

Izvorni znanstveni rad | Original scientific article

Promjene stadija fibroze i steatoze jetre u bolesnika s kroničnim hepatitisom C koji su liječeni direktno djelujućim antivirusnim lijekovima i postigli trajni virološki odgovor

Changes in the stage of fibrosis and steatosis in patients with chronic hepatitis C virus treated with direct-acting antiviral drugs who achieved sustained virological response

Leona Radmanić¹, Neven Papić^{1,2}, Ivan Kurelac¹, Davorka Dušek^{1,2}, Snježana Židovec Lepej¹, Adriana Vince^{1,2}

¹ Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb

² Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Ključne riječi:

kronični hepatitis C
fibroza
steatoza
direktno djelujući antivirusni lijekovi
trajni virološki odgovor

Keywords:

chronic hepatitis C
fibrosis
steatosis
sustained virological response
direct-acting antiviral drugs

Primljeno: 7.9.2019.

Received: 7.9.2019.

Prihvaćeno: 8.10.2019.

Accepted: 8.10.2019.

✉ Corresponding author / Dopisni autor:

Leona Radmanić, mag.exp.biol,
Odjel za imunološku i molekularnu dijagnostiku,
Klinika za infektivne bolesti „dr. Fran Mihaljević“;
Mirogojska 8, 10 000 Zagreb, telefon: 01/2826-621,
E-mail: lradmanic@bfm.hr

Sažetak

Hepatitis C vodeći je uzrok kronične bolesti jetre, hepatocelularnog karcinoma i važna indikacija za transplantaciju jetre. Glavni cilj liječenja je postizanje trajnog virološkog odgovora koji označava negativnu viremiju 12 tjedana nakon završetka liječenja (SVR, od engl. sustained virological response). Uvođenjem antivirusnih lijekova s izravnim djelovanjem, povećala se stopa SVR-a, skratilo vrijeme trajanja terapije i utjecalo se na stadij fibroze i steatoze jetre nakon liječenja. Cilj ovog rada bio je analizirati promjenu stadija fibroze (F1-F4) i steatoze (S0-S3) primjenom tranzijentne elastografije u prethodno neliječenih bolesnika s kroničnim hepatitisom C (n=205) koji su postigli trajni virološki odgovor, a bili liječeni isključivo direktno djelujućim antivirusnim lijekovima (DAA).

Abstract

Hepatitis C is the leading cause of chronic liver disease, hepatocellular carcinoma and an important indication for liver transplantation. The main objective of the treatment is to achieve a sustained virological response defined as a negative HCV RNA 12 weeks after completion of therapy (SVR). Direct-acting antivirals have been developed to treat chronic HCV infection. They have resulted in increased SVR rates, shorter and simpler treatment regimens, and minimal adverse effects. The aim of this study was to analyze the change in the stage of fibrosis (F1-F4) and steatosis (S0-S3) using transient elastography in treating naive patients with chronic hepatitis C (n = 205) who achieved a sustained virological response and were treated exclusively with directly acting antiviral drugs (DAA).

Uvod

Kronični hepatitis C (CHC) je važan javno-zdravstveni problem i bitan uzročni čimbenik za razvoj ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma. Značajan dio kronično inficiranih bolesnika ulazi u skrb tek nakon razvoja uznapredovale fibroze. Glavni cilj liječenja je postizanje trajnog virološkog odgovora (engl. sustained virological response, SVR), odnosno eliminacija HCV infekcije. Uvođenjem antivirusnih lijekova s izravnim djelovanjem povećala se stopa SVR-a, skratilo vrijeme trajanja terapije i utjecalo se na stadij fibroze i

steatoze jetre nakon liječenja. Prethodno neliječeni pacijenti s genotipom 1 liječe se kombinacijama lijekova bez interferona: sofosbuvir i ledipasvir, grazoprevir i elbasvir, sobosbuvir i velpatasvir ili glekaprevir i pibrentasvir kroz 12 tjedana, dok se pacijenti s HCV genotipom 2 liječe kombinacijama lijekova bez interferona sofosbuvir i velpatasvir ili glekaprevir i pibrentasvir kroz 8 ili 12 tjedana. Liječenje pacijenata s genotipom 3 provodi se kombinacijama lijekova bez interferona: sofosbuvir i velpatasvir ili glekaprevir i pibrentasvir, dok se liječenje pacijenata s genotipom 4 provodi po-

moću kombinacije lijekova: sofosbuvir i ledipasvir, grazoprevir ili elbasvir, sofosbuvir i velpatasvir ili glekaprevir i pibrentasvir kroz 8 ili 12 tjedana^[2].

