Дисертационният труд е написан на 134 печатни страници, онагледен с 33 фигури и 58 таблици. Библиографията съдържа 235 заглавия, от които 9 на кирилица и 226 на латиница.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани 4 публикации и 7 участия в научни форуми.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрения съвет на Катедра по Вътрешни болести при Медицински Университет – София на 26.01.2016г. и е насочен за официална защита пред научно жури в състав:

Официални рецензенти:

1. Доц. д-р Деян Тонев Желев, дмн – Вътрешен член за МУ- София, Катедра по Вътрешни болести, МУ- София, Научен ръководител на докторанта
2. Доц. д-р Асен Ненов Алексиев, дм - Вътрешен член за МУ- София, Катедра по Вътрешни болести, МУ- София
3. Доц. д-р Иванка Пенчева Маринова, дм – външен член за МУ- София, Медицински Университет - Плевен
4. Доц. д-р Диана Иванова Николовска, дм - външен член за МУ- София, МВР Болница, София
5. Проф. Симеон Георгиев Стойнов, дмн - външен член за МУ- София, пенсионер

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ – София.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 20.05.2016г. от .....часа в Аулата на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД – гр. София, бул. „Акад. Иван Гешов“ 15

Медицински университет – София
Катедра по вътрешни болести
УМБАЛ "Св. Иван Рилски"
Клиника по Гастроентерология

Д-р Евелина Георгиева Атанасова

ЧЕРНОДРОБНОТО УВРЕЖДАНЕ ПРИ ЛЕЧЕНИЕ С ПЕГИЛИРАН ИНТЕРФЕРОН И РИБАВИРИН НА ПАЦИЕНТИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С

АВТОРЕФЕРАТ

към дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "доктор"
Научна специалност – Гастроентерология

Научен ръководител:
Доц. Д-р Деян Желев, дмн

Консултант:

Проф. д-р Захарий Кръстев, дмн

София, 2016

СЪДЪРЖАНИЕ:

I. Въведение…….....стр. 6
II. Цели и задачи..... стр. 7
III.Материали и методи……..….стр. 8
1. Изследвани лица.....стр. 8
2. Използвани методи.....стр. 11
IV. Резултати..... стр. 13
A. Изходни нива на показателите на възпалението.....стр. 13
1. Показатели на възпалението, пол, генотип и възраст.....стр. 13
1.1. A2MГ.....стр. 15
1.2. Прохепсидин.....стр. 16
1.3. Хаптоглобин, TNF-a, hsCRP, албумин, IgG, HCV RNA …….....…….....стр. 16
2. Показатели на възпалението и хематологични показатели.....стр. 18
3. Показатели на възпалението и хистологична активност и фиброза .....стр. 19
3.1. A2MГ.....стр. 20
3.2. Прохепсидин.....стр. 21
3.3. Хаптоглобин, TNF-a, hsCRP, албумин, IgG, HCV RNA …….....стр. 22
4. Скорове - връзки помежду им и с показателите на възпалението …….....стр. 26
4.1. Модифициране на класическия GAMAGEN индекс.....стр. 26
4.2. Скорови системи при пациентите, провели лечение с директно действащи антивирусни медикаменти (група С).....стр. 28
5. Корелационни връзки между биохимични, хематологични и морфологични показатели.....стр. 28

В. Промяна на показателите на възпалението при ефективно и неефктивно лечение.....стр. 32

1. Вирусологичен отговор.....стр. 32

2. Промени в нивата на хемоглобина и тромбоцитите.....стр. 33

2.1. Промени в хемоглобиновите нива.....стр. 33

2.2. Промени в тромбоцитните нива.....стр. 36

3.Динамика на показателите по време на лечение.....стр. 39

3.1. Серумен албумин.....стр. 41

3.2. Серумен Алфа 2-макроглобулин.....стр. 42

3.3. Хаптоглобин.....стр. 47

3.4. **TNF-a, hsCRP, IgG.....стр. 50**

3.5. Прохепсидин…….....стр. 52

4. Промяна на скоровите системи по време на лечение .....стр. 57

4.1. Скорове при терапия с pegIFN+Riba.....стр. 57

4.2. Скорове при терапия с Омбитазвир/АВТ-450/ Ритонавир + Дазабувир ± Рибавирин.....стр. 60

V. ДИСКУСИЯ…….….стр. 62

VI. ИЗВОДИ……..…стр. 67

VII. ПРИНОСИ.....стр. 68

VIII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....стр. 68

Използвани съкращения:

На латиница:

APRI- индекс на отношението ACAT-тромбоцити за неинвазивна оценка на фиброзата (AST to Platelet Ratio Index)

CHC- хроничен хепатит С

DAA's – директно действащи антивирусни агенти

ETR- отговор в края на лечението

EVR- ранен вирусологичен отговор

FCI – Fibrosis- Cirrhosis Index

FIB-4- Fibrosis-4 индекс (за неинвазивна оценка на фиброзата)

GUCI – Göteborg University Cirrhosis Index

hsCRP- високо чувствителен С-реактивен протеин

IFN – интерферон

HCC- хепатоцелуларен карцином

HCV RNA- хепатит С-вирусна РНК

HCV- хепатит С вирус

NR- без отговор на лечението

Re- релапс

Riba - рибавирин

SOS FS- SOfia Simplified Fibrosis Score

SVR- траен вирусологичен отговор

TNF-a- тумор некротизиращ фактор алфа

На кирилица:

АФ – алкална фосфатаза

А2МГ – алфа-2 макроглобулин

I. ВЪВЕДЕНИЕ:

Хроничната HCV инфекция е основна причина за смърт от чернодробна болест и водеща индикация за чернодробна трансплантация. Според някои проучвания смъртността, свързана с HCV инфекция (смърт от чернодробна недостатъчност или хепатоцелуларен карцином) ще продължи да се увеличава през следващите десетилетия (78). Честотата на HCV инфекцията за България е около 1,5% (3).

С появата на новите терапевтични режими, болни с все по-напреднала болест подлежат на терапия. Голяма част от тях са вече с декомпенсация, изключвайки възможността за хистологична оценка. От друга страна, негативирането на вирусната RNA и постигането на траен вирусологичен отговор (SVR), не могат да дадат представа дали чернодробната болест, особено по-напредналата, е претърпяла обратно развитие. Използването на серумните биомаркери и белтъци, отразяващи некро-инфламаторната активност и фиброзния стадий на чернодробната болест, както и комплексните системи, състоящи се от комбинацията помежду им, е особено подходяща за мониториране на лечението, както и оценка на дълготрайните ефекти от него, а в случаи на невъзможност за провеждане на чернодробна биопсия-те са подходящи и за първоначална оценка на стадия на чернодробното заболяване. Те са евтини, достъпни в повечето лаборатории и удобни за клинициста и пациента, поради неинвазивния им характер

Въпреки бързото развитие на частта от хепатологията, занимаваща се с неинвазивната оценка на чернодробното увреждане, има все още нерешени въпроси в тази област. Доколко биомаркерите и неивазивните скорове за оценка на фиброзата и фиброгенезата отразяват реално междинните стадии на фиброзата, могат ли да бъдат използвани за проследяване в динамика, как се променя индивидуално всеки маркер след лечение и най-вече - стихва ли чернодробното възпаление след лечение. Отговор на първия въпрос все още не е намерен, но вероятно с откриването на нови по-чувствителни и специфични маркери, вече ще можем по-категорично да отграничим междинната група болни според фиброзата. На останалите въпроси в голяма степен се опитваме да отговорим с настоящия дисертационен труд в помощ на по-доброто разбиране на динамиката на даден биомаркер или скорова система и каква ценна информация можем да извлечем от това.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ:

1. Цели:

1. Целта настоящата работа е да се проследят промените в чернодробното възпаление, фиброзата, фиброгенезата и желязната обмяна в хода на лечение с пегилиран интерферон и рибавирин на пациенти с хроничен хепатит С
2. Да се проследят промените в чернодробната фиброза и фиброгенеза при пациенти с хепатит С, лекувани с безинтерферонов режим

За изпълнението на тези цели, поставихме следните задачи:

2. Задачи:

1. Да се оцени връзката на на показателите за възпалание (албумин, глобулини, А2МГ, хаптоглобин, hs CRP и TNF-a) със степента на активност на черодробното заболяване и фиброзата при хроничен хепатит С
2. Да се оцени динамиката на показателите за възпалание (албумин, глобулини, А2МГ, хаптоглобин, hs CRP и TNF-a) по време на лечението с пегилиран интерферон и рибавирин при пациенти с хепатит С
3. Да се оцени връзката на показатели за обмяната на желязото (серумните нива на прохепсидин и хаптоглобин) с размножаването на вирус С и отговора на лечението с пегилиран интерферон и рибавирин.
4. Да се потърси начин за обобщено представяне на промените на тежестта на болестта по време на лечение с интерферон и рибавирин/ директно действащи антивирусни агенти при хроничен хепатит С

III. **МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ:**

1. Изследвани лица:

Пациентите бяха разделени в две групи, лекувани с алфа-интерферон и рибавирин през различни периоди.

В отделна група (DAA's) се обособиха малък брой (12 пациента) с HCV-инфекция, провели 12/24 седмично лечение с перорална безинтерферонова антивирусна терапия.

1.1. Група А (N=98 провели лечение с IFN+Riba):

В група А бяха включени 98 болни- 40 мъже и 58 жени, лекувани с пегилиран интерферон и рибавирин през периода 2009-2011г. От тях само 4-ма бяха с генотип 3, а останалите 94 пациента- генотип 1. Чернодробна биопсия беше проведена при 97 пациента, 1 пациент беше контраиндициран за провеждане на биопсия. Дозата на рибавирина беше определена спрямо телесното тегло (1000 мг при т.т.<75 кг; 1200 мг при т.т. ≥ 75 кг). За пациенти с генотип 1, отговорящи на терапията, продължителността на лечението беше 12 месеца (48 седмици), за пациенти с генотип 3- съответно 6 месеца (24 седмици) и за пациенти, които не отговарят на лечението (NR) – от 3 до 6 месеца (12 - 24 седмици). При малка част от пациентите лечението беше пракратено преди завършване на пълния курс, поради тежки странични действия или липса на комплайънс от страна на пациента.

В група А се изследваха следните серумни показатели: ПКК, чернодробни ензими, общ белтък, албумин, IgG, алфа-2 макроглобулин, hs CRP, хаптоглобин. Всичките показатели бяха проследени изходно- преди започването на лечението, на трети месец от терапията, в края на терапията и 6 месеца след това.

Нивото на HCV RNA беше проследено изходно, на трети месец (ранен вирусологичен отговор-EVR), в края на терапията (ETR) и 6 месеца след приключването на терапията- траен вирусологичен отговор (SVR). Въз основа на това, 55 пациента постигнаха траен вирусологичен отговор (Responders) и 35 пациента-неотговорили (Null Responders)- поради липса на ранен вирусологичен отговор или релапс след края на терапията. При 8 от пациентите не можа да се определи отговора на терапията, поради преждевременно прекъсване на лечението.

1.2. Група В (N=40 провели лечение с IFN+Riba):

В група В бяха включени общо 40 пациента - 24 мъже и 16 жени. При 35 от пациентите се проведе лечение с пегилиран интерферон и рибавирин. При двама от тях

лечението беше прекратено на 3-ти и 6-ти месец съответно, поради тежки нежелани лекарствени реакции. 5 пациента проведоха лечение с човешки интерферон и рибавирин. Двама проведоха 6 месечен курс, а останалите трима - 3 месечен курс (поради липса на ефект). По-голямата част от пациентите започнаха своето лечение през 2010 г. Последният пациент завърши курса на лечение през януари 2012.

Показателите прохепсидин и хаптоглобин бяха изследвани при 40 пациента. Показателят прохепсидин беше измерен изходно (преди започване на лечението), на 3-тия месец от терапията и в края на лечението, докато хаптоглобинът беше измерен изходно и на 3-тия месец. В клиничното изследване на А2МГ, hs CRP и TNFa бяха включени 32 от гореспоменатите пациенти. При всичките 40 пациенти беше извършено генотипизиране на HCV инфекцията по време на хоспитализация в Клиниката по Гастроентерология. При 33 от тях бе открит генотип 1, при 6 от тях - генотип 3 и при 1 пациент - генотип 2.

Стадият на заболяването беше определен при 33 от пациентите чрез чернодробна биопсия, извършена преди започването на специфичното антивирусно лечение. Чернодробна цироза се доказа хистологично при 5 от пациентите. Индиректни (ехографски) данни за чернодробна цироза имаше при 5 от пациентите, контраиндицирани за чернодробна биопсия.

Въз основа на вирусологичния отговор, при интерпретацията на резултатите за прохепсидина в група В, пациентите бяха разделени на две групи: група с вирусологичен отговор в края на лечението (ETR) и група неотговорили на лечението (NRP).

Резултатите относно А2МГ, хаптоглобин, hsCRP, TNF-a, албумин, глобулини и IgG, са интерпретирани върху 129 пациента от двете групи (98-група А и 31-група В), като от група В не бяха взети под въпрос резултатите на пациентите, прекъснали преждевременно лечението или при които нямаше пълен набор резултати.

1.3. Група С (N=12 провели лечение с директно действащи антивирусни медикаменти):

В група DAA бяха включени 12 пациента с чернодробна цироза HCV (+) Чайлд А, без декомпенсация на болестта до този момент. 2-ма от пациентите имаха съпътстващ първичен чернодробен рак, за който беше проведено успешно локално лечение преди старта на терапията. 11 от болните проведоха 12 седмично лечение с Омбитазвир/ АВТ-

450/ Ритонавир + Дазабувир ± Рибавирин, а 1 пациент проведе същата терапия в продължение на 24 седмици. Лечението бе проведено в периода 01.2015 – 04.2015г. Последният пациент, който проведе 24 седмично лечение, приключи терапията през 06.2015г. Поради напредналата чернодробна болест, при тази група пациенти не беше проведена чернодробна биопсия. Фиброзата и хистологичната активност бяха определени изходно и в края на лечението чрез патентован пакет неинвазивни серологични тестове (Fibromax®). Нивото на HCV RNA беше определено изходно, на 2 седмица, на първи месец от терапията- бърз вирусологичен отговор (RVR), в края на лечението (ETR 12/24, съответно) и 12 седмици след приключването му (SVR 12).

Показателите, включени в неинвазивните скорове за оценка на фиброзата и фиброгенезата (алфа-2 макроглобулин, хаптоглобин и имуноглобулин G, трансаминази, коагулационен статус) бяха изследвани преди започване на лечение, в края на лечението и 3 месеца след края му.

Всеки пациент от изброените групи подписа информирано съгласие преди започване на проучването.

На таблица 1 са показани основните характеристики на пациентите от група А и В.

Таблица 1. Изходна характеристика на пациентите с HCV, провели лечение с IFN+ribavirin

		Група А (n=98)	Група В (n=40)
Възраст (години)	**Mean± SD**	**47,3±12,4**	**42,1± 11,9**
Пол (n)	**Мъже/жени**	**40/ 58**	**24/ 16**
АЛАТ (U/l)	**Mean ± SD**	**93,5±49,3**	**89,2± 61,4**
HCV RNA(IU/ml)	**Mean ± SD**	**2 212 233 ±4 409 003**	**3 185 276 ±7 977 229**
Хистол. активност (n) METAVIR	**A0- A2** **>A2** **неизвестна**	**75** **22** **1**	**27** **6** **7**
Стадий на фиброза (n) METAVIR	**F0- F2** **>F2** **неизвестна**	**58** **39** **1**	**24** **9** **7**

Таблица 2. Характеристика на HCV пациентите, лекувани с DAA's:

		Група DAA's (n=12)
Възраст	медиана	63,5
Пол	Мъже/ жени	5/ 7
ALAT (U/l)	медиана	66,5
HCV RNA (IU/ml)	медиана	1 119 534
Активност (n) Fibromax ®	A0-A2 >A2	5 7
Стадий на фиброзата (n) Fibromax ®	F0-F2 >F2	3 9

2. Използвани методи:

- Анамнеза и физикален статус**;** Лабораторни изследвания- пълна кръвна картина, чернодробни ензими; серумни белтъци, имуноглобулини**;** Абдоминална ехография- конвенционална и Доплер ехография;
- Стойностите на серумния прохепсидин бяха определени чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (Hepcidin Prohormone ELISA-IBL International,Germany) с граници на чувствителност на метода 0 - 1000 ng/ml.
- Серумният хаптоглобин бе определен чрез имунотурбидиметричен анализ (Haptoglobin for COBAS INTEGRA, Roche Diagnostics) с долна граница на детекция 0,1 g/l.
- Стойностите на А2МГ в серум бяха определени чрез имунотурбидиметричен анализ (Alpha-2 macroglobulin for Cobas Mira Plus, DAKO) с обхват на метода от около 0,4 g/L до 8,8 g/L.
- Серумния hs CRP беше определен чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (hs CRP Human ELISA, Bio Vendor, Czech Republic) с долна граница на детекция 0,02 mcg/ml
- TNF-a в серум беше определен също чрез ензимно-свързан имуносорбентен анализ (TNF-alpha ELISA Kit, Diaclone, France) с долна граница на детекция 8 pg/ml.

- За количествено измерване на HCV RNA в плазма използвахме HCV LC RT-PCR метод, пригоден за LightCycler 1.5 Roche diagn. инструмент с граница на откриване 30 IU/ml. Генотипът на вируса беше определен със същия метод.

2.1.Системи за неинвазивна оценка на фиброза и фиброгенеза:

Изчислихме APRI (AST to platelets ratio index) по следната формула:

APRI= (ниво на АСАТ на болния/ стойността на горна референтна граница) х100/ Тромбоцитен брой на болния (10х9/L)

Изчислихме Fibrosis-4 индекс-а (FIB-4) по следната формула:

FIB-4= възраст (години) х АСАТ (U/l) / тромбоцитен брой (10^9/L) х √ALAT (U/L)

SOS FS (SOfia Simplified Fibrosis Score) изчислихме по следната формула:

SOS FS = А2МГ г/л – хаптоглобин г/л

GAMAGEN индексът беше изчислен по следния начин:

GAMAGEN = ИгГ/ 14 + АСАТ/ 80 +(0,5 х алфа-2 макроглобулин)/ 2.5 – албумин/ 41

M-GAMAGEN индексът изчислихме по следната формула:

Модифициран (М) GAMAGEN = общ белтък – албумин/ 31 + АСАТ/ 80 + (0,5 х алфа-2 макроглобулин)/ 2.5 – албумин/ 41

FCI (fibrosis-cirrhosis index) изчислихме въз основа на следната формула:

FCI = (ALP х общ билирубин) / (албумин/ тромбоцити)

GUCI (Göteborg University Cirrhosis Index) беше изчислен по следния начин:

GUCI = (нормализиран ASAT х INR) х 100 / тромбоцитен брой (х 10(9)/L)

2.2. Статистически методи:

Използвахме следните статистически методи за оценка на достоверността на получените резултати: определяне на дескриптивни величини (средна стойност, медиана, стандартно отклонение, минимална и максимална стойност), непараметричен тест на Kolmogorov-Smirnov за оценка на вида на разпределение на данните, параметричен Student (t-тест) за сравнение на средните аритметични на две независими групи велични, непараметричен тест на Mann-Whitney за сравнение на две независими групи величини, непараметричен тест на Kruskal-Walis за сравнение на три и повече независими величини, Wilcoxon Signed Ranks Test и Kendall's W за непараметричен анализ на свързани велични, ANOVA, корелационен анализ за изчисляване на коефициент на линейна корелация- параметричен (Pearson) и непараметричен (Spearman).

Данните бяха обработени статистически чрез SPSS софтуер за Windows-версия 16.0.

