

Τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης ορού ως προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και στεάτωση ήπατος

Χρήστος Παυλίδης¹
 Γεώργιος Πανουτσόπουλος²
 Ντίνα Τηνιακού³
 Σωήριος Κουτσουνάς⁴
 Ιωάννης Βλαχογιαννάκος¹
 Ειρήνη Ζουμπούλη-Βαφειάδη¹

¹ Α΄ Προπαιδευτική Πανεπιστημιακή Κλινική Γ.Ν.Ν.΄ΛΑΪΚΟ΄, Αθήνα

² Πανεπιστήμιο Πελοπόννησου Τμήμα Νοσηλευτικής, Σπάρτη

³ Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

⁴ Κέντρο Ελέγχου και Αναφοράς Ιογενούς Ηπατίτιδας ΙΚΑ, Αθήνα

Εισαγωγή: Η ηπατική στεάτωση είναι συχνό ιστοπαθολογοανατομικό χαρακτηριστικό σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Η λεπτίνη κατέχει έναν ουσιώδη ρόλο στη ρύθμιση του προσλαμβανόμενου λίπους επάγοντας την αντίσταση στην ινσουλίνη, αυξάνοντας την συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ ευοδώνοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Η γκρελίνη φαίνεται να εμπλέκεται στον ενεργειακό μεταβολισμό, την πρόσληψη τροφής και την ομοιοστασία της γλυκόζης.

Σκοπός μελέτης: Να διερευνηθεί η επίδραση της λεπτίνης και της γκρελίνης στην επίτευξη παρατεταμένης ιολογικής ανταπόκρισης σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που λαμβάνουν αγωγή με συνδυασμό πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης και ριμπαβιρίνης.

Μεθοδολογία: Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 56 ασθενείς με τον γονότυπο-1 του ιού της χρόνιας ηπατίτιδας C και 40 ασθενείς με τον γονότυπο-3. Ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ή άλλες αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου εξαιρέθηκαν. Τα επίπεδα του ιϊκού φορτίου (HCV-RNA), προσδιορίστηκαν με ευαίσθητη μέθοδο PCR και ο γονότυπος του ιού με χρήση μεθόδου INNO-LIPA HCV assay. Τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης ορού μετρήθηκαν με τη μέθοδο ELISA. Τα ιστοτεμαχίδια βιοψίας ήπατος βαθμολογήθηκαν σύμφωνα με το σύστημα κατά ISHAK και η στεάτωση ταξινομήθηκε ως ήπια, μέτρια και σοβαρή.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με γονότυπο-1 χωρίς ανταπόκριση στη θεραπεία παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης κατά την εισαγωγή (πριν την έναρξη αγωγής), και η αύξηση των επιπέδων ήταν ευθέως ανάλογη με το βαθμό στεάτωσης, ενώ οι ανταποκριθέντες παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα γκρελίνης εισαγωγής. Τα επίπεδα της γκρελίνης εμφάνιζαν επίσης σημαντική μείωση μετά το τέλος της καθορισμένης θεραπείας στους ασθενείς με γονότυπο-3 που ανταποκρίθηκαν.

Συμπεράσματα: Η μέτρια και σοβαρή ηπατική στεάτωση και τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης πριν την αγωγή πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη ως προγνωστικοί παράγοντες αποτυχίας ανταπόκρισης στη θεραπεία, ιδιαίτερα σε ασθενείς με γονότυπο-1 και χρόνια ηπατίτιδα C, ενώ αυξημένα επίπεδα γκρελίνης ίσως προβλέπουν την παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση τόσο σε ασθενείς με γονότυπο-1 όσο και σε αυτούς με γονότυπο-3.

Εισαγωγή

Η ηπατική στεάτωση αποτελεί ένα συχνό ιστολογικό χαρακτηριστικό σε βιοψίες ήπατος ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C (ΧΗC) [1], (σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των ασθενών) [2]. Αντίθετα, δεν παρατηρείται τόσο συχνά σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β (27%-48%) ή ауτοάνοση ηπατίτιδα (16%-19%) [3, 4].

Στην χρόνια ηπατίτιδα C η στεάτωση συνδέεται με ποικίλους μηχανισμούς οι οποίοι παίζουν ρόλο στην παθογένεια της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (ΜΑΛΝΗ), μαζί και με την απευθείας δράση του ιού της ηπατίτιδας C στον ηπατικό μεταβολισμό των λιπιδίων που οδηγεί στην αύξηση της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ [5, 6], σε αντίθεση με την στεάτωση που παρατηρείται σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β η οποία οφείλεται κυρίως σε παράγοντες του ξενιστή [7].

Η λεπτίνη είναι ένα πεπτίδιο που συμβάλλει στην παθογένεια της στεάτωσης [8, 9]. Σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C, υψηλά επίπεδα λεπτίνης ορού έχουν συσχετισθεί με την παρουσία στεάτωσης [10], αλλά υπάρχει μία έλλειψη καθαρής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων λεπτίνης και του βαθμού της στεάτωσης που παρατηρείται στην βιοψία ήπατος [11]. Σε μία πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι, υψηλά επίπεδα λεπτίνης σχετίζονταν με πιο σοβαρή στεάτωση, χαμηλή αιμία και μικρότερη ανταπόκριση στην αντίκκη θεραπεία κυρίως σε ασθενείς με γονότυπο 1 (71% του πληθυσμού της μελέτης) [12].

Η λεπτίνη αποτελεί το προϊόν του γονιδίου της παχυσαρκίας (*ob gene*), το οποίο εκφράζεται κυρίως στο λιπώδη ιστό αλλά και σε άλλους ιστούς συμπεριλαμβανομένου του ήπατος [13]. Φαίνεται να κατέχει ουσιώδη ρόλο στην ρύθμιση του λίπους σώματος επάγοντας την αντίσταση στην ινσουλίνη, την αύξηση της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων στο ήπαρ με αποτέλεσμα την αυξημένη υπεροξειδωση αυτών [5, 8, 9]. Επίσης, θεωρείται ότι δρα ως μεσολαβητής της ανοσιακής απάντησης οδηγώντας σε απελευθέρωση κυτοκινών όπως, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (*tumor necrosis factor*, TNF- α), η ιντερφερόνη- γ , η ιντερφερόνη-18, ο παράγοντας- β 1 αύξησης των όγκων, οι οποίες έχει αποδειχτεί ότι συμβάλλουν στην ανάπτυξη στεάτωσης αλλά και ίνωσης[8].

Η γκρελίνη είναι ένα πεπτίδιο το οποίο ανακαλύφθηκε πρόσφατα και αποτελεί τον ενδογενή σύνδεσμο του υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης [14]. Θεωρείται ότι εμπλέκεται στον ενεργειακό μεταβολισμό, στην πρόσληψη τροφής και στην ομοιοστασία της γλυκόζης [14, 15]. Πρόσφατες μελέτες προσπάθησαν να διερευνήσουν τον ρόλο της γκρελίνης ως ανεξάρτητου παράγοντα ρύθμισης της παχυσαρκίας αλλά και ως αρνητικού μεσολαβητή στη δράσης της λεπτίνης που επηρεάζει το ενεργειακό ισοζύγιο του σώματος [16].

Υπάρχει έλλειψη δεδομένων σχετικά με τα επίπεδα

γκρελίνης ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C και στεάτωση ήπατος καθώς και για την επίδραση της γκρελίνης στην ανταπόκριση στην αντίκκη θεραπεία.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει τον ρόλο των επιπέδων λεπτίνης και της γκρελίνης ορού σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και ηπατική στεάτωση οι οποίοι έλαβαν θεραπεία σύμφωνα με τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, να προσδιορίσει πιθανή σχέση μεταξύ της λεπτίνης και της γκρελίνης με διάφορες ιστοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και να εκτιμήσει την επίδραση της αντίκκης αγωγής στα επίπεδα της λεπτίνης και της γκρελίνης ορού.