Premda postoje brojni podatci o učinkovitosti i sigurnosti primjene antivirusnih lijekova^[3-5], literaturni podatci o učinku primjene antivirusnih lijekova na promjene stadija fibroze i steatoze su oskudni. Kod bolesnika s kroničnom HCV infekcijom, prevalencija steatoze je od 40 do 86%, a ovisi o ispitivanoj populaciji i genotipu virusa. Stadij jetrene fibroze povezan je s prognozom bolesti jetre, što je fibroza više uznapredovala, vjerojatnost nastanka ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma je veća^[6]. Zlatni standard u dijagnozi fibroze jetre još uvijek je, prema većini autora, biopsija jetre. Biopsija jetre invazivna je metoda kojom se dobiva cilindar tkiva malih dimenzija (1/50000 parenhima jetre) koji ne mora nužno odražavati pravu sliku nastalih promjena u čitavoj jetri^[7]. Danas se, kao neinvazivna metoda za procjenu stadija fibroze jetre, s velikom preciznošću koristi tranzijentna elastografija (TE). S unapređenjem tranzijentne elastografije, moguće je izračunati kontrolirani atenuacijski parametar (CAP, od engl. controlled attenuation parameter), koji je pouzdan neinvazivni kvantitativni pokazatelj steatoze jetre^[8-12]. Važno je promatrati promjene fibroze i steatoze jetre kako bi se utvrdilo utječe li eradikacija virusa pozitivno na smanjenje stadija fibroze i stupnja steatoze.

Cilj ovog rada bio je analizirati promjenu stadija fibroze (F1-F4) i steatoze (S0-S3) primjenom elastografije kod prethodno neliječenih bolesnika s kroničnim hepatitisom C (n=205) koji su postigli trajni virološki odgovor, a bili liječeni direktno djelujućim antivirusnim lijekovima (DAA, od engl. direct acting antivirals) u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ (KZIB).

Materijali i metode

Radi se o retrospektivnoj, kohortnoj studiji u koju su uključena 205 odrasla bolesnika s kroničnim hepatitisom C koji su liječeni isključivo DAA terapijom u razdoblju od 2015. do 2019. godine u KZIB. Bolesnici su liječeni kombinacijama sofosbuvir/ledipasvir (n=52), glekaprevir/pibrentasvir (n=31), ombitasvir/paritaprevir/ritonavir +/- dasabuvir (n=39), elbasvir/grazoprevir (n=26), sofosbuvir/velpatasvir (n=40), sofosbuvir/daclatasvir (n=1) te monoterapijom sofosbuvira (n=7) i simeprevira (n=9). Za procjenu stadija fibroze i steatoze, u ovom je istraživanju korištena neinvazivna metoda tranzijentne elastografije (TE) primjenom uređaja FibroScan (Echosens, Francuska). Stadij fibroze je klasificiran kao: F0/F1<7,0kPa, F2 7,0-9,5kPa, F3>9,5kPa i F4>12,5kPa^[2]. Upotrebom FibroScana, u TE je uključen i novi kontrolirani atenuacijski parametar (engl. controlled attenuation parameter, CAP)

