ORIGINALNI ČLANAK

UDC:616.98::616.36-002.2-085-036.8::[616-074/-78::578.7

Terapija hroničnog hepatitisa C – praćenje virusološkog odgovora

Therapy of chronic hepatitis C – virologic response monitoring

Nada Kuljić-Kapulica*, Dragutin Jovanović*, Dejana Savić*, Elizabeta Ristanović†, Darko Nožić‡, Radmila Rajić‡

Vojnomedicinska akademija, *Institut za mikrobiologiju, †Odeljenje za moral i odnose sa javnošću, ‡Klinika za infektivne i tropske bolesti, **Beograd, Srbija**

Apstrakt

Uvod/Cilj. Virusološka dijagnostika je neophodna u otkrivanju i praćenju hepatitisa C, ali je mnogo značajnija u praćenju uspeha antivirusne terapije. Cilj ovog ispitivanja bio je da se odredi stabilan virusološki odgovor (SVO) i ostali faktori povezani sa hroničnim hepatitisom C kod bolesnika koji su lečeni kombinovanom terapijom pegilovanim interferonom alfa i ribavirinom. **Metode.** Ispitivano je 34 bolesnika lečenih kombinovanom terapijom. Određivana je serumska hepatitis C virusna nukleinska kiselina (HCV RNK) pre terapije, 12 nedelja posle početka terapije i šest meseci posle kraja terapije. Stabilan virusološki odgovor (SVO) definisan je kao nedetektibilna HCV RNK šest meseci posle kraja terapije, a virusološki relaps kao pojava HCV RNK šest meseci posle završetka terapije. Hepatitis C virusna RNK određivana je Cobas Amplicor testom. **Rezultati.** Stabilan virusološki odgovor dokazan je kod 19 (55,8%) bolesnika. Genotipizacijom dokazan je genotip 1 kod 27, genotip 3 kod pet i genotip 4 kod dva bolesnika. Kod šest bolesnika dokazan je virusološki relaps šest meseci posle terapije. Kod devet bolesnika HCV RNK bila je pozitivna posle 12 nedelja. **Zaključak.** Dokazana je uspešnost kombinovane terapije u lečenju hroničnog hepatitisa C, kao i značaj praćenja koncentracije HCV RNK za monitoring uspeha terapije. Praćenje HCV RNK posle završene terapije, važno je, takođe, zbog moguće pojave virusološkog relapsa.

Ključne reči:
hepatitis c; hepatitis c, virus; virologija; rnk; genotip; ribavirin; interferon-alfa.

Abstract

Background/Aim. Virological testing is considered to be essential in the management of hepatitis C virus (HCV) infection in order to diagnose infection, and, most importantly, as a quide for treatment decisions and assess the virological response to antiviral therapy. The aim of this study was to determine the rate of a sustained virological response (SVR) and various factors associated with response rates in chronic hepatitis C infected patients treated with pegiinterferon alpha (PEG-INF) and ribavirin (RBV) combination therapy. **Methods.** A total of 34 patients, treated with PEG-IFN and RBV were studied. Serum HCV-RNA was measured before the treatment, 12 weeks following the start of the therapy and 6 weeks after the treatment cessation. SVR was defined as undetectable serum HCV-RNA 6 months of post-treatment follow-up, virologic relapse (VR) as relapse of HCV-RNA during the post-treatment follow-up. Serum HCV-RNA was measured with the Cobas Amplicor test. **Results.** At the end of post-treatment follow-up 19 (55.8%) patients demonstrated a SVR. The majority of the patients were genotype 1 (27), and the other were genotype 3 (5 patients) and genotype 4 (2 patients). There was VR in 6 patients 6 months after the therapy. In 9 patients HCV-RNA was positive after 12 weeks. **Conclusion.** We demonstrated that patients with chronic HCV infection can be successfully treated with combination of PEG-INF and RBV. This result emphasizes also that post-treatment follow-up to identify patients with SVR or VR could be important.

Key words:
hepatitis c; hepacivirus; virology; rna; genotype; ribavirin; interferon-alpha.