Υλικό και μεθοδολογία

Πληθυσμός ασθενών:

Επιλέχθηκαν ασθενείς με επιβεβαιωμένη ορολογικά, ιστολογικά και ιστολογικά χρόνια ηπατίτιδα C, οι οποίοι εξετάστηκαν και αναλύθηκαν κατά την περίοδο 2005 με 2008. Τα κριτήρια εισαγωγής περιελάμβαναν ανιχνεύσιμο anti-HCV (με μέθοδο ELISA 3^{ης} γενιάς) τουλάχιστον δύο φορές στην διάρκεια ενός έτους, ανιχνεύσιμο HCV-RNA ορού με ευαίσθητη μέθοδο PCR (*Polymerase chain reaction*) ένα μήνα πριν την έναρξη της αγωγής, βιοψία ήπατος εντός διαστήματος 6 μηνών πριν την έναρξη της αγωγής στην οποία υπήρχαν χαρακτηριστικά χρόνιας ηπατίτιδας και ηπατικής στεάτωσης, αυξημένη αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALT>40IU/L και κάτω από 400IU/L) κατά την εισαγωγή του ασθενούς στην μελέτη και τουλάχιστον μία φορά κατά τη διάρκεια των τελευταίων 6 μηνών πριν την έναρξη της αγωγής.

Ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση, άλλες αιτίες χρόνιας ηπατικής νόσου, ιστορικό χρήσης ενδοφλέβιων ουσιών ή χρήσης ηπατοτοξικών φαρμάκων και βοτάνων, ανοσοκατεσταλμένοι, διαβητικοί, με ιστορικό διαταραχής του θυρεοειδούς, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σοβαρή ψυχιατρική διαταραχή, συλοίμωση με τον ιό HIV ή HBV καθώς και ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο εξαιρέθηκαν από την μελέτη. Επίσης, ασθενείς με ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ >30γρ/ημέρα για τουλάχιστον 5 έτη θεωρήθηκαν αλκοολικοί σύμφωνα με τα κριτήρια και δεν εισήχθησαν στην μελέτη.

Κανένας από τους ασθενείς δεν είχε λάβει στο παρελθόν αγωγή για την ηπατίτιδα C ούτε για την ηπατική στεάτωση. Η διάρκεια της θεραπείας καθορίστηκε με βάση τον γονότυπο. Ασθενείς με γονότυπο 1 οι οποίοι δεν πέτυχαν πρώιμη ιολογική ανταπόκριση ή μείωση κατά δύο λογαρίθμους στο HCV-RNA την εβδομάδα 12 (EVR), αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς εκτιμήθηκαν κλινικά, αιματολογικά και βιοχημικά τις εβδομάδες 2, 4, 8, 12, 24, 48 και 72 από την έναρξη της αγωγής.

Η μελέτη ήταν συμμορφωμένη με τις ηθικές οδηγίες της συνθήκης του Ελσίνκι του 1975. Ενυπόγραφη συγκατάθεση δεν ήταν απαραίτητη επειδή αυτή η προοπτική μελέτη δεν τροποποίησε την διάγνωση και την ισχύουσα θεραπευτική στρατηγική.

Μετρήσεις παραμέτρων σώματος:

Το ύψος και το βάρος μετρήθηκαν κατά την εισαγωγή του ασθενούς και ο δείκτης μάζας σώματος υπολογίστηκε ως βάρος σε κιλά προς ύψος σε τετραγωνικό μέτρο, (kg/m²).

Εργαστηριακές και ιολογικές μέθοδοι:

Τα δείγματα αίματος λαμβάνονταν από τους ασθενείς μετά από ολονύκτια νηστεία και ο ορός που προέκυπτε μετά από φυγοκέντρηση φυλάσσονταν σε ειδικά φιαλίδια σε θερμοκρασία -70° C μέχρι να αναλυθεί. Βιοχημικές εξετάσεις ρουτίνας (AST, ALT, γ-GT, ALP, γλυκόζη, ουρία, κρεατινίνη, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, αλβουμίνη) καθώς και αιματολογικές (αιμοσφαιρίνη, λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια), προσδιορίζονταν με τη χρήση αυτόματων αναλυτών.

Ορολογικοί δείκτες (HBsAg, anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc total, anti-HCV, anti-HDV, anti-HIV_{1,2}, anti-HAV (IgM, IgG), προσδιορίστηκαν με τη χρήση των εμπορικών διαθεσίμων ενζυμικών ανοσοδοκιμασιών (Abbot Laboratories, USA). Τα επίπεδα του ιϊκού φορτίου ορού (HCV-RNA) μετρήθηκαν με ευαίσθητη δοκιμασία PCR (Cobas AmpliCor HCV version 2, Roche Diagnostics, USA), ποσοτικά με κατώτερο όριο ανίχνευσης της δοκιμασίας τις 50IU/ml και ποσοτικά με εύρος ανίχνευσης μεταξύ 600-10⁶ IU/ml. Ο γονότυπος του ιού προσδιορίστηκε με τη χρήση της δοκιμασίας INNO-LIPA HCV assay (Innogenetics, Belgium). Τα επίπεδα του HCV-RNA ορού μετρήθηκαν πριν την έναρξη της αγωγής και την εβδομάδα 12 (για τους ασθενείς με γονότυπο 1), την 24^η και 48^η εβδομάδα κατά τη διάρκεια της θεραπείας καθώς και 24 εβδομάδες μετά το τέλος της αγωγής στους ανταποκριθέντες για να επιβεβαιωθεί η παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (SVR). Τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης προσδιορίστηκαν με μέθοδο ELISA (BioVendor Laboratory, USA), στην εισαγωγή του ασθενούς και στο τέλος της θεραπείας και εκφράστηκαν σε ng/ml. Ο προσδιορισμός της απορρόφησης έγινε με ανάγνωση του πινακίου σε μήκος κύματος 450nm.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη υπολογίστηκε ως:

Αντίσταση στην ινσουλίνη(HOMA-IR)= ινσουλίνη νηστείας(mIU/L) x γλυκόζη νηστείας(mmol/L) / 22,5

Ιστολογικά χαρακτηριστικά:

Πραγματοποιήθηκε βιοψία ήπατος με την τεχνική Menghini κατά την εισαγωγή του ασθενή στην μελέτη, (ο μέσος όρος του μήκους του ιστοτεμαχιδίου ήταν 1,7εκ.). Ο ιστός στερεοποιήθηκε σε 10% ουδέτερη φορμόλη και στη συνέχεια σε παραφίνη όπου και έγινε επεξεργασία με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης καθώς και με τρίχρωμη χρώση κατά Masson. Οι βιοψίες εξετάστηκαν και βαθμολογήθηκαν με το σύστημα κατά Ishak από έμπειρο παθολογοανατόμο. Η ηπατική στεάτωση προσδιορίστηκε ποσοτικά ως το ποσοστό των ηπατοκυττάρων τα οποία περιείχαν σταγόνες λίπους και η βαθμολόγηση με τη χρήση της κάτωθι κλίμακας: βαθμός 1/ήπια (1-33%), 2/μέτρια (33-66%) και 3/σοβαρή (>66%). Ασθενείς με χαρακτηριστικά στεατοηπατίτιδας όπως, ηπατοκυτταρική φυσαλλίδωση (ballooning), ή περικολλοειδική ίνωση στη ζώνη 3, εξαιρέθηκαν.

