian J Med Res.* 2019;149(1):9-17

Dhar D, Baglieri J, Kisseleva T, Brenner DA. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020;245(2):96-108

Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology.* 2004;39(6):1647-54

Dogru T, Genc H, Bagci S. C reactive protein levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2012;56(2):507-8

E

Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis.* 2007;11(1):75-104

Elbanan WK, Fathy SA, Ibrahim RA, Hegazy MGA. Assessment of interleukin 17 and transforming growth factor-beta 1 in hepatitis C patients with disease progression. *Trop Biomed.* 2020;37(4):1093-104

Elbaz S, Mousa N, Elmetwalli A, Abdel-Razik A, Salah M, ElHammady A, Abdelsalam M, Abdelkader E, El-Wakeel N, Eldars W, El-Emam O, Elbeltagy A, Shaheen M, El-Zamek H, Mousa E, Deiab A, Elgamal A, Habib A. Unraveling IL-17 and IL-22 role in occult hepatitis C versus chronic hepatitis C virus infection. *BMC Infect Dis.* 2024;24(1):134

El-Emshaty HM, Nasif WA, Mohamed IE. Serum Cytokine of IL-10 and IL-12 in Chronic Liver Disease: The Immune and Inflammatory Response. *Dis Markers.* 2015;2015:70725

Elgretli W, Chen T, Kronfli N, Sebastiani G. Hepatitis C Virus-Lipid Interplay: Pathogenesis and Clinical Impact. *Biomedicines.* 2023;11(2):271

Engin A. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:443-467

Eshraghian A, Hamidian Jahromi A. Non-alcoholic fatty liver disease and thyroid dysfunction: a systematic review. *World J Gastroenterol.* 2014;20(25):8102-9

Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, Zelber-Sagi S, Wai-Sun Wong V, Dufour JF, Schattenberg JM, Kawaguchi T, Arrese M, Valenti L, Shiha G, Tiribelli C, Yki-Järvinen H, Fan JG, Grønbaek H, Yilmaz Y, Cortez-Pinto H, Oliveira CP, Bedossa P, Adams LA, Zheng MH, Fouad Y, Chan WK, Mendez-Sanchez N, Ahn SH, Castera L, Bugianesi E, Ratziu V, George J. A new definition for metabolic dysfunction-

associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol.* 2020;73(1):202-09

Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018;68(2):268-79

European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;60(2):392-420

European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(6):1388-402

F

Fahey S, Dempsey E, Long A. The role of chemokines in acute and chronic hepatitis C infection. *Cell Mol Immunol.* 2014;11(1):25-40

Ferreira J, Oliveira M, Bicho M, Serejo F. Role of Inflammatory/Immune Response and Cytokine Polymorphisms in the Severity of Chronic Hepatitis C (CHC) before and after Direct Acting Antiviral (DAAs) Treatment. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1380

Fontana J, Šajdíková M, Maďa P. Chapter 4 - Liver and Biotransformation of Xenobiotics. In: *Functions of Cells and Human Body: Multimedia Textbook.* <http://fblt.cz/en/skripta/ix-travici-soustava/5-jatra-a-biotransformace-xenobiotik/>

Fontana RJ, Lok AS. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2002 Nov;36(5 Suppl 1):S57-64

Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Ruge M, Wright NA, Alison MR. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2004;126(4):955-63

Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, Bissell DM. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(24):8681-5

G

Gabbay E, Zigmond E, Pappo O, Hemed N, Rowe M, Zabrecky G, Cohen R, Ilan Y. Antioxidant therapy for chronic hepatitis C after failure of interferon: results of phase II randomized, double-blind placebo controlled clinical trial. *World J Gastroenterol.* 2007;13(40):5317-23

Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis.* 2001;21(3):311-35

Gerresheim GK, Roeb E, Michel AM, Niepmann M. Hepatitis C Virus Downregulates Core Subunits of Oxidative Phosphorylation, Reminiscent of the Warburg Effect in Cancer Cells. *Cells.* 2019;8(11):1410

Ghany MG, Morgan TR; AASLD-IDSAs Hepatitis C Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases-Infectious

Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology*. 2020;71(2):686-721

Giles DA, Moreno-Fernandez ME, Divanovic S. IL-17 Axis Driven Inflammation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression. *Curr Drug Targets*. 2015;16(12):1315-23

Golden-Mason L, Rosen HR. Natural killer cells: multifaceted players with key roles in hepatitis C immunity. *Immunol Rev*. 2013;255(1):68-81

Gomes AL, Teijeiro A, Burén S, Tummala KS, Yilmaz M, Waisman A, Theurillat JP, Perna C, Djouder N. Metabolic Inflammation-Associated IL-17A Causes Non-alcoholic Steatohepatitis and Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Cell*. 2016;30(1):161-75

Gupta E, Bajpai M, Choudhary A. Hepatitis C virus: Screening, diagnosis, and interpretation of laboratory assays. *Asian J Transfus Sci*. 2014;8(1):19-25

H

Haseda F, Imagawa A, Murase-Mishiba Y, Terasaki J, Hanafusa T. CD4⁺ CD45RA⁻ FoxP3^{high} activated regulatory T cells are functionally impaired and related to residual insulin-secreting capacity in patients with type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2013;173(2):207-16

