

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
УМБАЛ „СВ. ИВАН РИЛСКИ”
КЛИНИКА ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ

Д-Р ИВАН ЦВЕТАНОВ ВЪЛКОВ

**СЕРУМНИ ЛИПИДИ ПРИ ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С И ВРЪЗКАТА
ИМ С ХАРАКТЕРА И ЕВОЛЮЦИЯТА НА БОЛЕСТТА**

АВТОРЕФЕРАТ

на

Дисертационен труд

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”

Научна специалност – Гастроентерология – 7.1

Научен ръководител

Проф. д-р Красимир Антонов Антонов, дмн

София, 2018 г.

Дисертационният труд е написан на 120 стандартни печатни страници и е онагледен с 13 фигури и 29 таблици. Библиографията съдържа 172 източника, от които 3 са на кирилица, 169 на латиница.

Изследванията свързани с дисертационния труд са проведени в Клиника по гастроентерология, Клинична лаборатория и Лаборатория по клинична имунология към УМБАЛ „Св.Иван Рилски”, София.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани 5 статии и 5 научни съобщения на международни научни форуми.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрен съвет на Катедра по вътрешни болести при Медицински университет-София на 11.04.2017 г с решение за официална защита.

Научно жури в състав:

Официални рецензенти:

1. Проф. д-р Красимир Антонов Антонов, дмн – вътрешен член за МУ-София, Катедра по вътрешни болести на Медицински факултет при МУ-София, научен ръководител на докторанта
2. Проф. д-р Симеон Георгиев Стойнов, дмн – външен член за МУ-София, пенсиониран преподавател

Становища от:

1. Доц. д-р Асен Ненов Алексиев, дм – вътрешен член за МУ-София, Катедра по вътрешни болести на Медицински факултет при МУ-София
2. Доц. д-р Диана Иванова Николовска, дм – външен член за МУ-София, МВР болница
3. Проф. д-р Крум Сотиров Кацаров, дмн – външен член за МУ-София, Военномедицинска Академия-София

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

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 27.03.2018 г от 13:00 ч в аудиторията на УМБАЛ „Св.Иван Рилски”, бул. Акад. Иван Евст. Гешов 15, София.

СЪДЪРЖАНИЕ

Използвани съкращения	3 стр.
Въведение.....	5 стр.
Цел и задачи.....	6 стр.
Материали и методи.....	7 стр.
Резултати	14 стр.
Обсъждане.....	37 стр.
Изводи.....	42 стр.
Научни приноси.....	44 стр.
Публикации и научни съобщения.....	46 стр.
Признателност	48 стр.

I. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

На кирилица:

АЛТ – аланин аминотрансфераза
Апо-В – аполипопротеин В
Апо-Е – аполипопротеин Е
АСТ – аспартат аминотрансфераза
ГГТ – гама-глутамилтрансфераза
ГРГ – горна референтна граница
ЗДТ2 – захарен диабет тип 2
ИР – инсулинова резистентност
ИТМ – индекс на телесна маса
ЛВЧ – липовирочастици
ММФС – моноцитно-макрофагеална система
МС – метаболитен синдром
НАС – неалкохолна стеатоза
НАСБ – неалкохолна стеатозна болест
НАСХ – неалкохолен стеатозен хепатит
НС – несигнификантен
НГН – нарушена гликемия на гладно
НГТ – нарушен (намален) глюкозен толеранс
НПС – негативна предсказваща стойност
ППС – позитивна предсказваща стойност
СЗО – Световна здравна организация
СО – стандартно отклонение
ТВО – траен вирусологичен отговор
ХХС – хроничен хепатит С

На латиница:

AUROC – площ под ROC крива
CCL2 – хемокин (С-С) лиганд тип 2, моноцитен хемоатрактантен протеин -1
CCR2 – хемокин (С-С) рецептор тип 2
ELISA – ензим-свързан имуносорбентен анализ
HCV – хепатит С вирус
HCV Ag – (сърцевинен) антиген на хепатит С вируса
HCV РНК – хепатит С вирусна рибонуклеинова киселина

HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance

LDL – липопротеини с ниска плътност

Lp (a) – липопротеин (a)

LS – liver stiffness, еластографска плътност на чернодробния паренхим

Ig – десетичен логаритъм

LR (+) – likelihood ratio positive, положителен коефициент на вероятност

LR (-) – likelihood ratio negative, отрицателен коефициент на вероятност

Max – максимална стойност

(METAVIR) - Meta-Analysis of Histologic Data in Viral Hepatitis, хистологична скорова система за хроничен вирусен хепатит

Min – минимална стойност

MCP-1 – моноцитен хемоатрактантен протеин – 1

N – брой

Non-HDL – сбор на липопротеините с различна от висока плътност

ROC – receiver operating characteristic, работната характеристика, разграничителна способност на метод

TG/LDL – съотношение на серумните триглицериди и липопротеини с ниска плътност

VLDL – липопротеини с много ниска плътност

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Вирусът на хепатит С (HCV) е преносим по кръвен път, причинител на остър и хроничен хепатит при човека. Към наши дни съществуват методи за прецизна молекулярна и серологична диагностика на инфекцията, и ефективни терапевтични схеми за широкия клиничен спектър на инфектирани субпопулации. Независимо от успеха в лекарствената терапия, някои страни от природата, имунните и метаболитни патогенетични механизми на хроничния хепатит С (ХХС) остават неизяснени. Значимостта на проблема се определя от широкото разпространение на HCV, вирулентността на патогена, често безсимптомния ход на протичане на чернодробната болест и нарастващите данни за извънчернодробни прояви на хроничната инфекция.

При диагностициране на ХХС е необходимо да бъде определен стадия на чернодробната болест. Наличието на чернодробна фиброза, чернодробна цироза или декомпенсирана чернодробна цироза определят неговата прогноза, избора на терапия и дългосрочно проследяване. Високата успеваемост на противовирусната терапия във всички стадии на компенсирания чернодробна болест превърна чернодробната биопсия в непередпочитан в много страни метод, макар референтен стандарт за оценка на болестта. В практиката са приети лабораторни методи (сурогатни маркери и скорове), базирани на ултразвук и механични вибрации методи (еластография) за неинвазивна оценка на чернодробната фиброза, които доближават диагностичната стойност на хистологичния метод.

Натрупани са данни за взаимовръзки на инфламаторните механизми на заболяването с чернодробната стеатоза, нарушения в липидната и глюкозната обмяна, и данни за повишен кардиометаболитен риск. Към момента отделният принос на всеки един от тези фактори за дългосрочната прогноза на заболяването не е ясно определен. Рискът от декомпенсация на чернодробната болест и първичен чернодробен рак намалява след успешно лечение на вирусната инфекция. Той остава съществен при наличието на напреднала септална чернодробна фиброза и чернодробна цироза, които не винаги търпят обратно развитие при излекуването от вирусната инфекция. Метаболитните и токсични фактори са тези, които поддържат чернодробно увреждане след успешно елиминиране на причинителя.

IV. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1.Цел

Да проучим значението на серумните общ холестерол, HDL, LDL, VLDL, триглицериди, Lp (a) и MCP-1 за хода на болестта, оценката на чернодробната фиброза и стеатоза при хроничен хепатит С генотип 1 и 3.

2. Задачи

- 1) Да оценим промените в серумните нива на Lp (a) при пациенти с ХХС с и без стеатоза, и да сравним с тези при НАСБ
- 2) Да оценим промените в липидния статус в зависимост от стадия и характеристиката на чернодробно увреждане при пациенти с HCV инфекция с генотип 1 и 3
- 3) Да потърсим използвани в практиката липидни маркери за оценка на стадия и характеристиката на чернодробно увреждане при ХХС
- 4) Да оценим метаболитните фактори и да потърсим връзката им с клинични и лабораторни показатели на чернодробно увреждане при пациентите с ХХС
- 5) Да сравним серумните нива на моноцитния хемоатрактантен протеин-1 (MCP-1) между пациенти с ХХС - с и без напреднала чернодробна фиброза, с и без стеатоза
- 6) Да проследим промените в серумните нива на MCP-1 и липиди при пациенти с HCV инфекция след противовирусно лечение

V. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Изследвани лица

Включихме в изследванията и анализирахме данните на общо 242 лица изследвани и лекувани в Клиника по гастроентерология към УМБАЛ "Св. Иван Рилски" - 162 с ХХС, 80 с НАСБ, разпределени в следните основни групи:

Група I

Серумните нива на Lp (a) оценихме при 80 лица с първична НАСБ (мъже-44, жени-36) на средна възраст 42.94 ± 10.30 г. (от 21 г. до 65 г.). Дефинирахме наличието на дислипидемия с едно от следните отклонения: общ холестерол > 5 mmol/l, LDL > 3.5 mmol/l, HDL < 1.0 mmol/l за мъже и 1.3 mmol/l за жени, and триглицериди > 1.7 mmol/l. Приехме стойности на серумните Lp (a) > 25 mg/dl за дислипидемия. Честотата на повишени стойности на чернодробните ензими беше за: АЛТ -30% , АСТ - 12.5% и ГГТ - 31% . С нормално телесно тегло бяха 13% от изследваните лица, с наднормено – 41% и със затлъстяване -46%. Покриващи напълно критериите за МС бяха 44% от пациентите с НАСБ. Честота на абдоминално затлъстяване - 85%, артериална хипертония - 54%, повишен общ холестерол - 47%, LDL - 42.5%, намален HDL - 30%, повишени триглицериди 30%, едновременно отклонение в триглицеридите и HDL - 16%, отношението триглицериди/HDL > 2 - 24% (стойност > 4 - 7.5%), НГГ - 47.5%.

Сравнихме стойностите на Lp(a) в тази група и 112 пациенти от подгрупа (1) със ХХС генотип 1 и 3 (75 със данни за съпътстваща чернодробна стеатоза и 37 без данни за стеатоза)

Група II

Пациенти с ХХС генотип 1 и 3 - общо 162 пациенти анализирани в три подгрупи. **Подгрупа (1)** - 112 пациенти (54 мъже, 58 жени, на средна възраст 48.6 ± 13.7 години) ХХС, лекувани в Клиника по гастроентерология на УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД – София, изследвани в рамките на проект „Роля на серумните липиди във вирусната кинетика, патогенезата и терапевтичния отговор на хроничната HCV инфекция. Проследяване и

съпоставяне на липидния статус с клинични, образни, лабораторни, вирусологични и хистологични методи за оценка на чернодробното заболяване” съфинансиран по програма „Млад изследовател” на Съвет по медицинска наука към Медицински университет – София - ДОГОВОР №14-Д/2014 г.

Подгрупа (2) - 20 от пациентите от Подгрупа (1) и един пациент с ХХС генотип 1 след приключване на проекта. Общо 21 пациенти с ХХС генотип 1 и 3 изследвахме за серумна концентрация на МСР-1 в следващо проучване, което включваше и втора серумна проба. Проведени бяха проследяващи изследвания на серумни МСР-1 и липидни нива поне шест месеца след приключване на противовирусната терапия.

Исходна характеристика на 113 лица общо за **Подгрупи (1) и (2)**:

1. Включващи критерии: ХХС, възраст над 18 години, писмено информирано съгласие.
Исключващи критерии: противовирусно лечение в ход, декомпенсирана чернодробна цироза (в това число с история за кървене от варици, първичен чернодробен рак), малигнени заболявания, алкохолна злоупотреба, употреба на психоактивни вещества, коинфекция с човешки имунодефицитен вирус (HIV), доминантна коинфекция с HBV, неконтролиран хипер- или хипотиреоидизъм, с първична хиперлипидемия и/или приемащи липидопонижаващи медикаменти.
2. HCV генотипизиране – 99 от участниците бяха с ХХС генотип 1, а 14 с генотип 3.
3. Тежест на чернодробното увреждане – ХХС със стадий на чернодробна фиброза от начална (F1) до септална фиброза без чернодробна цироза (F3) имаха 85 пациенти оценени по METAVIR. Пациентите с данни за напреднало чернодробно заболяване - стадий на чернодробна цироза (F4) бяха 28. Оценихме ги по Child-Pugh класификацията като клас А.
4. Ехографски и/или хистологични данни за чернодробна стеатоза имаха общо 76 пациенти (лека - при 58, умерена или по-тежка – при 18).
5. HCV РНК > 800 000 IU/ml количествено определихме при 53 пациенти, а 60 бяха с по-нисък вирусен товар.
6. История на противовирусно лечение - нелекувани: 82 пациенти с ХХС генотип 1 и 3. История на проведено противовирусно лечение без постигане на ТВО имаха 31 пациенти с ХХС генотип 1 и нито един с генотип 3.