koji omogućuje detekciju i stupnjevanje steatoze jetre. U različitim su studijama predložene različite granične vrijednosti za pojedine stupnjeve jetrene steatoze definirane biopsijom te smo u ovoj studiji koristili konzervativni sustav stupnjevanja predložen u recentnim studijama: stadij 0. CAP<50dB/m, stadij I. CAP>250dB/m (S1≥10% masno promijenjenih hepatocita), stadij II. CAP>280dB/m (S2≥33% masno promijenjenih hepatocita) te stadij III. CAP>300dB/m (S3≥66% masno promijenjenih hepatocita)^[13,14]. U ovom istraživanju, stadij fibroze i steatoze jetre, određeni su prije započinjanja antivirusnog liječenja kroničnog hepatitisa C te nakon postizanja SVR-a (12 i 24 tjedna nakon završetka terapije). HCV RNA kvantifikacija je učinjena upotrebom COBAS Ampliprep/COBAS TaqMan HCV testa (Roche Diagnostics, Diagnostic Systems, Pleasanton, CA, SAD). HCV genotip određen je upotrebom VERSANT HCV Genotyping testa (LIPA, Bayer Diagnostics, Puteaux, Cedex, Francuska). Odabrani demografski, laboratorijski i klinički podatci o ispitanicima dobiveni su analizom baze podataka Zavoda za virusni hepatitis KZIB i Referentnog centra za dijagnostiku i liječenje virusnih hepatitisa Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske. U analizi podataka primijenjene su metode deskriptivne statistike.

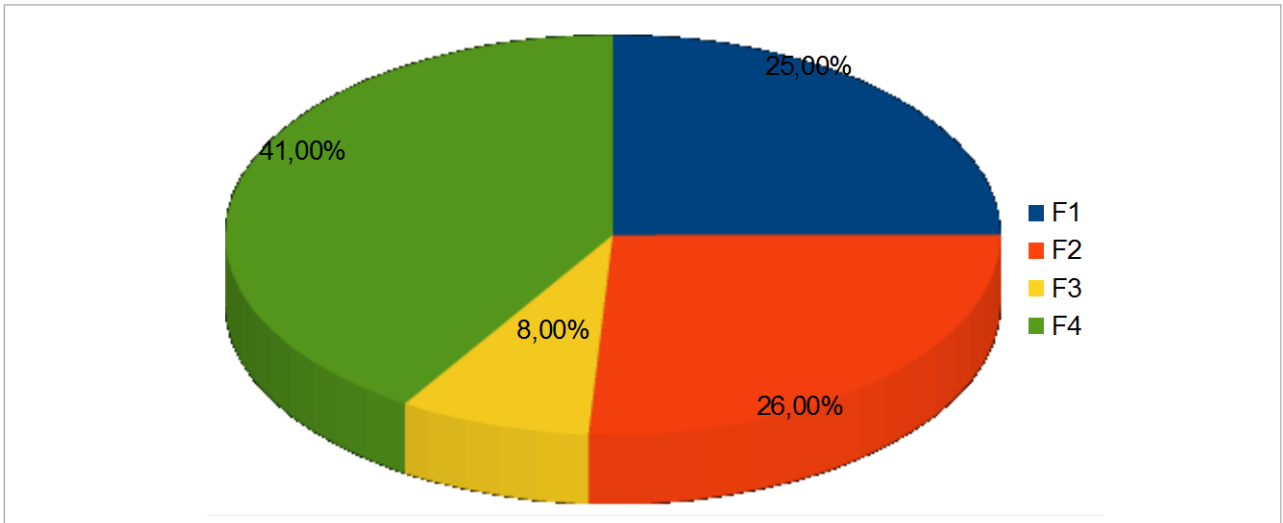
Rezultati

U istraživanju su analizirani podatci ukupno 205 bolesnika s kroničnim hepatitisom C koji su bili liječeni isključivo DAA terapijom, a koji su postigli trajni virološki odgovor. Od 205 bolesnika, njih 118 (57,6%) bili su muškarci, dok su 87 (42,4%) bile žene. Srednja dob bolesnika bila je 50,8 godina (SD ±11,9 godina). Svi bolesnici uključeni u istraživanje postigli su trajni virološki odgovor 12 ili 24 tjedna nakon završetka antivirusnog liječenja. Genotip 1 HCV-a bio je prisutan u 148/203 (72,9%), genotip 2 u 3/203 (1,4%), genotip 3 u 46/203 (22,7%) te genotip 4 u 6/203 (3%) bolesnika. Također, genotipu 1 određen je podtip 1a kod 53 (35,8%) bolesnika, dok je podtip 1b određen kod 92 (62,1%) bolesnika, a u 3 bolesnika (2%) nije bilo moguće odrediti podtip genotipa 1. Karakteristike ispitanika prije terapije (srednja vrijednost±standardna devijacija) bile su: stadij fibroze 15,75 ± 14,8kPa, stupanj steatoze CAP 243 ± 55 dB/m, aspartat aminotransferaza (AST) 85 ± 102 U/L, alanin aminotransferaza (ALT) 90 ± 69 U/L, trombociti (Trc) 171 ± 77 x10⁹/L. Prije započinjanja antivirusnog liječenja, stadij fibroze F1 bio je prisutan kod 25% ispitanika (N=51), F2 u 26% (N=53), F3 u 8% (N=16), dok je kod čak 41% ispitanika bio prisutan stadij F4 (N=85) (Slika 1, Panel A). Nakon antivirusnog liječenja, u grupi bolesnika s inicijalnom fibrozom stadija F4, stadij fibroze smanjio