V. РЕЗУЛТАТИ:

А. ИЗХОДНИ НИВА НА ПОКАЗАТЕЛИТЕ НА ВЪЗПАЛЕНИЕТО:

Таблица 1. Изходни стойности на показателите на възпалението в серума (група пациенти, провели лечение с PEG-IFN + Ribavirin):

Параметър	N	**Средна ст. ± SD**
Албумин **(g/L)**	n = 129	47.03±3.66
Алфа 2макроглобулин **(g/L)**	n = 129	3.17 ±1.01
Хаптоглобин **(g/L)**	n = 129	0.94 ±0.5
IgG **(g/L)**	n = 98	13.58 ±2.24
CRP **(mg/L)**	n = 129	1.67 ±2.46
TNF-alpha **(pg/mL)**	n = 31	78.1 ±73.1
прохепсидин **(ng/ml)**	n= 40	754.7 ± 295.3

1. Показатели на възпалението, пол, генотип и възраст:

Таблица 2. Изходни разлики в стойностите на показателите на възпалението и HCV RNA според пола:

показател	**пол**	**Брой (N)**	**Mean ± SD**	**Median**	**значимост (p)***
А2МГ	мъже	56	3.02±1.14	2.9	0.076
	жени	73	3.3±0.9	3.4	
хаптоглобин	мъже	56	0.98±0.51	1.02	0.526
	жени	73	0.91±0.50	0.78	
hsCRP	мъже	56	1.42±1.61	1.1	0.750
	жени	73	1.86±2.98	1.2	
TNF-a	мъже	16	82.45±78.24	70.7	0.572
	жени	15	73.41±72.25	55.7	
Албумин	мъже	53	47.29±3.13	47.1	0.125
	жени	71	46.83±4.02	46.3	
IgG	мъже	40	13.64±4.03	12.55	0.424
	жени	58	13.54±2.64	13.66	
HCV RNA	мъже	56	3 666 017± 6 972 943	1 661 317	**0.005**
	жени	73	1 784 342± 4 667 350	471 000	

***Mann-Whitney test**

Нямаше значима разлика между двата пола по отношение на изходните стойности на А2МГ, хаптоглобин, hsCRP, TNF-a, албумин и IgG. Статистически значима разлика между половете се доказа единствено при изходните стойности на HCV RNA в полза на мъжете (p=0.005) (табл.2):

Таблица 3. Корелации на показателите на възпалението преди лечение с пола на пациентите:

пол	коефициент на корелация (r)	значимост (p)
А2МГ	0.157	0.076
hsCRP	0.028	0.752
хаптоглобин	-0.056	0.528
TNF-a	-0.105	0.575
албумин	-0.138	0.126
IgG	0.081	0.427
HCV RNA	**-0.247**	**0.005**

Единствено изходната HCV RNA беше в слаба отрицателна корелация с пола на пациентите (p=0.005).

Таблица 4. Изходни разлики в стойностите на показателите на възпалението и HCV RNA според генотипа:

показател	**генотип**	**Брой (N)**	**Mean ± SD**	**Median**	**значимост (p)***
А2МГ	1	119	3,27±1	3,4	**0.000**
	3	10	2,06±0,52	2,04	
хаптоглобин	1	119	0,92±0,5	0,86	0.082
	3	10	1,2±0,48	1,11	
hsCRP	1	119	1,7±2,6	1,2	0.140
	3	10	1,5±1,4	1,3	
TNF-a	1	25	77,64±75,83	55,67	0.827
	3	6	79,89±79,18	75,67	
Албумин	1	116	46,81±3,6	46,75	**0.004**
	3	8	50,18±3,2	49,25	
IgG	1	94	13,67±3,28	13,34	0.138
	3	4	11,5±1,8	11,07	
HCV RNA	1	119	2 748 839±6 043 081	785 510	**0.055**
	3	10	844 212±1 163 374	94 574	

***Mann-Whitney test**

Установи се значима разлика в изходните стойности на А2МГ при различните генотипове в полза на пациенти с HCV генотип 1 (p=0.000). Пациенти с генотип 3 имаха значимо по-високи стойности на изходния албумин (p=0.004). А пациентите с генотип 1 имаха по-висока изходна HCV RNA (p=0.055).

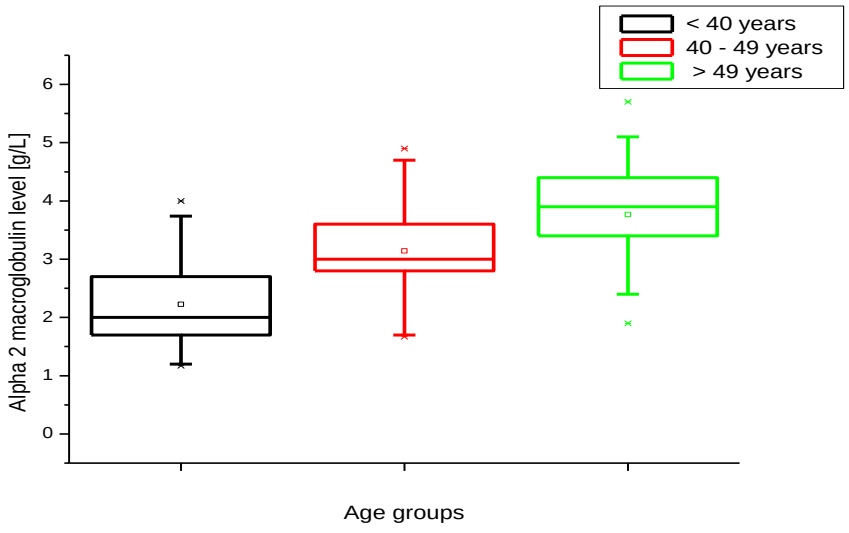
Таблица 5. Изходни корелации на показателите на възпалението и HCV RNA с възрастта на пациентите:

Възраст	коефициент на корелация (r)	значимост (p)
А2МГ	0.618	**0.000**
хаптоглобин	- 0.222	**0.011**
hsCRP	0.060	**0.498**
TNF-a	0.188	**0.311**
албумин	-0.440	**0.000**
IgG	0.454	**0.000**
HCV RNA	0.092	**0.301**

Възрастта на пациентите корелираше във висока степен с изходните стойности на А2МГ и умерено- със стойностите на хаптоглобин преди лечение, албумин и IgG, като албуминът и хаптоглобинът бяха в отрицателна зависимост.

1.1. А2МГ:

Установихме изразена позитивна корелация между изходните нива на A2MG и възрастта на пациентите (r =0.618; p =0.000). Средната стойност на A2MG при пациенти на възраст < 40 години; 40-49 години и ≥ 50години бяха: 2.23 ±0.72 g/L; 3.14 ±0.79 g/L; 3.77 ±0.83 g/L, респективно. Средните стойности на A2MG в описаните 3 групи бяха сигнификантно различни ($p < 0.001$) – фигура 1.



Фигура 1. Разпределение на стойностите на A2MГ според възрастта на пациентите.

1.2. Прохепсидин:

Установи се статистически значима разлика в изходните нива на серумния прохепсидин при двата пола в полза на мъжете (p=0.017).

Таблица 6. Изходни стойности на прохепсидин според пола:

	Брой (N)	**Mean ± SD**	**Median**
Мъже	24	874,48± 158,23	980,55
Жени	16	575,07± 361,91	665,2

Не се намери разлика в нивата на прохепсидина между различните HCV генотипове.

Таблица 7. Изходни стойности на прохепсидин според генотипа:

Показател	**генотип**	**Брой (N)**	**Mean ± SD**	**Median**	**значимост (p)**
прохепсидин	1	33	767,44±294,01	910,75	0.524
	2 и 3	7	694,71±317,40	740,90	

Корелация между изходните нива на прохепсидина и възрастта на пациентите не бе установена.

Таблица 8. Зависимост между изходните стойности на прохепсидин и възрастта на пациентите.

параметър	възраст	коеф. на корелация (r)	значимост (p)
прохепсидин	N=40	-0.075	0.645

В допълнение, общо за цялата група пациенти (група B) се доказа **статистически значима положителна корелация между изходните нива на HCV RNA и прохепсидина (Spearman=0.475; p=0.002).**

1.3. Хаптоглобин, TNF-a, hsCRP, албумин, IgG, HCV RNA:

На таблицата по-долу е показано разпределението на стойностите на A2MГ и хаптоглобин при различните възрастови групи.

Таблица 9. Изходни стойности на A2MГ и хаптоглобин според възрастта на пациентите:

Възрастова група	Показател	Mean± SD	Median
< 40 г.	**А2МГ**	2,23± 0,72	2,0
	Хаптоглобин	1,13± 0,45	1,11
40-49 г.	**А2МГ**	3,14± 0,79	3,0
	Хаптоглобин	0,82± 0,47	0,75
> 50 г.	**А2МГ**	3,77± 0,83	3,9
	Хаптоглобин	0,87± 0,52	0,78

Въпреки разликите в стойностите на А2МГ при различните възрасти ($p < 0.001$) , нямаше значима разлика в различните възрастови групи по отношение на стойностите на хаптоглобина ($p=0.166$).

Таблица 10. Изходни стойности на hsCRP, TNF-a, албумин, IgG и HCV RNA според възрастта на пациентите:

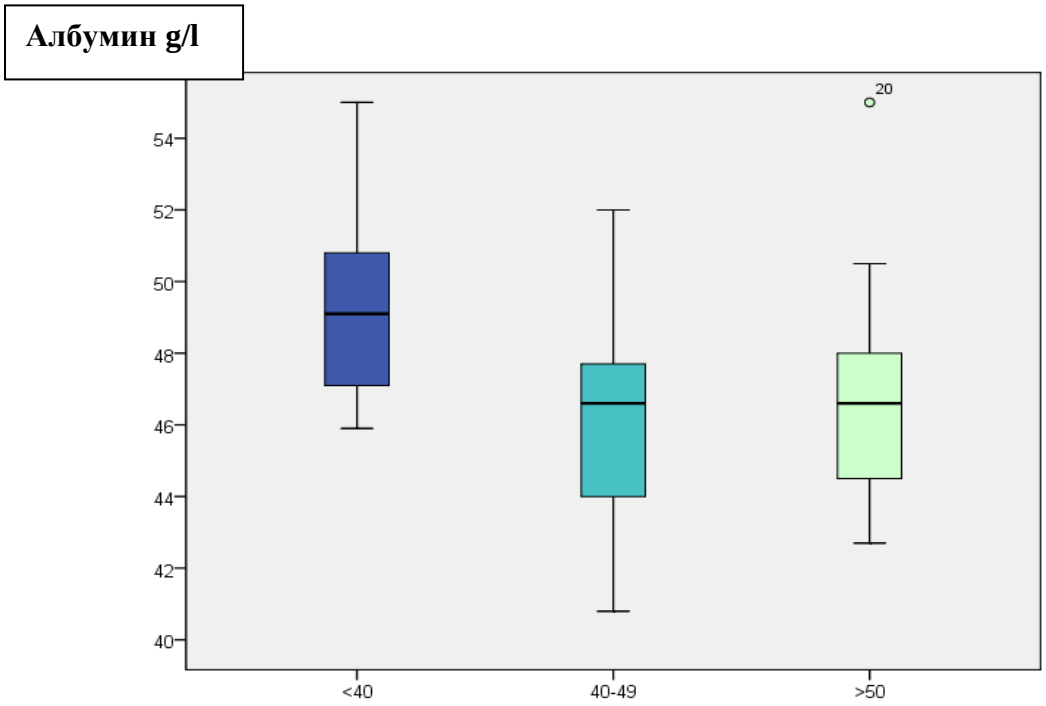
Възрастова група	Показател	Mean± SD	Median	Значимост (p)*
< 40 г.	**hsCRP**	1.16±1.41	0.60	hsCRP: 0.172
	TNF-a	59.55±57.64	32.3	
	Албумин	49.1±2.4	49	
	IgG	11.3±1.57	11.58	
	HCV RNA	1 745 448±2 544 496	587 231	**Албумин: 0.001**
40-49 г.	**hsCRP**	0.97±1.48	0.03	
	TNF-a	78±86.1	49	
	Албумин	46.8±5.43	46	
	IgG	13.51±2.67	13.80	
	HCV RNA	2 381 961±5 343 565	985 607	
> 50 г.	**hsCRP**	1.24±2.81	0.58	IgG: 0.122
	TNF-a	102.2±84.04	104	
	Албумин	46±2.47	46.1	HCV RNA: 0.115
	IgG	14.69±3.54	14.28	
	HCV RNA	3 231 665±7 317 043	777 866	

***Kendall's W Test**

Нямаше значими разлики в изходните стойности на hsCRP, TNF-a, IgG и HCV RNA в различните възрастови групи.

Установи се сигнификантна разлика в изходните стойности на албумина в различните възрастови групи, като при пациенти <40г. възраст, той е значимо по-висок (p=0.001).

Фигура 2. Разлики в изходните стойности на албумина при различните възрастови групи:



2. **Показатели на възпалението и хематологични показатели:**

Таблица 11. Значими изходни корелации на хемоглобина и тромбоцитите с показателите на възпалението:

Изходно N= 129	hsCRP	прохепсидин N= 40	Изходно N= 129	A2MГ	hsCRP	хаптоглобин
хемоглобин	r= -0.174 p=0.048	**r= 0.364; p= 0.021**	тромбоцити	r= -0.201; p=0.022	r= 0.198; p= 0.024	**r= 0.439; p= 0.000**

Изходно хемоглобинът корелираше в умерена степен единствено с изходните нива на прохепсидина, а изходните тромбоцити корелираха положително в умерена степен с хаптоглобина.

3. Показатели на възпалението и хистологична активност и фиброза:

Таблица 13. Изходни корелации на хистологичната актвност и фиброза с възрастта на пациентите:

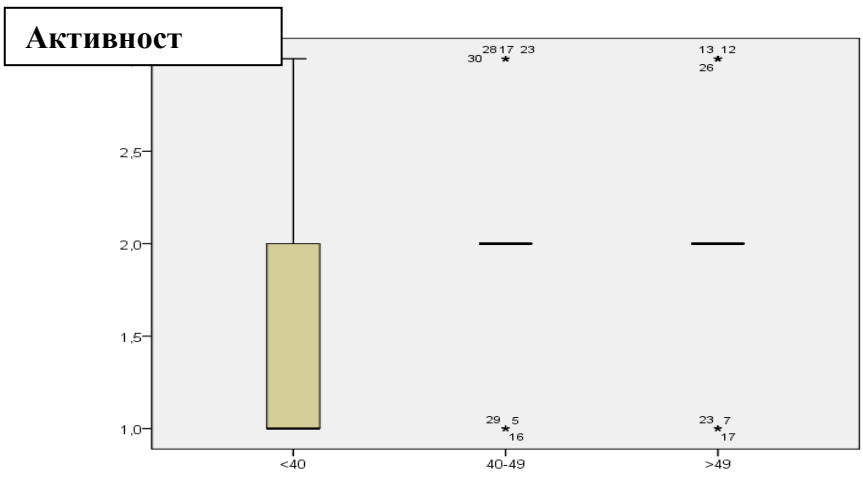
Възраст	коефициент на корелация (r)	значимост (p)
хистологична активност	**0.368**	0.000
фиброза	0.248	0.005

Таблица 14. Изходни стойности на хистологична активност и фиброза според възрастта на пациентите

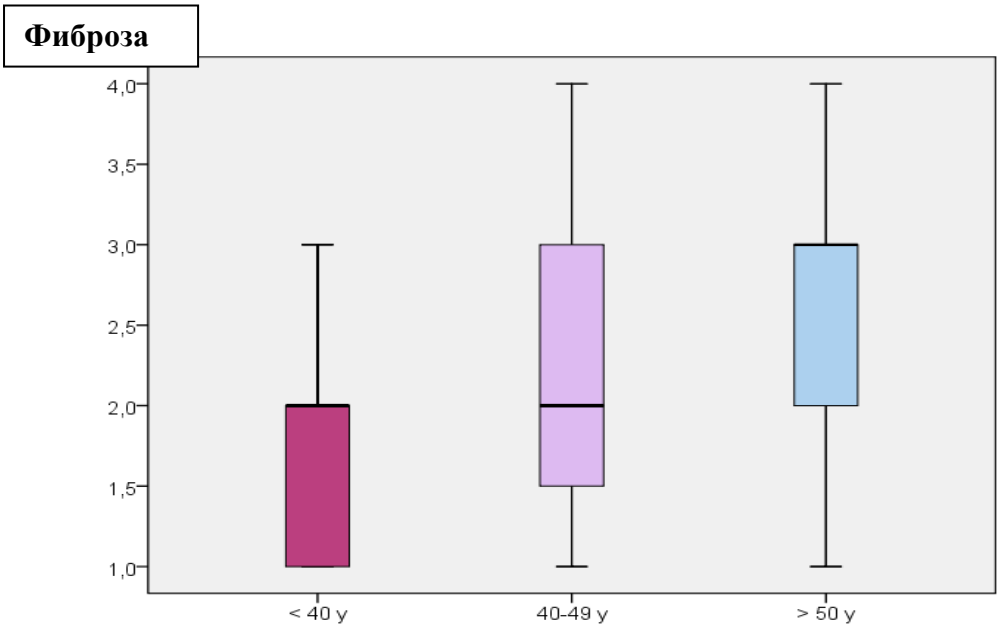
Възрастова група	**Показател**	**Mean± SD**	**Median**
< 40 г.	**Хистологична активност**	1,60± 0,74	1,0
	фиброза	1,86± 0,73	2,0
40-49 г.	**Хистологична активност**	2,07± 0,58	2,0
	фиброза	2,17± 0,87	2,0
> 50 г.	**Хистологична активност**	2,18± 0,60	2,0
	фиброза	2,40± 0,85	2,50

Отделните възрастови групи се различаваха значимо и по степента на хистологична активност (p=0.003) и стадий на фиброза (p=0.013), като възрастовите групи 40-49 години и >50 г. имаха по-висока хистологична активност и по-напреднала фиброза (фигура 4 и 5).

Фигура 3. Разлики в степените на активност при различните възрастови групи:

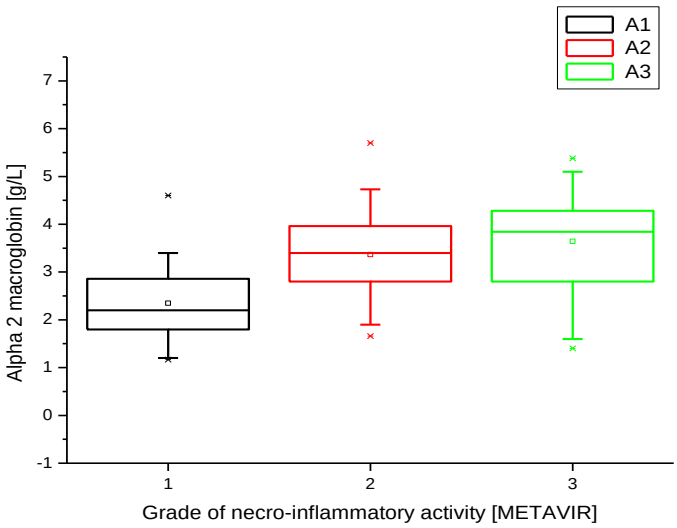


Фигура 4. Разлики в стадиите на фиброзата при различните възрастови групи:

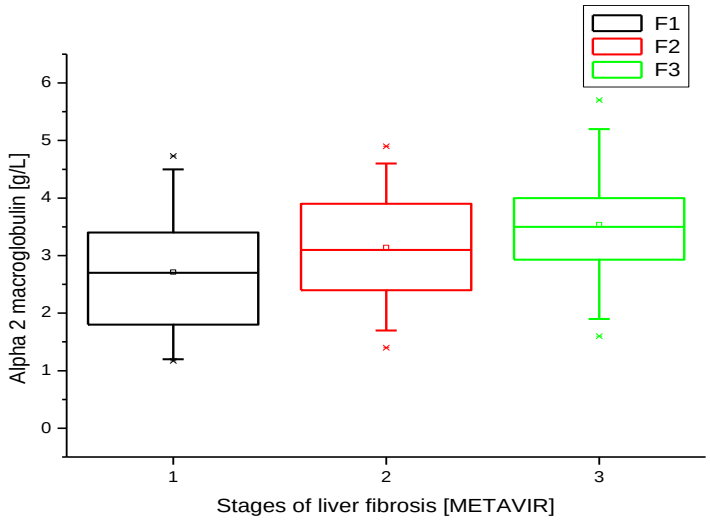


3.1. A2MГ:

фигура 5a - Изходни нива на A2MГ според степента на некро-инфламаторната активност (METAVIR):



Фигура 5b – Изходни нива на A2MГ според стадия на чернодробната фиброза (METAVIR):



Средната стойност на A2MG преди лечението сред пациентите със степен на некро-инфламаторна активност A1, A2 и A3 на чернодробната болест са 2.34 ±0,79 g/L; 3.36 ± 0.90 g/L и 3.64 ± 1.01 g/L, съответно. Средното ниво на A2MG беше сигнификантно по-ниско при пациенти с A1 спрямо A2 ($p < 0.001$) и A3 ($p < 0.001$) – фигура **а**.