Στατιστική ανάλυση:

Ολες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάστηκαν ως μέσοι όροι ± σταθερές αποκλίσεις ή ως διακυμάνσεις μεσαίων ± διάμεσων τεταρτημορίων (75^η -25^η ποσοστιαία διακύμανση) σε περίπτωση που απόκλιναν από το φυσιολογικό. Η συσχέτιση του κάθε γονότυπου με τις συνεχείς μεταβλητές διερευνήθηκε είτε με μέθοδο ANOVA (χρησιμοποιώντας το post-hoc Scheffe τεστ όταν το ολικό αποτέλεσμα ήταν στατιστικά σημαντικό) ή με χρήση του Student t-test. Η συσχέτιση του κάθε γονότυπου με κατηγορικές μεταβλητές εξερευνήθηκε με στατιστική χ τετραγώνου. Ακολούθως, για να εξεταστεί η συσχέτιση της ανταπόκρισης στην θεραπεία με τις παραμέτρους της μελέτης, τροποποιήθηκαν τα δεδομένα με χρήση πολλαπλής λογιστικής ανάδρομης ανάλυσης. Το αποτέλεσμα της θεραπείας χρησιμοποιήθηκε σαν η τελική μεταβλητή και μία σειρά μεταβλητών όπως τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης, η ηπατική στεάτωση, η ίνωση, η αντίσταση στην ινσουλίνη, χρησιμοποιήθηκαν ως προγνωστικοί παράγοντες ώστε να εκτιμηθεί ο βαθμός αναλογίας και να εξαχθεί το 95% διάστημα αξιοπιστίας. Η ανάλυση έγινε ξεχωριστά για τον κάθε γονότυπο και για την μέτρηση της κάθε παραμέτρου της μελέτης (στην εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης του ασθενούς). Για λόγους πολυσυλλογικότητας, δεν ήταν δυνατό να περιληφθεί η ίνωση στο ίδιο μοντέλο ανάλυσης. Επίσης, η ίνωση και η στεάτωση εισήχθησαν εναλλάξ (μία παράμετρος τη φορά), στο μοντέλο core. Μεικτής επίδρασης μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν για να εξεταστεί η συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης και γκρελίνης ορού κατά την εισαγωγή και μετά το τέλος της παρακολούθησης των ασθενών όπως και μεταξύ των ανταποκριθέντων ασθενών και των

μη ανταποκριθέντων. Όλες οι αναφερόμενες πιθανές αξίες (p-values) βασίστηκαν σε διπλής αντίθεσης τεστ και συγκρίθηκαν με επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας της τάξης του 0,05. Σε όλες τις αναλύσεις των αποτελεσμάτων της μελέτης χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό σύστημα SAS, (Version 9.1, SAS Institute INC, NC).

Αποτελέσματα

Αναλύθηκαν 154 ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C από τους οποίους οι 96, (60 άνδρες και 36 γυναίκες), πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής της μελέτης. Όλοι οι ασθενείς ήταν Καυκάσιοι, οι 56 είχαν το γονότυπο-1 του ιού της ηπατίτιδας C ενώ 40 το γονότυπο-3.

Γονότυπος του ιού και ανταπόκριση στη θεραπεία:

Όλοι οι ασθενείς έλαβαν συνδυασμένη αγωγή με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη α-2α ή α-2β και ριμπαβιρίνη με βάση το βάρος σώματος, για 24 ή 48 εβδομάδες ανάλογα τον γονότυπο. Ανέχθηκαν τη θεραπεία και την ολοκλήρωσαν χωρίς να συμβεί κάποιο σοβαρό ανεπιθύμητο γεγονός ή σημαντική μείωση της δόσης των φαρμάκων. Ασθενείς με γονότυπο-1 που δεν πέτυχαν πρώιμη ιολογική ανταπόκριση (αρνητικοποίηση του HCV-RNA την 12^η εβδομάδα θεραπείας) σταμάτησαν την αγωγή και αποκλείστηκαν από την συνέχεια της μελέτης. Στο σύνολο των 96 ασθενών, οι 62 πέτυχαν παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (ποσοστό 64,6%), και 34 χαρακτηρίστηκαν

Πίνακας 1
Κλινικά, ιολογικά και ιστολογικά δεδομένα του πληθυσμού της μελέτης

	Ανταποκριθέντες (n-62)	Μη ανταποκριθέντες (n-34)	
Ηλικία	35.01 ± 1.57	39.21 ± 2.07	p= 0.05
Φύλο(άνδρες/γυναίκες)	36/26	21/13	
BMI	24.7 ± 0.179	25.53 ± 0.637	p=0.06
Γονότυπος-1	32 (57.1%)	24 (42.9%)	
Γονότυπος-3	30 (75%)	10 (25%)	
Ινώση (0-6)	1.661 ± 0.095	2.412 ± 0.141	p < 0.001
Νεκροφλεγμονώδης Δραστηριότητα (0-18)	5.371 ± 0.136	5.265 ± 0.204	
Στεάτωση (1-3)	1.565 ± 0.082	2.06 ± 0.126	p=0.001

Data are presented as mean ± SD of n (%)

ως μη ανταποκριθέντες (ποσοστό 45,4%).

Τα κλινικά, ιολογικά και ιστολογικά δεδομένα των ανταποκριθέντων και μη ανταποκριθέντων ασθενών και των δύο γονότυπων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Ανάμεσα στους ανταποκριθέντες, οι 32 από τους 56 (57,1%) είχαν γονότυπο-1 και οι 30 από τους 40 (75%) είχαν γονότυπο-3. Συνολικά, η ανταπόκριση στην θεραπεία σχετίστηκε θετικά με την παρουσία του γονότυπου-3 (ασθενείς με γονότυπο-1, 57,1% vs ασθενών με

γονότυπο-3, 75%, p<0,05), με μικρότερο ιστολογικό στάδιο ηπατικής νόσου, (p<0,001) και μικρότερο βαθμό ηπατικής στεάτωσης, (p=0,001) στην βιοψία ήπατος. Ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 40 ετών παρουσίασαν μία τάση μικρότερης ανταπόκρισης στην θεραπεία (p=0,05) (Πίνακας 1). Περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων για τον κάθε γονότυπο ξεχωριστά έδειξε ότι, στους ασθενείς με γονότυπο-1 που ανταποκρίθηκαν στην αντιϊκή αγωγή, η ανταπόκριση σχετιζόταν με χαμηλότερο βαθμό στεάτωσης, (p=0,0001), ήπια ίνωση (p=0,001) και με την

Πίνακας 2

Κατανομή των 56 ασθενών με γονότυπο-1 και των 40 ασθενών με γονότυπο-3 με βάση τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και τους παράγοντες του ξενιστή σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία

Μεταβλητή	Genotype 1 (N=56)		P = value	Genotype 3 (N=40)		P = value
	Ανταποκριθέντες (n=32)	Μη ανταποκριθέντες (n=32)		Ανταποκριθέντες (n=30)	Μη ανταποκριθέντες (n=10)	
Φύλο			0.70			0.47
Ανδρες	15 (46.9)	10 (41.7)		13 (43.3)	6 (60.0)	
Γυναίκες	17 (53.1)	14 (58.3)		17 (56.7)	4 (40.0)	
Ηλικία			0.17			0.17
≤40	23 (71.9)	13 (54.2)		29 (96.7)	8 (80.0)	
41+	9 (28.1)	11 (45.8)		1 (3.3)	2 (20.0)	
Δείκτης Μάζας Σώματος σε kg/m²			0.28			0.42
<25	18 (56.3)	10(41.7)		23 (76.7)	6 (60.0)	
25-28	14 (43.7)	14 (58.3)		7 (23.3)	4 (40.0)	
Βαθμός στεάτωσης			0.0001			0.72
Ηπια	22 (68.7)	5 (20.8)		12 (40.0)	3 (30.0)	
Μέτρια	10 (31.3)	12 (50.0)		13 (43.3)	4 (40.0)	
Σοβαρή	0 (0.0)	7 (29.2)		5 (16.7)	3 (30.0)	
Ινώση			0.001			0.04
1	17 (53.1)	3 (12.5)		16 (53.3)	1 (10.0)	
2	11 (34.4)	8 (33.3)		11 (36.7)	7 (70.0)	
3-4	4 (12.5)	13 (54.2)		3 (10.0)	2 (20.0)	
5-6	0	0		0	0	
HOMA-IR ng/ml			0.01			0.01
<2	11 (34.4)	4 (16.7)		19 (63.3)	1 (10.0)	
2-3	10 (31.2)	2 (8.3)		10 (33.3)	7 (70.0)	
4+	11 (34.4)	18 (75.0)		1 (3.3)	2 (20.0)	
Λεπτίνη εισαγωγής, ng/ml	37.66 ± 10.39	49.67 ± 13.44	0.001	24.33 ± 7.98	28.20 ± 9.72	0.22
Γκρελίνη εισαγωγής, ng/ml	0.286 ± 0.167	0.190 ± 0.119	0.02	0.778 ± 0.654	0.564 ± 0.324	0.18
Λεπτίνη στο τέλος θεραπείας, ng/ml	26.69 ± 11.77	41.50 ± 16.24	<0.0001	23.27 ± 9.54	26.70 ± 6.82	0.30
Γκρελίνη στο τέλος θεραπείας, ng/ml	0.456 ± 0.254	0.239 ± 0.213	0.001	0.42 ± 0.321	0.450 ± 0.261	0.79