se u F1 kod 13% ispitanika, u F2 kod 22% ispitanika, u F3 kod 9% ispitanika, dok je kod 56% ispitanika stadij fibroze bio nepromijenjen (F4) (Slika 1, Panel B). Prije započinjanja liječenja, vrijednosti CAP iznosile su: S0 (56%), S1 (21%), S2 (7%) i S3 (16%) (Slika 2, Panel A). Kod bolesnika sa stadijem S3, nakon završetka liječe-

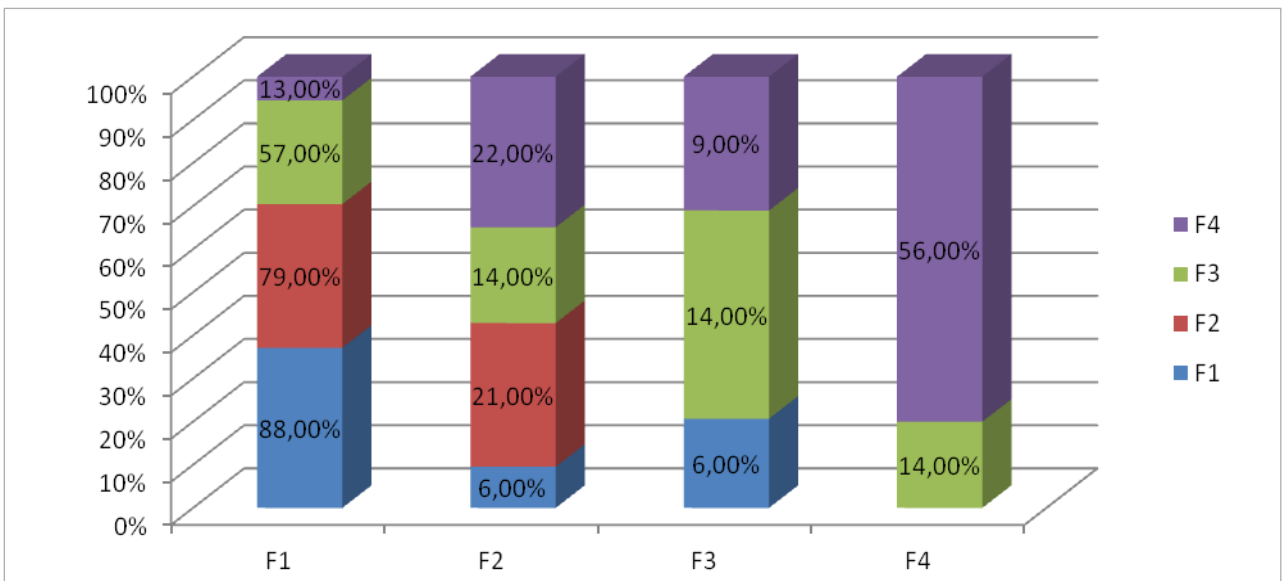
nja CAP se smanjio na vrijednost S0 kod 22,2% ispitanika, na S1 u 22,2%, na S2 kod 11,1% dok je kod 44,4% ispitanika vrijednost CAP ostala identična tj. S3 (Slika 2, Panel B). Nakon postizanja SVR-a, vrijednosti jetrenih enzima AST i ALT bile su u granicama referentnih vrijednosti kod 84,7%, odnosno 91,8% ispitanika.