Uvod

Virusni hepatitis C obuhvata oko 3% svetske populacije i značajan je medicinski problem svuda u svetu. Akutna faza bolesti prolazi često asimptomatski. Komplikacije su hronična infekcija kod velikog broja bolesnika (70–80%), ciroza jetre i hepatocelularni karcinom.

Posle infekcije u periodu od 20 godina kod oko 20–30% bolesnika nastaje ciroza jetre, a kod 1–2% hepatocelularni karcinom. Kod nekih bolesnika ciroza jetre može nastati za nekoliko godina.

Correspondence to: Nada Kuljić-Kapulica, Vojnomedicinska akademija, Institut za mikrobiologiju, Crnotravska 17, 11 000 Beograd, Srbija. Tel.: +381 64 8743 054. E-mail: nadakuljic@gmail.com

Ne postoji specifična profilaksa, odnosno vakcina, i to dodatno komplikuje ovaj problem.

Kod hepatitisa C simptomi su nekarakteristični i bolest se često slučajno otkriva. Kod malog broja bolesnika javlja se žutica i/ili hepatomegalija ili, ređe, splenomegalija [1, 2]. Poseban problem predstavlja hronična faza bolesti.

Terapija hroničnog hepatitisa C (CHC) danas se izvodi kombinovanom terapijom: pegilovanim interferonom alfa2 (PEG-IFN) i ribavirinom. Dužina terapije i doza zavise od genotipa hepatitis C virusa. Bolesnici sa genotipom 1 i 4 leče se 48 nedelja; ako je kod ovih bolesnika postignut brzi virusološki odgovor (što znači da je PCR negativan četiri nedelje od početka terapije), terapija traje 24 nedelje. Bolesnici sa genotipom 2 i 3 leče se 24 nedelje, a ako je postignut brzi virusološki odgovor, mogu se lečiti i 16 nedelja [3–5]. Kod nekih bolesnika, koji u početku dobro reaguju na terapiju (negativan nalaz virusa), kasnije dolazi do ponovne pojave virusa za vreme terapije ili posle prekida terapije. Iz tih razloga, ukupni uspeh terapije sa PEG-IFN alfa2 i ribavirinom je oko 50%.

Kraće trajanje terapije prati manja učestalost neželjenih efekata. Monoterapija PEG-IFN alfa2 primenjuje se kod bolesnika koji ne podnose ili je kod njih kontraindikovana primena ribavirina: bolesnici na hemodijalizi, bolesnici sa anemijom, težim kardiovaskularnim bolestima ili trudnice [5, 6].

Za praćenje uspeha terapije radi se kvantitativno određivanje hepatitis C virusne nukleinske kiseline (HCV RNK) u krvi. Virusna nukleinska kiselina dokazuje se testom PCR.

Koncentracija HCV RNK izražava se kao broj kopija/mL ili kao broj internacionalnih jedinica/mL. Infektivnost HCV obično je niska i retko dostiže koncentraciju od 10^6 kopija/mL.

Parametar uspeha terapije su rani i stabilni virusološki odgovor (SVO) koji se definišu na osnovu određivanja koncentracije virusne nukleinske kiseline.

Stabilan virusološki odgovor definiše se kao odsustvo detektibilne HCV RNK u serumu, što se procenjuje na osnovu testa za određivanje HCV RNK sa limitom detekcije 50 IU/mL ili manje, 24 nedelje od završetka terapije. On je najbolji pokazatelj uspeha lečenja jer ukazuje na eradikaciju virusa. Dobar predskazivač SVO je rani virusološki odgovor na terapiju. Rani virusološki odgovor definiše se odsustvom HCV RNK u serumu ili smanjenjem za 2 ili više loga u odnosu na početnu vrednost, posle 12 nedelja od početka terapije. Stabilan virusološki odgovor postiže se kod većine bolesnika sa ranim virusološkim odgovorom.

Cilj rada bio je određivanje koncentracije HCV RNK kod bolesnika na antivirusnoj terapiji radi praćenja uspeha terapije.