Data are presented as mean ± SD or n (%)

απουσία αντίστασης στην ινσουλίνη (p=0,01) (Πίνακας 2). Αντίστοιχα, στους ασθενείς με γονότυπο-3 η ανταπόκριση ήταν αυστηρά σχετιζόμενη με το στάδιο της ίνωσης (p=0,04), με μικρότερη αντίσταση στην ινσουλίνη κατά την εισαγωγή (p=0,01), αλλά ο βαθμός στεάτωσης δεν φάνηκε να έχει κάποια επίδραση στην επίτευξη της ανταπόκρισης (Πίνακας 2)

Λεπτίνη, γκρελίνη και ανταπόκριση στη θεραπεία:

Τα επίπεδα της λεπτίνης ορού δεν παρουσίασαν κάποια διαφορά μεταξύ των ανταποκριθέντων και των μη ανταποκριθέντων κατά την εισαγωγή. Όμως, μετά από επιτυχή θεραπεία, οι ανταποκριθέντες είχαν στατιστικά

Πίνακας 3

Μέσες τιμές (mean SD) μετρήσεων λεπτίνης και γκρελίνης κατά την εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης των 96 ασθενών (γονότυπος-1 και 3) με βάση την ανταπόκριση στη θεραπεία (χρήση του μοντέλου μεικτού αποτελέσματος εκτίμησης των διαφορών των μέσων όρων)

Μεταβλητή	Ανταποκριθέντες	Μη ανταποκριθέντες	P-value για την προσαρμοσμένη διαφορά*
Λεπτίνη			
Πριν τη θεραπεία Mean (SD) ng/ml	30.99 (9.185)	38.43 (11.58)	ns
Μετά το τέλος της θεραπείας Mean (SD) ng/ml	23.76 (8.055)	34.1 (11.53)	0.01
Γκρελίνη			
Πριν τη θεραπεία Mean (SD) ng/ml	0.532 (0.410)	0.377 (0.223)	0.01
Μετά το τέλος της θεραπείας Mean (SD) ng/ml	0.438 (0.288)	0.345 (0.237)	0.05

*προσαρμοσμένη για τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης, ns: non-significant, μη σημαντικό

σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης ($p=0,01$) (Πίνακας 3).

Περαιτέρω ανάλυση με σεβασμό στον γονότυπο έδειξε ότι, οι μη ανταποκριθέντες ασθενείς με γονότυπο-1 παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα λεπτίνης τόσο κατά την εισαγωγή όσο και στο τέλος της παρακολούθησης σε σύγκριση με τους ανταποκριθέντες ($p=0,001$ και $p<0,0001$ αντίστοιχα) (Πίνακας 2). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων λεπτίνης κατά την εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης στους ανταποκριθέντες ασθενείς ($p=0,001$), αλλά ήταν οριακή η σημαντικότητα αυτής της διαφοράς στους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν ($p=0,06$) (Πίνακας 4).

Σχετικά με τους ασθενείς με γονότυπο-3, τόσο οι ανταποκριθέντες όσο και οι ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν δεν παρουσίασαν καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα λεπτίνης κατά την εισαγωγή αλλά και στο τέλος της θεραπείας (Πίνακας 2). Το ίδιο παρατηρήθηκε και στην πολυπαραγοντική ανάλυση για τους παραπάνω ασθενείς ($p=0,51$ και $p=0,61$ αντίστοιχα) (Πίνακας 4).

Στο σύνολο των ασθενών, οι ανταποκριθέντες παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα γκρελίνης κατά την εισαγωγή καθώς και στο τέλος της παρακολούθησης σε σχέση με τους μη ανταποκριθέντες ($p=0,01$ και $p=0,05$ αντίστοιχα) (Πίνακας 3). Οι ανταποκριθέντες ασθενείς με γονότυπο-1 είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη γκρελίνη στην εισαγωγή και στο τέλος της θεραπείας σε σύγκριση με τους μη ανταποκριθέντες ($p=0,02$ και $p=0,001$, αντίστοιχα) (Πίνακας 2), και παρουσίασαν περαιτέρω σημαντική αύξηση της γκρελίνης μετά την επιτυχή θεραπεία ($p=0,001$) (Πίνακας 4).

Τα επίπεδα γκρελίνης των ασθενών με γονότυπο-3 δεν παρουσίασαν καμία διαφορά ανάμεσα σε ανταποκριθέντες και μη ανταποκριθέντες τόσο στην αρχή όσο και στο τέλος της θεραπείας (Πίνακας 2), αλλά τα ευρήματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης έδειξαν μία στατιστικά σημαντική μείωση της γκρελίνης στο τέλος της θεραπείας στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν ($p=0,001$), ενώ κάτι ανάλογο δεν παρατηρήθηκε σε αυτούς που δεν ανταποκρίθηκαν ($p=0,47$) (Πίνακας 4).

Πίνακας 4

Μέσες τιμές (mean SD) μετρήσεων λεπτίνης και γκρελίνης κατά την εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης των 96 ασθενών με βάση τον γονότυπο και την ανταπόκριση τους στη θεραπεία (χρήση του μοντέλου μεικτού αποτελέσματος εκτίμησης των διαφορών των μέσων όρων)

Μεταβλητή	Εισαγωγή Mean (SD)	Μετά το τέλος θεραπείας Mean (SD)	P-value για την προσαρμοσμένη διαφορά*
Γονότυπος -1 με ανταπόκριση			
Λεπτίνη, ng/ml	7.66 (10.39)	26.69 (11.77)	0.001
Γκρελίνη, ng/ml	0.286 (0.167)	0.456 (0.254)	0.001
Γονότυπος -1 χωρίς ανταπόκριση			
Λεπτίνη, ng/ml	49.67 (13.44)	43.58 (16.17)	0.06
Γκρελίνη, ng/ml	0.190(0.119)	0.239 (0.213)	0.32
Γονότυπος-3 με ανταπόκριση			
Λεπτίνη, ng/ml	24.33 (7.98)	23.27 (9.54)	0.51
Γκρελίνη, ng/ml	0.778 (0.654)	0.420 (0.321)	0.001
Γονότυπος-3 χωρίς ανταπόκριση			
Λεπτίνη, ng/ml	28.20 (9.72)	26.70 (6.82)	0.61
Γκρελίνη, ng/ml	0.564 (0.324)	0.450 (0.261)	0.47