7. Метаболитните нарушения при участниците:

- Участниците, които покриха критериите за метаболитен синдром бяха 32
- наднормено тегло имаше при 42, затлъстяване при 18 пациенти, от които I степен при 15 и II степен при 3
- със ЗДТ2 бяха 14 участници, от които трима болни на инсулинолечение
- предиабет - НГГ и/или НГТ имаха 30 участници
- ИР с НОМА-IR > 2.5 оценихме при 55 участници, при 25 от тях това беше единствено нарушение в глюкозната обмяна, а 20 имаха и предиабет, нормална гликемия при 44 участници

Характеристика на **Подгрупа (2)** - пациенти изследвани за МСР-1 и серумни липиди в две последователни проби. Включихме 21 пациенти в проучването (11 мъже, 10 жени, на възраст 42±9.7 год.). Телесното тегло беше нормално при 10, наднормено при 5 и със затлъстяване - 6 пациенти. С ХХС с генотип 1 бяха 17 от тях, а четирима с генотип 3. Чернодробна цироза (F4) диагностицирахме при 3 пациенти (1 хистологично, 2 с други инструментални и лабораторни методи), а напреднала септална фиброза (F3) при 2 пациенти. При всички останали фиброзата беше начална или сигнификантна (F1-F2) [Таблица 1 а, б].

Таблица 1. Изходни характеристики на показателите в групата от 21 участници.

а)

Показател	Min	Max	Средна стойност	Стандартно отклонение
Възраст	29	56	42.14	9.7
НСV РНК IU/ml	6360	7974167	1383561	1966483
НСV РНК Ig	3.8	6.9	5.7	0.76
FIB-4 скор	0.33	4.73	1.48	1.37
APRI скор	0.23	4.05	0.95	1.12
АСТ	21	272	58.9	60.53
АЛТ	19	354	87.95	83.67
Тромбоцити 10 ⁹ /l	57	381	229.14	80.16
Forns индекс	1.71	8.82	4.66	2.04
АСТ/АЛТ	0.35	1.47	0.72	0.26
TG/LDL	0.14	0.71	0.41	0.15

б)

Показател	Min	Max	Средна стойност	Стандартно отклонение
МСП-1	150.5	712.4	315.76	140.7
Инсулин	2	39.8	12.32	8.93
Глюкоза	4.76	7.04	5.64	0.55
НОМА-IR	0.50	10.15	3.09	2.30
ИТМ	20.42	35.82	27.07	4.81
non-HDL	1.78	5.93	2.94	0.92
HDL/non-HDL	0.24	1.02	0.52	0.22
Общ холестерол	3.02	7.58	4.34	0.97
HDL	0.88	1.98	1.4	0.38
LDL	1.51	5.43	2.5	0.87
VLDL	0.17	1.06	0.44	0.18
Триглицериди	0.38	2.31	0.96	0.39
Lp (a) mg/dl	1.19	48.51	10.48	12.35
Пикочна киселина	192	459	328	70

Противовирусно лечение проведоха 17 пациенти (12 със стандартна двойна терапия с пегилиран интерферон алфа и рибавирин; 4 - тройна терапията с добавяне на боцепревир 2, симепревир 2 пациенти; 1 – с директно действащи противовирусни средства дасабувир/ омбитасвир/ паритапревир/ ритонавир). Проследихме ги според утвърдените към периода, в който се проведе проучването, критерии за проследяване на лечение. При отчетен ранен вирусологичен отговор пациентите проведоха предвидения терапевтичен курс и бяха изследвани шест месеца след края му с проба II. Изследвахме в Проба II МСП-1 и нива на серумните липиди.

Подгрупа (3) - 49 пациенти с ХХС неразделени по генотип, без клинични, образни и лабораторни данни за асцит, остро чернодробно увреждане, чернодробен застой и екстрахепатална холестаза, при които проведохме транзиторната еластография. Съпоставихме резултатите с хистологичната оценка по METAVIR.

С чернодробна цироза (F4) бяха 17 пациенти. Напреднала септална фиброза без цироза (F3) имаха 7, сигнификантна фиброза (F2) -13, а начална фиброза (F1) – 12 пациенти. Стеатоза по ехографски и/или хистологични данни имаше при 9 пациенти. Повишен АЛТ от 2 до 5 пъти над ГРГ имаха 9 пациенти.

2. Използвани методи

Диагнозата на ХХС и НАСБ бе поставена по утвърдени критерии - анамнестично, физикално, с изобразителни, инструментални, хистологични, лабораторни, имунологични, серологични, молекулярни и други специализирани изследвания, съвместими със съответната диагноза.

Анамнеза и насочена анамнеза за ексцесивна алкохолната консумация. Физикален статус, демографски данни, ИТМ, коремна обиколка, измерена през пъпа. Промените в телесното тегло оценихме според главните прагове на Международната класификацията на Световната здравна организация (СЗО) за поднормено, наднормено тегло и затлъстяване при възрастни според ИТМ, адаптирана през 2006. За диагнозата МС използвахме критериите от Национален консенсус за поведение при МС приет от работна група към Българския институт “Метаболитен синдром” (БИМС) през 2010 г. За категоризиране на дисгликемията като предиабет или ЗДТ2, използвахме критерии на СЗО и Международната диабетна федерация от 2006 г.

Образни, инструментални и лабораторни изследвания:

- абдоминална ехография и Доплер изследване
- фиброгастроскопия - скрининг за варици на хранопровода
- чернодробна биопсия
 - при болните с ХХС използвахме оценката по METAVIR
 - чернодробната стеатоза при пациенти с ХХС оценихме в три степени на тежест според процента на хепатоцити засегнати от липидни отлагания: липсва стеатоза < 5%, лека стеатоза 5%-33%, умерена стеатоза 33%-66%, тежка стеатоза > 66%
 - при болните с НАСБ степента на стеатоза, възпалителна активност и стадия на фиброза оценихме според критериите на Brunt.
- Проведахме лабораторни изследвания - пълна кръвна картина, АСТ, АЛТ, ГГТ, алкална фосфатаза, общ и директен билирубин, общ белтък, албумин, креатинин, глюкоза, серумен инсулин на гладно, пикочна киселина, протромбиново време, фибриноген, общо изследване на урина.
- Оценката на инсулиновата резистентност извършихме с HOMA-IR изчислен от стойностите на инсулина ($\mu\text{IU/ml}$) и глюкозата (mmol/l) на гладно по формула:

$$\text{НОМА} - \text{IR} = \frac{\text{инсулин} \times \text{глюкоза}}{22.5}$$

- Изчислихме индекси за неинвазивно предсказване на стадия на чернодробна фиброза според формули от валидиращи проучвания (FIB-4 скор, Forns индекс, APRI скор, АСТ/АЛТ)
- Нивото на вирусен товар HCV РНК в IU/ml количествено определихме с обратнотранскриптазна „real-time” полимеразноверижна реакция (RT „real-time” PCR) и генотипизирахме HCV
- Измерихме нивата на серумните липидни показатели: общ холестерол, HDL и триглицериди с рутинни лабораторни методи
- Изчислихме LDL, VLDL и non-HDL според възприетите закономерности от уравнението на Friedewald адаптирано в mmol/l. Сред изследваната група нямаше стойности на триглицеридите над 5 mmol/l:

$$\text{LDL} = \text{общ холестерол} - \left(\text{HDL} + \frac{\text{триглицериди}}{2.2} \right)$$

- Non-HDL получихме като разлика между общия холестерол и HDL
- изчислихме съотношения между липидните показатели
- Всички серумни проби бяха взети в сутрешни часове, при стандартни условия и след 12 часов период на гладуване

Специализирани изследвания

1) Количествено измерване на Lp (a)

Определихме серумно количество Lp (a) по имунотурбидиметричен метод усилен с частици, с реактиви LPA (Roche Diagnostics) съвместими със системи COBAS INTEGRA в Клинична лаборатория към УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД – София. Стойностите получихме в nmol/l, преизчислихме и в mg/dl за целите на статистическия анализ и за сравнение с наличните литературни данни. Коефициент за конвертиране предоставен от производителя на реактивите:

$$\text{Lp(a) nmol/l} \times 0.4167 = \text{Lp(a) mg/dl.}$$

2) Определяне на серумен MCP-1 чрез имуноензимен метод

За определяне на MCP-1 в серум използвахме реактиви за човешки MCP-1 с търговско наименование Human CCL2/MCP-1 Quantikine ELISA (R&D systems, САЩ). Аналитична чувствителност на теста за детекция на MCP-1 по данни на производителя - 0.57- 10 pg/ml. Пробите бяха изработени в Лаборатория по клинична имунология към УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД – София.

3) Транзиторна еластография с FibroScan 402

Проведохме измервания с FibroScan 402, които покриха възприетите критерии за валидност - 10 валидни измервания на liver stiffness (LS) в една точка, успеваемост над 60% и процент на разсейване на резултатите $\leq 30\%$. Използвахме средната стойност от десетте измервания (median stiffness) в kPa.

Статистически анализ

Използвахме статистически пакет Statistical Package for the Social Sciences - SPSS версия 19. Получените резултати са оценени като статистически значими при нива на вероятност (p) по-малки от 0.05. Приложихме следните статистически методи:

1. Дескриптивен анализ
2. Тестове на Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilk
3. Непараметрични тестове:
 - Mann-Whitney U test
 - Kendall's Tau-b и Spearman's rho
4. Paired Student's t-test и Wilcoxon signed-rank test
5. Хи-квадрат тест (χ^2)
6. Анализ на ROC крива, съпоставка на площ под кривата (AUROC), чувствителност, специфичност, положителен и отрицателен коефициент на вероятност [LR(+), LR(-)], позитивна (ППС) и негативна (НПС) предсказваща стойност

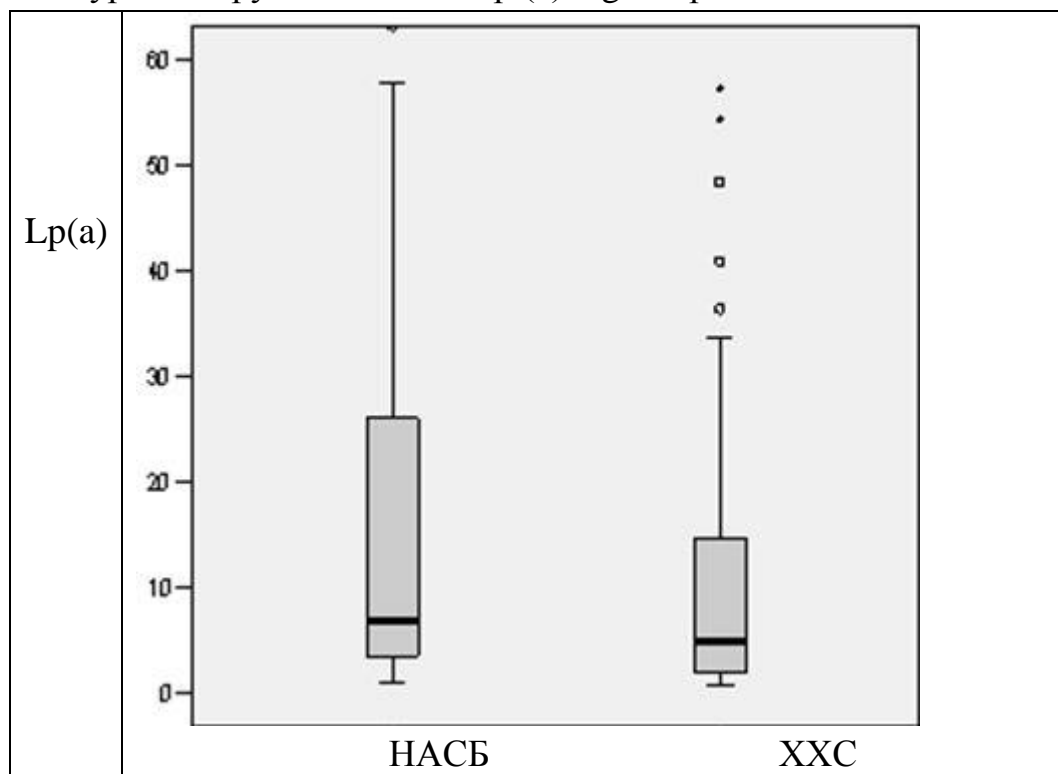
VI. РЕЗУЛТАТИ

I) Серумните липиди при ХХС. Сравнителен анализ на нивата им с тези при НАСБ и връзка с чернодробното увреждане