Metode

Praćena su 34 bolesnika sa CHC koji su lečeni u Klinici za infektivne i tropske bolesti VMA u periodu 2006–2008. godine. Dijagnoza bolesti postavljena je na osnovu kliničkih, hematoloških, biohemijskih, virusoloških parametara, kao i histopatološkim pregledom tkiva jetre dobijenog slepom aspiracionom biopsijom. Pored uobičajenih analiza, kod svih naših bolesnika pre terapije određeni su nivoi alfa-feto proteina, gvožđa, hormona štitaste žlezde, kao i titar autoantitela (ANA, ASMA, AMA, LKM1) u serumu. Kod svih bolesnika urađena je slepa aspiraciona biopsija jetre i određen stepen nekroinflamatorne aktivnosti i stepen fibroze jetre. Ove analize rade se po zahtevu kliničara koji postavlja definitivnu dijagnozu bolesti i kriterijume za uključivanje antivirusne terapije.

Kod bolesnika sa CHC određivana je HCV RNK u serumu pre terapije, posle 12 nedelja i šest meseci posle završetka terapije, s ciljem da se utvrdi efikasnost terapije. Koncentracija virusne RNK određivana je PCR Cobas Amplicor testom [7].

Genotipizacija HCV rađena je posle amplifikacije nukleinske kiseline virusa komercijalnim testovima.

Bolesnici sa negativnim HCV RNK na kraju terapije definisani su kao responderi, odnosno oni koji su odgovorili na terapiju.

Stabilan virusološki odgovor definisan je kao negativan nalaz HCV RNK kod bolesnika šest meseci posle završene terapije.

Non-responderi su bile osobe kod kojih se mogla dokazati HCV RNK 12 nedelja od početka terapije, što znači da nisu odgovorili na terapiju.

Bolesnici sa relapsom na kraju terapije bili su HCV RNK negativni, ali su postali ponovo HCV RNK pozitivni u periodu od šest meseci posle završene terapije.

Rani virusološki odgovor definisan je kao negativan nalaz HCV RNK 12 nedelja od početka terapije.

U toku terapije praćena je kompletna krvna slika, kao i funkcija jetre.

Bolesnici su lečeni kombinovanom terapijom (PEG INF alfa2 i ribavirin). Doza pegilovanog IFN (180 mg nedeljno, supkutano) kod svih bolesnika u početku terapije bila je ista, a doza ribavirina zavisila je od genotipa HCV. Kod genotipa 1 doza ribavirina iznosila je 1 000 ili 1 200 mg dnevno, zavisno od telesne mase. Kod ostalih bolesnika doza ribavirina bila je 800 mg dnevno, peroralno. Terapija je trajala 48 nedelja kod bolesnika sa genotipom 1 i 4, a 24 nedelje kod onih sa genotipom 3.

Rezultati

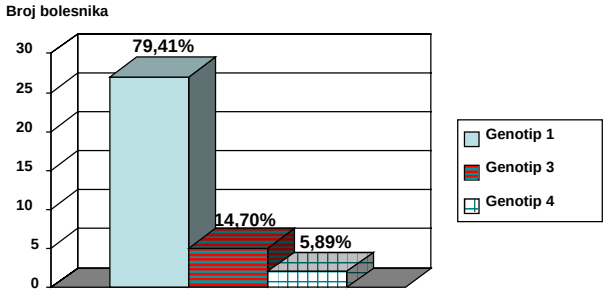
Praćeno je 34 bolesnika sa CHC koji su dobijali kombinovanu antivirusnu terapiju shodno principima ove terapije.

Životno doba naših bolesnika kretalo se od 18 do 65 godina. Svi ispitivani bolesnici ispunjavali su kriterijume za lečenje. Prema polu češće su bili zastupljeni muškarci (n = 22 ; 64,70%), nego žene (n = 12 ; 35,30%).