*προσαρμοσμένη για τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης

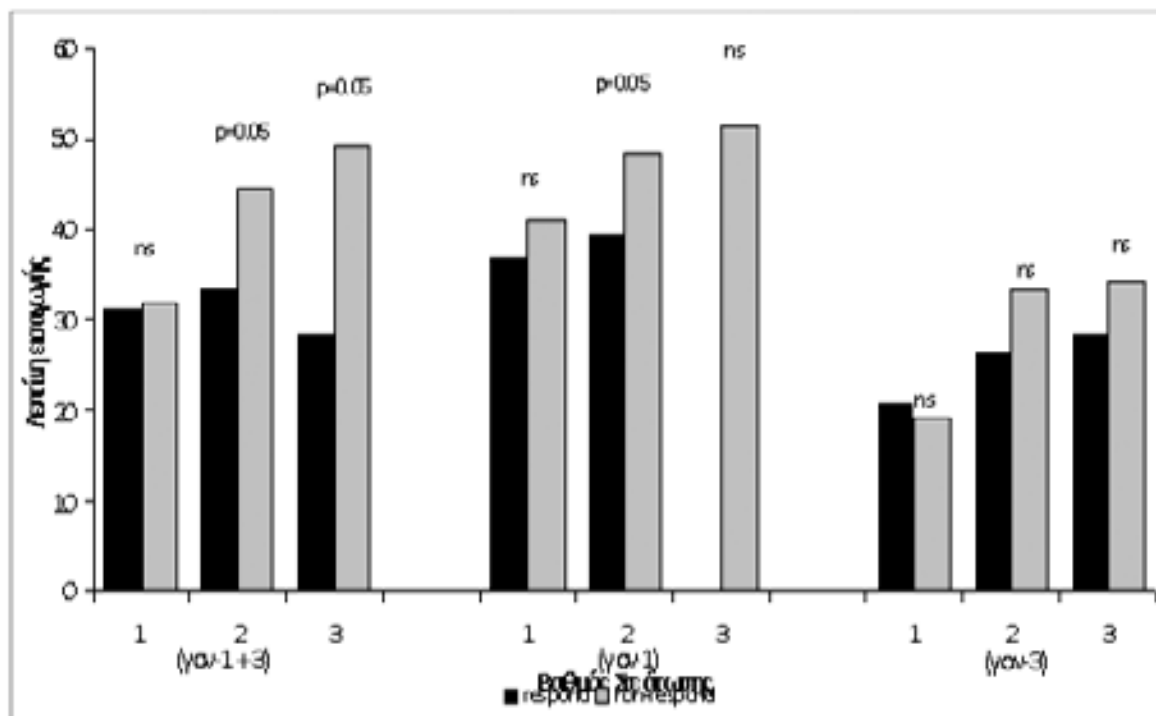
Λεπτίνη, γκρελίνη και στεάτωση:

Στο σύνολο των ασθενών, στους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν, σε σχέση με τους ανταποκριθέντες, ο βαθμός στεάτωσης ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος όσο τα επίπεδα της λεπτίνης αυξάνονταν ($p=0,05$) και αυτή η διαφορά γινόταν πιο εμφανής σε ασθενείς με

μέτρια και σοβαρή στεάτωση. Η συσχέτιση αυτή παρατηρήθηκε επίσης στους μη ανταποκριθέντες ασθενείς με γονότυπο-1, αλλά όχι σε αυτούς με γονότυπο-3, ανταποκριθέντες και μη (Σχήμα1).

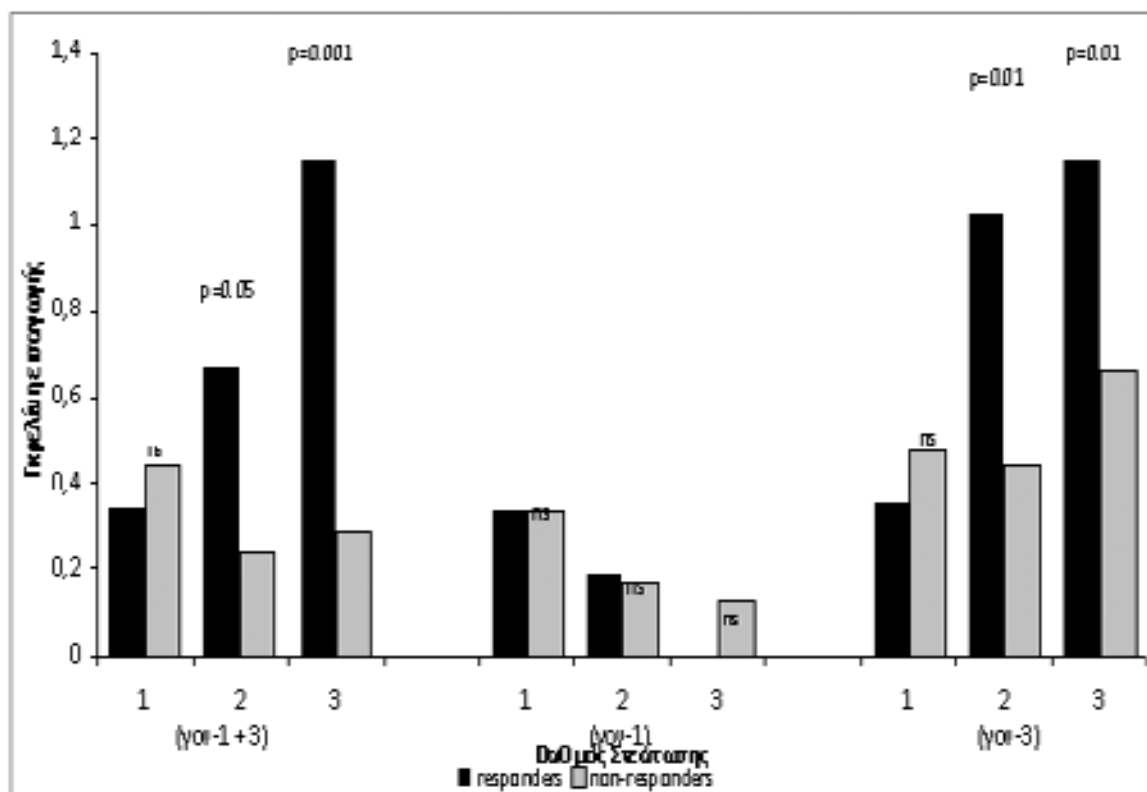
Σχήμα 1

Συσχέτιση επιπέδων λεπτίνης και βαθμού στεάτωσης σε ασθενείς ανταποκριθέντες και μη και των δύο γονότυπων και για τον κάθε γονότυπο ξεχωριστά. (Η λεπτίνη σε ng/ml)



Σχήμα 2

Συσχέτιση επιπέδων γκρελίνης και βαθμού στεάτωσης σε ασθενείς ανταποκριθέντες και μη και των δύο γονότυπων και για τον κάθε γονότυπο ξεχωριστά. (Η γκρελίνη σε ng/ml).