Средните нива на A2MG преди лечението при пациенти със стадий на чернодробната фиброза F1, F2 и F3 са 2.71 ±1.05 g/L; 3.14 ±0.94 g/L и 3.53 ±0.96 g/L, съответно. Пациенти с F3 стадий на фиброзата бяха с най-високи средни нива на A2MG, в сравнение с тези с F1 ($p < 0.001$) и F2 ($p < 0.05$) – фигура **б**.

3.2. Прохепсидин:

Намаше връзка и между степента на хистологичната активност, стадия на фиброза и нивата на прохепсидина.

Таблица 15. Зависимости между стойностите на прохепсидин с хистологичната активност и стадия на фиброза (N=33).

METAVIR	**Хистологична активност**	**Фиброза**
прохепсидин изходно	p= 0.630	p= 0.780

Таблица 16. Изходен прохепсидин според хистологичната активност и фиброзата**:**

METAVIR	**N=**	**mean±SD**	**median**	**значимост (p)***
A1	17	799±276	980	0.832
A2	10	684±352	795	
A3	10	722±312	726	
F1	14	680±349	755	0.539
F2	10	863±247	981	
F3	13	730±284	691	

***Kendall's W Test**

Нямаше разлика в стойностите на прохепсидина при различните степени на активност и стадии на фиброза преди лечението.

3.3. Хаптоглобин, TNF-a, hsCRP, албумин, IgG, HCV RNA:

Таблица 17. Изходни корелации на показателите на възпалението и HCV RNA с хистологичната активност и фиброзата:

	коефициент на корелация (r)	значимост (p)	коефициент на корелация (r)	значимост (p)
	активност		**фиброза**	
А2МГ	**0.437**	**0.000**	**0.310**	**0.000**
хаптоглобин	**-0.199**	**0.026**	0.046	0.607
hsCRP	-0.100	0.269	-0.006	0.946
TNF-a	0.245	0.209	-0.134	0.497
албумин	**-0.360**	**0.000**	**-0.227**	**0.013**
IgG	**0.215**	**0.035**	**0.212***	**0.037***
HCV RNA	0.089	0.323	0.095	0.290

*Pearson Correlation

В най-висока степен се наблюдаваше положителна зависимост между А2МГ и хистологичната активност (r=0.437) и фиброзата (r=0.310) и отрицателна зависимост между изходния албумин и хистологичната активност (r= -360) и стадия на фиброзата (r= -0.227). В по-малка степен, но също значимо корелираше с хистологията и изходния IgG (p=0.035; p=0.037). Хаптоглобинът преди лечение беше в обратна зависимост с степента на хистологична активност (p=0.026). Изходните hsCRP, TNF-a и HCV RNA не показаха връзка с активността и фиброзата.

Таблица 18. Изходни стойности на показателите на възпалението и HCV RNA според хистологичната активност:

Активност METAVIR	Показател	Mean± SD	Median	Значимост (p)*
A1	**хаптоглобин**	1±0.45	0.99	hsCRP: 0.256
	hsCRP	1.13±1.4	0.87	
	TNF-a	52.12±57.80	29.0	
	Албумин	48.5±2.53	48	TNF-a: 0.717
	IgG	12.0±1.96	12.0	
	HCV RNA	3 868 658±9 066 131	482 085	
A2	**хаптоглобин**	0.96±0.54	0.88	**Албумин: 0.002**
	hsCRP	1.30±2.77	0.55	
	TNF-a	102±86.1	139.0	
	Албумин	47.1±4.02	46.6	Хаптоглобин: 0.174
	IgG	13.7±3.18	13.5	
	HCV RNA	1 845 967±4 064 050	750 792	IgG: 0.103
A3	**хаптоглобин**	0.73±0.44	0.62	
	hsCRP	0.74±0.98	0.23	
	TNF-a	108.2±90.5	82.3	
	Албумин	45.4±3.2	44.7	HCV RNA: 0.507
	IgG	14.6±3.7	13.9	
	HCV RNA	2 930 463±5 427 381	693 933	

***Kendall's W Test**

Единствено при изходните стойности на серумния албумин се доказа значима разлика в зависимост от хистологичната активност, т.е. пациенти, които имаха по-ниска степен на активност на чернодробната болест (A1) имаха по-високи средни стойности на албумина (p=0.002) (фигура 6)

Фигура 6. Разлики в изходните стойности на серумния албумин в зависимост от активността на чернодробната болест:

Албумин g/l

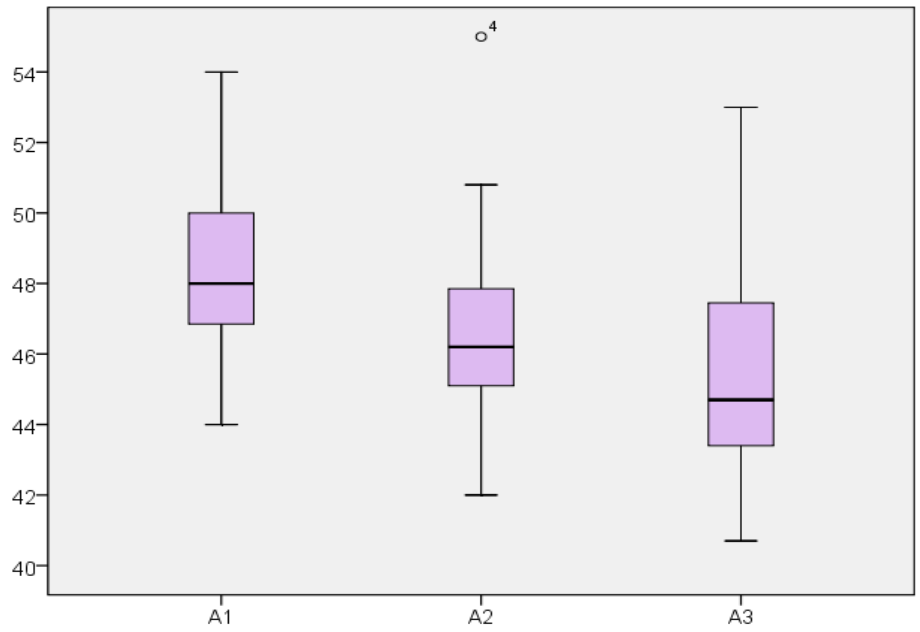


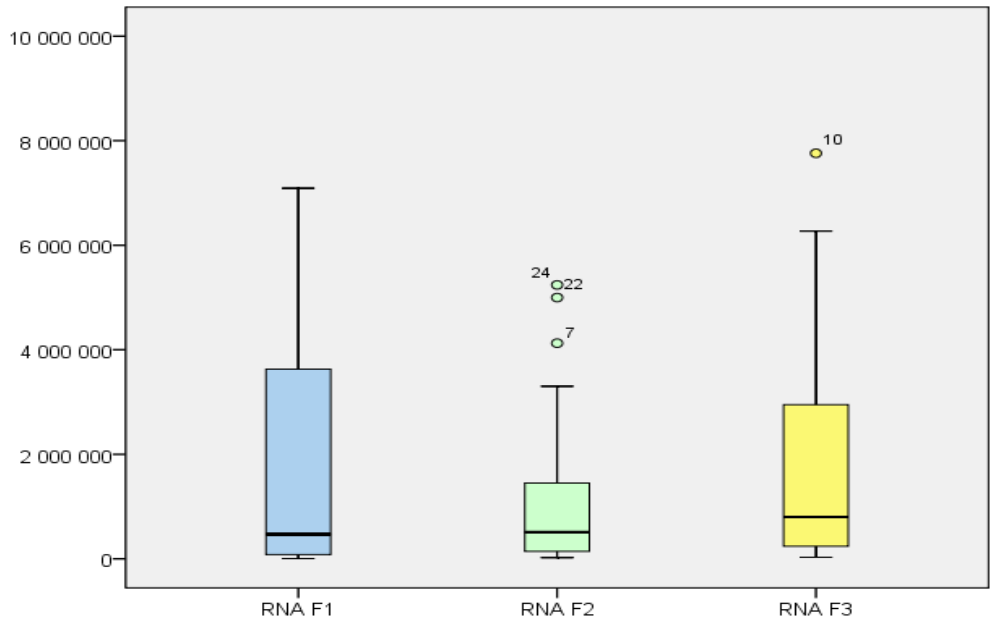
Таблица 19. Изходни стойности на показателите на възпалението и HCV RNA според стадия на фиброзата:

Фиброза METAVIR	Показател	Mean± SD	Median	Значимост (p)*
F1	**хаптоглобин**	0.84±0.45	0.77	hsCRP: 0.938
	hsCRP	0.89±1.09	0.50	
	TNF-a	94.1±65.6	95.6	Хаптоглобин: 0.871
	Албумин	48.1±3.1	47.6	
	IgG	12.7±3.1	13	
	HCV RNA	4 767 227±10 468 574	471 000	Албумин: 0.556
F2	**хаптоглобин**	1.0±0.47	0.97	
	hsCRP	1.32±3.07	0.40	
	TNF-a	52±77.1	14.0	
	Албумин	47.3±4.6	47	IgG: 0.526
	IgG	13.3±2.8	12.8	
	HCV RNA	1 419 807±1 789 534	565 787	
F3	**хаптоглобин**	0.87±0.56	0.75	
	hsCRP	1.10±1.56	0.58	
	TNF-a	81.4±91.2	65.7	**HCV RNA: 0.043**
	Албумин	46±2.7	46.2	
	IgG	14.5±3.6	13.9	
	HCV RNA	2 381 908±4 330 924	777 866	

***Kendall's W Test**

Нямаше разлики в изходните стойности на hsCRP, хаптоглобина, TNF-a, албумина и IgG при различните стадии на фиброза. Единствено при стойностите на HCV RNA имаше значима разлика при различните стадии на фиброза (p=0.043)-пациентите с по-начална фиброза имаха значимо по-висока изходна HCV RNA (фигура 7)

Фигура 7. Разлики в изходната HCV RNA при различните стадии на фиброза:



4. Скорове-изходни стойности, връзки помежду им и с показателите на възпалението:

Чернодробната фиброза е статичен процес, за чието обратно развитие е необходимо много време. Тя е резултат от един динамичен процес на отлагане на екстрацелуларен матрикс в перипорталните пространства. За сега в литературата има доказан единствен маркер за неинвазивна оценка перипорталната фиброгенеза, който е създаденият от О. Косева и сътр. GAMAGEN индекс (4). Той е изключително полезен за разграничаване на активна от неактивна фиброза. Авторите са предложили следната формула за изчислението му:

GAMAGEN= IgG/14+ AST/2N+ 0.5 (A2MG/2.5) – албумин/41

4.1. Модифициране на класическия GAMAGEN индекс:

С цел опростяване на начина на пресмятане на индекса, модифицирахме формулата, като заменихме IgG с по-прости и рутинни за изследване лабораторни параметри- разликата между общ белтък и албумин, т.нар. глобулини, разделени на нормалните им стойности в серума. В разултат се получихме следната формула на модифицирания GAMAGEN:

M-GAMAGEN= общ белтък - албумин/31 + AST/2N+ 0.5 (A2MG/2.5) – албумин/41

За да се уверим, че двата показателя са взаимнозаменяеми, изчислихме корелационната зависимост между двата скора преди лечение и установихме изключително висока корелация:

Таблица 20. Корелация GAMAGEN – M GAMAGEN преди лечение:

	M-GAMAGEN
GAMAGEN	**r= 0.974 p= 0.000 N= 98**

На следващата таблица са показани изходните стойности на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата, които ние използвахме.

Таблица 21. Изходни стойности на скоровете при пациентите, провели лечение с PEG-IFN + Ribavirin:

	N=	mean ± SD	median
GAMAGEN	98	1,28 ± 0,67	1,21
M-GAMAGEN	129	1,23 ± 0,77	1,13
APRI	129	0,87 ± 0,71	0,61
FIB-4	129	1,56 ± 1,21	1,22
SOS FS	126	2,22 ± 1,26	2,25

За да оценим взаимовръзката между стандартния индекс GAMAGEN и неговата модификация, определихме техните корелационни зависимости с изходните показатели на възпалението и осталите индекси преди лечение. Установихме силно изразени зависимости с албумина, глобулините, алфа-2 макроглобулина, APRI, FIB-4 и SOS FS и при двата скора. Също така и при двата индекса имаше умерено изразени зависимости с хаптоглобина (отрицателна), хистологичната активност и фиброзата. M-GAMAGEN корелираше умерено с изходните стойности на TNF-a. Нямаше връзка между двата скора и hsCRP, прохепсидин и изходната виремия.

Таблица 22. Изходни корелации на GAMAGEN и M-GAMAGEN с показателите на възпалението, хистологията и виремията.

Изходен показател	GAMAGEN	M-GAMAGEN
АЛБУМИН	**r= -0.472; p= 0.000; N= 98**	**r= -0.592; p= 0.000 N= 124**
ГЛОБУЛИНИ	**r= 0.550; p= 0.000; N= 98**	**r= 0.666 p= 0.000 N= 129**
IgG	**r= 0.692; p= 0.000; N= 98**	
АЛФА-2 МАКРОГЛОБ.	**r= 0.681; p= 0.000; N= 98**	**r= 0.611 p= 0.000 N= 129**
ХАПТОГЛОБИН	**r= -0.334; p= 0.001; N= 98**	r= -0.248 p= 0.005 N= 129
hsCRP	r= -0.023; p= 0.824; N= 98	r= -0.039 p= 0.662 N= 129
TNF-a		r= 0.409 p= 0.022 N= 31
ПРОХЕПСИДИН		r= 0.253 p= 0.169 N= 31
ХИСТОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ	**r= 0.322; p= 0.001; N= 97**	**r= 0.324 p= 0.000 N= 125**
ФИБРОЗА	**r= 0.242; p= 0.017; N= 97**	**r= 0.309 p= 0.000 N= 125**
APRI	**r= 0.766; p= 0.000; N= 98**	**r= 0.699 p= 0.000 N= 129**
FIB-4	**r= 0.718; p= 0.000; N= 98**	**r= 0.610 p= 0.000 N= 129**
SOS FS	**r= 0.678; p= 0.000; N= 95**	**r= 0.579 p= 0.000 N= 125**
HCV RNA	r= -0.132; p= 0.194; N= 98	r= -0.058 p= 0.513 N= 129

a. Скорови системи при пациентите, провели лечение с директно действащи антивирусни медикаменти (група С):

Таблица 23. Медиани на различните скорове изходно при пациентите, провели лечение с DAA's:

N=12	median
GAMAGEN	2.13
M-GAMAGEN	1.74
GUCI	1.21
FCI	0.25
APRI	1.17
FIB-4	3.33
SOS FS	4.03

VI. Изходни корелационни връзки между биохимични, хематологични и морфологични показатели:

Таблица 24. Зависимости между изходните стойности на показателите на възпалението (r>0.300):

	Албумин	Глобулини*	IgG	A2m	Хаптоглобин
Албумин		***r= -0.608 p= 0.000 N= 124***	***-0.347 0.000 N=98***		
Глобулини			***r=0.742 p=0.000 N=98***		
IgG				***r= 0,375 p= 0.000 N= 98***	
A2m			***r= 0,375 p= 0.000 N= 98***		
CRP					***r=0.316 p=0.000 N=129***
хаптоглобин				**r= -0,325 p= 0.000 N= 129**	

*Глобулини= общ белтък – албумин

В групата пациенти, провели лечение с IFN+рибавирин, се установи силна положителна корелация на А2МГ с глобулините и IgG и отрицателна-с албумин и хаптоглобин. Очаквано при тези пациенти имаше силна зависимост между албумин, глобулини и IgG, като части от протеиновата фракция в кръвта. Между хаптоглобина и CRP също имаше значима положителна корелация.

Не се установиха статистически значими зависимости на TNF-α и прохепсидин с останалите показатели на възпалението.

На таблица 25 са показани основните връзки на изходните показатели на възпалението със степента на хистологична активност, стадия на фиброзата и някои рутинни лабораторни параметри (АСАТ, АЛАТ и тромбоцити).

Таблица 25. Зависимости между изходните стойности показателите на възпалението с активността, фиброзата и рутиини лабораторни параметри (r>0.300):

Параметър	Албумин	Глобулини	IgG	A2m	Хаптоглобин
Хистологична активност				***r= 0,433 p= 0.000 N= 125***	
Фиброза				***r= 0,325 p= 0.000 N= 125***	
ASAT			***r= 0.327 p= 0.001 N= 98***	***r= 0,437 p= 0.000 N= 129***	***r= -0.303 p= 0.000 N= 129***
Тромбоцити					***r= 0.434 p= 0.000 N= 129***

Беше наблюдавана изразена корелация на А2МГ (r=0.433) и албумина (r= -0.281) със степента на хистологична активност, в по-малка степен, но също значима беще корелацията на IgG (r= 0.242) и хаптоглобин (r= -0.185) с хистологичната активност. Стадият на чернодробна фиброза корелираше в най-голяма степен отново с А2МГ (r= 0.325), по-слабо-с албумин (r= -0.207) и IgG (r=0.212). Цитолитичните ензими, в частност АСАТ, показаха значима положителна корелация с А2МГ (r= 0.437) и отрицателна-с хаптоглобин (r= -0.303), а тромбоцитите- значима отрицателна зависимост с А2МГ (r= -0.201) и положителна-с хаптоглобин (r= 0.434), които са още едно потвърждение на ключовата роля на А2МГ и хаптоглобина в патогенезата на чернодробното увреждане, в частност- с хепатит С-вирусна етиология. Нямаше зависимост между hsCRP, TNF-α, прохепсидин и посочените показатели.

Таблица 26. Зависимости между изходните показатели на възпалението, скоровите системи и възрастта на пациентите (само значими):

Параметър	Албумин	Глобулини	IgG	A2m	CRP	TNF-a	Хаптоглобин	прохепсидин
APRI			***r= 0.301 p= 0.003 N= 98***	***r= 0,434 p= 0.000 N= 129***			***r= -0.397 p= 0.000 N= 129***	
FIB4			***r= 0.382 p= 0.000 N= 98***	***r= 0,532 p= 0.000 N= 129***			***r= -0.387 p= 0.000 N= 129***	
SOS FS			***r= 0.377 p= 0.000 N= 95***	***r= 0,925 p= 0.000 N= 126***		*r= 0.352 p= 0.052 N= 31*	***r= -0.641 p= 0.000 N= 126***	
HCV RNA								***r= 0.444 p= 0.012 N= 31***
age	***r= -0.359 p=0.000 N=129***		***r= 0,461 p= 0.000 N= 129***	***r= 0,618 p= 0.000 N= 129***			***r= -0.224 p= 0.011 N= 129***	

По отношение на скоровете за неинвазивна оценка на фиброзата APRI, FIB-4 и SOS FS, отново в най-голяма степен корелираха със стойностите на А2МГ и хаптоглобина (p= 0.000), така също и с IgG. В по-малка степен, но също значимо, скоровете корелираха с нивата на албумина и глобулините. При SOS FS се установи значима положителна корелация с TNF-a (p= 0.052). Стойностите на HCV RNA в група В единствено корелираха с нивата на прохепсидин (p= 0.012). Възрастта на пациентите корелираше в много голяма степен със стойностите на IgG и А2МГ (положителна) и по-слабо с албумина и хаптоглобина (отрицателна).

Връзка между скоровите системи:

Таблица 27. Връзка между изходните стойности на различните скорове, хистологичната активност и фиброзата:

	HCV RNA	SOS FS	APRI	FIB-4	A	F
SOS FS	*r= 0.034; p= 0.709*		***r=0.499 p=0.000 N=126***	***r=0.590 p=0.000 N=126***	***r=0.433 p=0.000 N=122***	***r=0.260 p=0.004 N=122***
APRI	*r= 0.040; p= 0.654*			***r=0.868 p=0.000 N=129***	***r=0.303 p=0.001 N=125***	***r=0.271 p=0.002 N=125***
FIB-4	*r= 0.126; p= 0.156*				***r=0.330 p=0.000 N=125***	***r=0.262 p=0.003 N=125***

Значимо корелираха помежду си APRI, FIB-4 и SOS FS. И трите индекса корелираха значимо със степента на хистологична активност и доста по-слабо- с чернодробната фиброза. Нямаше зависимост между изходната виремия и стойностите на скоровите системи преди лечение.