1. Липопротеин (а) при ХХС и НАСБ

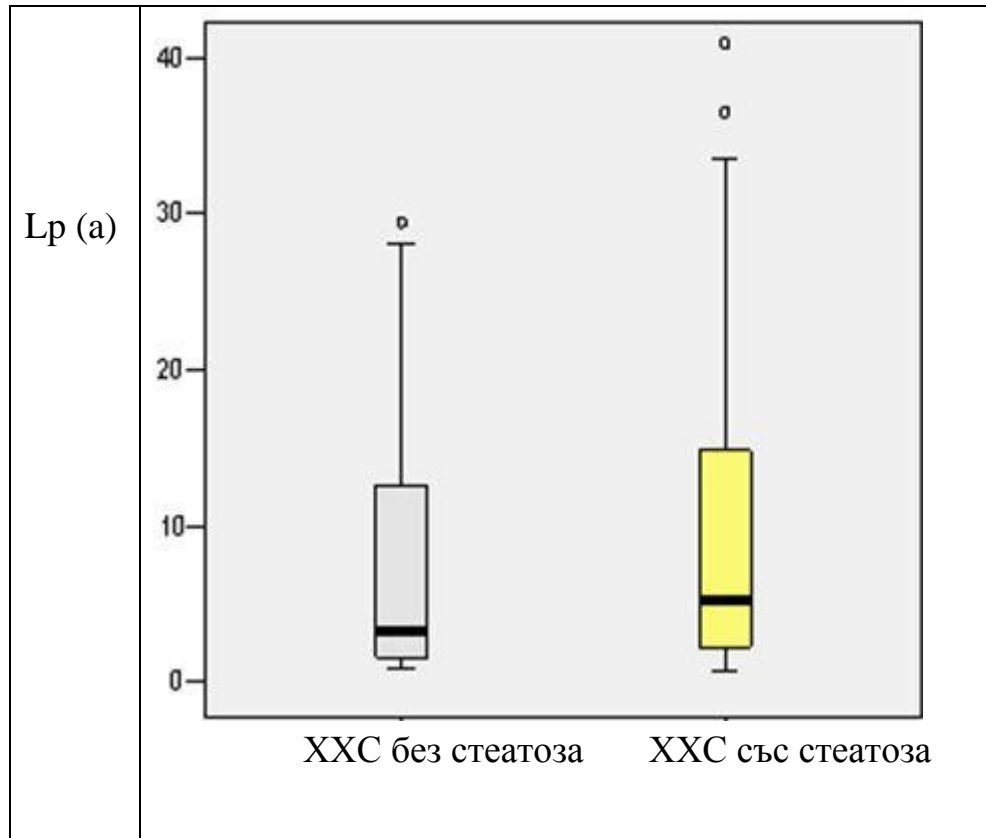
Намерихме повишени серумни нива на Lp (a) при 17 от 112 пациенти с ХХС (15%) и при 19 от 80 пациенти с НАСБ (24%). Средните серумни нива на Lp (a) бяха по-високи при НАСБ, отколкото при ХХС ($p=0.016$), но нямаше разлика в средните серумни нива между пациентите с ХХС със стеатоза и тези без стеатоза [Фигура 1 и 2]. При пациентите с НАСБ и повишени серумен Lp(a), но не при тези с ХХС и същото липидно нарушение, намерихме по-високи средни серумни нива и на LDL ($p=0.036$) в сравнение с участниците, при които серумния Lp(a) беше нормален. Повишените серумни нива на Lp (a) при НАСБ и ХХС не показаха връзка с възрастта, пола, наличието на затлъстяване, нарушена кръвна захар на гладно, артериална хипертония или наличието на метаболитен синдром при участниците.

Фигура 1. Серумни нива на Lp (a) mg/dl при пациенти с НАСБ и ХХС.



Дислипидемията с нисък HDL присъстваше еднакво при НАСБ и ХХС, но в групата с ХХС тя беше проява на хипохолестеролемиа и не беше свързана с хипертриглицеридемия.

Фигура 2. Серумни нива на Lp (a) mg/dl при пациенти с ХХС с и без стеатоза.

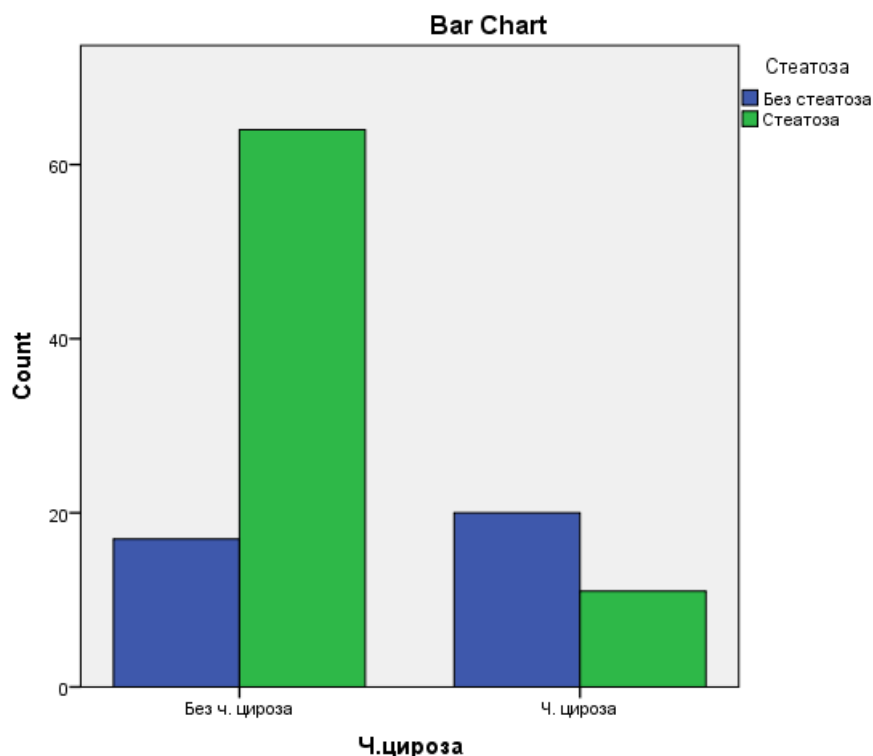


Намерихме положителна корелация между серумните нива на Lp (a) и LDL при НАСБ ($r=0.430$, $p<0.001$). Положителна беше корелация на серумните нива на Lp(a) със нивата на общ холестерол и LDL и при ХХС със стеатоза ($r=0.292$, $p=0.021$). Намерихме корелация на тромбоцитния брой със серумните нива на Lp(a) ($r=0.307$, $p=0.002$). Корелацията между серумните нива на Lp(a) и наличието на F4 стадий на чернодробна фиброза беше обратна ($r=-0.211$, $p=0.037$) за същата подгрупа. Обратна корелация имаше и между серумните нива на Lp(a) и стойностите на скоровете за неинвазивна оценка на фиброзата: FIB-4 скор ($r=-0.293$, $p=0.003$), APRI скор ($r=-0.273$, $p=0.006$) и Forns индекс ($r=-0.325$, $p=0.001$) при пациенти с ХХС генотип 1 със стеатоза, но не и при тези без стеатоза.

2. Нива на серумните липиди във връзка с характера и тежестта на чернодробното увреждане при ХХС

Открихме в групата на пациенти със стеатоза повече случаи в стадий на напреднала септална фиброза (F3) и чернодробна цироза (F4) ($p=0.006$). Сред пациентите с чернодробна цироза имаше по-малко случаи с чернодробна стеатоза ($p<0.001$) – повечето такива бяха в групата на пациенти без чернодробна цироза (F1-F3) [Фигура 3].

Фигура 3. Разпределение на стеатозата според наличието на чернодробна цироза.

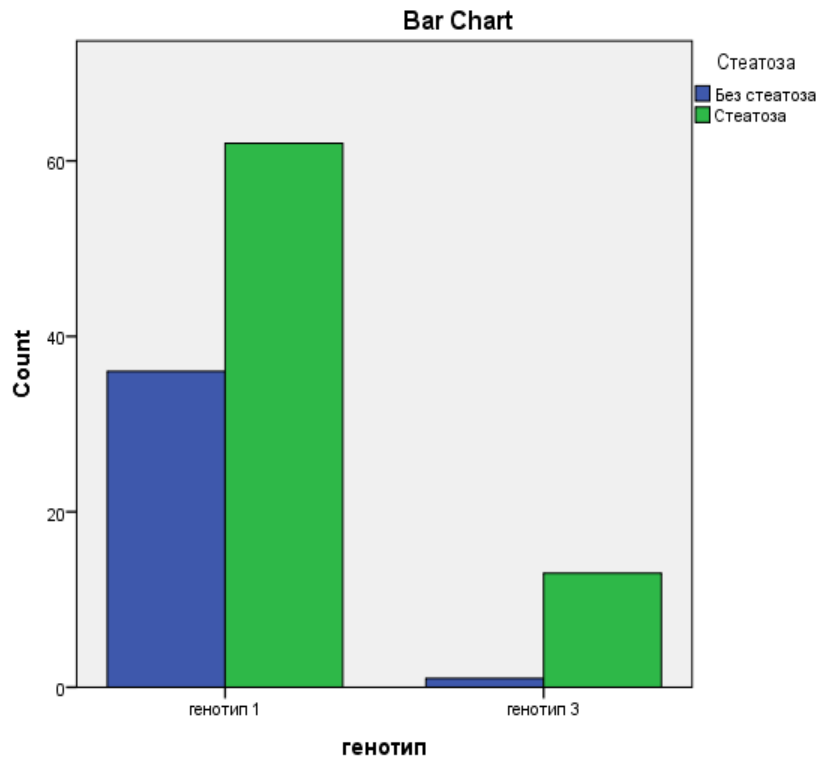


Сравнихме пациентите с ХХС генотип 1 и генотип 3 намерихме по-ниска средната възраст ($p<0.001$), по-ниски серумни нива на триглицериди ($p=0.015$) и по-ниски средни стойности на вирусния товар ($p=0.006$). Честотата на чернодробната стеатоза намерихме по-висока ($p=0.028$) при пациентите с ХХС генотип 3 [Фигура 4].

В групата на пациенти с ХХС със стеатоза намерихме по-ниска средната възраст в сравнение с пациентите с ХХС без стеатоза ($p<0.001$). При пациентите с ХХС със стеатоза имаше по-високи нива на общ холестерол ($p=0.009$) и по-висок тромбоцитен брой ($p<0.001$). При анализ за неинвазивните фиброзни скорове намерихме обратна корелация между наличието на чернодробна стеатоза и стойностите на FIB-4 скор ($r=-0.421$,

$p < 0.001$), APRI скор ($r = -0.295$, $p = 0.002$), Forns индекс ($r = -0.452$, $p < 0.001$), АСТ/АЛТ ($r = -0.232$, $p = 0.014$).

Фигура 4. Разпределение на стеатозата по генотип при пациенти с ХХС.



Разделихме и анализирахме отделно подгрупи според генотипа на HCV инфекцията и наличието на чернодробна стеатоза. При пациентите с ХХС без стеатоза намерихме обратна корелация между наличието на чернодробна цироза и серумните нива на LDL ($r = -0.419$, $p = 0.010$). Серумните нива на триглицериди и VLDL корелираха със стойностите на FIB-4 скор ($r = 0.330$, $p = 0.046$) и Forns индекс ($r = 0.392$, $p = 0.016$) в тази група. При пациентите с ХХС с чернодробна стеатоза намерихме обратна корелация между стадия на фиброза и серумните нива на LDL ($r = -0.281$, $p = 0.015$). Серумните нива на триглицериди и VLDL корелираха със стойностите на FIB-4 скор ($r = 0.280$, $p = 0.015$) и Forns индекс ($r = 0.319$, $p = 0.005$).

Предвид противоположните знаци на корелациите на серумните нива на триглицериди, и LDL, с показатели оценяващи стадия на чернодробна фиброза изчислихме стойностите на съотношението между серумните нива на триглицериди и LDL. Означихме го като TG/LDL и тествахме корелацията му със стадия на чернодробна фиброза. Намерихме корелация

между стойностите на TG/LDL и стадий на чернодробна цирроза (F4) ($r=0.366$, $p=0.026$) при пациенти с ХХС без чернодробна стеатоза. Корелация имаше между TG/LDL и стадия на чернодробна фиброза ($r=0.419$, $p<0.001$) при пациентите с ХХС с чернодробна стеатоза.