Hashizume H, Sato K, Yamazaki Y, Horiguchi N, Kakizaki S, Mori M. A prospective study of long-term outcomes in female patients with nonalcoholic steatohepatitis using age- and body mass index-matched cohorts. *Acta Med Okayama*. 2013;67(1):45-53

He B, Wu L, Xie W, Shao Y, Jiang J, Zhao Z, Yan M, Chen Z, Cui D. The imbalance of Th17/Treg cells is involved in the progression of nonalcoholic fatty liver disease in mice. *BMC Immunol*. 2017;18(1):33

Hemann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E. Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *J Hepatol*. 2007;46(5):955-75

Heredia JE, Sorenson C, Flanagan S, Nunez V, Jones C, Martzall A, Leong L, Martinez AP, Scherl A, Brightbill HD, Ghilardi N, Ding N. IL-23 signaling is not an important driver of liver inflammation and fibrosis in murine non-alcoholic steatohepatitis models. *PLoS One*. 2022;17(9):e0274582

Heron M. Deaths: Leading Causes for 2019. *Natl Vital Stat Rep*. 2021;70(9):1-114

Heufler C, Koch F, Stanzl U, Topar G, Wysocka M, Trinchieri G, Enk A, Steinman RM, Romani N, Schuler G. Interleukin-12 is produced by dendritic cells and mediates T helper 1 development as well as interferon-gamma production by T helper 1 cells. *Eur J Immunol*. 1996;26(3):659-68

Hirsova P, Gores GJ. Death Receptor-Mediated Cell Death and Proinflammatory Signaling in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015;1(1):17-27

Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, van Gulik TM. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Ann Surg*. 2013;257(1):27-36

Hofer H, Bankl HC, Wrba F, Steindl-Munda P, Peck-Radosavljevic M, Osterreicher C, Mueller C, Gangl A, Ferenci P. Hepatocellular fat accumulation and low serum cholesterol in patients infected with HCV-3a. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(11):2880-5

Huang CF, Hsieh MY, Yang JF, Chen WC, Yeh ML, Huang CI, Dai CY, Yu ML, Lin ZY, Chen SC, Chuang WL, Huang JF. 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

Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(4):223-38

I

Ibrahim SH, Hirsova P, Gores GJ. Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis: sublethal hepatocyte injury as a driver of liver inflammation. *Gut.* 2018;67(5):963-72

Irshad M, Dhar I. Hepatitis C virus core protein: an update on its molecular biology, cellular functions and clinical implications. *Med Princ Pract.* 2006;15(6):405-16

Irshad M, Mankotia DS, Irshad K. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2013;19(44):7896-909

Ismail A, Hosiny BE, Ismail M, Leucuta DC, Popa SL, Catana CS, Dumitrascu DL. Waist to height ratio in nonalcoholic fatty liver disease - Systematic review and meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2023;47(7):102160

Issa R, Zhou X, Constandinou CM, Fallowfield J, Millward-Sadler H, Gaca MD, Sands E, Suliman I, Trim N, Knorr A, Arthur MJ, Benyon RC, Iredale JP. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking. *Gastroenterology.* 2004;126(7):1795-808

Iwaisako K, Brenner DA, Kisseleva T. What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27(Suppl 2):65-8

Iwaisako K, Jiang C, Zhang M, Cong M, Moore-Morris TJ, Park TJ, Liu X, Xu J, Wang P, Paik YH, Meng F, Asagiri M, Murray LA, Hofmann AF, Iida T, Glass CK, Brenner DA, Kisseleva T. Origin of myofibroblasts in the fibrotic liver in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(32):E3297-305

Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17 axis in inflammation. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1218-22

F

French AL, Evans CT, Agniel DM, Cohen MH, Peters M, Landay AL, Desai SN. Microbial translocation and liver disease progression in women coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *J Infect Dis.* 2013;208(4):679-89

J

Jaime-Ramirez AC, Mundy-Bosse BL, Kondadasula S, Jones NB, Roda JM, Mani A, Parihar R, Karpa V, Papenfuss TL, LaPerle KM, Biller E, Lehman A, Chaudhury AR, Jarjoura D, Burry RW, Carson WE 3rd. IL-12 enhances the antitumor actions of trastuzumab via NK cell IFN- γ production. *J Immunol.* 2011;186(6):3401-9

K

Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, Ide T, Taniguchi E, Kumemura H, Hanada S, Maeyama M, Baba S, Koga H, Kumashiro R, Ueno T, Ogata H, Yoshimura A, Sata M. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am J Pathol.* 2004;165(5):1499-508

Keikha M, Eslami M, Yousefi B, Ali-Hassanzadeh M, Kamali A, Yousefi M, Karbalaee M. HCV genotypes and their determinative role in hepatitis C treatment. *Virusdisease.* 2020;31(3):235-40

Khan A., Saraswat V., Choudhuri G., Parmar D., Negi T., Mohindra S. Association of interleukin-10 polymorphisms with chronic hepatitis C virus infection in a case-control study and its effect on the response to combined pegylated interferon/ribavirin therapy. *Epidemiol. Infect.* 2015;143:71–80