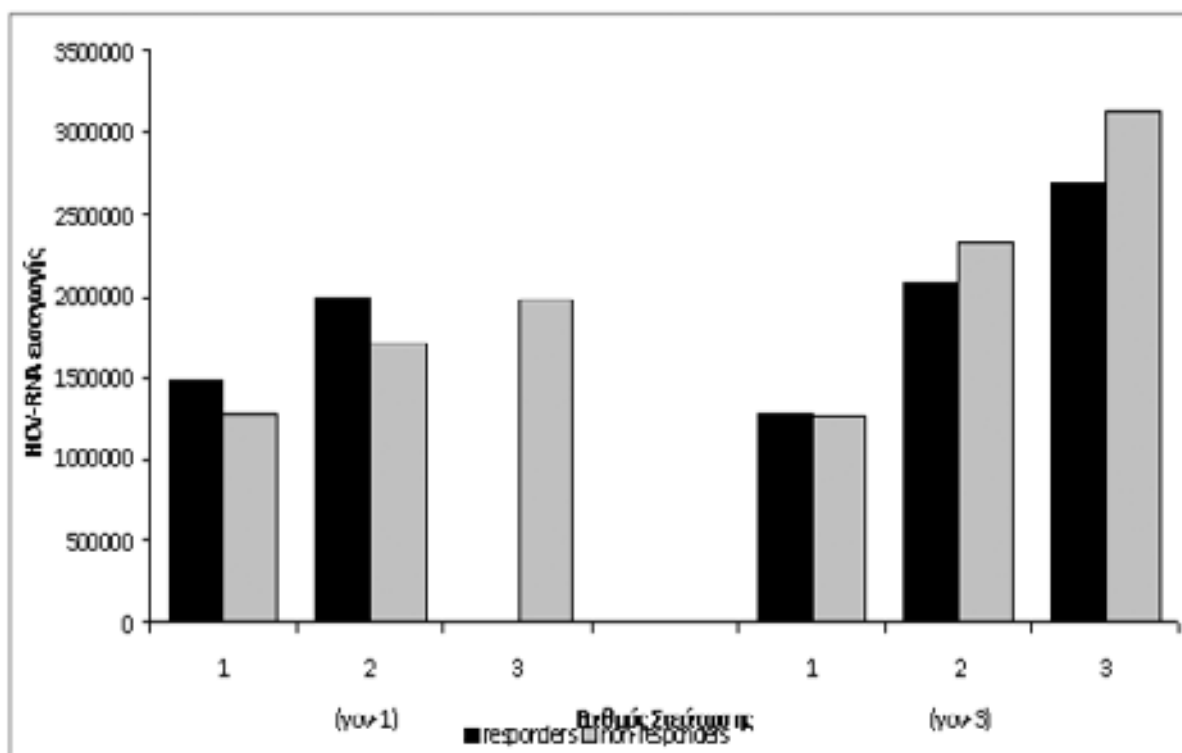
Τα επίπεδα γκρελίνης εισαγωγής ήταν αυξημένα σε ασθενείς και των δύο γονότυπων με μέτρια και σοβαρή στεάτωση που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία ($p=0,05$ και $p=0,001$ αντίστοιχα). Ασθενείς χωρίς ανταπόκριση δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο βαθμό στεάτωσης και τα επίπεδα γκρελίνης. Αναλύοντας περαιτέρω τα δεδομένα, σε ασθενείς με γονότυπο-1, ανταποκριθέντες και μη, τα επίπεδα γκρελίνης ήταν σημαντικά μειωμένα καθώς ο βαθμός στεάτωσης αυξάνονταν ($p=0,01$), ενώ σε ασθενείς με γονότυπο-3,

οι ανταποκριθέντες με μέτρια και σοβαρή στεάτωση παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα γκρελίνης ορού σε σχέση με αυτούς χωρίς ανταπόκριση ($p=0,01$) (Σχήμα2).

Μία έντονη συσχέτιση διαπιστώθηκε ανάμεσα στη βαρύτητα της στεάτωσης και το υψηλό ιικό φορτίο εισαγωγής σε όλους τους ασθενείς με γονότυπο-3 ($p=0,01$), ενώ κάτι αντίστοιχο δεν αφορούσε τους ασθενείς με γονότυπο-1 (Σχήμα 3).

Σχήμα 3

Συσχέτιση επιπέδων ιικού φορτίου (HCV-RNA) και βαθμού στεάτωσης σε ασθενείς ανταποκριθέντες και μη για τον κάθε γονότυπο του ιού. (Το HCV-RNA σε IU/ml).



Πολυπαραγοντική ανάλυση:

Με τη χρήση πολλαπλής λογιστικής ανάδρομης ανάλυσης σε ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο ώστε να εξεταστεί η συσχέτιση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με διάφορες παραμέτρους, τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης κατά την εισαγωγή σχετιζόνταν στατιστικά σημαντικά με μη

ανταπόκριση στη θεραπεία μόνο σε ασθενείς με γονότυπο-1 του ιού της ηπατίτιδας C αλλά όχι σε ασθενείς με γονότυπο-3. Δεν υπήρχε ένδειξη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της ανταπόκρισης και των επιπέδων γκρελίνης στους ασθενείς και των δύο γονότυπων. Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι ασθενείς με γονότυπο-1 και μέτρια

Σχήμα 5

Πολλαπλή λογιστική ανάδρομη ανάλυση, (Multiple Logistic Regression Derived Odds Ratios (ORs) και 95% Διαστήματα Αξιοπιστίας (95% CIs), για την ανταπόκριση στην θεραπεία στους 56 ασθενείς με Γονότυπο 1 με βάση την Ηπατική Στεάτωση, την Λεπτίνη και την Γκρελίνη κατά την εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης.

Μεταβλητή	Κατηγορία ή προσθήκη	ORs	95% CIs	P-value
Εισαγωγής				
Ηπατική Στεάτωση	1 level more	0.12	0.02-0.66	0.01
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.43	0.22-0.83	0.01
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.11	0.67-2.01	0.63
Homa _{ir}	1 level more	1.34	0.42-4.31	0.63
Εναλλακτικά εισαχθείσες μεταβλητές				
Ινωση	1 level more	0.36	0.13 -0.96	0.04
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.45	0.24-0.86	0.02
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.35	0.82-2.45	0.26
Homa _{ir}	1 level more	0.96	0.33-2.79	0.94
Μετά το τέλος παρακολούθησης				
Ηπατική Στεάτωση	1 level more	0.13	0.02-0.89	0.04
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.38	0.18-0.81	0.01
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.22	0.74-2.01	0.41
Homa _{ir}	1 level more	1.98	0.54-7.30	0.30
Εναλλακτικά εισαχθείσες μεταβλητές				
Ινωση	1 level more	0.30	0.10-0.93	0.04
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.34	0.16-0.72	0.01
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.22	0.74-1.82	0.47
Homa _{ir}	1 level more	1.28	0.43-3.79	0.66

ή σοβαρή στεάτωση καθώς και ασθενείς με πιο σοβαρή ίνωση ήταν λιγότερο πιθανό να ανταποκριθούν στη θεραπεία (Πίνακας 5).

Από την άλλη μεριά, σε ασθενείς με γονότυπο-3 δεν αποδείχθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην ανταπόκριση και το βαθμό στεάτωσης, το βαθμό ίνωσης

και τα επίπεδα λεπτίνης και γκρελίνης τόσο στις μετρήσεις προ της έναρξης της αγωγής όσο και μετά το τέλος της παρακολούθησης. Μόνο οι ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα αντίστασης στην ινσουλίνη (HOMA-IR), φάνηκε ότι ανταποκρίνονται λιγότερο στην θεραπεία (Πίνακας 6).

Σχήμα 6

Πολλαπλή λογιστική ανάδρομη ανάλυση, (Multiple Logistic Regression Derived Odds Ratios (ORs) και 95% Διαστήματα Αξιοπιστίας (95% CIs), για την ανταπόκριση στην θεραπεία στους 56 ασθενείς με Γονότυπο 1 με βάση την Ηπατική Στεάτωση, την Λεπτίνη και την Γκρελίνη κατά την εισαγωγή και στο τέλος της παρακολούθησης.