При анализа на пациентите с ХХС генотип 1 намерихме по-високи средни серумни нива на общ холестерол ($p=0.002$) и LDL ($p=0.003$) при наличие на чернодробна стеатоза. При пациенти с ХХС генотип 1 независимо от наличието на стеатоза, при стадий на чернодробна цирроза намерихме по-ниски средни серумни нива на общ холестерол ($p<0.001$), HDL ($p=0.018$) и LDL ($p=0.003$) в сравнение с тези нива при пациентите със стадирана от F1 до F3 чернодробна фиброза. В същите подгрупи стойностите на TG/LDL ($p=0.001$) бяха по-високи при стадий на чернодробна цирроза (F4), отколкото при стадираните в по-нисък стадий на чернодробна цирроза пациенти (F1-F3). Анализирахме тези пациенти според наличието на чернодробна стеатоза и получихме резултат за по-ниски средни серумни нива на общ холестерол ($p<0.001$) и LDL ($p=0.003$) при стадираните като чернодробна цирроза (F4) отколкото при тези с по-нисък стадий на чернодробна фиброза (F1-F3), когато липсваше стеатоза. Когато беше налице чернодробна стеатоза по-ниски бяха средните серумните нива на HDL ($p=0.049$) при чернодробна цирроза (F4), отколкото при пациенти с чернодробна фиброза в по-нисък стадий. Средните стойностите на TG/LDL бяха по-високи при пациенти с чернодробна цирроза (F4) отколкото при тези с по-нисък стадий на фиброза (F1-F3), както при наличие ($p=0.024$), така и при липса ($p=0.001$) на чернодробна стеатоза.

Намерихме корелация между стадий на чернодробна цирроза (F4) и серумните нива на LDL ($r=-0.417$, $p=0.011$), и стойностите на TG/LDL ($r=0.387$, $p=0.020$) при анализа на пациентите с ХХС генотип 1 без стеатоза. Серумните нива на TG и VLDL корелираха със стойностите на FIB-4 скор ($r=0.364$, $p=0.029$), APRI скор ($r=0.333$, $p=0.047$) и Forns индекс ($r=0.423$, $p=0.010$) в тази подгрупа.

При пациентите с ХХС генотип 1 със стеатоза, корелацията между стадия на чернодробна фиброза и серумните нива на LDL се загуби, но корелацията между стойностите на TG/LDL и стадий на чернодробна цирроза (F4) се запази ($r=0.315$, $p=0.010$). Серумните нива на триглицериди и VLDL корелираха със стойностите на Forns индекс ($r=0.261$, $p=0.040$) в тази подгрупа.

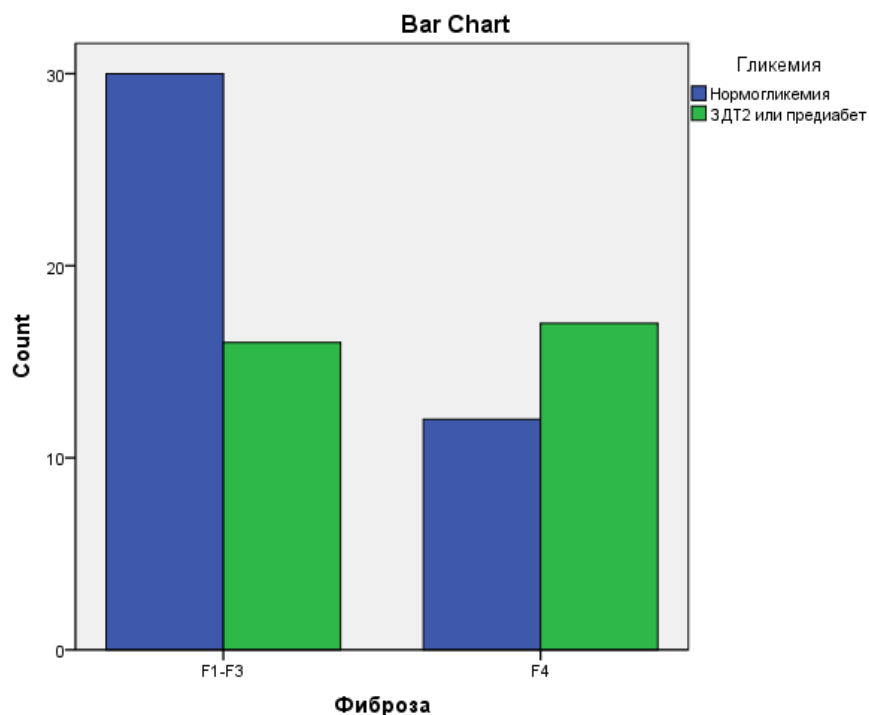
Тествахме стойностите на вирусния товар за корелация със серумните нива на липидните показатели при пациенти с ХХС генотип 1. Намерихме корелация между вирусния товар и серумните нива на триглицериди и VLDL ($r=0.330$, $p=0.009$) при пациентите със чернодробна стеатоза. Подобна корелация липсваше при тези без стеатоза.

При пациентите с ХХС генотип 3 стадият на чернодробна фиброза показва обратна корелация със серумните нива на общ холестерол ($r= -0.607$, $p=0.021$) и LDL ($r= -0.625$, $p=0.017$). Намерихме корелация между стойността на вирусния товар и количествената оценка на чернодробната стеатоза като хистологичен процент на хепатоцити с липидни отлагания ($r=0.585$, $p=0.028$). Вирусният товар не корелираше с никое от серумните липидни нива.

3. Метаболитните фактори във връзка с характера и тежестта на чернодробното увреждане при ХХС генотип 1 и 3

Случаите на глюкозните нарушения при пациентите с ХХС генотип 1 бяха равномерно разпределени между пациентите със чернодробна стеатоза. Случаите на ЗДТ2 и предиабет бяха повече сред пациентите в с ХХС в стадий на чернодробна цироза (F4) в сравнение с групата на пациенти с по-нисък стадий на чернодробна фиброза (F1-F3)[Фигура 5].

Фигура 5. Разпределение на случаите със ЗДТ2 и предиабет между пациентите с ХХС генотип 1 със и без чернодробна цироза.



При пациентите с ХХС генотип 1 със стеатоза, при сравнение между различни стадии на чернодробна фиброза, в групата със стадий на чернодробна цироза (F4) средната възраст ($p < 0.001$), средните стойности на глюкозата ($p = 0.023$), ИТМ ($p = 0.050$) и коремна обиколка ($p = 0.006$) бяха по-високи, в сравнение с групата пациенти с по-нисък стадий на чернодробна фиброза (F1-F3).

Метаболитните фактори присъстваха в анализите на всички подгрупи и показваха връзки помежду си, както и с показатели на чернодробното увреждане [Таблица 2, 3, 4, 5а,б].

При пациентите с ХХС генотип 3 нивата на пикочна киселина корелираха с ИТМ ($r = 0.626$, $p = 0.017$), коремната обиколка ($r = 0.650$, $p = 0.012$) и серумните нива на триглицериди и VLDL ($r = 0.638$, $p = 0.014$). От липидните показатели отрицателна беше корелацията на HDL с нивата на пикочна киселина ($r = -0.563$, $p = 0.036$). [Таблица 2]

Таблица 2. Корелации между липидни нива и метаболитни фактори при пациенти с ХХС генотип 3.

ХХС генотип 3	HDL	ТГ и VLDL	Коремна обиколка	ИТМ
Пикочна киселина	$r = -0.563$ $p = 0.036$	$r = 0.638$ $p = 0.014$	$r = 0.651$ $p = 0.012$	$r = 0.626$ $p = 0.017$

Наличието на МС беше в корелация със стойностите на АЛТ ($r = 0.557$, $p = 0.037$). Серумните нива на триглицериди и VLDL корелираха със стойностите на серумен инсулин ($r = 0.673$, $p = 0.008$) и НОМА-IR ($r = 0.695$, $p = 0.006$). Стойностите на инсулина корелираха и с размера на коремната обиколка ($r = 0.541$, $p = 0.046$) [Таблица 3].

Таблица 3. Корелации между липидни нива, метаболитни фактори и показатели на чернодробно увреждане при пациенти с ХХС генотип 3.

ХХС генотип 3	ТГ и VLDL	Коремна обиколка	АЛТ
Инсулин	$r = 0.673$ $p = 0.008$	$r = 0.541$ $p = 0.046$	НС
НОМА-IR	$r = 0.695$ $p = 0.006$	НС	НС
Метаболитен синдром	НС	НС	$r = 0.557$ $p = 0.037$

При пациентите с ХХС генотип 1 без стеатоза, стойностите на глюкозата корелираха както с показатели на чернодробното увреждане – стадий на фиброза ($r=0.517$, $p<0.001$) и Forns индекс ($r=0.464$, $p=0.004$), така и с други белези на метаболитния синдром – HDL ($r= -0.410$, $p=0.001$), ИТМ ($r=0.325$, $p=0.015$) и коремна обиколка ($r=0.532$, $p=0.001$). Отрицателна беше корелацията на плазмената глюкоза със серумните нива на общ холестерол ($r= -0.520$, $p<0.001$). Нивата на HDL бяха в обратна корелационна зависимост с коремната обиколка ($r= -0.438$, $p=0.008$), а стойностите на пикочната киселина корелираха с тези на серумния инсулин ($r= 0.518$, $p=0.001$). От лабораторните неинвазивни скорове единствено Forns индекс корелираше с наличието на метаболитен синдром ($r= 0.420$, $p=0.011$) [Таблица 4].

Таблица 4. Корелации между липидни нива, метаболитни фактори и показатели на чернодробно увреждане при пациенти с ХХС генотип 1 без стеатоза.

ХХС генотип 1 без стеатоза	Стадий на фиброза (F)	Forns индекс	HDL	Общ холестерол	Коремна обиколка	ИТМ	Пикочна киселина
Глюкоза	$r=0.517$ $p<0.001$	$r=0.464$ $p=0.004$	$r= -0.410$ $p=0.001$	$r= -0.520$ $p<0.001$	$r=0.532$ $p=0.001$	$r=0.325$ $p=0.015$	НС
Коремна обиколка	НС	НС	$r= -0.438$ $p=0.008$	НС	-	НС	НС
Инсулин	НС	НС	НС	НС	НС	НС	$r= 0.518$ $p=0.001$
Метаболитен синдром	НС	$r= 0.420$ $p=0.011$	НС	НС	НС	НС	НС

При пациентите с ХХС генотип 1 със стеатоза нивата на плазмена глюкоза значително корелираха с показатели на чернодробното увреждане – стадия на чернодробна фиброза ($r=0.326$, $p=0.004$), стойностите на Forns индекс ($r=0.417$, $p=0.001$), скоровете APRI ($r=0.377$, $p=0.003$) и FIB-4 ($r=0.374$, $p=0.003$), както и стойностите на АСТ ($r=0.409$, $p=0.015$). От липидните показатели HDL беше в обратна корелация с плазмената глюкоза ($r= -0.343$, $p=0.006$). Коремната обиколка корелираше с активността на АСТ ($r=0.336$, $p=0.008$) и АЛТ ($r=0.265$, $p=0.038$). Наличието на МС корелираше със стойностите на скоровете APRI ($r=0.399$, $p=0.001$), FIB-4 ($r=0.325$, $p=0.010$), Forns индекс ($r=0.357$, $p=0.004$),

активността на АСТ ($r=0.436$, $p<0.001$) и АЛТ ($r=0.351$, $p=0.005$). ИТМ корелираше отрицателно с нивата на HDL ($r= -0.259$, $p=0.042$) и положително със скоростите APRI ($r=0.345$, $p=0.006$), FIB-4 ($r=0.288$, $p=0.023$), Forns индекс ($r=0.347$, $p=0.006$), и стойностите на АСТ ($r=0.291$, $p=0.002$). Нивата на пикочна киселина показаха корелационна връзка със стадия на чернодробна фиброза ($r=0.284$, $p=0.025$), стойностите на НОМА-IR ($r=0.525$, $p<0.001$) и серумния инсулин ($r=0.520$, $p=0.001$). Корелацията беше обратна между нивата на HDL и активността на АЛТ ($r= -0.294$, $p=0.020$), и с тези на пикочната киселина ($r= -0.282$, $p=0.026$). Стойностите на пикочна киселина бяха в обратна корелация и с нивата на общ холестерол ($r=-0.309$, $p=0.015$). ИТМ беше корелираше със стойностите на серумния инсулин ($r=0.309$, $p=0.015$) и НОМА-IR($r=0.299$, $p=0.018$), и беше в обратна корелация с HDL ($r= -0.259$, $p=0.042$) [Таблица 5 а,б].

Таблица 5. Корелации между липидни нива, метаболитни фактори и показатели на чернодробно увреждане при пациенти с ХХС генотип 1 със стеатоза.