Зависимости между скоровите системи при пациенти, лекувани с DAA's:

При пациентите, провели лечение с директно действащи антивирусни медикаменти, се установиха изключително високи корелационни зависимости на двата скора за оценка на фиброгенезата. Изходният GAMAGEN отново корелираше в най-висока степен с модифицирания скор, след което с GUCI и APRI. M-GAMAGEN корелираше силно с изходните FCI и APRI, GUCI беше в силна зависимост с изходните FCI, APRIи FIB-4. FCI корелираше значимо с APRI и FIB-4, както и те помежду си.

Таблица 28. Изходни корелации между скоровете при пациенти, провели безинтерферонова терапия (само значими):

Корелация	**изходно**
GAMAGEN – M GAMAGEN	**r= 0.982; p= 0.000**
GAMAGEN – GUCI	r= 0.769; p= 0.003
GAMAGEN – APRI	r= 0.727; p= 0.007
M GAMAGEN – GUCI	r= 0.864; p= 0.001
M GAMAGEN – FCI	r= 0.673; p= 0.023
M GAMAGEN – APRI	r= 0.818; p= 0.002
GUCI – FCI	**r= 0.916; p= 0.000**
GUCI – APRI	**r= 0.986; p= 0.000**
GUCI – FIB-4	r= 0.860; p= 0.000
FCI – APRI	**r= 0.902; p= 0.000**
FCI – FIB-4	r= 0.853; p= 0.000
APRI – FIB-4	r= 0.874; p= 0.000

В. ПРОМЯНА НА ПОКАЗАТЕЛИТЕ НА ВЪЗПАЛЕНИЕТО ПРИ ЕФЕКТИВНО И НЕЕФЕКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ:

1. Вирусологичен отговор:

От всичките 129 пациента, провели лечение с интерферон и рибавирин, 115 постигнаха спад на HCV RNA > 2 log10, т.е. ранен вирусологичен отговор (EVR); отговор в края на лечението (ETR) имаше при 90 пациента, а траен вирусологичен отговор- неоткриваема HCV RNA 6 месеца след лечение (SVR) имаше при 57 пациента. При 41 пациента се откриваше HCV RNA 6 месеца след лечение, т.е релапс на болестта. Те заедно с още 5 пациента, прекратили лечението си на етап 24 седмица поради липса на отговор, обособиха групата на неотговорилите (NR; N=46)- 36% от болните. Пациентите с SVR (N=57) и част от пациентите с ETR (N= 18), обособиха групата на отговорилите на терапията (R; N=75)- 58% от болните. За останалите 8 болни (6%) нямаше данни за отговора на терапията.

Фигура 8. Терапия с IFN+Riba



***други** – прекъснали поради странични ефекти или липса на ефект на етап 3-ти месец

Таблица 29. Изходни характеристики на пациентите според отговора на терапията:

Показател	Възраст (години)	HCV RNA (IU/ml)	Възраст (години)	HCV RNA (IU/ml)
Отговор на терапията	**R**		**NR**	
Брой (N)	75	75	46	46
Mean± SD	44±13.3	2 326 925±6 080 906	49±11.2	3 256 233±5 875 180
Median	44	433 232	51	1 495 706
Min.	20	6073	18	62 941
Max.	66	40 700 000	63	29 920 000

В групата пациенти, провели лечение с безинтерферонов режим, бяха включени 12 пациента (5 жени и 7 мъже), 11 от които приемаха медикаментите в продължение на 12 седмици, при един пациент лечението е с продължителност 24 седмици.
Вирусологичния отговор беше проследен изходно, на седмици втора, четвърта, дванадесета и 24-та (само за последния пациент) от лечението и 12 и 24 седмици след спирането му. Всички пациенти негативираха HCV RNA още на 2-ра седмица и до този етап на проследяване- 24 седмици след лечението, всичките 12 души са с негативна виремия- SVR 24 седмица.

Промени в нивата на хемоглобина и тромбоцитите:

2.1. Промени в хемоглобиновите нива:

На таблицата са посочени стойностите на хемоглобина преди лечение, проследени по време на лечението и 6 месеца след това, при пациентите, провели лечение с интерферон и рибавирин.

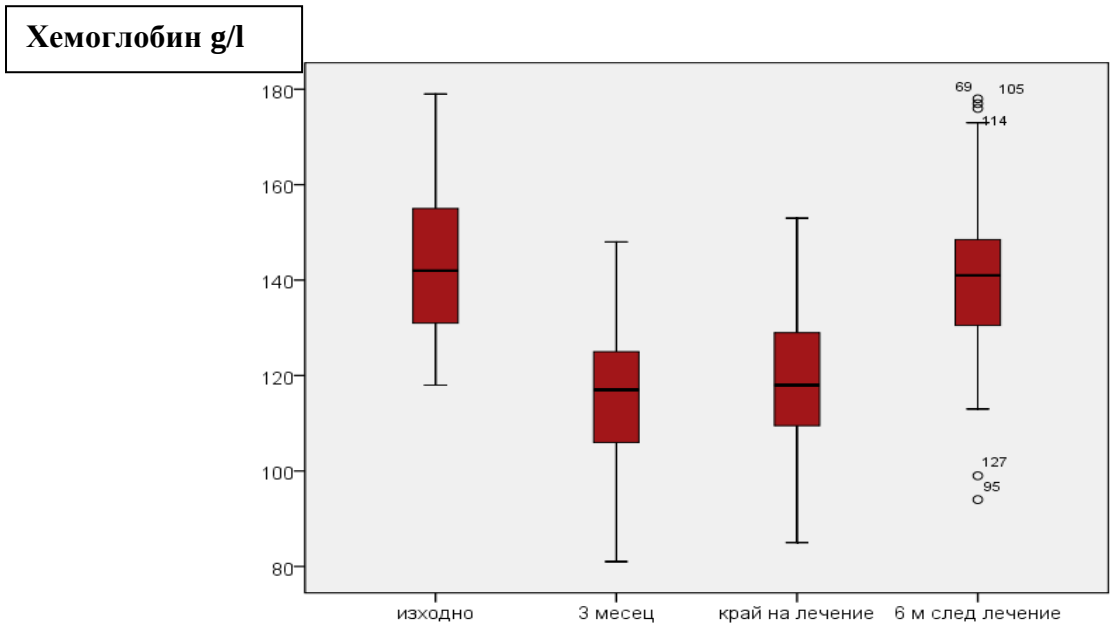
Таблица 30. Динамика в стойностите на хемоглобина при цялата група пациенти на лечение с IFN+Ribavirin:

	изходно	3 месец	край на терапия	6 месеца след лечение	Значимост (p)*
Брой (N)	129	123	92	88	**0.000- 3 месец и в края спрямо изходно;**
Ср. ст. ±SD	144±14.6	116±14.3	120±15.9	142±16	
медиана	143	116	118	141	**0.020- 6 месеца след лечение спрямо изходно**
Min.	109	81	85	94	
Max.	179	148	169	178	

*Wilcoxon Signed Ranks Test

Общо за всички пациенти се наблюдаваше най-значим спад в стойностите на хемоглобина на трети месец, като този спад се наблюдава до края на лечението, след което започва възстановяването на стойностите му при проследяване 6 месеца след лечение.

Фигура 9. Динамика на стойностите на хемоглобина по време на терапията:



При пациентите, отговорили на терапията (R) се отбеляза значим спад в стойностите на хемоглобина спрямо изходните стойности на 3-тия месец и в края на лечението (p=0.000). Нямаше значима разлика между изходния хемоглобин и този, проследен 6 месеца след лечението.

Таблица 31. Динамика на хемоглобина при пациенти, отговорили на терапията (R):

R	изходно	3 месец	край на терапия	6 м след лечение	Значимост (p)*
Брой (N)	83	77	58	50	**0.000- 3 месец и край на лечението спрямо изходно;** 0.068-6 м след лечение спрямо изходно
Mean ±SD	143.6±14.8	115.1±14.3	118.1±15	140,1±16.1	
Median	143	116	117	139	

***Wilcoxon Signed Ranks Test**

Таблица 32. Динамика на хемоглобина при NR:

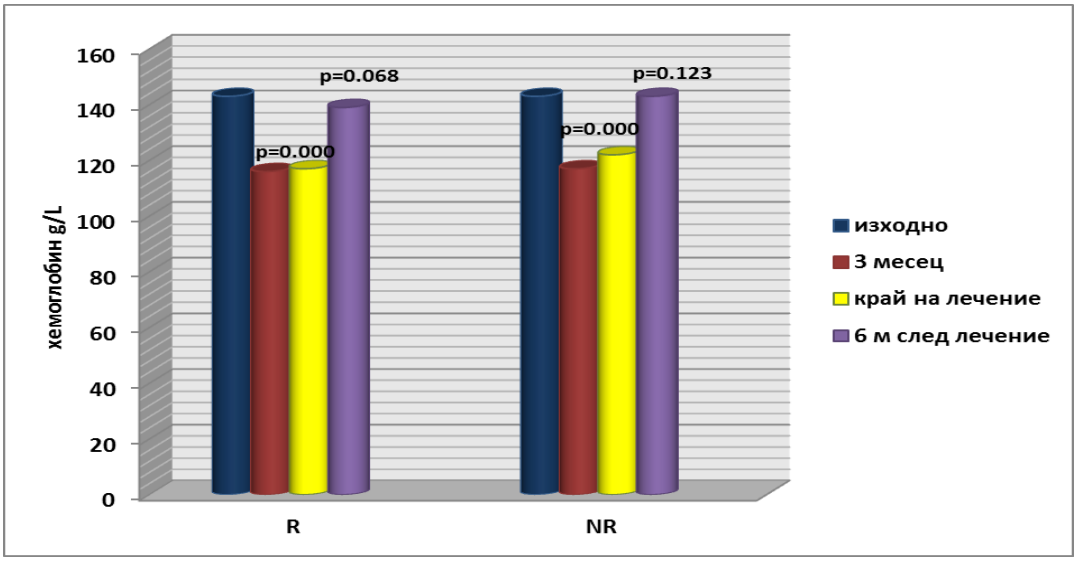
NR	изходно	3 месец	край на терапия	6 м след лечение	Значимост (p)*
Брой (N)	46	46	34	38	**0.000- 3 месец и край на лечението спрямо изходно;** 0.123-6 м след лечение спрямо изходно
Mean ±SD	145.5±14.3	116.8 ±14.6	122.2±17.3	143.5±15.9	
Median		117	122	143	

***Wilcoxon Signed Ranks Test**

В групата пациенти без отговор на лечението (NR) спадът в стойностите на хемоглобина на 3-тия месец и в края на терапията спрямо изходните стойности беше аналогичен на пациентите с отговор (R).

В конкретния случай, спадът на хемоглобина на 3-тия месец не би могъл да предскаже постигането на терапевтичен ефект, поради еднаквите промени при двете групи пациенти, разделени в зависимост от отговора на терапията.

Фигура 10. Промени в хемоглобиновите нива по време на лечение при пациенти, отговорили на терапията (R) и неотговорили (NR):



Корелации на хемоглобина с показателите на възпалението:

Таблица 33. Значими корелации на хемоглобина с показателите на възпалението през различните периоди на лечение:

Изходно N= 129	hsCRP	прохепсидин N= 40	3 месец	хаптоглобин	албумин	
хемоглобин	r= -0.174 p=0.048	**r= 0.364; p= 0.021**	хемоглобин	0.290; p= 0.002	r= 0.186 p=0.044	
край на лечение	хаптоглобин	албумин	6 месеца след лечение	A2MГ	албумин	IgG
хемоглобин	r= 0.251; p=0.041	**r= 0.522; p=0.000**	хемоглобин	r= -0.251; p=0.034	**r= 0.306; p=0.004**	r= -0.227; p=0.055

Изходно хемоглобинът корелираше в умерена степен единствено с изходните нива на прохепсидина; слаба корелация имаше на 3-ти месец от лечението с хаптоглобина, значителна корелация имаше в края на лечението с нивата на албумина, както и 6 месеца след лечение, но в умерена степен.

2.2. Промени в тромбоцитните нива:

Известно е, че спадът на тромбоцитния брой по време на лечение с интерферон е чест страничен ефект (68, 135**)**. Проследихме динамиката в стойностите на тромбоцитите при пациентите, провели лечение с IFN+Ribavirin:

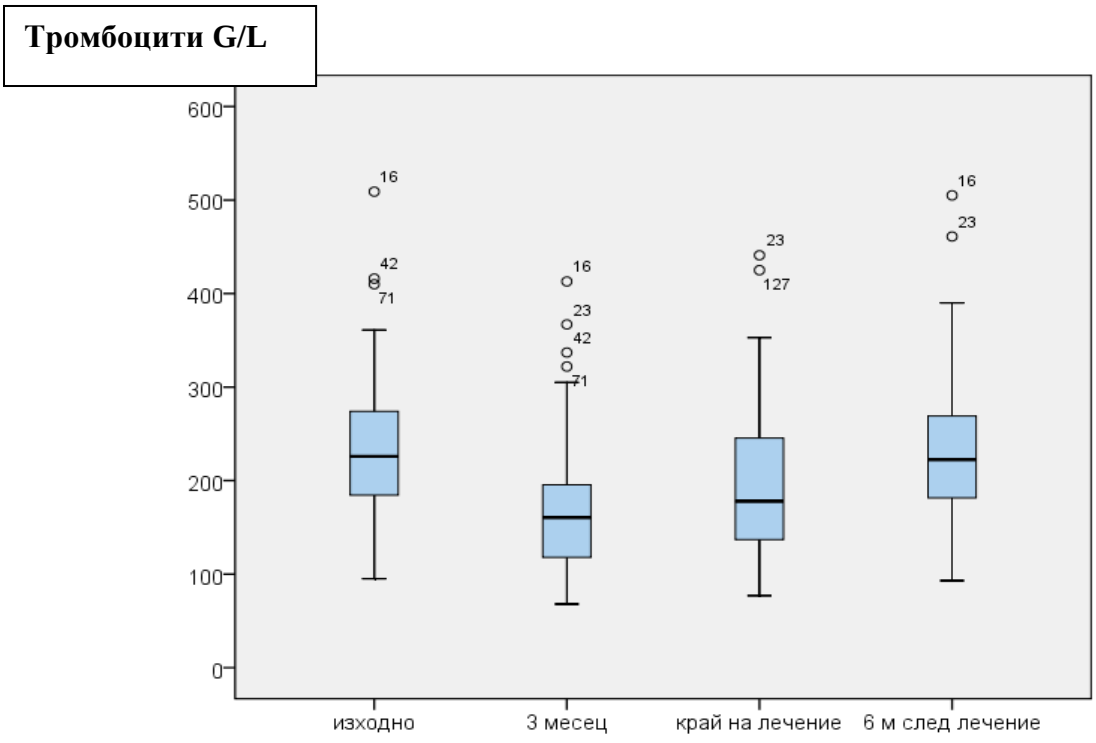
Таблица 34. Динамика в стойностите на тромбоцитите при цялата група пациенти на лечение с IFN+Ribavirin:

	изходно	**3 месец**	**край на терапия**	**6 месеца след лечение**	**Значимост (p)***
Брой (N)	129	122	91	89	**0.000[1]**
Ср. ст. ±SD	226±70	166±64	184±76	232±74	**0.238[2]**
медиана	217	160	176	222	
Min.	95	68	14	93	
Max.	509	413	441	505	

*Wilcoxon Signed Ranks Test

[1]значимост 3 месец и край на лечението спрямо изгодно; [2]значимост 6 м след лечение спрямо изходно

фигура 11. Промени в тромбоцитния брой по време на лечение:



Спадът на тромбоцитите по време на лечение беше най-значим на 3 месец и в края на лечението спремо изходно. След като действието на интерферона е изчепано при проследяването след лечение, тромбоцитните нива се възстановяват до изходните.

Таблица 35. Динамика на тромбоцитите при пациенти, отговорили на терапията (R):

R	изходно	3 месец	край на терапия	6 м след лечение	Значимост (p)*
Брой (N)	83	76	57	50	**0.000- 3 месец и край на лечението спрямо изходно** 1.00-6 м след лечение спрямо изходно
Mean ±SD	229±71	166±67	189±83	240±79	
Median	217	159	161	214	

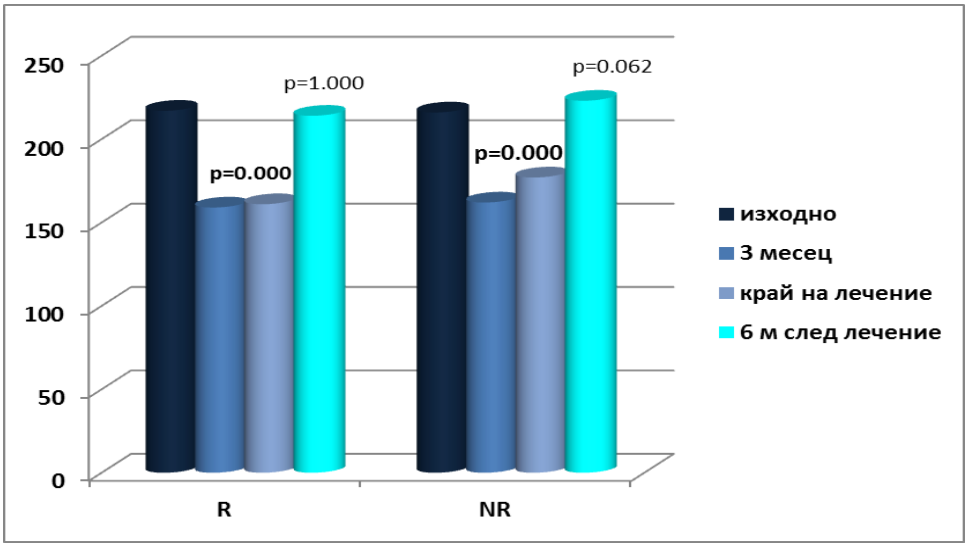
***Wilcoxon Signed Ranks Test**

Таблица 36. Динамика на тромбоцитите при NR:

NR	изходно	3 месец	край на терапия	6 м след лечение	Значимост (p)*
Брой (N)	46	46	34	39	**0.000- 3 месец и край на лечението спрямо изходно;** 0.062-6 м след лечение спрямо изходно
Mean ±SD	222±68	166±59	175±63	221±68	
Median	216	162	177	223	

***Wilcoxon Signed Ranks Test**

Фигура 12. Промени в тромбоцитните нива при R и NR:



Промените в нивата на тромбоцитите по време на лечение бяха аналогични и при двете групи в зависимост от отговора на терапията-значим спад на трети месец и в края на лечението. Проследени 6 месеца след лечението, стойностите при R се възстановяват до изходното ниво, а при NR- се покачват дори над изходните. Очевидно е, че в дадената ситуация и промените в стойностите на тромбоцитите по време на лечение,

също както тези на хемоглобина, не биха могли да бъдат белег за разграничаване на отговорили от неотговорили на терапията.

Корелации на тромбоцитите с показателите на възпалението:

Таблица 37. Значими корелации на тромбоцитите с показателите на възпалението през различните периоди на лечение:

Изходно N= 129	A2MГ	hsCRP	хаптоглобин	3 месец	хаптоглобин
тромбоцити	r= -0.201; p=0.022	r= 0.198; p= 0.024	**r= 0.439; p= 0.000**	тромбоцити	0.194; p= 0.037 (Pearson's Correlation)
край на лечение	хаптоглобин	hsCRP	6 месеца след лечение	хаптоглобин	
тромбоцити	r= 0.247; p=0.044 N=67	**r= 0.506; p=0.000 N=88 (Pearson's Correlation)**	тромбоцити	**r= 0.328; p=0.005 N=72**	

Изходно тромбоцитите корелираха положително в умерена степен с хаптоглобина, на третия месец-много слабо отново с хаптоглобина. В края на лечението имаше изразена корелация с hsCRP, а 6 месеца след лечението-тромбоцитите корелираха с умерена степен отново хаптоглобина. Вероятно тези връзки на тромбоцитите с хаптоглобина се дължат на факта, че и двата показателя отразяват в известна степен активността на чернодробната болест и същевременно и двата показтеля търпят еднопосочна промяна вследствие на действието на медикаментите.