SLIKA 1., PANEL A. PRIKAZ STADIJA FIBROZE PRIJE POČETKA LIJEČENJA KOD BOLESNIKA S KRONIČNIM HEPATITISOM C (N=205)
 FIGURE 1., PANEL A. FIBROSIS STAGE BEFORE INITIATION OF TREATMENT IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C (N=205)

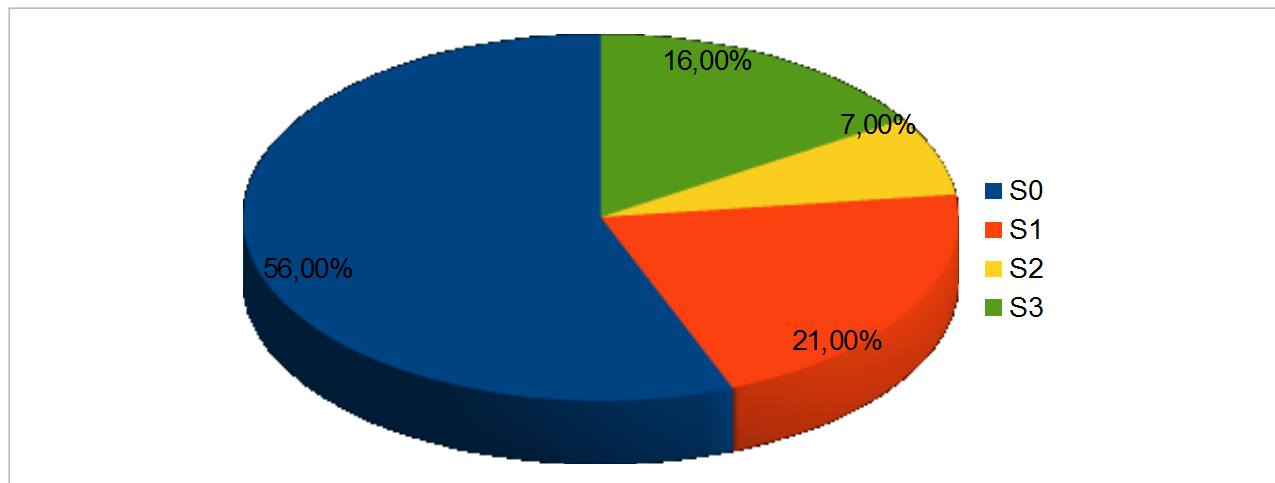


SLIKA 1., PANEL B. PRIKAZ PROMJENE STADIJA FIBROZE NAKON POSTIZANJA SVR-A KOD BOLESNIKA S KRONIČNIM HEPATITISOM C (N=205). (F1) BOLESNICI S INICIJALNIM STADIJEM F1 I PROMJENE STADIJA FIBROZE NAKON SVR-A. (F2) BOLESNICI S INICIJALNIM STADIJEM F2 I NJIHOVE PROMJENE STADIJA FIBROZE NAKON SVR-A. (F3) BOLESNICI S INICIJALNIM STADIJEM F3 I NJIHOVE PROMJENE STADIJA FIBROZE NAKON SVR-A. (F4) BOLESNICI S INICIJALNIM STADIJEM F4 I NJIHOVE PROMJENE STADIJA FIBROZE NAKON SVR-A.

FIGURE 1., PANEL B. CHANGES IN FIBROSIS STAGE AFTER ACHIEVING SVR IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C (N=205). (F1) PATIENTS WITH INITIAL STAGE F1 AND CHANGES IN FIBROSIS STAGE AFTER SVR. (F2) PATIENTS WITH INITIAL STAGE F2 AND CHANGES IN THEIR FIBROSIS STAGE AFTER SVR. (F3) PATIENTS WITH INITIAL STAGE F3 AND CHANGES IN THEIR FIBROSIS STAGE AFTER SVR. (F4) PATIENTS WITH INITIAL STAGE F4 AND CHANGES IN THEIR FIBROSIS STAGE AFTER SVR.