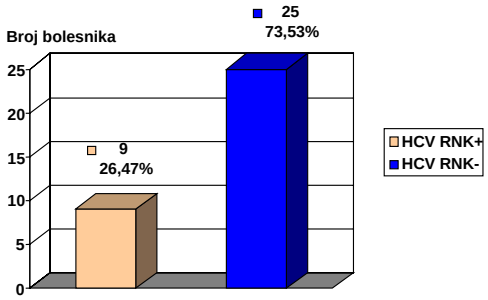
Biopsijom jetre potvrđena je ciroza kod osam od 34 (23,52%) bolesnika.

Zastupljenost genotipova HCV u ispitivanoj grupi bolesnika prikazana je na slici 1. Najčešće je dokazivan genotip 1 (79,41%).

Rani virusološki odgovor (negativan nalaz HCV RNK posle 12 nedelja) postignut je kod 25 ispitivanih bolesnika (73,53%). Bolesnici kod kojih je HCV RNK bila nedetektibilna posle ovog testiranja označeni su kao responderi. Kod devet bolesnika HCV RNK bila je pozitivna posle 12 nedelja od početka terapije (non-responderi) (slika 2).



Sl. 1 – Genotipizacija hepatitis C virusa (HCV) kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom C



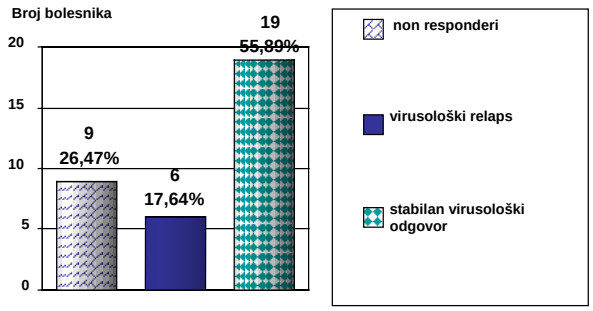
Sl. 2 – Rezultati PCR testa kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom C posle 12 nedelja od početka terapije kombinacijom pegilovanog interferona i ribavirina

Efikasnost terapije hepatitisa C pokazuje SVO koji se definiše odsustvom detektibilne HCV RNK u serumu procenjenih na osnovu testa za dokazivanje HCV RNK sa limitom detekcije 50 IJ/mL ili manje posle 24 nedelje od kraja terapije. Prema podacima iz literature, kod bolesnika sa genotipom 1 SVO iznosi 40–50%, a sa genotipovima 2 i 3 70–80% [8].

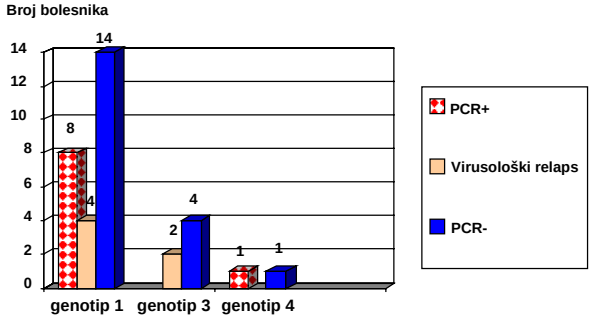
U skladu sa tim kod 19 (55,89%) bolesnika šest meseci posle završetka terapije HCV RNK bila je negativna, što znači da je kod njih postignut SVO.

U našem ispitivanju kod šest bolesnika došlo je do virusološkog relapsa (VR) posle šest meseci od završetka terapije (odnosno bio je pozitivan nalaz HCV RNK). Bolesnici sa virusološkim relapsom pripadali su genotipu 1, izuzev dva koji su bili genotip 3.

Rezultate virusološkog odgovora šest meseci posle prestanka terapije, kao i prisustvo genotipova HCV u odnosu na virusološki odgovor dati su na slikama 3 i 4.