По отношение на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата, очаквано имаше висока обратна корелация на тромбоцитите със скоровете, в чиито състав участват-APRI и FIB-4 (изходно съответно r= -0.555 и p= -0.637); (6 месеца след лечение съответно r= -0.535 и r= -0.603). Умерена негативна корелация имаше с изходния SOS FS r= -0.309, с GAMAGEN и M-GAMAGEN имаше слабо изразени отрицателни корелации изходно и 6 месеца след лечение.

3. Динамика на показателите на възпалението по време на лечение:

Таблица 38. Динамика в стойностите на показателите на възпалението, виремията и някои рутинни лабораторни показатели през различните периоди на проследяване:

	N	изходно		N	3 месец		N	Край на терапия		N	6 м след терапия	
показател		M±SD	median		M±SD	median		M±SD	median		M±SD	median
А2МГ	129	3.18±1.02	3.2	118	2.90±0.90	2.99	98	2.40 ± 0.92	3.0	72	3.26±1.01	3.3
hsCRP	129	1.15±2.19	0.5	118	1.13±1.75	0.6	95	1.07±1.79	0.5			
TNF-a	31	78.07±74.28	55.67	31	66.98±67.34	55.67	17	64.21±65.08	42.33			
хаптоглобин	129	0.92±0.52	0.85	118	0.77±0.62	0.75	67	0.97±0.69	0.86	72	1.12±0.53	1.05
HCV RNA	129	2 601 193 ±5 832 784	777 866	123	69 549± 317 898	0.0	102	160 795 ±884 175	0.0	98	639 444± 1 505 902	0.0
IgG	98	13.58±3.26	13.25				67	13.28±3.36	13.09	72	12.96±3.28	12.53
ALAT	129	89±51.13	77							89	45±54.19	31.7
албумин	124	47.03±3.66	46.95	117	44.65±3	45.0	91	44.35±3.3	44.0	87	46.1±3.13	45.8
прохепсидин	40	754.72±295.3	805.7	40	591.6±312.4	650.2	35	516.96±329.5	540.5			

Таблица 39. Динамика на показателите на възпалението и HCV RNA (Wilcoxon Signed Ranks):

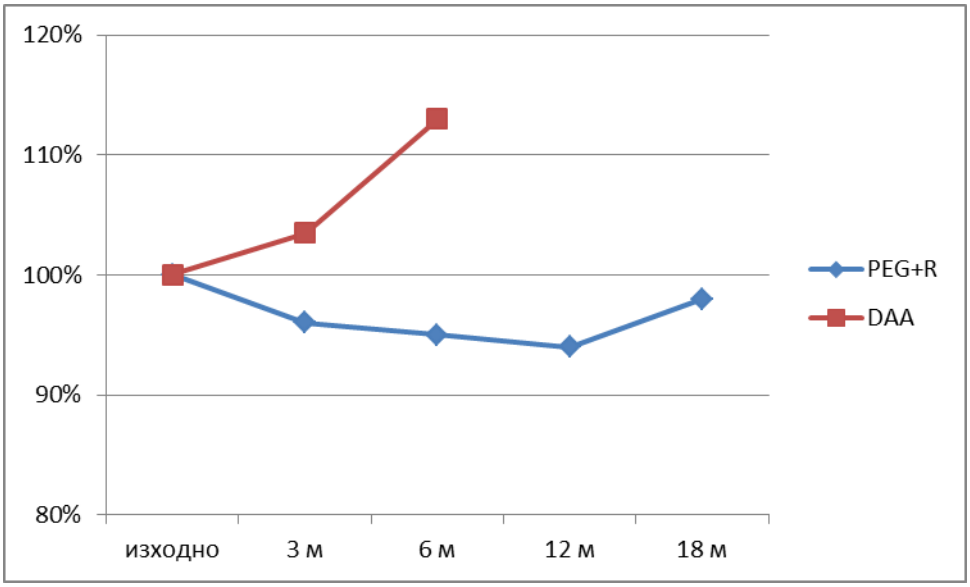
показател	изходно↔ 3 месец (Z; p)	изходно↔край на терапия (Z; p)	3 месец↔край на терапия (Z; p)	край на терапия↔6 м след терапия (Z; p)	изходно↔ 6 м след терапия (Z; p)
A2MG	**-5.115; 0.000** N=118	-2.412; 0.016 N= 98	-1.947; 0.051 N= 98	-2.815; 0.005 N= 62	-1.747; 0.081 N= 72
hsCRP	-0.078; 0.938 N= 118	-0.614; 0.539 N= 95	-1.791; 0.073 N= 95		
TNF-a	-1.529; 0.126 N=31	-0.308; 0.758 N= 17	-0.355; 0.723 N= 17		
хаптоглобин	**-3.458; 0.001** N= 118	-1.154; 0.249 N= 67	-1.981; 0.048 N= 67	**-2.971; 0.003** N= 62	**-2.813; 0.005** N= 72
HCV RNA	**-9.182; 0.000** N= 123	**-7.830; 0.000** N= 102	-0.145; 0.884 N= 102	**-4.298; 0.000** N=92	**-5.771; 0.000** N=98
IgG		-0.933; 0.351 N= 67		-2.258; 0.024 N= 62	**-2.725; 0.006** N= 72
албумин	**-6.975; 0.000** N=114	**-6.278; 0.000** N=88	-1.698; 0.089 N= 88	**-5.323; 0.000** N=75	**-3.249; 0.001** N=86
прохепсидин	**-2.889; 0.004** N=40	**-3.207; 0.001** N=35	-1.547; 0.122 N=35		

3.1. Серумен албумин

Таблица 40. Промяна в нивата на албумина (g/L) по време на лечение с два режима при болни с хроничен хепатит С (t – test за чифтни данни):

режим	изходен	3 м. лечение	12 м. лечение	Проследяване след лечение
PEG+RIBA (M±SD)	46,7±2,30	44,9±3,09	43,9±3,08	45,7±2,83
Изходен PEG+RIBA		p=7,0975E-07	p=1,62E-09	p=0,00176
12 м. лечение				p=2,52057E-06
DAA (median)	42,5	44		48
Изходен		p=0,255		p=0,002
3 м. лечение				p = 0,001393

Фигура 13. Промени в стойностите на албумина, съпоставени при двата различни режима на терапия:



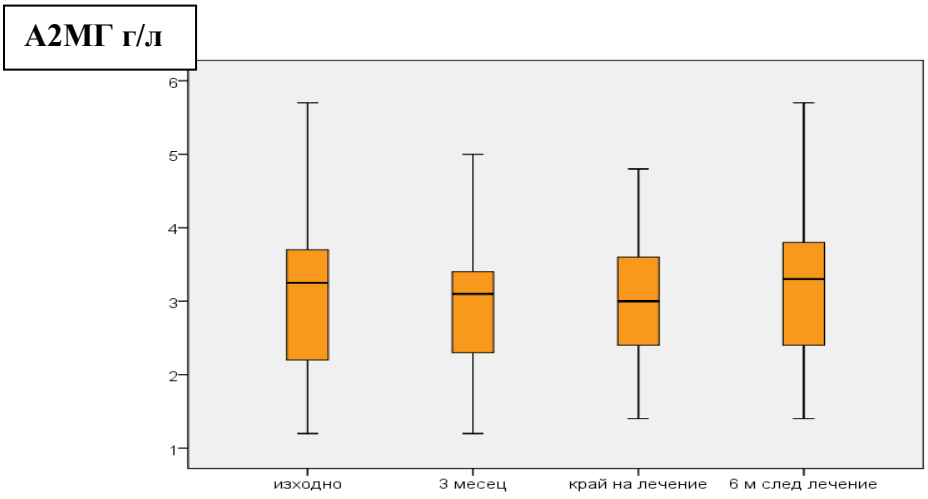
Лечението с интерферон и рибавирин причинява намаление на серумния албумин още от третия месец на лечение, като то е най-изразено в края на лечението, а 6 месеца след спирането му, серумния албумин се повишава по отношение на края на лечението и не достига нивата си преди терапия.

Обратен ефект се наблюдава при безинтерферонов режим – албуминът се повишава още на третия месец, който в тези случаи е бил край на лечението и продължава да се повишава 3 месеца след преустановяване на ефективното лечение (t – test за чифтни данни).

3.2. Серумен Алфа 2-макроглобулин:

В нивата на А2МГ за всички пациенти, провели лечение с IFN+Ribavirin, се отбеляза значим спад на 3-тия месец от терапията, който се задържа до края на лечението, след което нивата се възстановиха до незначимо малко по-високи от изходните.

Фигура 14. Обобщени промени в нивата на А2МГ по време на лечението:

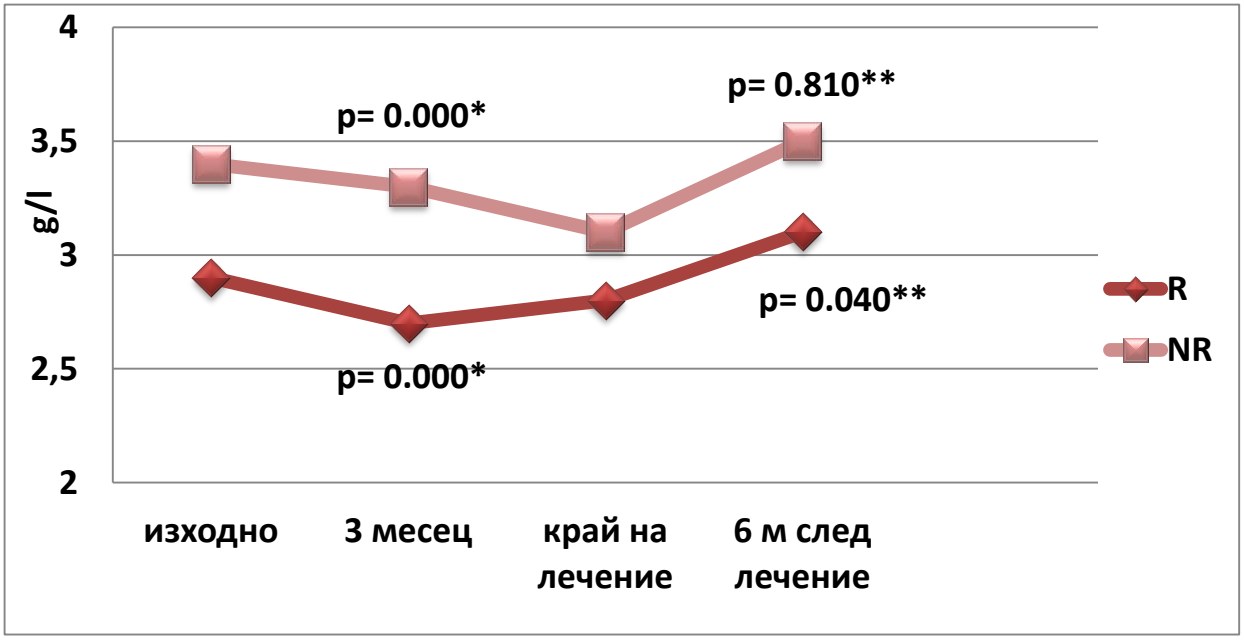


Имаше значима разлика в нивата на A2МГ в зависимост от отговора на терапията. Пациентите без отговор на лечението (NR) имаха по-високи стойности на A2МГ през всички периоди на проследяване. При тях имаше значим спад на 3 месец от терапията и в края ù, проследени 6 месеца след лечението- нямаше разлика с изходните нива на A2МГ. При отговорилите на терапията (R) имаше най-значим спад на 3-ти месец от началото, а 6 месеца след лечението имаше значимо покачване на A2МГ спрямо изходно.

Таблица 41. Стойности на A2МГ при R и NR:

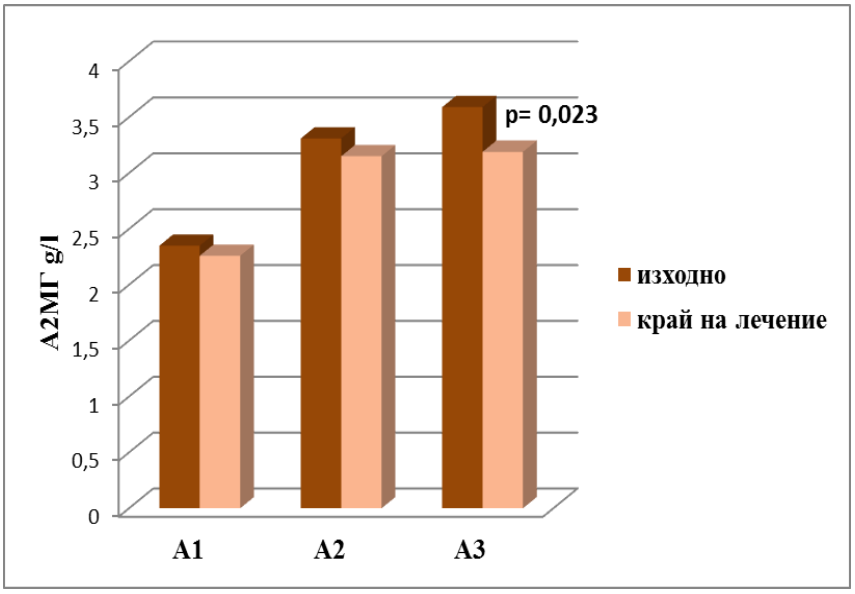
група	период	Брой N	mean±SD	median
R	изходно	83	3.1±1	2.9
	3 месец	73	2.7±0.8	2.7
	край на лечение	62	2.8±0.9	2.8
	6 м след лечение	40	3.1±1.1	3.1
NR	изходно	46	3.4±1	3.4
	3 месец	45	3.1±1	3.3
	край на лечение	36	3.1±0.95	3.1
	6 м след лечение	32	3.4±0.9	3.5

Фигура 15. Промени в нивата на A2МГ в зависимост от отговора на терапията:



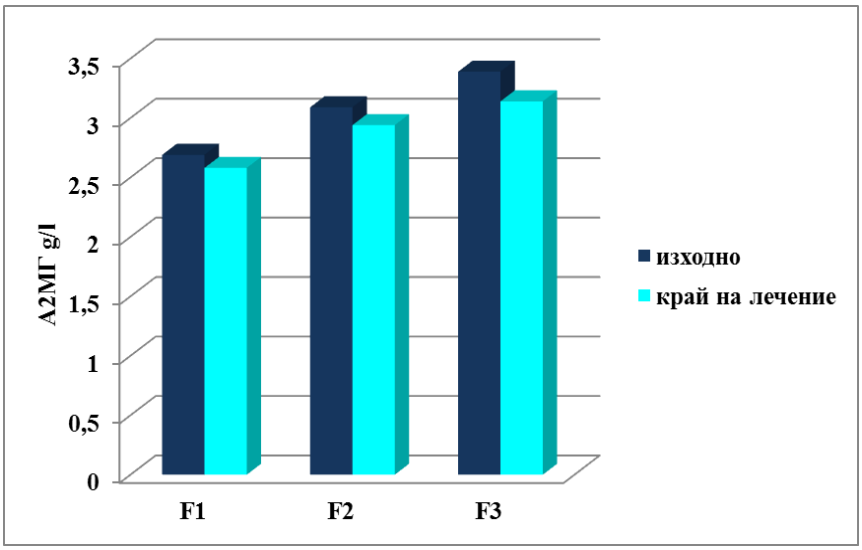
***значимост 3 м спрямо изходно **значимост 6 м след лечение спрямо изходно**

Фигура 16. Промени в нивата на А2МГ в края на лечението спрямо изходно в зависимост от хистологичната активност:



Средните стойности на А2МГ в края на лечението, групирани според степента на некроинфламаторната активност бяха съответно: 2,26 ± 0,70 при А1; 3,15± 0,83 при А2 и 3,19± 1,05- при А3. Единствено при пациенти със степен на активност А3 на чернодробната болест се наблюдаваше сигнификантен спад на А2МГ в края на лечението (p=0,023). Такъв спад нямаше при пациенти с А1 (p=0,132) и А2 (p=0,417).

Фигура 17. Промени в нивата на А2МГ в края на лечението спрямо изходно в зависимост от стадия на фиброза:



Средните стойности на А2МГв края на лечението при различните стадии на фиброза бяха съответно: 2.58± 0.88 при F1; 2.94± 0.90 – при F2 и 3.14± 0.84 – при F3. Не се наблюдаваше статистически значим спад в стойностите на А2МГ в края на лечението спрямо изходно при изходен стадий на фиброзата съответно F1 (p=0.368), F2 (p=0.482) и F3 (p=0.114).

За да си обясним промените при нивата на А2МГ, проследен през цялото лечение и след приключването му, проследихме промените при двете групи пациенти с най-тежка чернодробна болест: А3 и F3. На таблицата са показани медианите:

Таблица 42. Медиани на А2МГ при пациенти с хистологична активност А3 и стадий на фиброза F3:

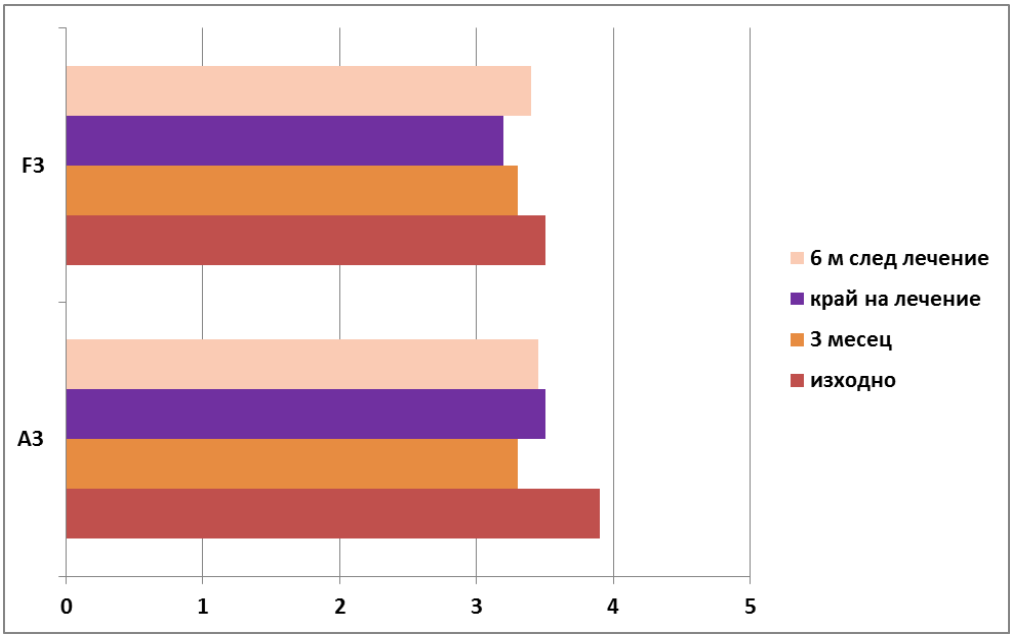
A3	median	**F3/F4**	median
изходно	3.9	изходно	3.5
3 месец	3.3	3 месец	3.3
край на лечение	3.5	край на лечение	3.2
6 м след лечение	3.45	6 м след лечение	3.4

Установихме, че при пациентите с най-изразена степен на некро-инфламаторна активност се наблюдаваше стихване на възпалението в края на лечението (p=0.023),

както беше посочено по-горе и макар и незначимо, А2МГ продължава да спада и 6 месеца след лечението. При проследяване на стойностите при F3, оказва се, че нивата спадат, докато продължава лечението и след което се възстановяват почти до изходните.

Вероятно тези най-тежко болни с начална или вече оформена цироза са една от причините стойностите на А2МГ в цялата група да нарастват след лечение, тъй като чернодробната болест пресиситира дори след успешно ерадикиране на вируса на HCV и съответно неоткриваема HCV RNA 6 месеца след лечение.