а)

ХХС генотип 1 със стеатоза	Стадий на фиброза (F)	Forns индекс	FIB-4	APRI	АСТ	АЛТ
Глюкоза	$r=0.326$ $p=0.004$	$r=0.417$ $p=0.001$	$r=0.374$ $p=0.003$	$r=0.377$ $p=0.003$	$r=0.409$ $p=0.015$	НС
Коремна обиколка	НС	НС	НС	НС	$r=0.336$ $p=0.008$	$r=0.265$ $p=0.038$
Метаболитен синдром	НС	$r=0.357$ $p=0.004$	$r=0.325$ $p=0.010$	$r=0.399$ $p=0.001$	$r=0.436$ $p<0.001$	$r=0.351$ $p=0.005$
ИТМ	НС	$r=0.347$ $p=0.006$	$r=0.288$ $p=0.023$	$r=0.345$ $p=0.006$	$r=0.291$ $p=0.002$	НС
Пикочна киселина	$r=0.284$ $p=0.025$	НС	НС	НС	НС	НС
HDL	НС	НС	НС	НС	НС	$r=-0.294$ $p=0.020$

б)

ХХС генотип 1 със стеатоза	HDL	Общ холестерол	ИТМ	Пикочна киселина
Глюкоза	r= -0.343 p=0.006	НС	НС	НС
Коремна обиколка	r= -0.343 p=0.006	НС	НС	НС
Инсулин	НС	НС	r=0.309 p=0.015	r= 0.520 p=0.001
НОМА-IR	НС	НС	r=0.299 p=0.018	r=0.525 p<0.001
ИТМ	r= -0.259 p=0.042	НС	-	НС
Пикочна киселина	r= -0.282 p=0.026	r= -0.309 p=0.015	НС	-

II) Серумни липидни нива в оценката на чернодробното увреждане при ХХС

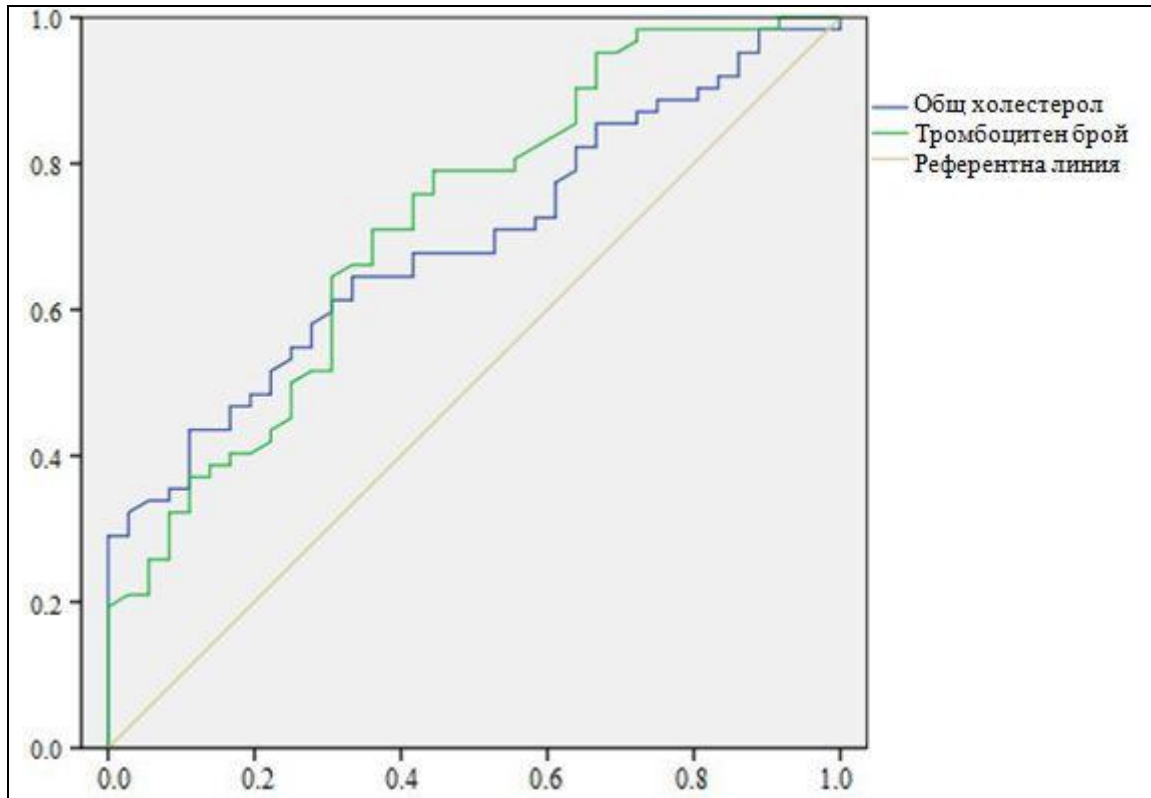
Серумното ниво на общ холестерол и тромбоцитния брой показва най-достоверна връзка с оценката на чернодробната стеатоза при ХХС в корелационния анализ и при сравнение на средни стойности в групите. Съотношението TG/LDL показва връзка със стадия на чернодробна фиброза и най-достоверно с стадия на чернодробна цироза (F4). Проведохме анализ на ROC кривите на тези показатели, за да проучим способността им за разграничаване на чернодробно увреждане с различен характер и тежест на при пациенти с ХХС. В анализа включихме нивото на общ холестерол и тромбоцитния брой за предсказване наличието на чернодробна стеатоза [Фигура 6, Таблица 6]. Стойностите на TG/LDL анализирахме за предсказване на стадий на напреднала чернодробна фиброза (F \geq 3) и стадий на чернодробна цироза (F4). Успоредно със стойностите на TG/LDL, анализирахме и стойностите на FIB-4 скор, Forns индекс, APRI скор и АСТ/АЛТ, за да ги съпоставим (Фигура 7-9; Таблица 8 а,б,в,г,д).

1. Анализ на ROC крива за показатели предсказващи наличието на чернодробна стеатоза при ХХС

Проведохме анализ в групата пациенти с ХХС генотип 1 и резултатите за площ под кривата на тромбоцитния брой достигнаха AUROC 0.719 (p<0.001) и за нивото на общ холестерол AUROC 0.691

($p=0.002$) в предсказване на наличието на чернодробна стеатоза [Фигура 6, Таблица 6].

Фигура 6. ROC криви на тромбоцитен брой и общ холестерол за чернодробна стеатоза при пациенти с ХХС генотип 1.



Ордината: чувствителност
 Абсциса: 1- специфичност
 Диагонал: референтна линия

Таблица 6. AUROC на тромбоцитен брой и общ холестерол за чернодробна стеатоза.

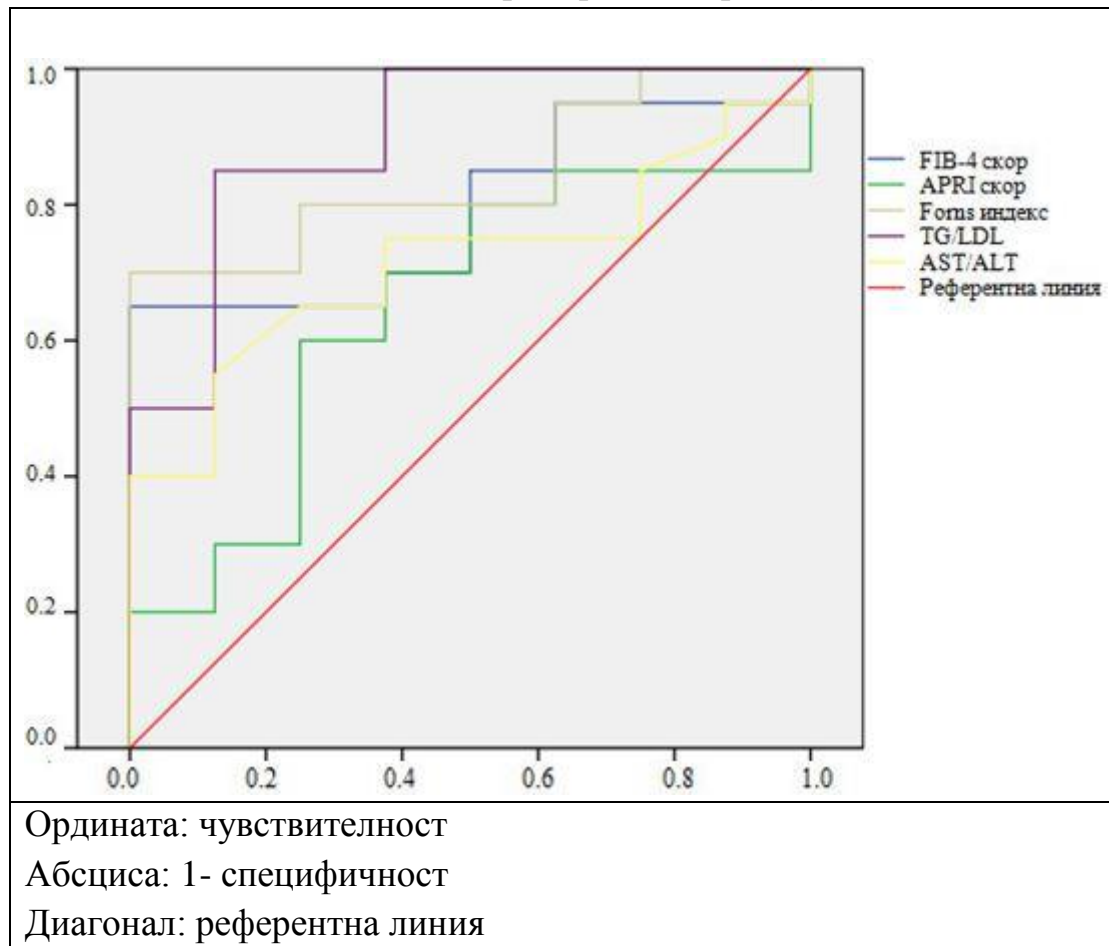
	AUROC	
	Тромбоцитен брой	Общ холестерол
ХХС генотип 1 и 3	0.719 ($p<0.001$)	0.652 ($p=0.009$)
ХХС генотип 1	0.719 ($p<0.001$)	0.691($p=0.002$)

2. Анализ на ROC криви за показатели предсказващи стадия на чернодробна фиброза при ХХС

За стойностите на TG/LDL при пациенти с ХХС без стеатоза, без оглед на генотипа, намерихме AUROC 0.856 ($p=0.003$) в предсказване на

наличието на чернодробна цироза (F4). При пациенти с ХХС генотип 1 получихме резултат от AUROC 0.900 ($p=0.001$) [Фигура 7, Таблица 7].

Фигура 7. ROC криви на индиректни фиброзни скорове и TG/LDL за: ХХС генотип 1 в стадии на чернодробна цироза (F4) без стеатоза.



За стойностите на TG/LDL при пациенти с ХХС със стеатоза, без оглед на генотипа, намерихме AUROC 0.722 ($p=0.023$) в предсказване на наличието на чернодробна цироза (F4). Анализирахме групата пациенти с ХХС генотип 1, за които получихме резултат от AUROC 0.743 ($p=0.025$) [Фигура 8, Таблица 7].

При пациенти с ХХС без стеатоза без оглед на генотипа, за стойностите на TG/LDL намерихме AUROC 0.821 ($p=0.008$) в предсказване на наличието на напреднала чернодробна фиброза ($F \geq 3$). Анализирахме групата пациенти с ХХС генотип 1, за които получихме резултат от AUROC 0.871 ($p=0.004$) [Фигура 9, Таблица 7].

Фигура 8. ROC криви на индиректни фиброзни скорове и TG/LDL за ХХС генотип 1 в стадии на чернодробна цироза (F4) със стеатоза.