Sl. 3 – Virusološki odgovor kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom C šest meseci posle završetka terapije kombinacijom pegilovanog interferona i ribavirina



Sl. 4 – Prisustvo genotipa hepatitis C virusa (HCV) u odnosu na virusološki odgovor kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom C lečenih kombinacijom pegilovanog interferona i ribavirina

Diskusija

Poslednjih godina terapija hroničnog hepatitisa C značajno je poboljšana. Savremena antivirusna kombinovana terapija sa PEG-INF alfa 2 i ribavirinom značajno je efikasnija od ranije monoterapije interferonom alfa2 kod svih bolesnika, uključujući i one koje je teško lečiti, a to su: bolesnici sa CHC uzrokovanim HCV genotipom 1, bolesnici sa cirozom jetre i sa višim koncentracijama virusa [2, 3].

Pegilovani INF hemijski je modifikovani IFN koji je dobijen kovalentnim vezivanjem polietilen glikola (PEG) na IFN. Na taj način produžava se poluživot IFN u odnosu na standardni IFN, lek je duže aktivan u cirkulaciji, tako da se ređe primenjuje (jednom nedeljno) [4].

Standardna terapija hroničnih hepatitisa C traje 24 nedelje za genotip 2 i 3, i 48 nedelja za genotipove 1 i 4. Bolesnicima sa genotipom 2 i 3 daje se manja doza ribavirina, nego bolesnicima sa genotipom 1 i 4.

Glavni kriterijum za primenu terapije je koncentracija virusne nukleinske kiseline, ali i drugi kriterijumi kao što su: životno doba, koinfekcije sa heptatis B virusom (HBV), HIV-om, stadijum ciroze jetre, aktivnost transaminaza, prisustvo ekstrahepatičnih manifestacija (krioglobulinemija, glomerulonefritis, vaskulitis).

Lečenjem hroničnog hepatitisa C želi se postići eradikacija virusa hepatitisa C, normalizacija transaminaza, histološko poboljšanje (smanjenje nekroinflamatorne aktivnosti i fibroze), progresija bolesti u cirozu, prevencija dekompenzacije jetre i nastanka hepatocelularnog karcinoma, poboljšanje kvaliteta života i sprečavanje širenja HCV infekcije.

Uspeh terapije zavisi i od faktora vezanih za virus (genotip, koncentracija virusa, osetljivost soja virusa na interferon) kao i od faktora domaćina (pol, životno doba, telesna mase i dr).

Protokoli praćenja uspeha terapije HCV infekcije usaglašavaju se u odnosu na antivirusnu terapiju, kao i genotip virusa.

Procena uspeha terapije meri se na osnovu sledećih parametara: virusološkog odgovora (prisustvo HVC RNK u serumu), biohemijskog odgovora (normalizacija aktivnosti ALT), histopatološkog odgovora (smanjenje stepena nekroinflamatorne aktivnosti i fibroze).

Biopsija jetre nije neophodna kod svih bolesnika ni pre, ni posle terapije [2, 6].

Kod bolesnika na terapiji moguće je već posle 12 nedelja, na osnovu koncentracije virusa u krvi, napraviti prognozu ishoda u odnosu na terapijski odgovor (rani virusološki odgovor). Šanse za izlečenje, odnosno eradikaciju virusa, male su (manje od 2%) kod bolesnika kod kojih nije dokazano smanjenje koncentracije virusa (smanjenje viremije za 2 log tokom prvih 12 nedelja).

Indikator uspeha terapije je negativan nalaz HCV RNA šest meseci nakon završene terapije što se označuje kao stabilan virusološki odgovor. Kod bolesnika kod kojih se ne postigne SVO predlaže se veća doza ili duži period lečenja samim pegilovanim interferonom posle kombinovane terapije.

Našom studijom bila su obuhvaćena 34 bolesnika sa hroničnim hepatitisom C koji su lečeni kombinovanom terapijom. Veća učestalost muškaraca nego žena verovatno je u vezi sa činjenicom da se CHC češće javlja kod muškaraca. Primenjena je kombinovana terapija sa pegilovanim IFN alfa2 i ribavirinom.

Praćenjem terapijskih efekata kombinovane antivirusne terapije kod naših bolesnika dokazan je rani virusološki odgovor (posle 12 nedelja), odnosno negativizacija HCV RNK kod 25 (73,53%) bolesnika.