Фигура 18. Промени в стойностите на А2МГ през етапите на проследяване при А3 и F3:



Като цяло обаче, това покачване на А2МГ в края на лечението не е зависимо от некро-инфламаторната активност или стадия на фиброзата по METAVIR. На таблицата се представени средните стойности на А2МГ през различните етапи на проследяване в зависимост от активността и фиброзата:

Таблица 43. А2МГ според различните степени на активност и стадии на фиброзата:

А2М	А1	А2	А3	F1	F2	F3
Изх	2.3±0.8	3.4±0.9	3.6±1	2.7±1.1	3.1±0.9	3.4±0.9
3 м	2.2±0.7	3.1±0.7	3.3±1	2.5±0.9	2.8±0.8	3.3±0.9
Край	2.3±0.7	3.1±0.8	3.1±1.1	2.6±0.9	2.9±0.9	3.1±0.8
6 м след	2.5±0.9	3.5±1	3.6±0.7	3.1±1.2	3.3±1	3.4±0.9

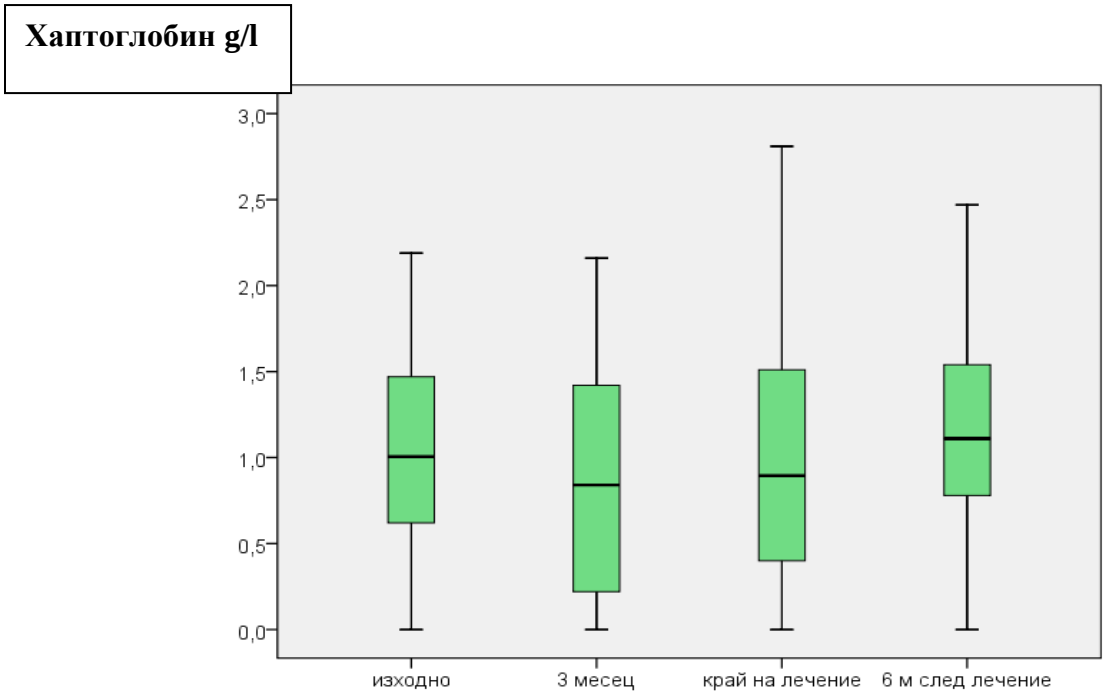
От таблицата се вижда, че пациенти с F1 стадий на фиброзата повишават най-значимо А2МГ след лечение (p= 0.040). Тенденцията на промените е еднаква при всички А1-А3 и F1-F3 за А2МГ-спада на 3-ти месец и след лечение е сходен или по-висок от изходния-т.е. промените не зависят от активността и фиброзата.

Възможно е причината за това покачване на А2МГ след лечение да е свързано с изчерпване на действието на интерферона и отпадане на супресивния му ефект върху протеиновия синтез.

3.3. Хаптоглобин:

По отношение на хаптоглобина се установи значим спад в стойностите му на третия месец от терапията, след което проследен 6 месеца след лечението, се забеляза значимо възстановяване, дори над изходните нива. Известно е, че страничен ефект от лечението с Рибавирин, е наблюдаваната хемолиза и съответно анемичен синдром, което е белег на това, че медикаментът действа. Сама по себе си хемолизата води до изчерпване на хаптоглобина, с което се обяснява и спадът на 3-тия месец от лечението. Покачването на хаптоглобина след лечение може да се обясни с отпадането на действието на медикаментите.

Фигура 19. Серумни нива на хаптоглобин преди и по време на лечение с интерферон алфа и рибавирин:



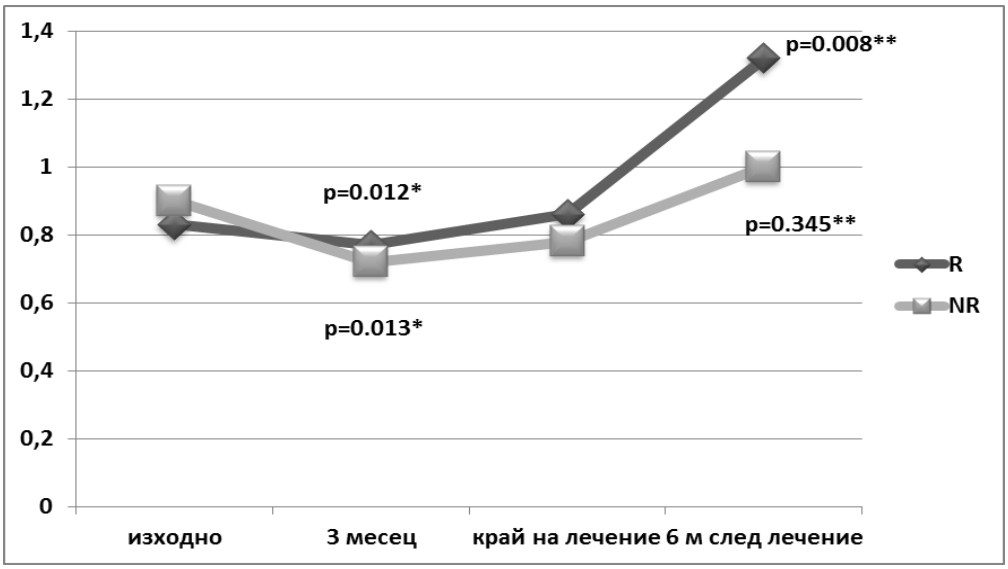
На таблицата са показани средните стойности и медиани на хаптоглобина според отговора на терапията.

Таблица 44. Стойности на хаптоглобин при R и NR

група	период	Брой N	mean±SD	median
R	изходно	84	0.92±0.5	0.83
	3 месец	78	0.78±0.62	0.77
	край на лечение	51	0.93±0.63	0.86
	6 м след лечение	52	1.23±0.47	1.32
NR	изходно	46	0.89±0.53	0.9
	3 месец	45	0.72±0.6	0.72
	край на лечение	25	1±0.74	0.78
	6 м след лечение	32	1.04±0.6	1

При пациентите с отговор на терапията (R) се отчете значим спад на стойностите на хаптоглобина на третия месец и значимо покачване 6 месеца след приключване на лечението, което е благоприятен белег. При NR аналогично имаше значим спад на 3 месец от терапията, а стойностите след лечение не се различаваха значимо от изходните.

Фигура 20. Промени в нивата на хаптоглобин при R и NR:



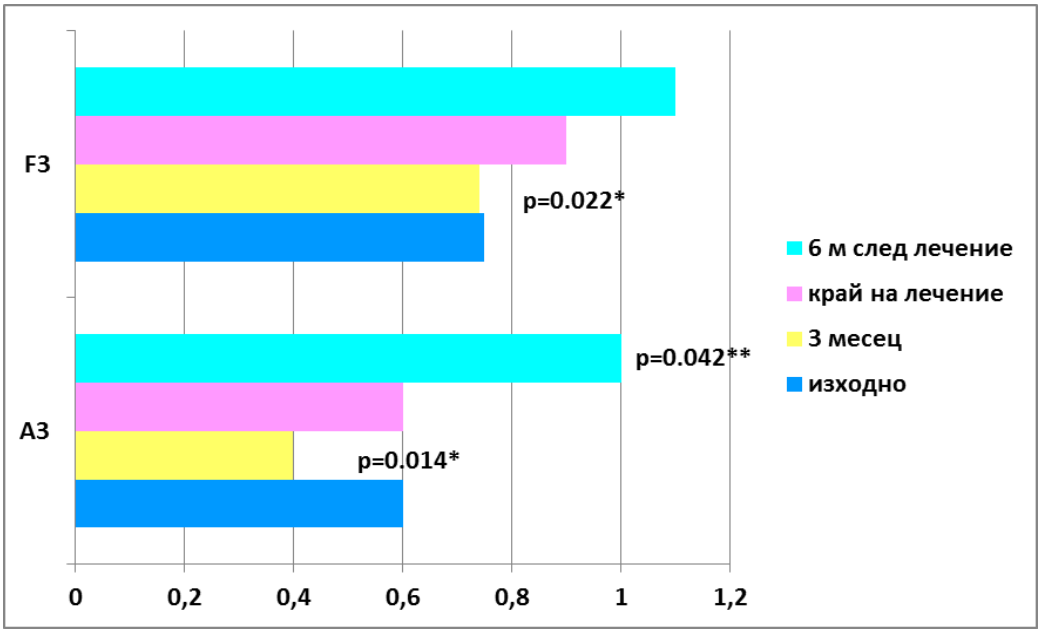
За да си обясним цялостните промени и в нивата на хаптоглобина при проследяване, аналогично на А2МГ, отделихме пациентите с най-тежка чернодробна болест- А3 и F3. На таблицата по-долу са представени медианите по време на лечение.

Таблица 45. Медиани на хаптоглобин при пациенти с хистологична активност А3 и стадий на фиброза F3:

A3	median	**F3/F4**	median
изходно	0.6	изходно	0.75
3 месец	0.4	3 месец	0.74
край на лечение	0.6	край на лечение	0.9
6 м след лечение	1	6 м след лечение	1.1

При пациентите с най-тежка чернодробна болест, също както и при А2МГ, хаптоглобинът спада на 3-тия месец (евентуална супресия от интерферона и хемолиза от рибавирина) и се покачване след лечение. На фигурата долу са показани промените в стойностите на хаптоглобина през периодите на проследяване.

Фигура 21. Промени в стойностите на хаптоглобин през етапите на проследяване при А3 и F3:



*значимост 3 месец спремо изходно

**значимост 6 месеца след лечение спрямо изходно

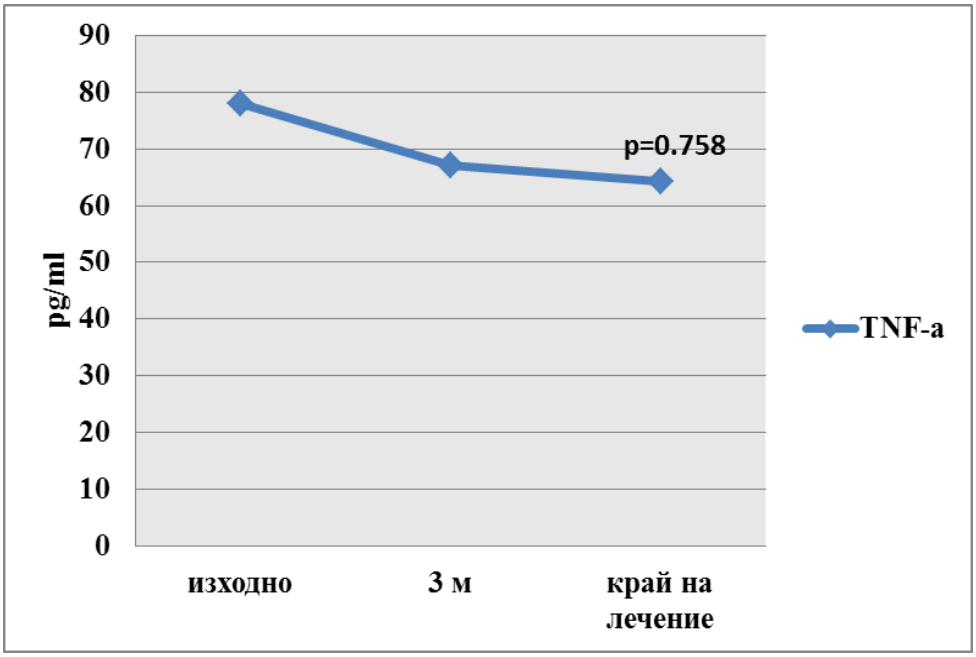
Както се вижда от фигурата и при двете групи има значим спад на 3 месец под действието на интерферона и рибавирина, а след приключването на лечението има значимо покачване на стойностите над изходните, когато се изчерпва действието на медикаментите.

Като извод от коментираните промени в нивата на А2МГ и хаптоглобина по време на лечение и след това, е че при неинвазивната оценка на чернодробната фиброза, трябва да се използват освен скорови модели, включващи компоненти на чернодробното възпаление, също така и по-прости показатели.

3.4. TNF-a, hsCRP, IgG:

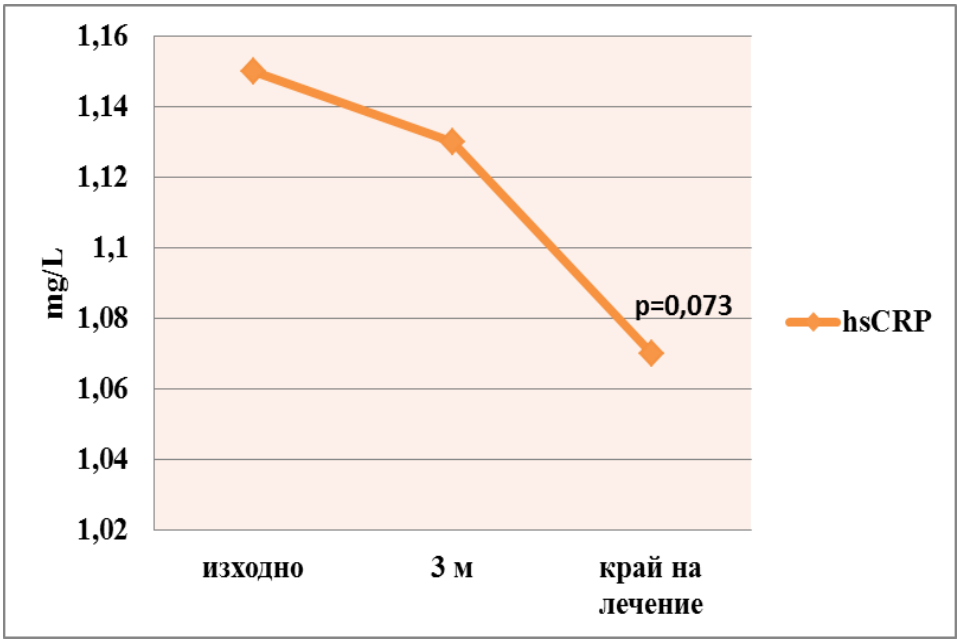
Не се наблюдава значим спад в стойностите на TNF-a по време на лечението.

Фигура 22. Промени в стойностите на TNF-a по време на лечението:



Аналогично нямаше разлика в стойностите на hsCRP проследени през етапите на лечение.

Фигура 23. Промени в стойностите на hsCRP по време на лечение:



Параметрите hsCRP и TNF-а не се променят по време на лечението, вероятно защото едногодишното лечение е твърде кратък период за обратното развитие на болестта. Необходимо е проследяването им и след лечение за да се оценят адекватно промените им и съответно значението им за оценката на ефекта от лечението и промените в чернодробното увреждане.

Стойностите на IgG се промениха значимо чак 6 месеца след лечението, което би могло да се дължи на подтискането му от действието на PEG-интерферона, което продължава и след спирането на лечението.

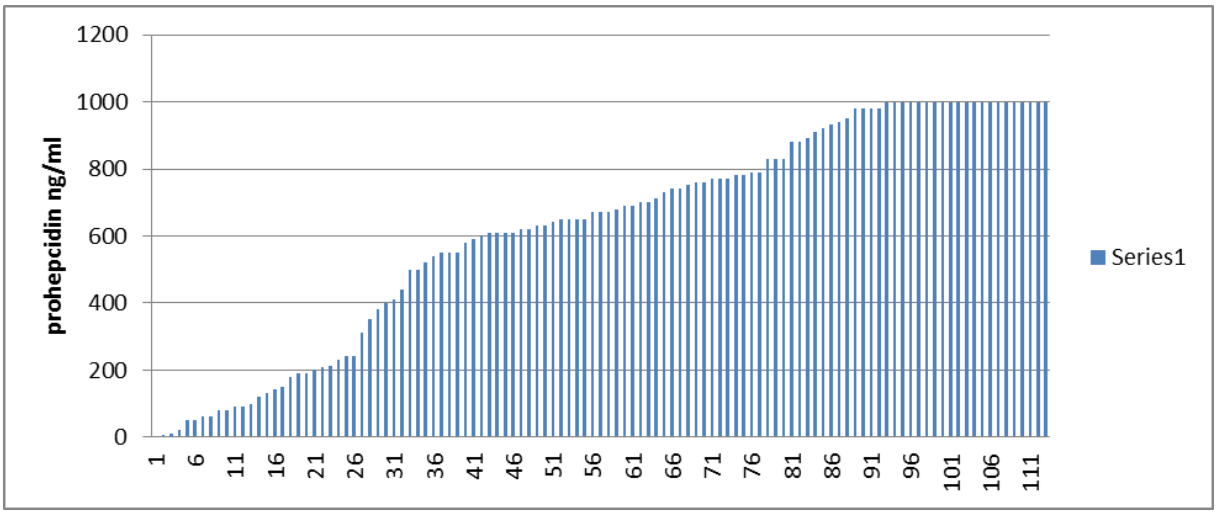
Фигура 24. Промени в IgG по време на лечение:



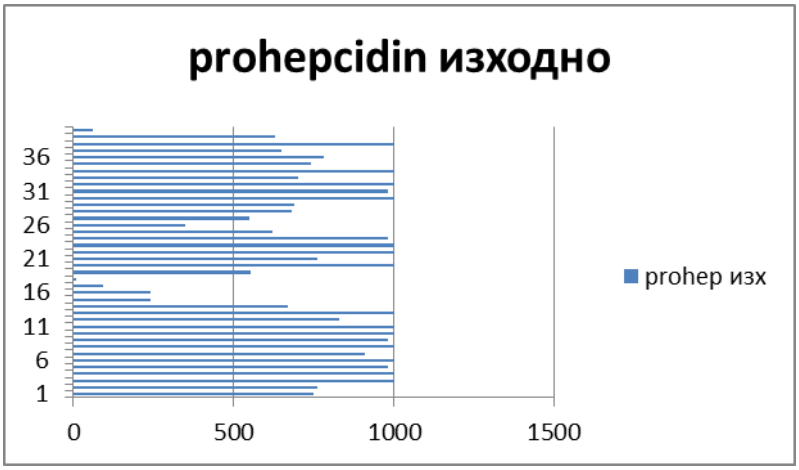
3.5. Прохепсидин:

Фигура 25. Графика на стойностите на прохепсидина при всички изследвани лица обобщено (A) и за трите периода на проследяване поотделно (B, C, D):

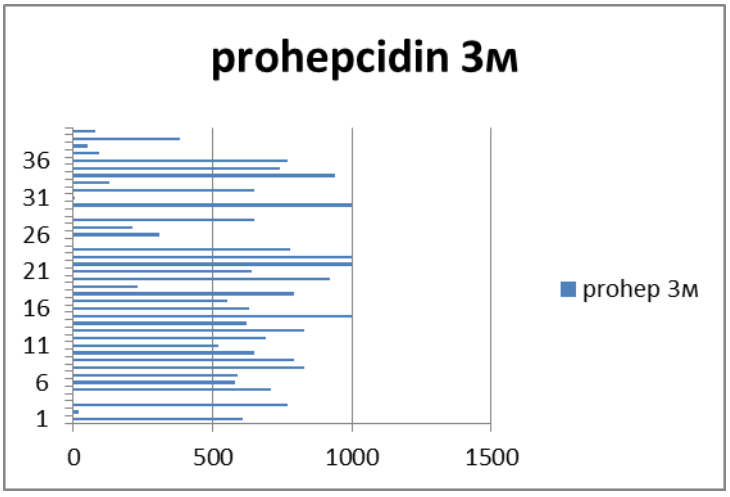
A)



B)



C)



D)