Μεταβλητή	Κατηγορία ή προσθήκη	ORs	95% CIs	P-value
Εισαγωγής				
Ηπατική Στεάτωση	1 level more	1.04	0.19-5.55	0.97
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.64	0.18-2.24	0.49
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.11	0.90-1.49	0.32
Homa_ir	1 level more	0.13	0.02-0.68	0.02
Εναλλακτικά εισαχθείσες μεταβλητές				
Ινωση	1 level more	0.16	0.02-0.11	0.06
Λεπτίνη	10 ng/ml more	1.22	0.37-4.08	0.74
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.22	0.90-1.65	0.16
Homa_ir	1 level more	0.16	0.03-0.83	0.03
Μετά το τέλος παρακολούθησης				
Ηπατική Στεάτωση	1 level more	1.77	0.39-7.95	0.46
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.40	0.10-1.55	0.18
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.00	0.74-1.22	0.76
Homa_ir	1 level more	0.10	0.02-0.59	0.01
Εναλλακτικά εισαχθείσες μεταβλητές				
Ινωση	1 level more	0.40	0.08-1.52	0.16
Λεπτίνη	10 ng/ml more	0.70	0.22-2.18	0.54
Γκρελίνη	0.1 ng/ml more	1.00	0.74-1.35	0.85
Homa_ir	1 level more	0.14	0.03-0.71	0.02

Συζήτηση

Ο μηχανισμός με τον οποίο ο ιός της ηπατίτιδας C προάγει την ηπατική στεάτωση παραμένει ασαφής. Στους ασθενείς που είναι προσβεβλημένοι με γονότυπο μη-3, η στεάτωση έχει συσχετισθεί με αυξημένο δείκτη μάζας σώματος (BMI), με σπλαχνική παχυσαρκία, αυξημένη συγκέντρωση χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ορού, αντίσταση στην ινσουλίνη, μεταβολικό σύνδρομο, διαβήτη, κατανάλωση αλκοόλ, αυξημένη ευαισθησία του ήπατος

σε οξειδωτικό στρες ή σε κυτοκίνο-εκφραζόμενη βλάβη του ήπατος.[17, 18].

Η λεπτίνη κατέχει έναν ουσιώδη ρόλο συνδέσμου μεταξύ της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας C και της στεατογένεσης [19]. Λιγοστές μελέτες μέχρι σήμερα δείχνει υψηλή επίπτωση υπερλεπτιναιμίας σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και στεάτωση [10, 20], αλλά ο υποκείμενος μηχανισμός που προάγει αυτό το φαινόμενο πα-

ραμένει αδιευκρίνιστος. Η λεπτίνη μπορεί να επηρεάζει την αντίσταση στην ινσουλίνη και την συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ οδηγώντας σε αύξηση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων και την δημιουργία στεάτωσης [5]. Μπορεί επίσης να επάγει την απελευθέρωση κυτοκινών όπως ο TNF-α, η ιντερφερόνη-γ, η ιντερφερόνη-18, ο αυξητικός παράγοντας του όγκου (TGF-β1), οι οποίοι εμπλέκονται στην παθολογία τόσο της στεάτωσης όσο και της ίνωσης στο ήπαρ [8]. Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα ηπατικά αστροκύτταρα αλλά όχι τα ανενεργά, έχει αποδειχτεί ότι εκφράζουν την λεπτίνη [21].

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν καθαρά ότι σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C και στεάτωση, τα επίπεδα λεπτίνης ορού έχουν την τάση να αυξάνουν όσο ο βαθμός στεάτωσης μεγαλώνει. Αυτό το εύρημα είναι σημαντικό ιδιαίτερα σε ασθενείς με γονότυπο-1, προτείνοντας ότι η λεπτίνη αυξάνει κατά την διάρκεια της λοίμωξης ως μέρος του ανοσιακού μηχανισμού απάντησης του ξενιστή, συμβάλλοντας με αυτό τον τρόπο στην ανάπτυξη στεάτωσης. Στους ασθενείς με γονότυπο-3, παρόλο που αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η στεάτωση είναι πιο συχνή και σοβαρότερου βαθμού [17, 18], τα επίπεδα λεπτίνης δεν σχετίζονται με το βαθμό της παρατηρούμενης στεάτωσης ούτε με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Μερικοί ερευνητές θεωρούν ότι υπάρχει μία απευθείας δράση των δομικών και μη δομικών πρωτεϊνών του γονότυπου-3 του ιού στην πρόκληση οξειδωτικού στρες [6, 22, 23], ενώ άλλοι προτείνουν ότι η πυρηνική πρωτεΐνη του ιού είναι πιθανόν να έχει κάποια επίδραση στην λειτουργία της πρωτεΐνης μεταφοράς των τριγλυκεριδίων (MTTP), τροποποιώντας την συγκέντρωση και την απέκκριση των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL) από τα ηπατοκύτταρα [25, 25]. Η πυρηνική πρωτεΐνη μπορεί επίσης να επιδρά σε κυτταροπλασματικές θέσεις μιας σειράς υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (TNF), ή απευθείας στα ηπατικά μιτοχόνδρια, κατάσταση η οποία οδηγεί σε αυξημένο οξειδωτικό στρες και υπεροξειδωση λιπιδίων [27].

Στην μελέτη μας φάνηκε ότι στους ασθενείς με γονότυπο-3 ο βαθμός στεάτωσης σχετιζόταν με υψηλότερα επίπεδα ιικού φορτίου (HCV-RNA) στην εισαγωγή, ένα αποτέλεσμα το οποίο ενισχύει την παραπάνω υπόθεση της απευθείας 'στεατογόνου' δράσης αυτού του γονότυπου [6].

Ο ρόλος της γκρελίνης στην πρόσληψη τροφής, το ενεργειακό ισοζύγιο και τον μηχανισμό ρύθμισης της απελευθέρωσης της αυξητικής ορμόνης έχουν γίνει αντικείμενο διαφόρων μελετών [15], ωστόσο ο ρόλος της στις ηπατικές νόσους δεν έχει διερευνηθεί εκτεταμένα μέχρι σήμερα. Αυξημένα επίπεδα γκρελίνης έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με κίρρωση ήπατος και ηπατοκυτταρικό καρκίνο, παρουσιάζοντας τον δυνητικό ρόλο αυτής της πρωτεΐνης στο σύνδρομο ανορεξίας-καχεξίας σε νόσους τελικού σταδίου [27]. Τα δεδομένα για την γκρελίνη

σε ασθενείς με ηπατική στεάτωση είναι ανεπαρκή.

Στη δικιά μας μελέτη, οι ασθενείς με γονότυπο-1 του ιού που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία, παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα γκρελίνης πριν την έναρξη και σημαντική αύξηση στο τέλος της θεραπείας, κάτι το οποίο δεικνύει ότι η γκρελίνη ίσως να προλαμβάνει ή ακόμα και να μειώνει την ηπατική στεάτωση, ρυθμίζοντας αρνητικά τα επίπεδα λεπτίνης και ενισχύοντας την πιθανότητα ανταπόκρισης, αφού στους ανταποκριθέντες, όπως αναφέρθηκε και στα αποτελέσματα, τα επίπεδα λεπτίνης κατά την εισαγωγή ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σύγκριση με τους ασθενείς με γονότυπο-1 χωρίς ανταπόκριση. Από την άλλη μεριά, στους ασθενείς με γονότυπο-3, η γκρελίνη μπορεί να θεωρηθεί ως ανεξάρτητος 'ενεργός' παράγοντας με βάση το εύρημα ότι οι ανταποκρινόμενοι ασθενείς με μέτρια και σοβαρή στεάτωση παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα γκρελίνης πριν την έναρξη της θεραπείας και μια σημαντική μείωση στο τέλος αυτής. Παρόλα αυτά, δεν διαπιστώθηκε τέτοια σημαντική διαφορά στους μη ανταποκριθέντες αλλά και κάποια συσχέτιση, αρνητική ή θετική, με τα επίπεδα λεπτίνης αυτών των ασθενών.