Kim KH, Hong SP, Kim K, Park MJ, Kim KJ, Cheong J. HCV core protein induces hepatic lipid accumulation by activating SREBP1 and PPARgamma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;355(4):883-8

Kim KH, Lee MS. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis and Hormone-Based Therapeutic Approaches. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:485

Kim SY, Jeong JM, Kim SJ, Seo W, Kim MH, Choi WM, Yoo W, Lee JH, Shim YR, Yi HS, Lee YS, Eun HS, Lee BS, Chun K, Kang SJ, Kim SC, Gao B, Kunos G, Kim HM, Jeong WI. Pro-inflammatory hepatic macrophages generate ROS through NADPH oxidase 2 via endocytosis of monomeric TLR4-MD2 complex. *Nat Commun.* 2017;8(1):2247

Kisseleva T, Brenner DA. Hepatic stellate cells and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(Suppl 3):S84-7

Kisseleva T, Cong M, Paik Y, Scholten D, Jiang C, Benner C, Iwaisako K, Moore-Morris T, Scott B, Tsukamoto H, Evans SM, Dillmann W, Glass CK, Brenner DA. Myofibroblasts revert to an inactive phenotype during regression of liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(24):9448-53

Kluwe J, Wongsiriroj N, Troeger JS, Gwak GY, Dapito DH, Pradere JP, Jiang H, Siddiqi M, Piantedosi R, O'Byrne SM, Blaner WS, Schwabe RF. Absence of hepatic stellate cell retinoid lipid droplets does not enhance hepatic fibrosis but decreases hepatic carcinogenesis. *Gut.* 201;60(9):1260-8

Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Yorifuji H, Ishikawa H, Takata K, Makuuchi M. Close relation between the inferior vena cava ligament and the caudate lobe in the human liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2007;14(3):297-301

Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*. 2004;21(4):467-76

Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis. *J Clin Invest*. 2017;127(1):55-64

Krassenburg LAP, Maan R, Ramji A, Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H, de Knecht RJ, Hansen BE, Janssen HLA, de Man RA, Feld JJ, van der Meer AJ. Clinical outcomes following DAA therapy in patients with HCV-related cirrhosis depend on disease severity. *J Hepatol*. 2021;74(5):1053-63

Kremer M, Thomas E, Milton RJ, Perry AW, van Rooijen N, Wheeler MD, Zacks S, Fried M, Rippe RA, Hines IN. Kupffer cell and interleukin-12-dependent loss of natural killer T cells in hepatosteatosis. *Hepatology*. 2010;51(1):130-41

Krishna M. Microscopic anatomy of the liver. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2013;2(Suppl 1):S4-S7

Kruepunga N, Hakvoort TBM, Hikspoors JPJM, Köhler SE, Lamers WH. Anatomy of rodent and human livers: What are the differences? *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(5):869-78

Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology*. 2002;36(5):1266-72

L

Lai M, Afdhal NH. Liver Fibrosis Determination. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019;48(2):281-89

Lapa D, Garbuglia AR, Capobianchi MR, Del Porto P. Hepatitis C Virus Genetic Variability, Human Immune Response, and Genome Polymorphisms: Which Is the Interplay? *Cells*. 2019;8(4):305

Lee WJ, Jones M, Wing PAC, Rajagopal S, Foster GR. The A150V Polymorphism of Genotype 3 Hepatitis C Virus Polymerase Inhibits Interferon Alfa by Suppressing Protein Kinase R Activation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;11(4):1163-75

Li H, Tsokos GC. IL-23/IL-17 Axis in Inflammatory Rheumatic Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2021;60(1):31-45

Li Y, Jiang HT, Han LB, Xiao L, Gan JH. MiR-195 regulates CD40 to maintain Th17/Treg balance in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Biomed Pharmacother*. 2020;124:109930

Lim T. Metabolic syndrome in chronic hepatitis C infection: does it still matter in the era of directly acting antiviral therapy? *Hepat Med*. 2014;6:113-8

Liu HM, Gale M. Hepatitis C Virus Evasion from RIG-I-Dependent Hepatic Innate Immunity. *Gastroenterol Res Pract*. 2010;2010:548390

Liu X, Xu J, Rosenthal S, Zhang LJ, McCubbin R, Meshgin N, Shang L, Koyama Y, Ma HY, Sharma S, Heinz S, Glass CK, Benner C, Brenner DA, Kisseleva T. Identification of Lineage-Specific Transcription Factors That Prevent Activation of Hepatic Stellate Cells and Promote Fibrosis Resolution. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1728-44

Liu YJ, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nat Immunol*. 2001;2(7):585-9

Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavalette A, Staropoli I, Foug S, Amara A, Houles C, Fieschi F, Schwartz O, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Altmeyer R. DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem*. 2003;278(22):20358-66

Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(41):11567-83

Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Non-alcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab*. 2000;26(2):98-106

M

Ma X, Hua J, Mohamood AR, Hamad AR, Ravi R, Li Z. A high-fat diet and regulatory T cells influence susceptibility to endotoxin-induced liver injury. *Hepatology*. 2007;46(5):1519-29

Macek Jilkova Z, Afzal S, Marche H, Decaens T, Sturm N, Jouvin-Marche E, Huard B, Marche PN. Progression of fibrosis in patients with chronic viral hepatitis is associated with IL-17(+) neutrophils. *Liver Int*. 2016;36(8):1116-24