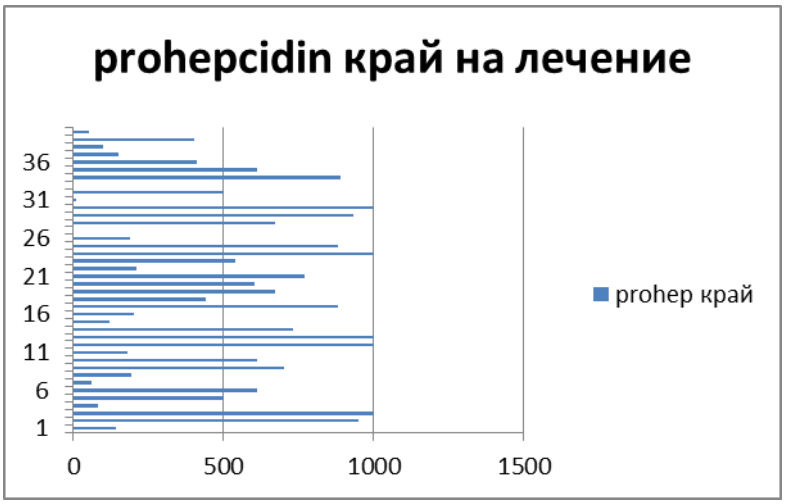
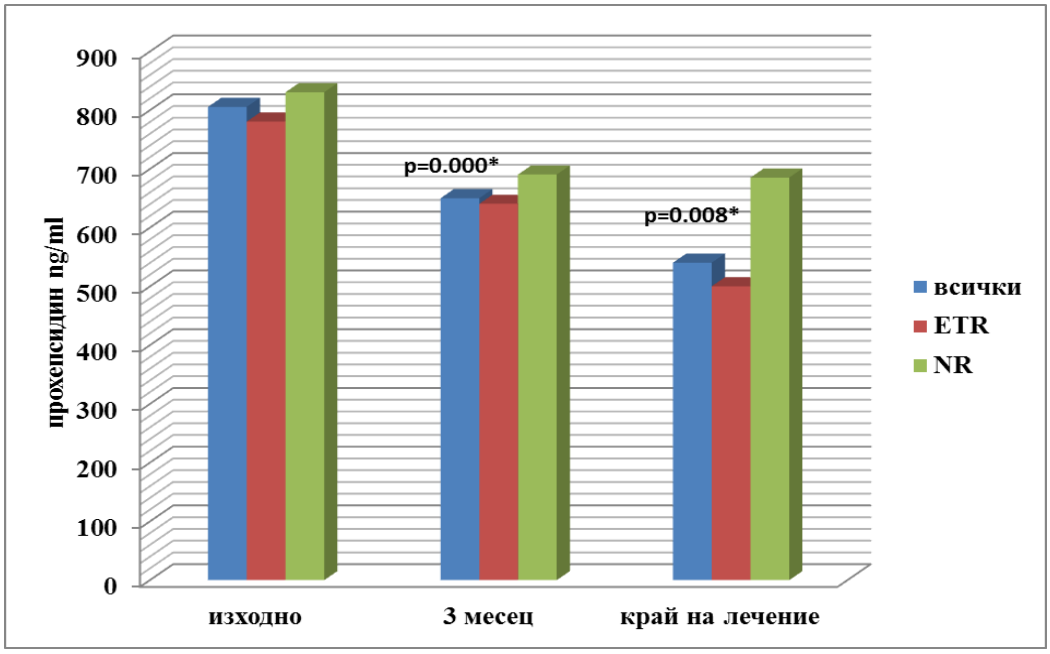


Таблица 46. Динамика на прохепсидин (група B):

показател	изходно	3 месец	край на терапия
Брой (N)	40	40	35
Mean ± SD	754,72±295,31	591,58±312,40	516,96±329,52
Median	805,65	650,15	540,50
Min.	6,10	4,30	10,15
Max.	1000	1000	1000

Фигура 26. Серумни нива на прохепсидин преди и по време на лечение с интерферон алфа и рибавирин.



***значимост за цялата група В**

Общо за всички лекувани пациенти в група В се установи статистически значима разлика между изходните стойности на прохепсидина и тези на третия месец, както и в края на лечението спрямо изходните (p=0.000; p=0.008). Тъй като параметърът прохепсидин беше изследван преди лечение, на 3-ти месец и в края на лечение, разделихме пациентите от тази група В в две подгрупи- група с отговор в края на лечението (ETR) и група без отговор на терапията (NR).

Общо за всички пациенти в група В не се отбеляза връзка между стойностите на прохепсидина с тези на АЛАТ преди и по време на лечението с интерферон алфа и рибавирин.

Таблица 47. Зависимости между стойностите на прохепсидин и АЛАТ през различните периоди на проследяване:

АЛАТ	**изходно**	**3 месец**	**край на терапия**
прохепсидин изходно	N= 40; p= 0.078	N=38; p= 0.935	N=29; p= 0.928
прохепсидин 3 месец	N=40; p=0.567	N=38; p= 0.925	N=29; p= 0.930
прохепсидин край на терапия	N=35; p= 0.528	N=33; p= 0.750	N=28; p=0.933

На таблица 46 са показани изходните характеристики на пациентите, постигнали отговор в края на лечението (ETR).

Таблица 48. Изходни характеристики на пациентите с ETR:

Показател	**Прохепсидин (ng/ml)**
Брой (N)	29
Mean	740,9
Median	780,7
± SD	319,9
Min.	6,1
Max.	1000,0

В групата на пациентите с ETR се очерта статистически значим спад в стойностите на прохепсидина на третия месец и в края на лечението спрямо изходните стойности (p=0.023; p=0.005).

Таблица 49. Динамика в стойностите на прохепсидин при пациенти, постигнали отговор в края на лечението (ETR) N=29:

параметър	Mean ± SD	Median	Значимост (p)	
прохепсидин изходно	740.9 ± 319.9	780.7		
прохепсидин 3 месец	590.3 ± 328.9	640.7	**0.023**	
прохесидин край на терапия	490.8 ± 328.9	500.3		**0.005**

На таблица 11 са показани изходните характеристики на пациентите, неотговорили на лечението (NR):

Таблица 50. Изходни характеристики на пациентите нонреспондери:

Показател	Прохепсидин (ng/ml)
Брой (N)	9
Mean	794,8
Median	830,6
± SD	227,5
Min.	350,5
Max.	1000,0

Промените в нивата на прохепсидина при пациентите NR не достигнаха статистическа значимост по време на лечението с интерферон алфа и рибавирин.

Таблица 51. Динамика в стойностите на прохепсидин при неотговорили на терапията пациенти (NR):

параметър	Mean ± SD	Median	Значимост (p)
прохепсидин изходно	794.79 ± 227.5	830.6	0.260
прохепсидин 3 месец	631.6 ± 282.6	690.5	
прохесидин край на терапия	623.6 ± 367.5	685.3	0.225

Преди лечение прохепсидинът корелираше в умерена степен с хемоглобина (r= 0.364; p= 0.021). Такава корелация не бе наблюдавана между прохепсидина и хемоглобина през различните периоди на лечението.

В групата пациенти с HCV генотип 1 се установи статистически значим спад в стойностите на прохепсидина на третия месец (p=0.028) и в края на лечението (p=0.013) спрямо изходните стойности. При тях също така се установи положителна корелация между изходните стойности на HCV RNA и прохепсидина (Spearman=0,445; p=0,009). Подобна корелация не беше установена при пациентите с генотип 3. При пациентите с генотип 3 също се установи спад в нивата на прохепсидина, но едва в края на лечението (p=0,018) спрямо изходните стойности.

4. Промяна на скоровите системи по време на лечение:

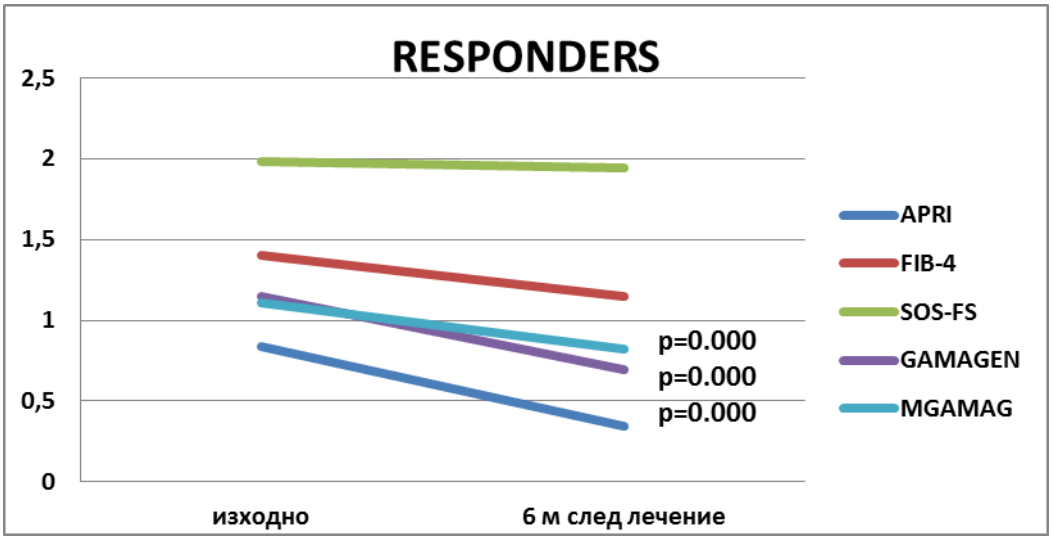
4.1. Скорове при терапия с pegIFN+Riba:

На таблицата са показани средните стойности и медианите на скоровите системи при пациентите на IFN+Ribavirin:

Таблица 52. Стойности на скоровете в динамика при пациенти, провели лечение с IFN+Ribavirin:

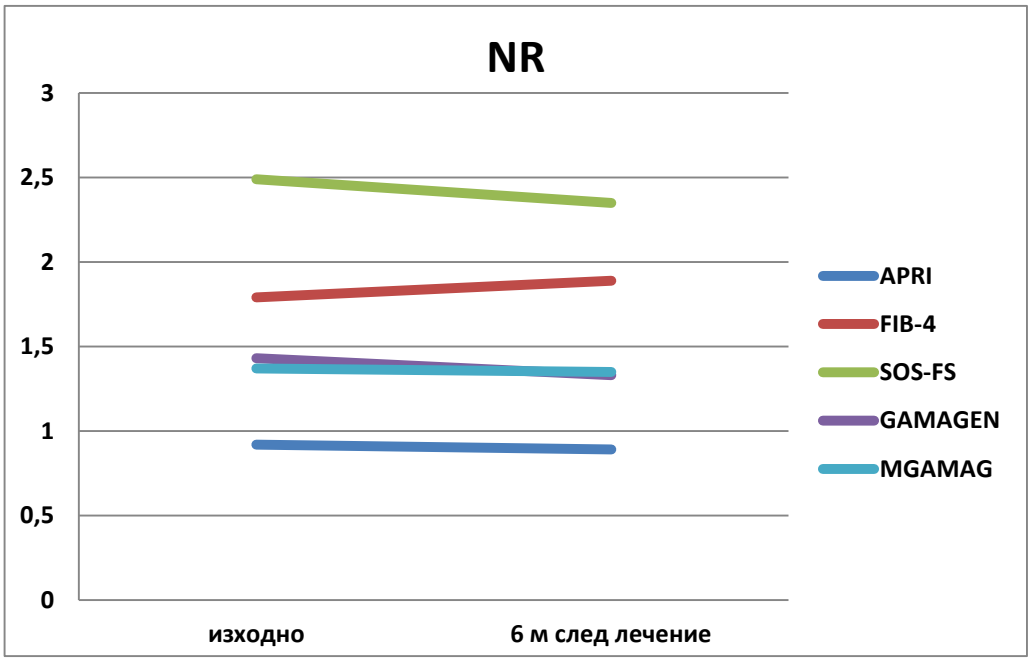
	N=	mean ± SD	median
GAMAGEN изходно	98	1,28 ± 0,67	1,21
GAMAGEN край на терапия	67	0,91 ± 0,54	0,81
GAMAGEN 6 м след терапия	72	0,97 ± 0,69	0,90
M-GAMAGEN изходно	129	1,23 ± 0,77	1,13
M-GAMAGEN край на терапия	98	0,86 ± 0,52	0,75
M-GAMAGEN 6 месеца след терапия	72	1,06 ± 0,63	0,95
APRI изходно	129	0,87 ± 0,71	0,61
APRI 6 м след терапия	83	0,58 ± 0,66	0,39
FIB-4 изходно	129	1,56 ± 1,21	1,22
FIB-4 6 м след терапия	83	1,47 ± 1,23	1,19
SOS FS изходно	126	2,22 ± 1,26	2,25
SOS FS край на терапия	63	1,98 ± 1,15	2,05
SOS FS 6 м след терапия	71	2,12 ± 1,23	2,32

Фигура 27. Промени в скоровите системи при пациенти, отговорили на терапията (Responders):



Разделени по групи на такива пациенти, които са отговорили на терапията и такива неотговорили, то в групата на успешно лекуваните пациенти (SVR, N= 75) се наблюдава статистически значим спад в стойностите на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброза и фиброгенеза. Това е най-значимо за GAMAGEN, M-GAMAGEN и APRI (виж фиг. 26)

Фигура 28. Промени в нивата на пациентите, неотговорили на терапията (NR):



В групата пациенти, неотговорили на лечението (NR, N= 46) не се наблюдаваше статистически значима разлика в стойностите на скоровите системи 6 месеца след лечението спрямо изходните стойности (виж фиг. 27)

<u>GAMAGEN/ NEW GAMAGEN:</u>

По отношение на двата скора за неинвазивна оценка на фиброобразуването, се установи значим спад в края на лечението (т.е. положителна динамика в процеса на фиброобразуване). Нямаше разлика в стойностите в края на лечението и проследени 6 месеца след края на терапията и при двата скора- ефектът, който е постигнат в края на лечението се задържа проследен 6 месеца след това.

Фигура 29. Динамика на стойностите на GAMAGEN и M-GAMAGEN:

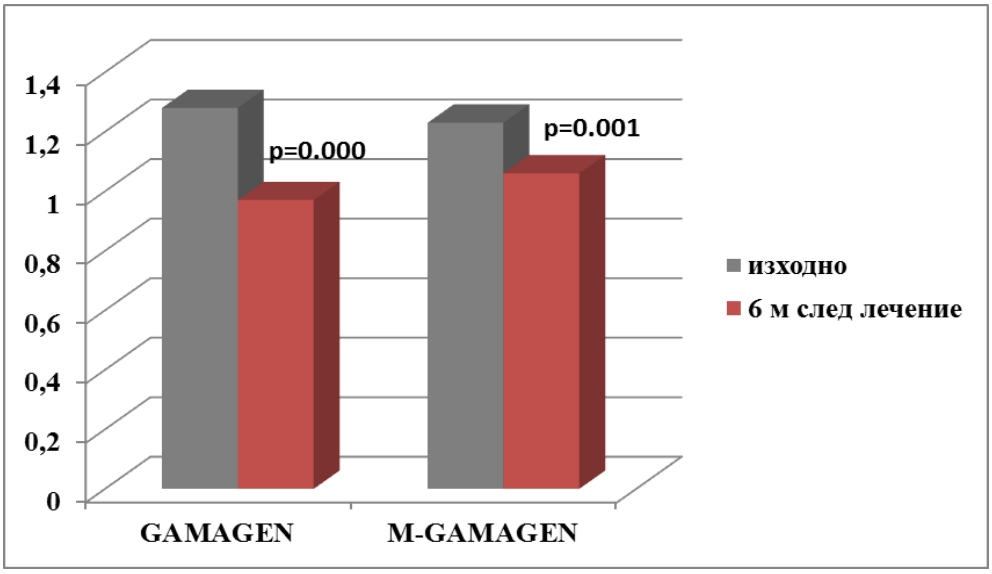


Таблица 53. Коефициенти на корелация GAMAGEN – M GAMAGEN:

КОРЕЛАЦИИ	M-GAMAGEN ИЗХОДНО	M-GAMAGEN КРАЙ НА ЛЕЧЕНИЕ	M-GAMAGEN 6 М СЛЕД ЛЕЧЕНИЕ
GAMAGEN ИЗХОДНО	**r= 0.974 p= 0.000 N= 98**	r= 0.692 p= 0.000 N= 67	r= 0.701 p= 0.000 N= 72
GAMAGEN КРАЙ НА ЛЕЧЕНИЕ	r= 0.695 p= 0.000 N= 67	**r= 0.967 p= 0.000 N= 67**	r= 0.729 p= 0.000 N= 62
GAMAGEN 6 М СЛЕД ЛЕЧЕНИЕ	r= 0.710 p= 0.000 N= 72	r= 0.741 p= 0.000 N= 62	**r= 0.985 p= 0.000 N= 72**

Установи се статистически значима положителна корелация в стойностите на двата скора през всички периоди на проследяване.

В резултат на изразените взаимовръзки между двата индекса за неивазивна оценка на чернодробната фиброгенеза, можем да заключим, че:

Модифицираният GAMAGEN е достатъчно добър, поради високата му корелация с класическия, но е много по-удобен и лесен за приложение в ежедневната клинична практика, защото не изисква определяне на IgG, а се базира на прости рутинни показатели.

4.2. Скорове при терапия с Омбитазвир/АВТ-450/ Ритонавир + Дазабувир ± Рибавирин:

На таблицата по-долу са показани медианите на различните скорове проследени по време на терапията с безинтерферонов режим:

Таблица 54. Медиани на различните скорове изходно и в края на терапията при пациентите, провели лечение с DAA's:

N=12	**median**
GAMAGEN изходно	2.13
GAMAGEN край на терапия	1.03
GAMAGEN 6 м след терапия	1.2
M-GAMAGEN изходно	1.74
M-GAMAGEN край на терапия	1.05
M-GAMAGEN 6 м след терапия	1.2
GUCI изходно	1.21
GUCI край на терапия	0.46
GUCI 6 м след терапия	0.42
FCI изходно	0.25
FCI край на терапия	0.19
FCI 6 м след терапия	0.1
APRI изходно	1.17
APRI край на терапия	0.41

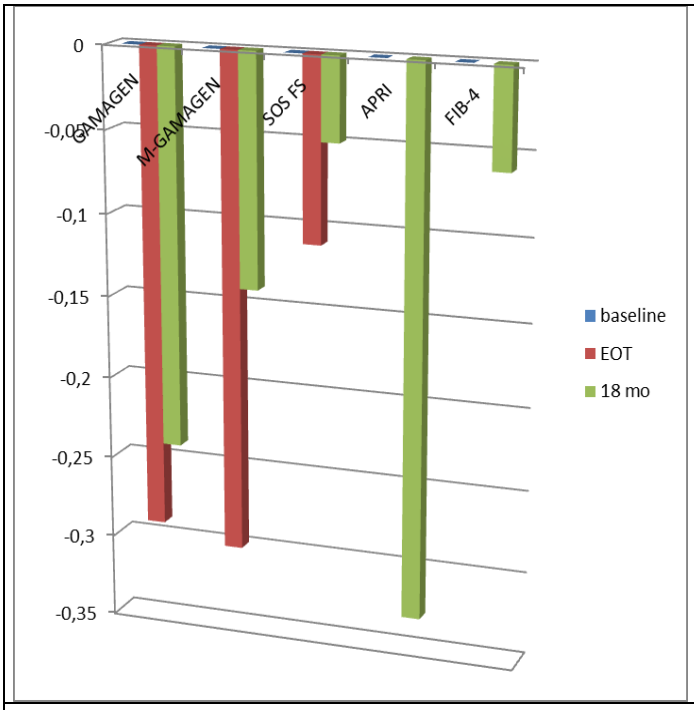
При безинтерфероновата терапия отново се потвърди високата корелационна зависимост между GAMAGEN и M-GAMAGEN. Също толкова силна беше зависимостта между GUCI и APRI, така също и FIB-4 с GUCI и APRI. На следващата таблица са посочени тези корелации:

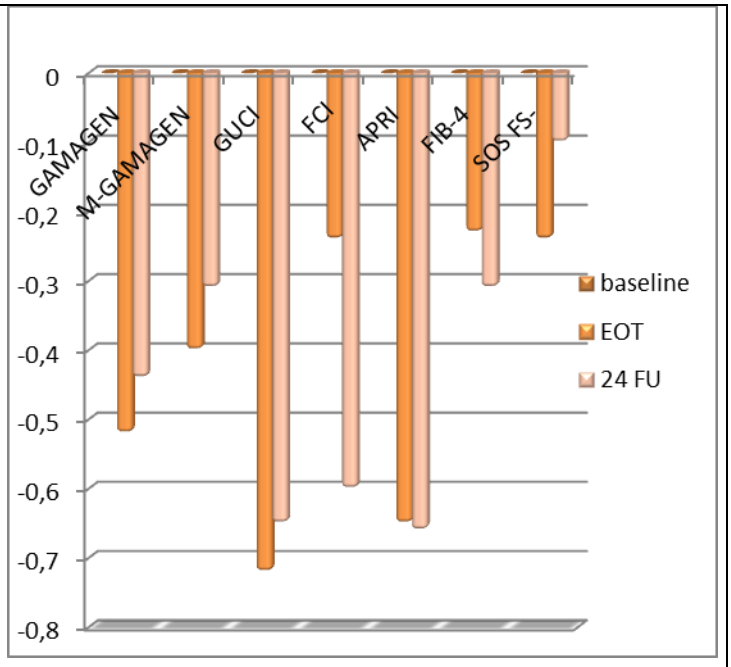
Таблица 55. Корелации между скоровете при пациенти, провели безинтерферонова терапия (само значими):

Корелация	12 седмица
GAMAGEN – M GAMAGEN	**r= 0.900; p= 0.000**
GUCI – APRI	**r= 0.958; p= 0.000**
GUCI – FIB-4	r= 0.685; p= 0.014
APRI – FIB-4	r= 0.811; p= 0.001

Съпоставихме промените в скоровите системи при двата терапевтични режима като % спад спрямо изходно. На таблицата по-долу са представени тези промени:

Фигура 30. Промени в скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата при двата терапевтични режима:





PEG+RIBA	**DAA**
Най-значимо се променя APRI, следван от GAMAGEN и M-GAMAGEN.	**Най-значимо се променят GUCI и APRI, малко по-слабо GAMAGEN и M-GAMAGEN**

V. ДИСКУСИЯ:

В настоящото проучване установихме, че с нарастване на възрастта на пациентите с хронична HCV инфекция значително нараства A2MG, както и активността на болестта хистологично предимно до 40-50 години и много по-слабо фиброзата и то след 40 години и обратно, почти незначително намалява нивото на хаптоглабина и то предимно до 40 години. Доказа се сигнификантна положителна корелация между изходните нива на А2МГ и възрастта на пациентите (Spearman= 0.618; p=0.000) и по-слабо изразени корелации на възрастта с изходните хаптоглобин и степента на хистологична активност и фиброзта.