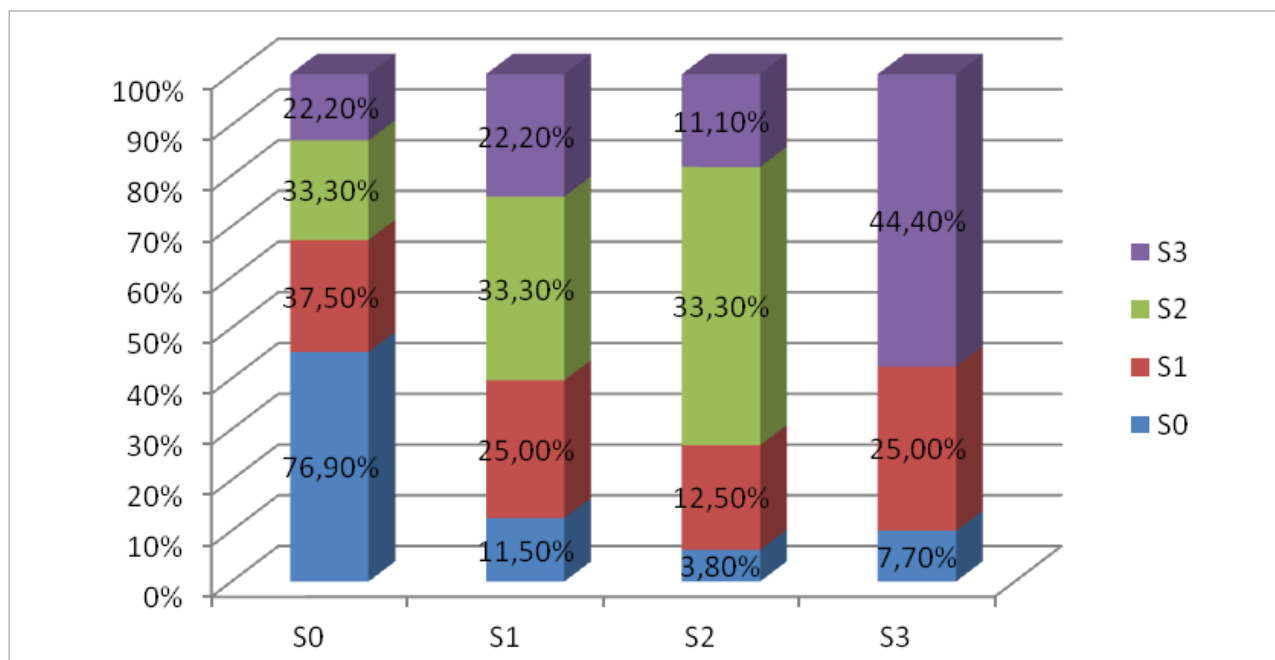


SLIKA 2., PANEL A. PRIKAZ STUPNJA STEATOZE JETRE PRIJE POČETKA LIJEČENJA KOD BOLESNIKA S KRONIČNIM HEPATITISOM C (N=205)
 FIGURE 2., PANEL A. GRADES OF LIVER STEATOSIS BEFORE INITIATION OF TREATMENT IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C (N=205)



SLIKA 2., PANEL B. PRIKAZ PROMJENE STUPNJA STEATOZE JETRE NAKON POSTIZANJA SVR-A KOD BOLESNIKA S KRONIČNIM HEPATITISOM C (N=205). (S0) BOLESNIKA S INICIJALNIM STUPNJOM STEATOZE S0 I NJIHOVE PROMJENE NAKON SVR-A. (S1) BOLESNIKA S INICIJALNIM STUPNJEJEM STEATOZE S1 I NJIHOVE PROMJENE NAKON SVR-A. (S2) BOLESNIKA S INICIJALNIM STUPNJEJEM STEATOZE S2 I NJIHOVE PROMJENE NAKON SVR-A. (S3) BOLESNIKA S INICIJALNIM STUPNJEJEM STEATOZE S3 I NJIHOVE PROMJENE NAKON SVR-A.