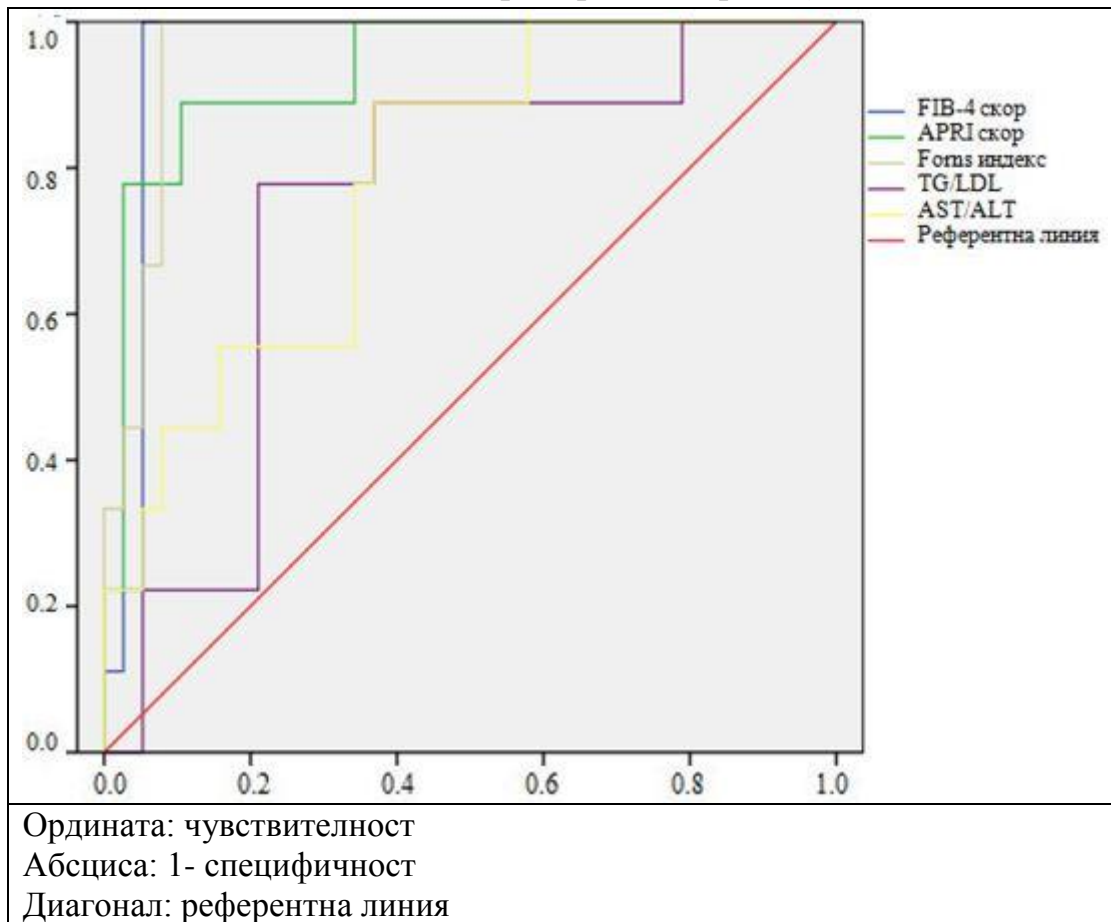
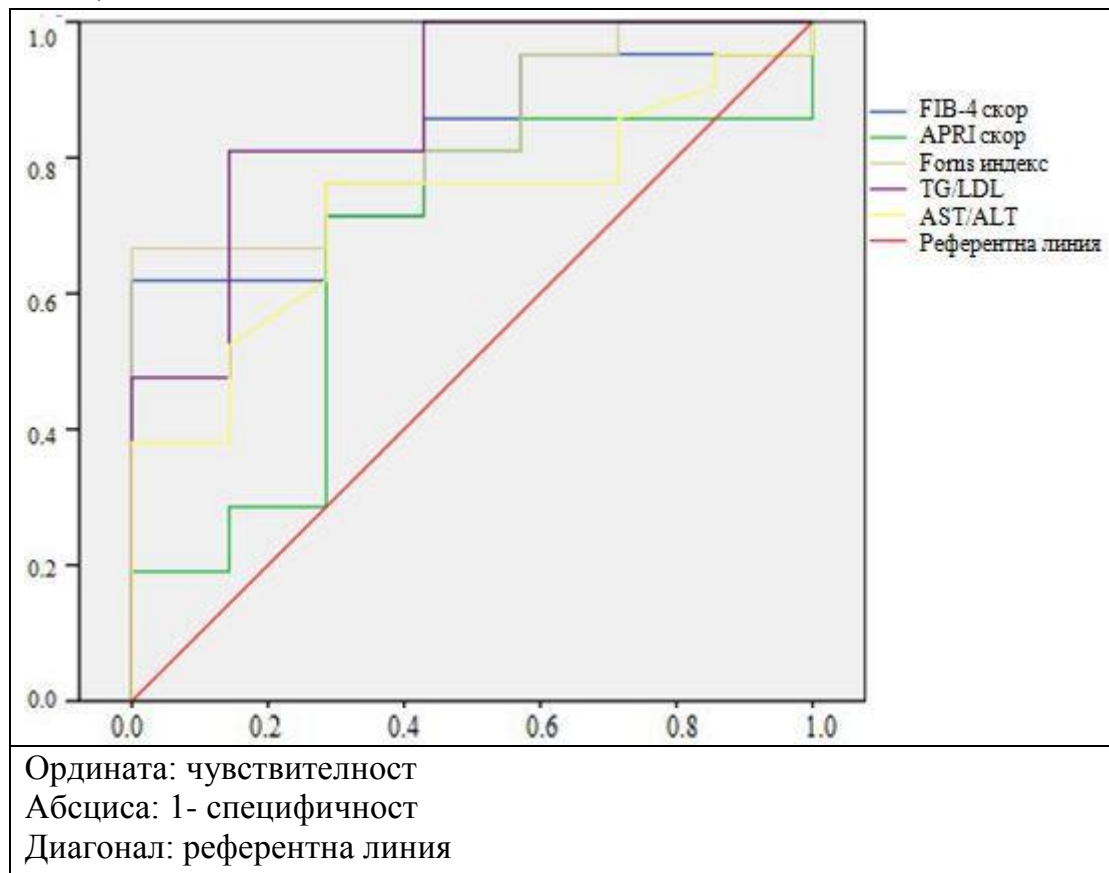


Таблица 7. AUROC на TG/LDL за стадий на напреднала чернодробна фиброза ($F \geq 3$) и чернодробна цироза (F4) с и без стеатоза в група ХХС генотип 1 и 3, и в група ХХС генотип 1.

TG/LDL	AUROC			
	$F \geq 3$ без стеатоза	$F \geq 3$ със стеатоза	F4 без стеатоза	F4 със стеатоза
ХХС генотип 1 и 3	0.821 (p=0.008)	0.610 НС	0.856 (p=0.003)	0.722 (p=0.023)
ХХС генотип 1	0.871 (p=0.004)	0.649 НС	0.900 (p=0.001)	0.743 (p=0.025)

Фигура 9. ROC криви на индиректни фиброзни скорове и TG/LDL за: ХХС генотип 1 в стадии на напреднала чернодробна фиброза и цироза ($F \geq 3$) без стеатоза.



Стойностите на TG/LDL при пациенти с ХХС със стеатоза за предсказване на напреднала чернодробна фиброза ($F \geq 3$) не достигнаха ниво на достоверност и значимост независимо от генотипа на инфекцията. Резултатите от отделния анализ на пациенти с ХХС генотип 3 не достигнаха нивото на достоверност и значимост.

Включихме едновременно и стойностите на неинвазивните скорове в анализа на ROC криви за оценка на чернодробната фиброза. Стойностите на APRI скор, Forns индекс, FIB-4 скор и АСТ/АЛТ анализирахме с тези на TG/LDL за стadiите на напреднала чернодробна фиброза ($F \geq 3$) и чернодробна цироза ($F4$) при пациенти с ХХС генотип 1 със и без стеатоза. Резултатите съпоставихме с наличните данни от сравнителни и валидиращи проучвания на скоровете [Фигура 7-9, Таблица 8 а,б,в,г,д].

Таблица 8. AUROC на неинвазивни скорове за оценка на чернодробната фиброза и при ХХС генотип 1 с и без стеатоза: а) APRI скор; б) Forns индекс; в) FIB-4 скор; г) АСТ/АЛТ .

а) APRI скор

Авторски колектив	AUROC			
	F \geq 3	F \geq 3 със стеатоза	F4	F4 със стеатоза
Вълков и сътр.	0.653 НС	0.904 (p<0.001)	0.644 НС	0.936 (p<0.001)
Adler и сътр.	0.886		0.915	
Martinez и сътр.	0.860		0.860	
Li и сътр.	0.826		0.810	

б) Forns индекс

Авторски колектив	AUROC			
	F \geq 3	F \geq 3 със стеатоза	F4	F4 със стеатоза
Вълков и сътр.	0.837 (p=0.009)	0.859 (p<0.001)	0.844 (p=0.005)	0.959 (p<0.001)
Adler и сътр.	0.902		0.877	
Martinez и сътр.	0.850		0.870	

в) FIB-4 скор

Авторски колектив	AUROC			
	F \geq 3	F \geq 3 със стеатоза	F4	F4 със стеатоза
Вълков и сътр.	0.810 (p=0.016)	0.924 (p<0.001)	0.794 (0.017)	0.956 (p<0.001)
Adler и сътр.	0.898		0.925	
Martinez и сътр.	0.870		0.890	
Li и сътр.	0.854		0.860	

г) АСТ/АЛТ

Авторски колектив	AUROC			
	F \geq 3	F \geq 3 със стеатоза	F4	F4 със стеатоза
Вълков и сътр.	0.724 (нс)	0.698 (p=0.025)	0.716 (нс)	0.787 (p=0.008)
Li и сътр.	0.667		0.716	

3. Сравнителен анализ на представянето на TG/LDL и скоровете за неинвазивна оценка на чернодробната фиброза

Анализирахме нивата на чувствителност и специфичност за избраните стойности на съотношението от ROC кривата. Използвахме стойностите на чувствителност и специфичност за изчисляването на положителен коефициент на вероятност [LR (+)], и отрицателен [LR (-)] коефициент на вероятност.

$$LR (+) = \frac{\text{чувствителност}}{1 - \text{специфичност}}$$

$$LR (-) = \frac{1 - \text{чувствителност}}{\text{специфичност}}$$

Позитивна (ППС) и негативна (НПС) предсказваща стойност получихме след изброяване на истинските и фалшивите резултати при прилагане на праговите стойности, и по формулите:

$$ППС = \frac{N \text{ истински позитивни резултати}}{N \text{ истински позитивни резултати} + N \text{ фалшиво позитивни резултати}}$$

$$НПС = \frac{N \text{ истински негативни резултати}}{N \text{ истински негативни резултати} + N \text{ фалшиво негативни резултати}}$$

При стойност на TG/LDL над 0.32 чувствителността на показателя за чернодробна цироза беше висок. LR (-) за чернодробна цироза беше най-нисък при липса на чернодробна стеатоза и 90% от случаите на чернодробна цироза (F4) имаха стойности на TG/LDL над 0.32. Кореспондиращата му НПС за чернодробна цироза беше значителна при стойности на TG/LDL под 0.32. Специфичността на TG/LDL за предсказане на наличието на напреднала чернодробна фиброза и цироза беше висока при стойности над 0.52 при липса на стеатоза. Съответно LR (+) за това състояние беше висок при TG/LDL над 0.52. При тези стойности чувствителността на показателя беше ниска и поради това ППС за чернодробна цироза беше недоволителна, когато не беше отчетено влиянието на стеатозата. Специфичността на TG/LDL при стойностите над 0.52 спадна до 76% за предсказването на чернодробна цироза при наличие

на чернодробна стеатоза. LR (+) за чернодробна цироза при тези стойности при наличие на стеатоза съответно спадна до 3.25 [Таблица 9 и 10].

Таблица 9. Прагови стойности, чувствителност, специфичност и коефициенти на вероятност за чернодробна цироза на TG/LDL за стадии на напреднала фиброза (F \geq 3) и чернодробна цироза (F4) при ХХС генотип 1 със и без стеатоза.

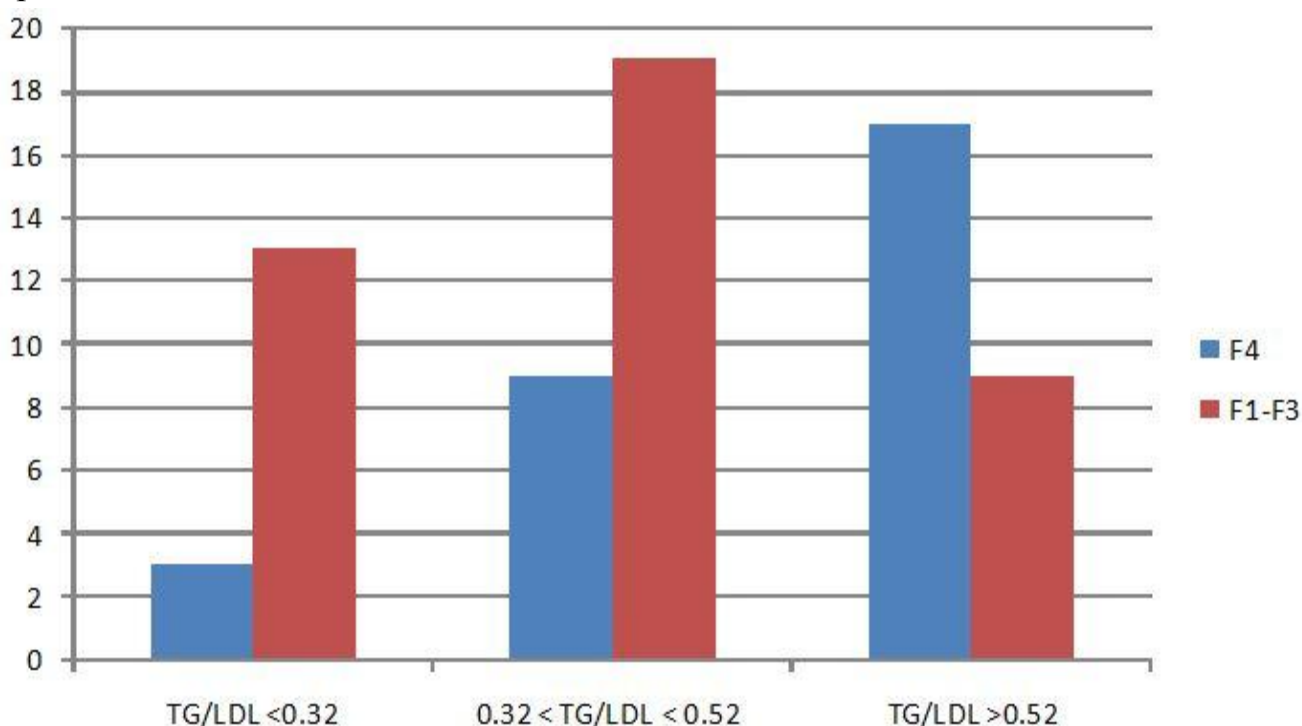
TG/LDL		Предсказан стадий на чернодробна фиброза с и без чернодробна стеатоза			
		F \geq 3	F \geq 3 със стеатоза	F4	F4 със стеатоза
0.32	Чувствителност	86 %	НС	90 %	89 %
	Специфичност	57 %		68 %	26 %
	LR (+)	2		2.57	1.2
	LR (-)	0.25		0.15	0.42
0.52	Чувствителност	66 %		50 %	78 %
	Специфичност	100 %		100 %	76 %
	LR (+)	66		50	3.25
	LR (-)	0.40		0.51	0.22

Таблица 10. Предсказваща стойност на TG/LDL за F \geq 3 и F4 при ХХС генотип 1.