Magee N, Zou A, Zhang Y. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis: Interactions between Liver Parenchymal and Nonparenchymal Cells. *Biomed Res Int*. 2016;2016:5170402

Malta FM, Bruno FR, Carvalho KI, Nastri AC, Kalil J, Carrilho FJ, Kallas EG, Pinho JR. HCV viremia drives an increment of CD86 expression by myeloid dendritic cells. *J Med Virol*. 2013;85(11):1919-24

Manuc D, Preda CM, Sandra I, Baicus C, Cerban R, Constantinescu I, Olteanu AO, Ciora CA, Manuc T, Chiriac DE, Chifulescu AE, Diculescu M, Tieranu C, Negreanu L, Oprea-Calin G, Manuc M. Signification of Serum Alpha-Fetoprotein Levels in Cases of Compensated Cirrhosis and Hepatitis C Virus without Hepatocellular Carcinoma. *J Med Life*. 2020;13(1):68-74

Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2001;50(8):1844-50

Masroor M, Haque Z. HbA_{1c} as a Biomarker of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Comparison with Anthropometric Parameters. *J Clin Transl Hepatol*. 2021;9(1):15-21

Meng P, Zhao S, Niu X, Fu N, Su S, Wang R, Zhang Y, Qiao L, Nan Y. Involvement of the Interleukin-23/Interleukin-17 Axis in Chronic Hepatitis C Virus Infection and Its Treatment Responses. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7):1070

Menter A, Krueger GG, Paek SY, Kivelevitch D, Adamopoulos IE, Langley RG. Interleukin-17 and Interleukin-23: A Narrative Review of Mechanisms of Action in Psoriasis and Associated Comorbidities. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2021;11(2):385-400

Missale G, Cariani E, Ferrari C. Role of viral and host factors in HCV persistence: which lesson for therapeutic and preventive strategies? *Dig Liver Dis*. 2004;36(11):703-11

Mitrovic N, Delic D, Markovic Denic L, Nikolic N, Bojovic K, Simonovic Babic J, Brmbolic B, Milosevic I, Katanic N, Barac A. The prevalence and the risk factors for hepatitis C virus infection in Serbia. *J Infect Dev Ctries*. 2018;12(3):171-7

Modaresi Esfeh J, Ansari-Gilani K. Steatosis and hepatitis C. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2016;4(1):24-9

Moon AM, Singal AG, Tapper EB. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(12):2650-66

Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1049-61

Moura TCF, Amoras EDSG, Queiroz MAF, Conde SRSDS, Grisólia ABA, Ishak R, Vallinoto ACR. Association of serum levels of C-reactive protein with CRP-717 T/C polymorphism and viremia in HCV and HBV carriers. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:e20180455

N

Nabeshima Y, Tazuma S, Kanno K, Hyogo H, Iwai M, Horiuchi M, Chayama K. Anti-fibrogenic function of angiotensin II type 2 receptor in CCl₄-induced liver fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;346(3):658-64

Nagao Y, Sata M. Serum albumin and mortality risk in a hyperendemic area of HCV infection in Japan. *Virology*. 2010;7:375

Neumann-Haefelin C, Thimme R. Adaptive immune responses in hepatitis C virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013;369:243–62

Ng CS, Ong XJ, Au M, Lau YH, Kwok HHY, Quan J. ALDH2 polymorphism, alcohol intake and the attributable burden of cancer in East Asia: systematic review, meta-analysis, and modeling study. *Ann Epidemiol*. 2023;85:113-20.e20

O

O'Brien L, Hosick PA, John K, Stec DE, Hinds TD. Biliverdin reductase isozymes in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(4):212-20

Oliveira LP, Jesus RP, Boulhosa RS, Mendes CM, Lyra AC, Lyra LG. Metabolic syndrome in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection who do not have obesity or type 2 diabetes. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67(3):219-23

O'Shea D, Cawood TJ, O'Farrelly C, Lynch L. Natural killer cells in obesity: impaired function and increased susceptibility to the effects of cigarette smoke. *PLoS One*. 2010;5(1):e8660

Owusu DO, Phillips R, Owusu M, Sarfo FS, Frempong M. Increased levels of circulating IL-10 in persons recovered from hepatitis C virus (HCV) infection compared with persons with active HCV infection. *BMC Res Notes*. 2020;13(1):472

P

Pal S, Polyak SJ, Bano N, Qiu WC, Carithers RL, Shuhart M, Gretch DR, Das A. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(3):627-34

Paquissi FC. Immunity and Fibrogenesis: The Role of Th17/IL-17 Axis in HBV and HCV-induced Chronic Hepatitis and Progression to Cirrhosis. *Front Immunol*. 2017;8:1195

Patel A, Harrison SA. Hepatitis C virus infection and nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2012;8(5):305-12

Pazienza V, Clément S, Pugnale P, et al. The hepatitis C virus core protein of genotypes 3a and 1b downregulates insulin receptor substrate 1 through genotype-specific mechanisms. *Hepatology*. 2007;45(5):1164–71

Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(3):181-94

Peng C, Stewart AG, Woodman OL, Ritchie RH, Qin CX. Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Review of Its Mechanism, Models and Medical Treatments. *Front Pharmacol*. 2020;11:603926

Piccoli C, Scrima R, Quarato G, D'Aprile A, Ripoli M, Lecce L, Boffoli D, Moradpour D, Capitanio N. Hepatitis C virus protein expression causes calcium-mediated mitochondrial bioenergetic dysfunction and nitro-oxidative stress. *Hepatology*. 2007;46(1):58-65

Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*. 2008;118(3):829-38

Poynard T, Ratziu V, Benhamou Y, Opolon P, Cacoub P, Bedossa P. Natural history of HCV infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2000;14(2):211-28

Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z, Albrecht J. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(1):75-85

Puche JE, Lee YA, Jiao J, Aloman C, Fiel MI, Muñoz U, Kraus T, Lee T, Yee HF Jr, Friedman SL. A novel murine model to deplete hepatic stellate cells uncovers their role in amplifying liver damage in mice. *Hepatology*. 2013;57(1):339-50

R

Radziewicz H, Ibegbu CC, Fernandez ML, Workowski KA, Obideen K, Wehbi M, Hanson HL, Steinberg JP, Masopust D, Wherry EJ, Altman JD, Rouse BT, Freeman GJ, Ahmed R, Grakoui A. Liver-infiltrating lymphocytes in chronic human hepatitis C virus infection display an exhausted phenotype with high levels of PD-1 and low levels of CD127 expression. *J Virol*. 2007;81(6):2545-53

Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest.* 2004;84(2):153-9

Ramakrishna G, Rastogi A, Trehanpati N, Sen B, Khosla R, Sarin SK. From cirrhosis to hepatocellular carcinoma: new molecular insights on inflammation and cellular senescence. *Liver Cancer.* 2013;2(3-4):367-83

Rau M, Schilling AK, Meertens J, Hering I, Weiss J, Jurowich C, Kudlich T, Hermanns HM, Bantel H, Beyersdorf N, Geier A. Progression from Nonalcoholic Fatty Liver to Nonalcoholic Steatohepatitis Is Marked by a Higher Frequency of Th17 Cells in the Liver and an Increased Th17/Resting Regulatory T Cell Ratio in Peripheral Blood and in the Liver. *J Immunol.* 2016;196(1):97-105

Rawi S, Wu GY. Pathogenesis of Thrombocytopenia in Chronic HCV Infection: A Review. *J Clin Transl Hepatol.* 2020;8(2):184-91

Rios DA, Casciato PC, Caldirola MS, Gaillard MI, Giadans C, Ameigeiras B, De Matteo EN, Preciado MV, Valva P. Chronic Hepatitis C Pathogenesis: Immune Response in the Liver Microenvironment and Peripheral Compartment. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:712105

Robak E, Gerlicz-Kowalczyk Z, Dziankowska-Bartkowiak B, Wozniacka A, Bogaczewicz J. Serum concentrations of IL-17A, IL-17B, IL-17E and IL-17F in patients with systemic sclerosis. *Arch Med Sci.* 2019;15(3):706-12

Robinson MW, Harmon C, O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol.* 2016;13(3):267-76

Roccasecca R, Ansuini H, Vitelli A, Meola A, Scarselli E, Acali S, Pezzanera M, Ercole BB, McKeating J, Yagnik A, Lahm A, Tramontano A, Cortese R, Nicosia A. Binding of the hepatitis C virus E2 glycoprotein to CD81 is strain specific and is modulated by a complex interplay between hypervariable regions 1 and 2. *J Virol.* 2003;77(3):1856-67

Roderfeld M. Matrix metalloproteinase functions in hepatic injury and fibrosis. *Matrix Biol.* 2018;68-69:452-62

Roingard P. Hepatitis C virus diversity and hepatic steatosis. *J Viral Hepat.* 2013;20(2):77-84

Rong G, Zhou Y, Xiong Y, Zhou L, Geng H, Jiang T, Zhu Y, Lu H, Zhang S, Wang P, Zhang B, Zhong R. Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells in patients with primary biliary cirrhosis: the serum cytokine profile and peripheral cell population. *Clin Exp Immunol.* 2009;156(2):217-25

Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male PJ, Giostra E, Carlotto A, Bozzola L, Smedile A, Negro F. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut.* 2004;53(3):406-12

S

Saito T, Owen DM, Jiang F, Marcotrigiano J, Gale M Jr. Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA. *Nature*. 2008;454(7203):523-7

Santiago AM, da Silva Graça Amoras E, Queiroz MAF, da Silva Conde SRS, Cayres-Vallinoto IMV, Ishak R, Vallinoto ACR. TNFA -308G>A and IL10 -1082A>G polymorphisms seem to be predictive biomarkers of chronic HCV infection. *BMC Infect Dis*. 2021;21(1):1133

Sarobe P, Lasarte JJ, Zabaleta A, Arribillaga L, Arina A, Melero I, Borrás-Cuesta F, Prieto J. Hepatitis C virus structural proteins impair dendritic cell maturation and inhibit in vivo induction of cellular immune responses. *J Virol*. 2003;77(20):10862-71