Za uspešnu terapiju potrebno je postizanje stabilnog virusološkog odgovora (odustvo HCV RNK posle šest meseci od prestanka terapije). Kod naših bolesnika SVO postignut je kod 55,89%. Biohemijski odgovor (normalizacija ALT) postignut je kod 100% ispitivanih bolesnika što je u skladu sa podacima iz literature [9, 10].

Identifikacija genotipa značajna je za procenu ishoda bolesti kao i uspeha terapije, ali i u epidemiološkim istraživanjima za dokazivanje porekla infekcije, puta i transmisije virusa. Bolesnici sa genotipom 1 imaju slabiji odgovor na terapiju, dok bolesnici sa genotipovima 2 i 3 bolje reaguju na terapiju interferonom.

Za tipizaciju virusa najčešće se koriste komercijalni hibridizacioni testovi na principu „blotinga“, posle predhodno izvedene amplifikacije PCR testom. Ovim testovima mogu se identifikovati najčešći genotipovi: 1, 2, 3, 4, 5, 6 [11].

U našem ispitivanju genotipizacijom utvrđeno je da 27 (79,41%) bolesnika pripada genotipu 1, pet (14,70%) bolesnika genotipu 3 i 2 (5,89%) bolesnika genotipu 4. U skladu sa ovim nalazom, kod bolesnika sa virusološkim relapsom dokazan je genotip 1 kod četiri bolesnika, dok je kod preostala dva bolesnika dokazan genotip 3.

Prognoza hepatitisa C i uspeh terapije zavisni su od genotipa virusa i koncentracije virusne RNK. Međutim, kod bolesnika sa istim genotipom prognoza je lošija i terapija manje uspešna kod onih koji imaju veću koncentraciju virusa.

Dosadašnja ispitivanja pokazuju da je terapija hronične HCV infekcije efikasna kod manje od 50% bolesnika sa genotipom 1. U određenim ispitivanjma pokazano je da telaprevir, inhibitor proteaze, specifičan za HCV nestrukturnu 3/4 A serin proteazu, znatno redukuje HCV RNK [12].

Postoje brojna istraživanja vezana za efikasnost terapije hepatitisa C. Dokazano je da SVO kod bolesnika sa genotipom 1 iznosi 40–50%, a sa genotipom 2 i 3 oko 70–80% [8, 13–16].

U novijoj studiji pokazano je da je od 400 lečenih bolesnika sa hroničnim hepatitisom C, 268 (67%) pokazalo odgovor posle terapije i da je kod 202 (50,5%) postignut SVO. Na kraju terapije 66 (16,5%) bolesnika bilo je HCV RNK negativno, ali je kod jednog broja bolesnika došlo do virusološkog relapsa. Na kraju terapije 133 (33%) bolesnika imali su detektibilnu HCV RNK i nisu odgovorili na terapiju. Brzi virusološki odgovor dokazan je kod 186 (46,5%) bolesnika [9].

Matsura i sar. [10] pomoću dva komercijalna *real-time* PCR testa pratili su bolesnike sa hroničnom HCV infekcijom koji su dobijali kombinovanu terapiju. Od 60 bolesnika sa HCV koji su praćeni, kod 26 (43,3%) dokazan je SVO, 16 (26,7%) bolesnika relapsiralo je, 15 (25%) nije odgovorilo na terapiju, a kod 3 (5%) prekinuta je terapija zbog neželjenih efekata.

Postoje studije o virusološkoj efikasnosti kombinovane terapije i kod bolesnika sa koinfekcijom [17].

Virusni kvazispecijesi mogu biti značajni prediktor virusološkog odgovora u kombinovanoj terapiji kod bolesnika sa hroničnim hepatitisom C. Kompleks kvazispecijesa i rezistentnih sojeva može dovesti do visoke koncentracije virusa za vreme terapije i uticati na efekte težine bolesti.

Evolucija virusnih kvazispecijesa kod bolesnika povećava patogenost HCV.

Od 41 bolesnika na terapiji zbog HCV infekcije, kod 30 je dokazan SVO, a 11 bolesnika nije odgovorilo na terapiju. Kod 21 ispitivanog bolesnika dokazani su kvazispecijesi [18, 19].