TG/LDL	Предсказващи стойности на TG/LDL			
	Прагово ниво	ППС	Прагово ниво	НПС
F \geq 3	> 0.32	0.54	< 0.32	0.61
F4		0.46		0.83
F \geq 3	> 0.52	0.68	< 0.52	0.59
F4		0.64		0.73

Праговите стойности на TG/LDL 0.32 и 0.52, независимо от наличието на чернодробна стеатоза, разделиха групата от пациенти с ХХС генотип 1 на три условни подгрупи, в които пропорционално нарастваше броя случаи с чернодробна цироза (F4). При стойности на TG/LDL над 0.52, случаите с чернодробна цироза са близо два пъти повече от тези с по-нисък стадий на чернодробна фиброза (F1-F3) [Фигура 10].

Фигура 10. Брой на пациенти с ХХС генотип 1 в стадии F4 и F1-F3 спрямо праговите стойности на TG/LDL.



Допуснахме, че скоровете FIB-4 скор, APRI скор, Forns индекс, АСТ/АЛТ долавят случаи на чернодробна цироза, които са различни от тези, при TG/LDL над 0.52. За да проверим тази хипотеза, приложихме прагови стойности на FIB-4 скор ≥ 5.88 и на APRI скор ≥ 2 , в съответствие с литературните данни за диагностичната им стойност за чернодробна цироза, при нашата група пациенти с ХХС генотип 1. Определихме стойността на TG/LDL ≥ 0.52 за прагова по отношение на стадий на чернодробна цироза (F4) при ХХС генотип 1.

От 29 случая на чернодробна цироза, 7 случая (25%) не бяха доловени от нито един скор или TG/LDL. Преброихме десет случая на чернодробна цироза (F4), които бяха доловени от TG/LDL, но пропуснати от FIB-4 скор и APRI скор. Шест случая на чернодробна цироза бяха доловени от FIB-4 скор или APRI скор, но пропуснати от TG/LDL. От тези случаи изброихме 5 доловени само от APRI скор. Събрани заедно, случаите на чернодробна цироза доловени от TG/LDL и APRI скор бяха 20 или 69% от всички случаи на чернодробна цироза (F4) в групата на ХХС генотип 1. Изброихме 5 случая на чернодробна цироза, които бяха едновременно доловени от TG/LDL и APRI скор. Стойност на TG/LDL по-голяма от 0.52 имаха 9 случая в стадий на чернодробна фиброза без цироза

(F1-F3). Нито един от тях не беше погрешно определен в по-висок стадий на чернодробна фиброза от APRI скор. Изброихме 3 случая на чернодробна цироза (F4), които имаха TG/LDL < 0.32 и не бяха доловени от нито един от скоровете. Чернодробна стеатоза имаше при 11 от 12 погрешно класирани от TG/LDL случаи.

4. Сравнение на транзиторната еластография с хистологичната оценка на чернодробната фиброза при пациенти с ХХС

Представени бяха всички стадии от начална чернодробна фиброза до компенсирана чернодробна цироза. Получихме за групата средна стойност на LS 11.32 ± 10.19 kPa [Таблица 11]. Проведохме корелационен анализ на стойностите от измерванията и данните за чернодробна фиброза. Намерихме значима корелация ($r=0.565$, $p<0.001$) между измерените еластографски стойности на LS и оценените стадии на чернодробна фиброза.

Таблица 11. Стойности на LS в kPa при пациенти с ХХС.

Средна стойност	Стандартно отклонение	Max	Min	Корелация с стадия на фиброза (F)
11.32	10.19	49.60	3.20	$r=0.565$, $p<0.001$

Проведохме анализ на ROC крива за стойностите на LS, за да получим данни за прагови стойности на показателя, при които може да бъде определен даден стадий на чернодробна фиброза. Въз основа на резултатите за нивата на чувствителност и специфичност достигнахме до три използвани стойности на LS за пациенти с ХХС. Стойност на LS ≥ 12.3 kPa определяше наличието на чернодробна цироза. При LS ≥ 9 kPa - напреднала фиброза $F \geq 3$ и LS ≥ 6.3 kPa - значима фиброза $F \geq 2$ с високо ниво на специфичност, задоволителни стойности на чувствителност и площ под ROC кривата [Таблица 12, Фигура 11 а, б, в].

Таблица 12. Прагови нива на LS и предсказващата им стойност за стадия на чернодробна фиброза при ХХС.

LS	$F \geq 2$	$F \geq 3$	$F = 4$
kPa	≥ 6.3	≥ 9	≥ 12.3
Чувствителност	0.68	0.75	0.71
Специфичност	0.83	0.96	0.94
Площ под ROC крива	0.81	0.93	0.88

цироза (F3-F4), намерихме по-високи средни стойности на ИТМ ($p=0.010$) и НОМА-IR ($p=0.042$), от тези в групата на пациенти с начална или сигнификантна чернодробна фиброза (F1-F2). Получихме достоверни корелационни резултати за оценката на чернодробната фиброза и наличието на наднормено тегло ($r=0.603$, $p=0.004$), стойностите на НОМА-IR ($r =0.576$, $p=0.010$), серумните нива на LDL ($r = -0.468$, $p=0.033$) и съотношението TG/LDL ($r =0.517$, $p=0.016$) [Таблица 13].

Таблица 13. Корелация на стадия на фиброза с метаболитни и липидни показатели.

Корелация	Наднормено тегло	НОМА-IR	LDL	TG/LDL
Стадий на чернодробна фиброза (F)	$r =0.603$ $p=0.004$	$r =0.576$ $p=0.010$	$r = -0.468$ $p=0.033$	$r =0.517$ $p=0.016$

Наличието на наднормено тегло беше в корелация освен със стадия на чернодробна фиброза и със стойностите на APRI скор ($r=0.457$, $p=0.037$). НОМА-IR беше в корелация също със скоровете FIB-4 ($r =0.654$, $p=0.002$), APRI скор ($r=0.642$, $p=0.003$) и Forns индекс ($r =0.616$, $p=0.005$)[Таблица 14].

Таблица 14. Корелации на НОМА-IR с неинвазивни скорове за оценка на чернодробната фиброза.

Корелация	FIB-4 скор	APRI скор	Forns индекс
НОМА-IR	$r =0.654$ $p=0.002$	$r =0.642$ $p=0.003$	$r =0.616$ $p=0.005$

ИТМ корелираше със стадия на чернодробна фиброза ($r=0.684$, $p=0.001$) и неинвазивни скорове за оценка на чернодробната фиброза – FIB-4 ($r=0.469$, $p= 0.032$), APRI скор ($r=0.571$, $p=0.007$)[Таблица 15].

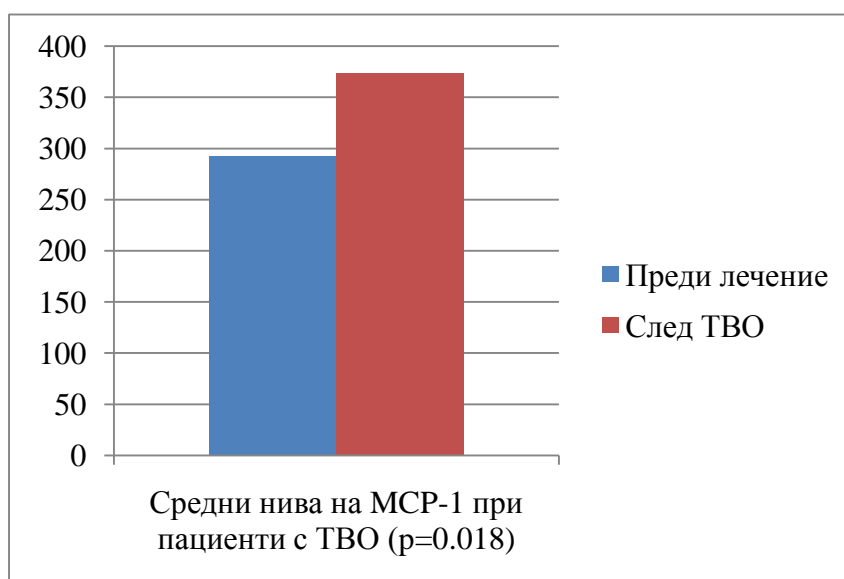
Таблица 15. Корелации на ИТМ с оценката на чернодробната фиброза.

Корелация	Стадий на чернодробна фиброза (F)	FIB-4 скор	APRI скор	НОМА-IR
ИТМ	$r=0.684$ $p=0.001$	$r=0.469$ $p= 0.032$	$r=0.571$ $p=0.007$	$r=0.802$ $p<0.001$

2. МСР-1 и серумни липиди преди и след противовирусна терапия

Проведохме повторни лабораторни изследвания, за да проучим връзката на МСР-1 и липидните показатели с отговора на терапията. Намерихме по-високи серумни концентрации на МСР-1 във вторите проби на пациентите постигнали ТВО. Повишението отразяваше по-високи средните стойности за вторите проби ($p=0.018$) [Фигура 12].

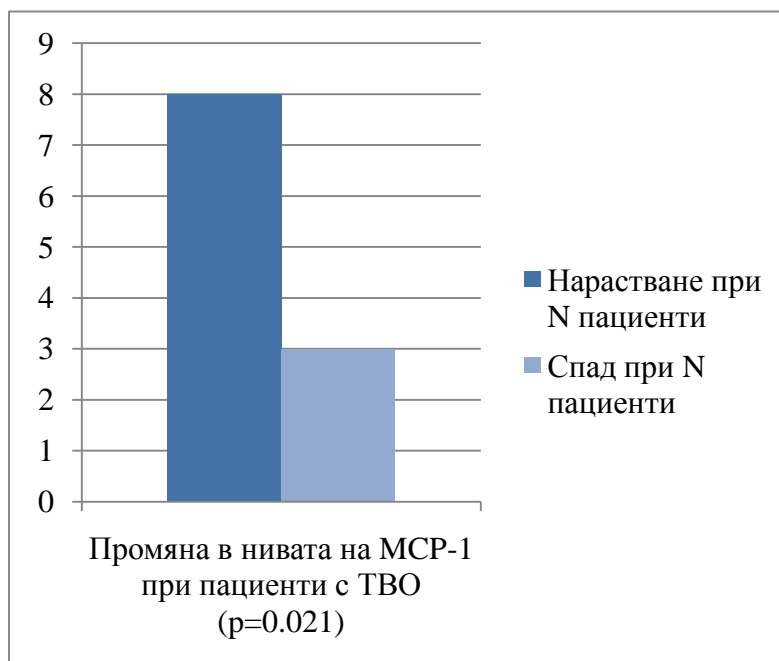
Фигура 12. Промяна в средните нива на МСР-1 преди и след терапия при ТВО.



Същевременно по-голям беше броят на пациенти (N), при които концентрацията на МСР-1 във втората проба нараства, спрямо броят на пациенти при които тя намалява или не се променя ($p=0.021$) [Фигура 13].