Schaffner F, Klion FM. Chronic hepatitis. *Annu Rev Med*. 1968;19:25-38

Schank M, Zhao J, Wang L, Nguyen LNT, Cao D, Dang X, Khanal S, Zhang J, Zhang Y, Wu XY, Ning S, Gazzar ME, Moorman JP, Yao ZQ. Oxidative Stress Induces Mitochondrial Compromise in CD4 T Cells From Chronically HCV-Infected Individuals. *Front Immunol*. 2021;12:760707

Shah AS, Amarapurkar DN. Natural History of Cirrhosis of Liver after First Decompensation: A Prospective Study in India. *J Clin Exp Hepatol*. 2018;8(1):50-7

Sharma A, Nagalli S. Chapter - Chronic Liver Disease. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

Shiota J, Samuelson LC, Razumilava N. Hepatobiliary Organoids and Their Applications for Studies of Liver Health and Disease: Are We There Yet? *Hepatology*. 2021;74(4):2251-63

Singh A, Parida S, Narayan J, Nath P, Padhi PK, Pati GK, Parida PK, Meher C, Agrawal O, Singh SP. Simple Anthropometric Indices are Useful for Predicting Non-alcoholic Fatty Liver Disease [NAFLD] in Asian Indians. *J Clin Exp Hepatol*. 2017;7(4):310-15

Siphepho PY, Liu YT, Shabangu CS, Huang JF, Huang CF, Yeh ML, Yu ML, Wang SC. The Impact of Steatosis on Chronic Hepatitis C Progression and Response to Antiviral Treatments. *Biomedicines*. 2021;9(10):1491

Soyer MT, Ceballos R, Aldrete JS. Reversibility of severe hepatic damage caused by jejunioileal bypass after re-establishment of normal intestinal continuity. *Surgery*. 1976;79(5):601-4

Stec DE, John K, Trabbic CJ, Luniwal A, Hankins MW, Baum J, Hinds TD Jr. Bilirubin Binding to PPAR α Inhibits Lipid Accumulation. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153427

Stengel JZ, Harrison SA. Nonalcoholic Steatohepatitis: Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2006;2(6):440-9

Stibbe KJ, Verveer C, Francke J, Hansen BE, Zondervan PE, Kuipers EJ, de Knegt RJ, van Vuuren AJ. Comparison of non-invasive assessment to diagnose liver fibrosis in chronic hepatitis B and C patients. *Scand J Gastroenterol*. 2011;46(7-8):962-72

Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, Nunes FA, Alter HJ, Chang KM. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology*. 2003;38(6):1437-48

Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(Suppl 1):S60-3

Syed GH, Tang H, Khan M, Hassanein T, Liu J, Siddiqui A. Hepatitis C virus stimulates low-density lipoprotein receptor expression to facilitate viral propagation. *J Virol*. 2014;88(5):2519-29

T

Tacke F, Klinker H, Boeker KHW, Merle U, Link R, Buggisch P, Hüppe D, Cornberg M, Sarrazin C, Wedemeyer H, Berg T, Mauss S; DHC-R. Elevated liver enzymes predict morbidity and mortality despite antiviral cure in patients with chronic hepatitis C: Data from the German Hepatitis C-Registry. *Hepatology*. 2022;6(9):2488-95

Tan Z, Qian X, Jiang R, Liu Q, Wang Y, Chen C, Wang X, Ryffel B, Sun B. IL-17A plays a critical role in the pathogenesis of liver fibrosis through hepatic stellate cell activation. *J Immunol*. 2013;191(4):1835-44

Tana MM, Zhao X, Bradshaw A, Moon MS, Page S, Turner T, Rivera E, Kleiner DE, Heller T. Factors associated with the platelet count in patients with chronic hepatitis C. *Thromb Res*. 2015;135(5):823-8

Tang T, Sui Y, Lian M, Li Z, Hua J. Pro-inflammatory activated Kupffer cells by lipids induce hepatic NKT cells deficiency through activation-induced cell death. *PLoS One*. 2013;8(12):e81949

Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qiu D, Li Z, Ma X. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Immunol*. 2011;166(2):281-90

Teng ML, Ng CH, Huang DQ, Chan KE, Tan DJ, Lim WH, Yang JD, Tan E, Muthiah MD. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):S32-S42

Thomaidis-Brears HB, Alkhouri N, Allende D, Harisinghani M, Nouredin M, Reau NS, French M, Pantoja C, Mouchti S, Cryer DRH. Incidence of Complications from Percutaneous Biopsy in Chronic Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2022;67(7):3366-94

Tran HA, Jones TL, Ianna EA, Foy A, Reeves GE. Thyroid disease in chronic hepatitis C infection treated with combination interferon- α and ribavirin: management strategies and future perspective. *Endocr Pract*. 2013;19(2):292-300

Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol*. 2017;27(21):R1147-51

Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, Dapito DH, Mu X, Hsu CC, Pradere JP, Friedman RA, Schwabe RF. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice. *Gastroenterology*. 2012;143(4):1073-83.e22

Tsao YC, Chen JY, Yeh WC, Peng YS, Li WC. Association between visceral obesity and hepatitis C infection stratified by gender: a cross-sectional study in Taiwan. *BMJ Open*. 2017;7(11):e017117

Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-411

Tsujimoto T, Kawaratani H, Kitazawa T, Yoshiji H, Fujimoto M, Uemura M, Fukui H. Immunotherapy for nonalcoholic steatohepatitis using the multiple cytokine production modulator Y-40138. *World J Gastroenterol*. 2009;15(44):5533-40

U

Usluer G, Erben N, Aykin N, Dagli O, Aydogdu O, Barut S, Cevik F, Ormen B; Study Group. Comparison of non-invasive fibrosis markers and classical liver biopsy in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(8):1873-8

V

Vonghia L, Magrone T, Verrijken A i sar. Peripheral and Hepatic Vein Cytokine Levels in Correlation with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)-Related Metabolic, Histological, and Haemodynamic Features. *PLoS One*. 2015;10:e0143380

Vujovic A, Isakovic AM, Misirlic-Dencic S, Juloski J, Mirkovic M, Cirkovic A, Djelic M, Milošević I. IL-23/IL-17 Axis in Chronic Hepatitis C and Non-Alcoholic Steatohepatitis- New Insight into Immunohepatotoxicity of Different Chronic Liver Diseases. *Int J Mol Sci*. 2023;24(15):12483

W

Wang S, Friedman SL. Hepatic fibrosis: A convergent response to liver injury that is reversible. *J Hepatol*. 2020;73(1):210-1

Wang Z, Du K, Jin N, Tang B, Zhang W. Macrophage in liver Fibrosis: Identities and mechanisms. *Int Immunopharmacol*. 2023;120:110357

Ward SM, Fox BC, Brown PJ, Worthington J, Fox SB, Chapman RW, Fleming KA, Banham AH, Klenerman P. Quantification and localisation of FOXP3+ T lymphocytes and relation to hepatic inflammation during chronic HCV infection. *J Hepatol*. 2007;47(3):316-24

Weber SN, Wasmuth HE. Liver fibrosis: from animal models to mapping of human risk variants. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010;24(5):635-46

Wehr A, Baeck C, Heymann F, Niemietz PM, Hammerich L, Martin C, Zimmermann HW, Pack O, Gassler N, Hittatiya K, Ludwig A, Luedde T, Trautwein C, Tacke F. Chemokine receptor CXCR6-dependent hepatic NK T Cell accumulation promotes inflammation and liver fibrosis. *J Immunol*. 2013;190(10):5226-36

Wei Y, Wang D, Gentile CL, Pagliassotti MJ. Reduced endoplasmic reticulum luminal calcium links saturated fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress and cell death in liver cells. *Mol Cell Biochem*. 2009;331(1-2):31-40

Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(6):1372-9

Working Group, Association of Pathologists for Guidebook of NASH and NAFLD, 2015: The Japan Society of Hepatology. Pathological Findings of NASH and NAFLD: for Guidebook of NASH and NAFLD, 2015: The Japan Society of Hepatology. *Hepatol Res*. 2017;47(1):3-10. 2008;103(6):1372-9

Wu MS, Wang CH, Tseng FC, Yang HJ, Lo YC, Kuo YP, Tsai DJ, Tsai WT, Yu GY. Interleukin-17F expression is elevated in hepatitis C patients with fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Infect Agent Cancer*. 2017;12:42

X

Xiao S, Pan X, Huang X, Liu Y, Wen SW, Liu A. Gene polymorphisms of inflammatory factors in liver cirrhosis. *Front Genet*. 2023;14:1140427

Y

Yamato M, Sakai Y, Mochida H, Kawaguchi K, Takamura M, Usui S, Seki A, Mizukoshi E, Yamashita T, Yamashita T, Ishida K, Nasti A, Tuyen HTB, Komura T, Yoshida K, Wada T, Honda M, Kaneko S. Adipose tissue-derived stem cells prevent fibrosis in murine steatohepatitis by suppressing IL-17-mediated inflammation. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019;34(8):1432-40

Yan S, Wang L, Liu N, Wang Y, Chu Y. Critical role of interleukin-17/interleukin-17 receptor axis in mediating Con A-induced hepatitis. *Immunol Cell Biol*. 2012;90(4):421-8

Yang J, Qi JL, Wang XX, Li XH, Jin R, Liu BY, Liu HX, Rao HY. The burden of hepatitis C virus in the world, China, India, and the United States from 1990 to 2019. *Front Public Health*. 2023;11:1041201

Yeniova AO, Küçükazman M, Ata N, Dal K, Kefeli A, Başıyigit S, Aktaş B, Ağladioğlu K, Akin KO, Ertugrul DT, Nazligül Y, Beyan E. High-sensitivity C-reactive protein is a strong predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatogastroenterology*. 2014;61(130):422-5

Z

Zeisel MB, Felmlee DJ, Baumert TF. Hepatitis C virus entry. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013;369:87-112

Zhang S, Saha B, Kodys K, Szabo G. IFN- γ production by human natural killer cells in response to HCV-infected hepatoma cells is dependent on accessory cells. *J Hepatol*. 2013;59(3):442-9

Zhang W, Du F, Wang L, Bai T, Zhou X, Mei H. Hepatitis Virus-associated Non-hodgkin Lymphoma: Pathogenesis and Treatment Strategies. *J Clin Transl Hepatol*. 2023;11(5):1256-66