Kod bolesnika bez virusološkog odgovora (non-responder) preporučuje se ponovni tretman ili produženje terapije samo pegilovanim interferonom u manjim dozama.

Pegilovani IFN primenjen u vidu monoterapije ili u kombinaciji sa ribavirinom, u poređenju sa ranijom primenom IFN alfa ili kombinacijom IFN alfa+RBV, bolje se podnosi, lakši je za primenu (samo jedanput nedeljno supkutano), a učestalost neželjenih efekata (depresija i *flu-like* sindroma) je manja.

Zaključak

Određivanja HCV RNK pomoću PCR testa neophodno je za praćenje uspeha terapije, dokazivanje non-respondera na terapiju ili virusološkog relapsa posle terapije.

L I T E R A T U R A

1. *Zoulim F, Chevallier M, Maynard M, Trepo C.* Clinical consequences of hepatitis C virus infection. Rev Med Virol. 2003; 13(1):57-68.

2. *Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB.* Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. Hepatology 2004; 39: 1147–71.

3. *Francesco R, Migliaccio G.* Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. Nature 2005; 436: 953–60.
4. *Feld JJ, Hoofnagle JH.* Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. Nature 2005; 436: 967–72.
5. *Berg T, von Wagner M, Nasser S, Sarrazin C, Heintges T, Gerlach T,* et al. Extended teratment duration for hepatitic C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. Gastroenterology 2006; 130: 1086–97.
6. *Witthöft T.* Review of consensus interferon in the treatment of chronic hepatitis C. Biologics 2008; 2(4): 635–43.
7. *Gourlain K, Soulier A, Pellegrin B, Bouvier-Alias M, Hézode C, Darthuy F,* et al. Dynamic range of hepatitis C virus RNA quantification with the Cobas Ampliprep-Cobas Amplicor HCV Monitor v2.0 assay. J Clin Microbiol 2005; 43(4): 1669–73.
8. *Chevaliez S, Pawlotsky JM.* Hepatitis C Virus Serologic and Virologic Tests and Clinical Diagnosis of HCV-Related Liver Disease. Int J Med Sci 2006; 3: 35–40.
9. *Idrees M, Riazuddin S.* A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naïve chronic hepatitis C patients. BMC Gastroenterol 2009; 9: 5.
10. *Matsuura K, Tanaka Y, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, Kurbanov F,* et al. Abbott RealTime hepatitis C virus (HCV) and Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HCV assays for prediction of sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin in chronic hepatitis C patients. J Clin Microbiol 2009; 47(2): 385–9.
11. *Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S,* et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. Hepatology 2005; 42(4): 962–73.
12. *Reesink HW, Weegink CJ.* New hope for a cure for chronic hepatitis C. J Hepatol 2009; 51(4): 835–7.
13. *Zeuzem S.* Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? Ann Intern Med 2004; 140: 370–81.
14. *Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, Nelson D, Harley H, Solá R,* et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. N Engl J Med 2007; 357(2): 124–34.
15. *Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P,* et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. Ann Intern Med 2004; 140(5): 346–55.
16. *Nikolić P, Jemuović Lj, Delić D, Korać M, Boričić I.* Treatment of chronic hepatitis C with interferon alpha – our results. Acta Infectologica Yugoslavica 2000; 5: 1–9.
17. *Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE,* et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. N Engl J Med 2004; 351(5): 451–9.
18. *Kumar D, Malik A, Asim M, Chakravarti A, Das RH, Kar P.* Influence of quasispecies on virological responses and disease severity in patients with chronic hepatitis C. World J Gastroenterol 2008; 14(5): 701–8.
19. *Rothman AL, Morishima C, Bonkovsky HL, Polyak SJ, Ray R, Di Bisceglie AM,* et al. Associations among clinical, immunological, and viral quasispecies measurements in advanced chronic hepatitis C. Hepatology 2005; 41(3): 617–25.

Primljen 6. X 2009.
Revidiran 29. XII 2009.
Prihvaćen 21. I 2010.