FIGURE 2., PANEL B. CHANGES IN LIVER STEATOSIS GRADES AFTER ACHIEVING SVR IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C (N=205). (S0) PATIENTS WITH INITIAL GRADE S0 AND CHANGES IN STEATOSIS GRADE AFTER SVR. (S1) PATIENTS WITH INITIAL GRADE S1 AND CHANGES IN STEATOSIS GRADE AFTER SVR. (S2) PATIENTS WITH INITIAL GRADE S2 AND CHANGES IN STEATOSIS GRADE AFTER SVR. (S3) PATIENTS WITH INITIAL GRADE S3 AND CHANGES IN STEATOSIS GRADE AFTER SVR.



Rasprava

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da nakon primjene DAA-a i postizanja SVR-a dolazi do smanjenja stupnja steatoze i fibroze jetre kod bolesnika s kroničnim hepatitisom C.

U prethodnim istraživanjima, prevalencija steatoze jetre kod bolesnika s kroničnim hepatitisom C iznosila je 50%, što, neovisno o vrijednostima jetrenih enzima, iziskuje kliničko praćenje^[15,16]. U našem istraživanju, prevalencija steatoze kod bolesnika s kronič-

nim hepatitisom C iznosila je 44%, što je uključivalo 90 bolesnika.

Literaturni podatci pokazuju da TE iskazuje visok stupanj osjetljivosti (84%-100%) i specifičnosti (83%-97%) za dijagnozu stadija $F \geq 3$ u odnosu na invazivnu metodu biopsije jetre^[17].

Istraživanja su pokazala kako stupanj steatoze korelira s kinetikom intrahepatične virusne replikacije kod bolesnika s HCV genotipom 3, što ukazuje na izravnati steatogeni učinak ove molekularne forme virusa^[15]. Navedeni podatci su u skladu s rezultatima istraživanja Castéra i sur., u kojem je poboljšanje stupnja steatoze, nakon postizanja SVR-a primjenom interferonske terapije, dokazano u čak 91% bolesnika zaraženih genotipom 3 u usporedbi s 43% bolesnika koji su bili zaraženi drugim genotipovima HCV-a^[18].

Lee Y-C i suradnici pokazali su da CHC (engl. chronic hepatitis C) bolesnici, prethodno neuspješno liječeni interferonom, koji su imali visoki stadij fibroze i kompenziranu cirozu postižu SVR12 u 100% slučajeva nakon uvođenja DAA terapije. U navedenom istraživanju, nakon uvođenja DAA došlo je do smanjenja stupnja oštećenja jetre i stadija fibroze kod CHC bolesnika, dok nije bilo značajnije promjene vrijednosti CAP-a prije ni nakon DAA terapije, što je u skladu s našim podacima^[19].

Ogasawara i suradnici pratili su promjene fibroze u skupini od 214 CHC bolesnika s kroničnim hepatitisom C podtipa 1b koji su liječeni DAA lijekovima. Rezultati njihovog istraživanja pokazali su smanjenje stupnja oštećenja jetre nakon DAA terapije bez obzira na ishod terapije, tj. postizanje SVR-a. Rezultati istraživanja Ogasawara i sur. pokazuju kako je primjena DAA povezana sa smanjenim rizikom od nastanka karcinoma jetre kod osoba zaraženih HCV-om podtipa 1b. Međutim, značajno je istaknuti da je istraživanje pokazalo i porast vrijednosti CAP-a nakon primjene DAA-a^[20].

Kobayashi i suradnici pokazali su kako kod bolesnika s kroničnom HCV infekcijom, nakon primjene DAA-a i postizanja SVR-a, dolazi do smanjenja stadija oštećenja jetre zahvaljujući obnovi ekstracelularnog matriksa, što je u skladu s našim rezultatima. Također su pokazali kako se stupanj steatoze jetre značajno smanjio zbog regeneracije stanica jetre nakon primjene DAA-a, što je pokazano i u našem istraživanju^[21].

U zaključku, primjena DAA i postizanje SVR-a u bolesnika s kroničnim hepatitisom C povezani su sa smanjenjem stadija fibroze jetre, procijenjenim pomoću TE. Nakon primjene DAA-a kod bolesnika s cirozom jetre, uočeno je značajno smanjenje stadija fibroze. Uz to, praćenje parametra CAP pokazalo je smanjenje stupnja steatoze jetre nakon primjene DAA i postizanja SVR-a. Primjena antivirusnih lijekova i

eradikacija virusa tj. postizanje SVR-a povezani su sa smanjenjem stadija fibroze i steatoze te normalizacijom vrijednosti jetrenih enzima kod većine bolesnika s kroničnim hepatitisom C.