Zhang XQ, Xu CF, Yu CH, Chen WX, Li YM. Role of endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(7):1768-76

Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*. 2008;112(5):1557-69

Zohara Z, Adekun A, Seffah KD, Salib K, Dardari L, Taha M, Dahat P, Toriola S, Satnarine T, Arcia Franchini AP. The Prospect of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adult Patients with Metabolic Syndrome: A Systematic Review. *Cureus*. 2023;15(7):e41959

ПРИЛОЗИ

ОБЈАВЉЕНИ РЕЗУЛТАТИ

Радови *in extenso* у часописима са JCR листе:

- 1. Vujovic A, Isakovic AM, Misirlic-Dencic S, Juloski J, Mirkovic M, Cirkovic A, Djelic M, Milošević I. IL-23/IL-17 Axis in Chronic Hepatitis C and Non-Alcoholic Steatohepatitis-New Insight into Immunohepatotoxicity of Different Chronic Liver Diseases. Int J Mol Sci. 2023 Aug 5;24(15):12483. doi: 10.3390/ijms241512483. PMID: 37569857; PMCID: PMC10419971 (M21, IF=6,204)**

Прегледни рад у часопису Медицински подмладак:

- 1. Vujovic A, Milosevic I, Đelić M. Uticaj imunološkog odgovora na razvoj fibroze kod hroničnih bolesti jetre različite etiologije. Медицински подмладак. У штампи. Doi: 10.5937/mp76-48987.**

Изводи у зборнику међународног научног скупа:

- 1. Vujovic A. IL-23/IL-17 axis in Chronic Hepatitis C – new insight into immunohepatotoxicity. 13th Southeast European Conference on Chemotherapy and Infection (SEEC) 9th Congress of the Serbian Association for Antimicrobial Chemotherapy. Belgrade, Serbia. 2023 October 12-15. Прво место за најбољи научно-истраживачки рад у категорији малдих истраживача.**

Биографија

Др Анкица Вујовић рођена је 16.05.1988.године у Београду. Медицински факултет Универзитета у Београду уписала је 2009. године а завршила 2015. године са просечном оценом 9,00. Стално је запослена на Клиници за инфективне и тропске болести Универзитета Клиничког Центра Србије. Специјалистички испит из инфектологије положила је у октобру 2021.године. Ужу специјализацију из Клиничке фармакологије уписала је школске 2022/2023.године.

Интересовање за научно-истраживачки рад показала је у студентском периоду учествујући у писању 16 студенских радова од којих је у 6 била први аутор. Након завршених основних студија у школској 2015/2016. години уписала је Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Београду, модул Физиолошке науке. До сада је објавила 13 научних радова, од којих је 10 објављено у часописима индексираним у *CC/SCI* бази података. Учествовала је на бројним домаћим и међународним конгресима. На 13. интернационалном конгресу југоисточне Европе о хемотерапији и инфекцијама, освојила је прво место за најбољи научно-истраживачки рад под називом „*IL-23/IL-17 axis in Chronic Hepatitis C – new insight into immunohepatotoxicity*“ презентујући резултате проистекле из докторске дисертације. Аутор је поглавља *Инфекције након спленектомије* књиге “Савремени аспекти и дилеме у лечењу обољења слезине”, Факултета медицинских наука у Крагујевцу.

Др Анкица Вујовић је у јулу 2018.године изабрана у звање Истраживач приправник на Медицинском факултету Универзитета у Београду, а након тога у априлу 2019.године у звање Истраживач сарадник (оба звања из области Физиолошких наука), због чега је у периоду од јула 2018.године до краја маја 2019.године била запослена на Медицинском факултету Универзитета у Београду и ангажована при пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја под називом »Модулација сигналних путева који контролишу интрацелуларни енергетски баланс у терапији тумора и неуро-имуно-ендокриних поремећаја», број пројекта 41025. У јулу 2022.године је изабрана у звање Клиничког асистента на Медицинском факултету Универзитета у Београду, предмет Инфектологија.

Члан је Лекарске коморе Србије, од чије стране је 2022.године награђена за велики допринос у борби против пандемије изазване SARS-CoV-2 вирусом.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Анкица Вујовић

Број индекса: **ФН-10/15**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Прогностички значај концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 у напредовању фиброзе јетре код болесника са хроничним хепатитисом Ц и неалкохолним стеатохепатитисом“

резултат сопственог истраживачког рада;

- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

аутора

Потпис

У Београду, 11.03.2024. год.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: **Анкица Вујовић**

Број индекса: **ФН-10/15**

Студијски програм: **Докторске студије из медицинских наука – смер Физиолошке науке**

Наслов рада: **„Прогностички значај концентрације цитокина осовине ПЛ-23/ПЛ-17 у напредовању фиброзе јетре код болесника са хроничним хепатитисом Ц и неалкохолним стеатохепатитисом“**

Ментори: **Проф. др Ивана Милошевић, Проф. Др Марина Ђелић**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 11.03.2024. год.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Прогностички значај концентрације цитокина осовине IL-23/IL-17 у напредовању фиброзе јетре код болесника са хроничним хепатитисом Ц и неалкохолним стеатохепатитисом“

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе 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 прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 11.03.2024.

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.