Τα ευρήματα της μελέτης είναι σε συμφωνία με προηγούμενες αναφορές που υποστηρίζουν ότι η στεάτωση αποτελεί έναν ανεξάρτητο αρνητικό παράγοντα ανταπόκρισης στην αντι-ϊική αγωγή [28-31]. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων μας έδειξε ότι, οι ασθενείς με γονότυπο-1 και αυξημένα επίπεδα λεπτίνης πριν την έναρξη της αγωγής είχαν μικρότερη πιθανότητα να ανταποκριθούν και να πετύχουν παρατεταμένη ιολογική ανταπόκριση (sustained virological response, SVR), ανεξαρτήτως του αρχικού ιικού τους φορτίου. Αυτή η παρατήρηση διατηρεί την υπόθεση ενός ρόλου της λεπτίνης ως καταστολέα του σήματος των κυτοκινών της κατηγορίας SOCS-3 στο ήπαρ [32], ή ως παράγοντα που μπορεί να αναστέλλει την δράση της ιντερφερόνης.

Συμπερασματικά, η έκταση της ηπατικής στεάτωσης μαζί με το στάδιο ίνωσης και το γονότυπο του ιού πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη για την επίτευξη παρατεταμένης ιολογικής ανταπόκρισης στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Η λεπτίνη φαίνεται να συμβάλλει στην παθολογία της στεάτωσης και η μελέτη μας έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης ορού μπορεί να είναι χρήσιμος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας ανταπόκρισης ασθενών με γονότυπο-1. Ο ρόλος της γκρελίνης ως πιθανός αρνητικός ρυθμιστής της δράσης της λεπτίνης και η επίδρασή της στην ηπατική στεάτωση σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.



Summary

Leptin and ghrelin serum levels as predictive response factors in patients with chronic hepatitis C and liver steatosis.

Ch. Pavlidis, G. Panoutsopoulos, D. Tiniakou, S. Koutsounas, J. Vlachogiannakos, E. Zoumpoulis-Vafeiadi

Background: Hepatocyte steatosis is a frequent histopathological feature in patients with chronic hepatitis C (CHC). Leptin has a potential role in body fat regulation and steatosis by inducing insulin resistance, increasing fatty acid concentrations in the liver and enhancing lipid peroxidation. Ghrelin seems to be involved in energy metabolism, food intake and glucose homeostasis.

Aim: To determine the influence of leptin and ghrelin levels in the achievement of sustained virological response (SVR) in naive patients with CHC and liver steatosis who were treated with pegylated interferon and ribavirin.

Methods: The study population consisted of 56 patients infected with HCV genotype-1 and 40 with genotype-3. Patients with decompensated cirrhosis or other causes of chronic liver disease were excluded. HCV-RNA levels were measured by PCR, genotype was determined using INNO-LIPA HCV assay and serum leptin and ghrelin were measured using ELISA. Biopsy specimens were scored according to Ishak scoring system and steatosis was graded as mild, moderate or severe.

Results: Genotype-1 non-SVR's presented significantly higher leptin levels at baseline and their number increased as the severity of steatosis worsened, whereas SVRs presented higher ghrelin levels. Ghrelin levels were significantly decreased in genotype-3 SVRs.

Conclusions: Moderate or severe steatosis and increased serum leptin levels before treatment may be considered as predictive factors of failure in the achievement of SVR especially in genotype-1 patients, whereas increased ghrelin may predict SVR both in genotype-1 and -3 CHC patients.

Βιβλιογραφία

1. Hwang SJ, Luo JC, Chu CW, Lai CR, Lu CL, Tsay SH, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection: prevalence and clinical correlation. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16:190-195.
2. Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with BMI and steatosis. *Hepatology* 1999; 29:1215-1219.

3. Monto A. Hepatitis C and steatosis. *Semin Gastrointest Dis* 2002; 13:40-46
4. Lefkowitz JA, Schiff er, Davis GL et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. The hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology* 1993; 104:595-603
5. 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; 33:1358-1364.
6. Lonardoando A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004; 126:586-597.
7. Tsochatzis E, Papahteoridis GV, Manesis EK, Chrysanthos N, Kafiri G, Archimandritis AJ. Hepatic steatosis in chronic hepatitis B develops due to host metabolic factors: a comparative approach with genotype 1 chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis.* 2007; 39:936-942.
8. Giannini E, Barreca T, Testa R. Leptin in nonalcoholic steatohepatitis: is it one of the "hist"? *Am J Gastroenterol* 001; 96:2519-2520.
9. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, et al. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:3584-3589.
10. Romero-Gomez M, Castellano-Megias VM, Grande L, Irlles JA, Cruz M, Nogales MC, et al. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1135-1141.
11. Gwak GY, Kim TH, Yu SJ, Yoon JH, Yong JJ, Park SC, et al. Lack of association between serum leptin levels and hepatic steatosis, fibrosis or response to antiviral therapy in Korean chronic hepatitis C patients. *Hepatogastroenterology* 2007; 54:844-848.
12. Eguchi Y, Mizurata T, Yasutake T, Hisatomi A, Iwakiri R, Ozaki I, et al. High serum leptin is an independent risk factor for non-response patients with low viremia to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006; 12:556-560.
13. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:413-437.
14. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402:656-660.

15. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141:4325-4328.
16. Cummings DE, Foster KE. Ghrelin-leptin tango in body-weight regulation. *Gastroenterology* 2003; 124:1532-1535.
17. Myers RP, Messous D, Poynard T, Imbert-Bismut F. Association between leptin, metabolic factors and liver histology in patients with chronic hepatitis C. *Can J Gastroenterol* 2007; 21:289-294.
18. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Host- and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998; 29:198-206.
19. Ellidokuz E, Cömlekçi A, Ellidokuz H, Akpınar H, Gökçe C, Tankurt E, et al. The role of serum leptin levels in chronic hepatitis C with steatosis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50 (Suppl 2):cclxix-cclxxii.
20. Manolakopoulos S, Bethanis S, Liapi C, Stripeli F, Sklavos P, Margeli A, et al. An assessment of serum leptin levels in patients with chronic viral hepatitis: a prospective study. *BMC Gastroenterol* 2007; 7:17.
21. Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, MacDonald GA, Pandeya N, Shorthouse C, et al. Steatosis and chronic hepatitis C: analysis of fibrosis and stellate cell activation *J Hepatol* 2001; 34:314-320.
22. Matos CA, Perez RM, Pacheco MS, Figueiredo-Mendes CG, Lopes-Neto E, Oliveira EB Jr, et al. Steatosis in chronic hepatitis C: relationship to the virus and host risk factors. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21:1236-1239.
23. Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, Giostra E, Quadri R, Male PJ, et al. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001; 39:119-124.
24. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Male PJ, Mentha G, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol* 2000; 33:106-115.
25. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco A, Chretien Y, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and VLDL secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J* 2002; 16:185-194.
26. Lai MM: Hepatitis C virus proteins: direct link to hepatic oxidative stress, steatosis, carcinogenesis and more. *Gastroenterology* 2002; 122:568-571.
27. Tacke F, Brabant G, Kruck E, Horn R, Schoffski P, Hecker H, et al. Ghrelin in chronic liver disease. *J Hepatol* 2003; 38:447-454.
28. Szanto P, Grigorescu M, Dumitru I, Serban A. Steatosis in hepatitis C virus infection. Response to anti-viral therapy. *J Gastrointestin Liver Dis* 2006; 15:117-124.
29. Thomopoulos KC, Theocharis GJ, Tsamantras AC, Siagris D, Dimitropoulou D, Gogo CA, et. Liver steatosis is an independent risk factor for treatment failure in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17:149-153.
30. Guidi M, Muratori P, Granito A, Muratori L, Pappas G, Lenzi M, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: impact on response to anti-viral treatment with peg-interferon and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22:943-949.
31. Reddy KR, Govindarajan S, Marcellin P, Bernstein D, Dienstag JL, Bodenheimer H Jr, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon alpha-2a plus rivavirin. *J Viral Hepat* 2008; 15:129-136.
32. Malsh MJ, Jonsson JR, Richardson MM, Lipka GM, Purdie DM, Clouston AD, et al. Non-response to anti-viral therapy is associated with obesity and increased hepatic expression of suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS-3) in patients with chronic hepatitis C, viral genotype 1. *Gut* 2006; 55:529-535.