Zahvala

Istraživanje je provedeno u okviru projekta Znanstvenog centra izvrsnosti za virusnu imunologiju i cjepiva „Jačanje kapaciteta CerVirVac-a za istraživanja u virusnoj imunologiji i vakcinologiji“, KK.01.1.1.01.0006, sufinanciranog sredstvima Europskog fonda za regionalni razvoj.

LITERATURA

- [1] <http://www.e-medikus.com/clanci/hepatitis-c-kratak-pregled-i-azurirani-podaci>
- [2] Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Preporuke za liječenje hepatitisa C. Dostupno na: <http://www.bfm.hr/page/hepatitis-c>
- [3] Papić N, Budimir J, Kurelac I, et al. Treatment of Elderly Patients with Chronic Hepatitis C: A Retrospective Cohort Study. *Acta Clin Croat.* 2018;57(1):61-70.
- [4] Kurelac I, Papić N, Sakoman S, et al. Intravenous Drug Users Can Achieve a High Sustained Virological Response Rate: experience From Croatian Reference Center for Viral Hepatitis. *Hepat Mon.* 2011;11(12):986-92.
- [5] Papić N, Dušek D, Nemeth Blažić T, Kurelac I, Krznarić J, Vince A. Rezultati liječenja 3D terapijom i model eliminacije HCV infekcije u Republici Hrvatskoj. *Liječ Vjesn* 2018;140:2015-2011.
- [6] Peleg N, Issachar A, Sneh A, et al. Liver steatosis is a major predictor of poor outcomes in chronic hepatitis C patients with sustained virological response. *J Viral Hepat* 2019; 26:1257-1265.
- [7] Brener S. Transient Elastography for Assessment of Liver Fibrosis and Steatosis: An Evidence-Based Analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2015;1;15(18):1-45.
- [8] European Association for Study of L, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del H. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol.* 2015; 63(1):237-64.
- [9] Ferraioli G, Wong VW, Castera L, et al. Liver Ultrasound Elastography: An Update to the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology Guidelines and Recommendations. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44:2419-40.
- [10] Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008;134:960-74.
- [11] Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, et al. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36:1825-35.
- [12] Karlas T, Petroff D, Sasso M, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol* 2017; 66:1022-30.
- [13] Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *J Hepatol.* 2012;56:1751-9.

- ^[14] Petta S, Wong VW-S, Cammà C, et al. Improved noninvasive prediction of liver fibrosis by liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease accounting for controlled attenuation parameter values. *J Hepatol.* 2017; 65:1145–1155.
- ^[15] Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterol* 2004; 126:586-597.
- ^[16] Nouredin M, Wong MM, Todo T, Lu SC, Sanyal AJ, Mena EA. Fatty liver in hepatitis C patients post-sustained virological response with direct-acting antivirals. *World J Gastroenterol.* 2018; 24(11): 1269-1277.
- ^[17] Nouredin M, Mato JM, Lu SC. Nonalcoholic fatty liver disease: update on pathogenesis, diagnosis, treatment and the role of S-adenosylmethionine. *Exp Biol Med (Maywood).* 2015; 240: 809-820.
- ^[18] Castéra L, Hézode C, Roudot-Thoraval F, et al. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004;53:420-424.
- ^[19] Lee Y-C, Hu T-H, Hung C-H, Lu S-N, Chen C-H, Wang J-H. The change in liver stiffness, controlled attenuation parameter and fibrosis-4 index for chronic hepatitis C patients with direct-acting antivirals. *PLoS One* 2019;14:e0214323.
- ^[20] Ogasawara N, Kobayashi M, Akuta N, et al. Serial changes in liver stiffness and controlled attenuation parameter following direct-acting antiviral therapy against hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2018;90:313-319.
- ^[21] Kobayashi N, Iijima H, Tada T, et al. Changes in liver stiffness and steatosis among patients with hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy and achieved sustained virological response. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018; 30:546-551.