Средната стойност на A2MG нараства успоредно на активността и фиброзата в черния дроб. Обратно на това, стойностите на хаптоглобина бяха по-високи при пациенти с по-лека активност на чернодробната болест. Единствено при изходните стойности на серумния албумин се доказа значима разлика в зависимост от хистологичната активност, т.е. пациенти, които имаха по-ниска степен на активност на чернодробната болест (А1) имаха по-високи средни стойности на албумина (p=0.002). Концентрацията на хаптоглобин беше в слаба негативна корелация с оценката на хистологичната активност (Spearman= -0.199; p=0.026), както се очаква и съответно на проучванията на О. Косева.

Преди лечението виремията корелира с прохепсидина (Spearman=0,475; (p=0,002), като не се намери разлика в нивата на прохепсидина между различните HCV генотипове. Разлика между генотиповете имаше по отношение на стойностите на А2МГ, HCV RNA и албумина преди лечение. Пациентите с генотип 1 имаха значимо по висока изходна виремия и А2МГ, а тези с генотип 3- по-висок изходен серумен албумин. Тези промени вероятно се дължат на това, че пациентите с генотип 3 обикновено са по-млади хора и имат по-лека чернодробна болест. Установи се и статистически значима разлика в изходните нива на серумния прохепсидин при двата пола в полза на мъжете (p=0.017) , което може да се дължи на установеното различие между тях в серумните нива на HCV RNA.

Комбинирането на различни показатели се използва за неинвазивна оценка на активността и фиброзата в черния дроб, като основната част от тези системи различава с голяма вероятност цирозата на черния дроб. Днамиката на стойностите на тези тестове не е достатъчно добре оценена и то в различните популации. Засега като стандарт се приема FIBROTEST, но не може да се очаква, че за една година лечение ще се промени фиброзата в черния дроб. Може да намали актовността, но не и фиброзата. От друга страна вероятно спира и фиброобразуването. По тази причина ние решихме да използваме повечето от утвърдените тестове, както и единствения в литературата доказан тест за фиброгенеза, а не за фиброза, който е предложеният от О. Косева и сътр. GAMAGEN. Ние опростихме теста, като заменихме имуноглобулин Г с

глобулините като разлика между общия белтък и албумина и установихме изключително висока карелация между модифицирания и оригиналния GAMAGEN: **r= 0.974, p= 0.000.** Сравнихме двете вариации на теста GAMAGEN с различни белтъци, хистологичната картина по METAVIR и другите използвани при хроничен хепатит С тестове. Той корелираше слабо с хистологичната картина, което приемаме за добър знак – корелационене коефициинт около 0.300, но много добре с тестовете APRI, FIB-4 и SOS FS и в малко по-малка степен с албумина, глобулините и алфа-2 макроглобулина.

Наблюдава се много висока корелация на А2МГ (положителна) и албумина (отрицателна) със степента на хистологична активност, в по-малка степен, но също значима беще корелацията на IgG и хаптоглобин (отрицателна) с хистологичната активност. Стадият на чернодробна фиброза корелираше в най-голяма степен отново с А2МГ, по-слабо-с албумин (отрицателна) и IgG. Цитолитичните ензими показаха значима положителна корелация с А2МГ и отрицателна-с хаптоглобин, а тромбоцитите-значима отрицателна зависимост с А2МГ и положителна-с хаптоглобин, които са още едно потвърждение на ключовата роля на А2МГ и хаптоглобина при чернодробното увреждане.

По отношение на скоровете за неинвазивна оценка на фиброзата APRI, FIB-4 и SOS FS при пациентите, провели лечение с интерферон и рибавирин, отново в най-голяма степен те корелираха със стойностите на А2МГ и хаптоглобина, така също и с IgG. В по-малка степен, но също значимо, скоровите корелираха с нивата на албумина и глобулините. Установихме силно изразени изходни зависимости на GAMAGEN и M-GAMAGEN с албумина, глобулините, алфа-2 макроглобулина, APRI, FIB-4 и SOS FS. Също така и при двата индекса имаше умерено изразени зависимости с хаптоглобина (отрицателна), хистологичната активност и фиброзата. M-GAMAGEN корелираше умерено с изходните стойности на TNF-a.

Сериозни връзки установихме между GAMAGEN, SOS FS, APRI и FIB-4, както и между FIB-4 и APRI и SOS FS. По същия начин корелираха стайността на GAMAGEN и M GAMAGEN с GUCI, FCI, както и GUCI с FCI, APRI, FIB-4 и FCI с APRI теста (при безинтерферонов режим на лечение).

Лечението със стандартна комбинация пегилиран интерферон рибавирин бе ефективно в близо 60% от случаите, което съвпада с данните на Кръстев, Антонов, Желев и сътр. и е малко по-ниско от данните на К. Антонов-81%, докато безинтерфероновата терапия е ефективна при всички болни.

По отношение на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата, то очаквано имаше висока обратна корелация на тромбоцитите със скоровете, в чиито състав участват-APRI и FIB-4.

В настоящото проучване промените в нивата на хаптоглобина не можеха да бъдат ориентир за степента на хемолизата предизвикана от рибавирин. Екстравазалната хемолиза, причинена от рибавирина е най-вероятното обяснение.

В хода на лечението значимо спаднаха серумните нива на A2MG и хаптоглобина. Шест месеца след спиране на терапията обаче, нивата на А2МГ и хаптоглобина отново се покачиха и достигнаха дори по-високи нива от изходните, включително и при успешно отговорилите на терапията. Покачването на хаптоглобина след лечение е положителен феномен- т.е. освен, че се възстановява синтеза му, би могло да бъде белег на регресия на фиброзата. Известно е, че интерферонът има супресивен ефект върху протеиновия синтез, което може да се види и от промените в албуминовите нива. В опит за обяснение на спада на А2МГ след лечение, отделихме пациентите с най-тежка чернодробна болест. Оказа се, че при пациентите с напреднала фиброза или оформена вече цироза (F3 и F4) има покачване след приключване на лечението, т.е. вероятно е необходимо повече време за да претърпи фиброзата обратно развитие при тези пациенти. Подобна тенденция имаше обаче и при по-леките стадии на чернодробна болест. Съответно може да се постави въпроса дали това е временен re-bound феномен или белег за връщане на активността на болестта и може да се заключи, че няма зависимост между тежестта на чернодробното заболяване и промените в нивата на А2МГ и хаптоглобина след лечение. Предполагаме, че отпадането на супресивния ефект на интерферона и рибавирина, е по-вероятното обяснение за промените.

Открихме оскъдни данни в литературата за промените в нивата на показателите на възпалението при HCV инфекция по време на лечение и почти никакви за проследяването им след лечение, самостоятелно извън индексите за неивазивна оценка на фиброзата, с които да съпоставим нашите данни. По отношение на стойностите на А2МГ, спред данните на З. Кръстев- той е най-маркантно повишен при активна чернодробна болест и цироза, но при намалена синтетична функция и спад на албумина, може да се наблюдават и по-ниски стойности, което е още една предпоставка да се мисли, че намалението му може да се дължи например на подтисната продукция от интерферона. Поради тази причина има разлики в нивата по време и след терапия. В литературата има много малко данни в това отношение, ето защо ние препоръчваме изследване на показателите динамично-преди лечение, в хода на лечение, в края на терпията и при проследяване след лечение.

Единствено при пациенти със степен на активност А3 на чернодробната болест се наблюдаваше сигнификантен спад на А2МГ в края на лечението (p=0.023). Такъв спад нямаше при пациенти с А1 и А2. Лечението с интерферон и рибавирин води до намаление на серумния албумин още от третия месец на лечение, като то е най-изразено в края на лечението, а 6 месеца след спирането му, серумния албумин се повишава по отношение на края на лечението и не достига нивата си преди терапия.

Обратен ефект се наблюдава при безинтерферонов режим – албуминът се повишава още на третия месец, който в тези случаи е бил край на лечението и продължава да се повишава 3 месеца след преустановяване на ефективното лечение.

Елиминацията на вирусната инфекция в края на лечението (група B) бе съпроводена и със спад в стойностите на прохепсидина. В групата на пациентите с ETR се очерта статистически значим спад в стойностите на прохепсидина на третия месец и в края на лечението спрямо изходните стойности, по-изразен за генотип 1 и по-бавен за генотип 3. Може да се предположи, че размножаването на HCV генотип 1 влияе на хепсидиновата експресия. При инфекция с HCV генотип 3 тази зависимост не е така ясна. Промените в нивата на прохепсидин при пациентите NR не достигнаха статистическа значимост по време на лечението с интерферон и рибавирин, което се потвърждава и от данните на Jaroszewicz и сътр. Отново в потвърждение на техните резултати, ние установихме при HCV генотип 1 положителна корелация между изходните стойности на HCV RNA и прохепсидина (Spearman=0.445; p=0.009). Това би могло да има прогностично значение по отношение на ефекта от лечението.

Нивата на ИгГ спаднаха значимо едва 6 месеца след края на лечението, а тези на CRP и TNF-a- не се промениха до края на лечението. Вероятно техните нива трябва да се проследят и след лечението в следващи проучвания, за да се оцени значението им за ефекта от лечението и промените в чернодробното увреждане.

Промените започват от третия месец и са по-изразени или значими при тези, които ще имат отговор на терапията.

Разделени по групи на пациенти, които са отговорили на терапията и неотговорили, в групата на успешно лекуваните пациенти (R, N= 75) се наблюдава статистически значим спад в стойностите на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброза и фиброгенеза. Това е най-значимо за GAMAGEN, M-GAMAGEN и APRI. Изключителната корелационна връзка между оригиналния и модифицирания GAMAGEN се запази по време на лечението – r> 0.960, което подкрепя абсолютно взаимозаменяемостта на двата варианта. ***Модифицираният GAMAGEN е достатъчно добър, поради високата му корелация с класическия, но е много по-удобен и лесен за приложение в ежедневната кл. практика, защото не изисква определяне на IgG, а се базира на прости рутинни показатели.***

Намаление на стойностите на отделните скорове наблюдавахме и при краткотрайното лечение с Омбитазвир/АВТ-450/ Ритонавир + Дазабувир ± Рибавирин. Какво се очертава –по време на лечението с двойна терапия с най-голям процент спадат APRI и GAMAGEN, а при директно действащите агенти – APRI и GUCI, който съвсем малко се различава от APRI (допълнително е включено протромбиново време), както и двата варианта на GAMAGEN. Естествено и в двата вида лечение, по-мудни са SOS FS и FIB-4, тъй като те отразяват фиброзата. Това наблюдение освен, че потвърди някои от

нашите знания до момента, ни обогати с други и ни подпомага да сме убедени, когато съобщаваме на пациента, че не само вече няма вирус, но и като цялост има подобрение на чернодробната болест от лечението на хроничния хепатит. Всички тези тестове са саздадени за да определят степента на цирозата и за съжаление те разграничават добре само напредналата филроза от ненапредналата. Единствено GAMAGEN е разработен на базата не хистологични белези за фиброобразуване. Малко са опитите за проследяване на тестовете по време на лечението. Тъй като повечето са за фиброза, те трудно биха се променили. Тестовете които разграничават цирозата на базата на тромбоцити се променят само, защото се променят чернодробните ензими, но тромбоцитите не могат да се променят бързо. Това са основнаията първо- да опростим GAMAGEN и второ- да направим проследяване на панела от утвърдени тестове. Съответно това очертава картината на разликите интерферон –безинтерферонова терапия. Предлагаме да се използват 2 вида тестове – такива които да съдържат биологично различни компоненти. Едните, съдържащи синтезираните от черния дроб белтъци и другите, включващи демографските показатели, тромбоцитен брой, цитолитични ензими и др., с цел оценка на чернодробната болест преди лечение и подобрението ù след лечение. Посочените тестове са прости и достъпни за всяка лаборатория. Много автори са съпоставяли неивазивни скорови системи помежду им и с чернодробна хистология преди лечение, като съобщават по-добра прогностична стойност за чернодробна фиброза на един или друг показател. Не открихме данни за проследяване на промените на скорови системи преди и след лечение при хепатит С.

В заключение може да се каже, че това е единственото проучване при болни с хроничен хепатит С, в което са проследени изходно, в хода на лечение и след него промените на белтъците, участващи в чернодробното възпаление и на скоровите системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата, както и сложните взаимовръзки между тях.

VI. ИЗВОДИ:

1. По време на лечение с IFN и Ribavirin се променят показателите на възпалителния отговор (вкл. прохепсидин).
2. При HCV генотип 1 и вирусологичен отговор се понижават прохепсидиновите нива, което може да предскаже постигането на вирусологичен отговор
3. Противовъзпалителният ефект на лечението с IFN и Ribavirin започва от 3-ти месец. Промените в хаптоглобиновите нива по време на терапия не могат да предсказват вирусологичен отговор. Алфа 2 макроглобулинът е най-удобния серумен биомаркер за оценка на активността, фиброгенезата и фиброзата при хроничен хепатит С
4. Обединяването на показателите на възпалението в скорови системи дава възможност за лесно проследяване на терапевтичния ефект върху чернодробната болест. При пациенти с траен вирусологичен (SVR), се наблюдават значими промени с скоровите системи.
5. Модифицираният GAMAGEN е достатъчно добър и много лесен за приложение в клиничната практика, защото се базира на прости рутинни показатели
6. Най-изразена промяна се наблюдава в стойностите на GAMAGEN, M-GAMAGEN и APRI при лечение с интерферон и на GUCI и APRI, следвани от FIB-4 при безинтерферонов режим. Най-слаби са промените във SOS-FS, тъй като отразява фиброзата. По-изразени промени има в индекса GAMAGEN, който е специфичен за фиброобразуването.
7. Промените в чернодробната функция трябва да се оценяват не само по време на лечение, но и 6 месеца след спирането му, тъй като медикаментите сами за себе си променят някои от показателите. Разумно е да се използват поне две скорови системи- едната, която включва индивидуални белтъци, а другата чернодробни ензими и тромбоцити.

VII. ПРИНОСИ:

1. За първи път са проследени промените в нивата на различни биомаркери и цитокини в хода на противовирусно лечение при български пациенти с хепатит С и е направен опит за изясняване на ролята им за чернодробното увреждане
2. За първи път са проследени промените в различни скорови системи за неинвазивна оценка на фиброзата и фиброгенезата в хода на противовирусно лечение при български пациенти с хроничен хепатит С
3. Предложена е модификация на вече валидиран скор за неинвазивна оценка на фиброгенезата, която включва по-прости и рутинно изследвни показатели
4. Установено е различие в поведението на синтезираните в черния дроб белтъци при стандартно лечение – интерферон+ рибавирин и безинтерферонов режим

VIII. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА:

1. **Атанасова Е.,** Антонов К., Иванова А., Желев Д., Матева Л. **Прохепсидин и хаптоглобин при пациенти с хроничен вирусен хепатит С преди и по време на лечение с пегинтреферон алфа-2а и рибавирин**. Българска Хепатогастроентерология, 2014, 2: 18-22

2. **Атанасова Е. Показатели на възпалението при хронични чернодробни заболявания-обзор.** Българска хепатогастроентерология, 2015, 1:22-27

3. **Atanasova E.,** Martinova F., Jelev D., Antonov K., de Mey C., Mateva. L., Krastev Z. **Alpha-2 macroglobulin is the simplest serum Biomarker for liver fibrosis and fibrogenesis in chronic hepatitis C**. Medinform 2015, 2: 153-164

4. Krastev Z., Jelev D., Antonov K., Petkova T., **Atanasova E**., Zheleva N., Tomov B., Boyanova Y., Mateva L. **Ombitasvir, paritaprevir, ritonavir, dasabuvir and ribavirin in cirrhosis after complete destruction of hepatocellular carcinoma.** *World J Gastroenterol* 2015; In press

Списък на научни участия в български и международни форуми във връзка с дисертацията:

1. **Атанасова Е.**, Валериева Я., Маринова Ц., Желев Д., Антонов К., Матева Л., Кръстев З. Терапевтични подходи при лечение на пациенти с дългогодишна HBV-инфекция-постер. Национална конференция по Гастроентерология „100 години акад. Ташо Ташев“, Пловдив 22-24 октомври 2009.

2. **Atanasova E.** Metabolic steatosis and response to antiviral therapy in case of genotype 1 chronic hepatits C-oral presentation of clinical case. EASL Clinical School “Metabolic liver diseases” 28-30 May 2010 Torino, Italy

3. Петкова Т., **Атанасова Е.** Перорален Silymarin и HCV RNA в реалния живот. Устна презентация в рамкте на фирмен симпозиум, 12-ти Юбилеен Конгрес по Гастроентерология, 12-14 юни 2014, София

4. **Атанасова Е.** Остра бъбречна недостатъчност при пациентка с декомпенсирана чернодробна цироза. Устна презентация на клиничен случай – Млади гастроентеролози в рамките на Национална конференция по Хепатология „Усложнения на чернодробната цироза“ София, 27-28 Ноември 2015

5. **Atanasova E.** Presentation of goal and subject my research- oral presentation. Young Investigator Workshop on the occasion of the UEGW, 24 October 2010 Barcelona, Spain

6. **Atanasova E.,** Jelev D., Antonov K., Mateva L., Krastev Z. Liver damage during standard bitherapy for chronic hepatitis C. 25th Jubilee Annual Assembly of IMAB, 14-17 May 2015 Golden Sands, Bulgaria

7. **Atanasova E.,** Jelev D., Antonov K., de Mey C., Mateva L., Krastev Z. GAMAGEN and its modifications - simplified non-invasive assessments of liver fibrogenesis. European Gastro Update, 12-13 June 2015 Budapest, Hungary

Благодаря на:

- **проф. Кръстев и доц. Желев, че повярваха в мен!**
- **всички мои учители и колегите си от клиниката по Гастрентерология на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“**
- **семейството си- за търпението и обичта!**