Намерихме, че ръстът на МСР-1 след ТВО се запазва само в групата на пациенти със стеатоза ($p=0.017$). Изходните и вторите проби не се различаваха значимо при пациентите, при които няма чернодробна стеатоза. Разделихме анализа според тежестта на чернодробната фиброза. Получихме значителен ръст на концентрациите на МСР-1 в при пациентите с по-нисък стадий на фиброза – съответно при стадий на начална и сигнификантна чернодробна фиброза (F1-F2) ($p=0.028$) и при начална чернодробна фиброза (F1) ($p=0.025$).

Фигура 13. Брой на пациенти с нарастване или спад в нивата на МСР-1 между начало на терапията и при отчитане на ТВО.



VII. ОБСЪЖДАНЕ

Въпреки различията в дислипидемията при ХХС генотип 1 и НАСБ, ИР е общ фактор, който се свързва с прогресия на чернодробното увреждане и повишен кардиометаболитен риск при двете заболявания. HDL при ХХС се влияе едновременно от хипохолестеролемията свързана с напредналата чернодробна фиброза и от наличието на метаболитно увреждане.

Докладвани са ниски нива на общ холестерол и LDL, или на HDL и триглицериди при пациенти с ХХС с напреднала чернодробна фиброза. Резултатите от нашите проучвания говорят също за поддържане на ниски серумни холестеролови нива (общ холестерол и LDL) при пациенти с ХХС. Ниските холестеролови нива корелираха с високите стадии на чернодробна фиброза в нашата група – напреднала септална фиброза и чернодробна цироза ($F \geq 3$). Серумните триглицеридни нива същевременно бяха свързани с по-високи стойности на неинвазивните скорове за оценка

на чернодробната фиброза, без да имат връзка с директната оценка на стадия на фиброза или чернодробната стеатоза.

Проучихме Lp (a), познат като генетично обусловен независим рисков фактор за сърдечно-съдова заболяемост, поради LDL-подобната му структура. Честотата на Lp (a) дислипидемията беше подобна при ХХС и НАСБ в нашия анализ. Средните нива при НАСБ обаче надвишаваха тези при ХХС, независимо от наличието на стеатоза. При ХХС стеатозата не беше определяща за средните му нива. Тази зависимост показва, че показателят се влияе от стеатозата, когато тя се дължи на изцяло на метаболитни фактори.

При ХХС генотип 3 се съобщават по-ниски серумни нива на общ холестерол, HDL и LDL от същите показатели при здрави лица, както и корелация между вирусния товар и характерната за инфекцията с този генотип чернодробна стеатоза. Резултатите от нашето проучване при 14 пациенти подкрепят разбирането, че вирусът от този генотип взаимодейства в по-голяма степен с вътреклетъчните липиди. Това се обяснява с малка разлика в структурата на HCV Ag между генотип 1 и 3 на вируса, които определят по-силната му връзка с липидните капчици в хепатоцита. Съществуват съобщения за директна асоциация на вирусния товар със серумни липиди. Корелацията, която намерихме при ХХС генотип 1 със стеатоза беше между вирусния товар и триглицериди, и VLDL.

Вирусният жизнен цикъл се благоприятства от повишен внос на холестерол пренасящи частици и повишен износ от хепатоцитите на богати на триглицериди липопротеини и липовирочастици (ЛВЧ). В резултат серумните нива на холестерол се поддържат ниски, за сметка на относително повишено ниво на триглицериди - в липопротеините и в кръвотока като цяло. Ефектът върху понижения общ холестерол при наличие на чернодробна цироза се подсилва от намалената хепатоцелуларна маса.

Имунните и метаболитните механизми на ХХС действат от самото начало на инфекцията предимно върху хепатоцитите в перипорталната зона на чернодробния ацинус – тези, които синтезират по-голямата част от ендогенния холестерол. Нарушеното функционално зонироване на метаболитните процеси в чернодробния паренхим при ХХС е фактор, който би могъл да допринася едновременно за по-ниските нива на холестерол, метаболитно увреждане на хепатоцитите, тежестта и по-

бързата прогресия на чернодробното увреждане при пациентите с ХХС със затлъстяване, ИР и метаболитен синдром предразположени и към НАСБ.

* * * * *

Съотношението TG/LDL математически разкрива диспропорцията между двата показателя. Съчетанието на ниски общ холестерол и LDL при нормални или относително повишени триглицеридни нива съпътстваше наличието на напреднала фиброза и чернодробна цироза при ХХС. Наличието на глюкозни нарушения не беше съпътствано от комбинирана хиперлипидемия както при НАСБ. ЗДТ2 в групата беше свързан с нисък общ холестерол, нисък HDL и без изразена хипертриглицеридемия. Глюкозните нарушения допринесоха за по-високи серумни нива на триглицериди и по-високи стойности на скоровата оценката на чернодробната фиброза, но не и на чернодробната стеатоза.

Наличието на стеатоза при ХХС генотип 1 се характеризираше с по-висок тромбоцитен брой и общ холестерол. Тези два показателя отличаваха състоянието, но потенциалните им диагностични възможности бяха като цяло ниски, на базата на малката площ под ROC кривата. Стеатозата оказва влияние върху серумните липидни нива и оценката на чернодробната фиброза с TG/LDL, затова беше необходимо да се отчита при измерванията и анализа им. Наличието на чернодробно увреждане по типа на стеатофиброза или стеатоцироза се отразяваше негативно на чувствителността и специфичността на TG/LDL. Отдаваме го на самостоятелния ефект на стеатозата върху нивата на серумните липиди и корелацията ѝ с нивата на общ холестерол и LDL. TG/LDL притежаваше значителна чувствителност при стойности над 0.32 и специфичност при стойности над 0.52 за предсказване на напреднала чернодробна фиброза и цироза, особено при пациентите без стеатоза. Когато комбинирахме TG/LDL с APRI скор, идентифицирахме по-голям брой случаи с чернодробна цироза, отколкото при всяка една от другите комбинации от скорове. Ефектът от комбинацията им е адитивен, тъй като TG/LDL идентифицира част от случаите на чернодробна цироза, в които стойностите на АСТ и тромбоцитния брой са близки до нормалните. Същевременно APRI скорът долови случаи на чернодробна цироза, в които серумните нива на общ холестерол и LDL са под влиянието на чернодробната стеатоза (стеатоцироза).

Съпоставихме оценката на чернодробната фиброза с транзиторна еластография при подгрупа от 49 пациенти с ХХС. Изведените стойности на LS съответстват на оптималното сечение между чувствителност и специфичност, постигнато за съответния стадий на фиброза. Нямаше значима разлика между праговете нива за LS за ХХС изведени от предходни проучвания. За всяко ниво на LS отговаря ниво на чувствителност и специфичност, с които се предсказва даден стадий на фиброза. Разделянето на групата на напреднала (F3-F4) и ненапреднала (F1-F2) фиброза демонстрира значително по-високата стойност на метода за по-високите стадии на фиброза при ХХС. Правилната интерпретация на нивата на LS е като обхват, в който попада с най-голяма вероятност съответния стадий на фиброза.

Обща черта на неинвазивните методи за оценка на чернодробната фиброза е липсата на точност при разграничаване на последователни по тежест стадии на фиброза съответстващи на оценката по METAVIR. Това води до широка „сива зона” на методите. Наблюдавахме го при транзиторната еластография и го проучихме при съотношението TG/LDL. С напредване на фиброзата нарастват чувствителността и специфичността, с които тя може да бъде оценена еластографски и като цяло неинвазивно. Разделянето на групата на напреднала (F3-F4) и ненапреднала (F1-F2) чернодробна фиброза демонстрира по-успешното различаване на ниските от високите стадии на чернодробна фиброза. При използване на TG/LDL имахме значими резултати единствено за стадиите на напреднала фиброза и чернодробна цироза. Стойността на маркера се загуби за стадия на напреднала чернодробна фиброза при отчитане на влиянието на чернодробната стеатоза. Предвид това TG/LDL може да бъде обсъждан като потенциален маркер за чернодробна цироза, а не като такъв за разграничаване на всички стадии на чернодробна фиброза. При стойности на TG/LDL над 0.52 броят на случаи с чернодробна цироза значително надвишаваше броя на случаите с по-нисък стадий на чернодробна фиброза. Със стойности на TG/LDL до 0.32 бяха 10% от всички случаи на чернодробна цироза в групата, а останалите 90 % съответно над 0.32. За всяка стойност от ROC кривата на TG/LDL, както и на LS, отговаряше ниво на чувствителност и специфичност, с които се предсказва даденото състояние. Приехме, че по-ниската стойност на TG/LDL от 0.32 има добра чувствителност за разграничаването на случаите с чернодробна цироза от тези в по-нисък стадий на фиброза. Специфичността обаче в този случай

беше ниска. При стойности под 0.32 TG/LDL е потенциален маркер за изключване на чернодробна цироза при ХХС генотип 1. При по-високата стойност 0.52 специфичността за разграничаване на случаите с чернодробна цироза се повиши. В този случай обаче чувствителността беше по-ниска поради случаите с чернодробна стеатоза, при които не беше възможно да се определи отделния принос на чернодробната фиброза и стеатоза върху стойностите на серумните триглицериди, LDL и съотношението им.

* * * * *

Връзката на серумните концентрации на MCP-1 с ИТМ, наднормено тегло и затлъстяване е известна от литературните данни, но не е изследвана при HCV инфектирани лица със наднормено тегло. При нашите пациенти с ХХС оценката на чернодробната фиброза – хистологична и лабораторна, беше свързана с показатели на инсулиновата резистентност и наднормено тегло. Литературните данни подкрепят участието на MCP-1 като една от многото сигнални молекули в тези проинфламаторни и профибротични пътища. Възпалителния процес с участието на MCP-1 и CCR2 се поддържа автокринно. Потвърдено е значението на локалните концентрации на хемокина за миграцията на притежаващите рецептора клетъчни елементи. Може да се предположи, че промяната в локалното или системно възпаление е свързана и с промяна в концентрациите на хемокина, оттам и в градиент-зависимия хемотаксис на клетките. Измерихме повишение спрямо изходните стойности при пациентите, при които противовирусната терапия доведе до ТВО. Такава промяна нямаше при пациентите, при които се запази статуса на хронична HCV инфекция. При анализа в подгрупите това повишение произхождаше от пациентите със стадий на чернодробна фиброза F1-F2 и с чернодробна стеатоза. Хемотаксисът воден от MCP-1 е зависим от концентрационния градиент на хемокина. Флуктуацията в серумната концентрация на MCP-1 след ТВО можем да свържем с процес на динамична подмяна на проинфламаторни и профибротични клетъчни субпопулации с ресторативно активирани такива.

Клетките на ММФС проявяват функции свързани с трансфера на липиди и метаболизма на Апо-В съдържащи липопротеини в кръвотока и

върху ендотелната стена. Така те свързват имунни и метаболитни патогенетични пътища в условията на хронична HCV инфекция.

При пациентите с напреднала чернодробна фиброза и цироза (F3-F4) намерихме по-високи средни стойности на ИТМ и НОМА-IR от тези с начална или сигнификантна чернодробна фиброза (F1-F2). Потвърди се и силната корелация на TG/LDL със стадия на чернодробна фиброза и отрицателната такава с нивата на LDL.

Съчетанието метаболитни (липидни и глюкозни) нарушения, чернодробно увреждане, персистираща имунна активация, създава уникален имуно-метаболитен профил на хроничната HCV инфекция. ХХС е свързан с кардиометаболитен риск, дължащ се на цялостния метаболитен профил на хроничната инфекция, при променени параметри на липидната обмяна. Метаболитните фактори са решаващи за чернодробното увреждане и кардиометаболитния риск след елиминиране на вирусната инфекция с противовирусни средства.

VIII. ИЗВОДИ

1. При ХХС настъпват промени в липидната обмяна, които имат значение за поддържането на хроничната инфекция, формирането на чернодробна стеатоза и прогресия на чернодробното заболяване.
2. Навлизането в хепатоцитите на богати на холестерол частици и изнасянето в кръвотока на богати на триглицериди VLDL-подобни ЛВЧ по пътя на VLDL благоприятства вирусния жизнен цикъл.
3. Чернодробната стеатоза и ЛВЧ в кръвотока свързват генетичните, имунните и метаболитните механизми, с които се осъществява персистенцията на HCV и хроничното чернодробно увреждане. Чернодробната стеатоза, индуцирана от вирусни, метаболитни или съчетание от фактори, благоприятства вирусния жизнен цикъл и прогресията на чернодробното увреждане при ХХС.
4. Нивата на Lp (a) при пациенти с ХХС са по-ниски от тези при НАСБ. При ХХС със стеатоза нивата на Lp (a) са в обратна зависимост със стадия на чернодробна фиброза оценена с лабораторни скорове.
5. Нивата на общ холестерол, LDL, триглицериди и съотношението TG/LDL при ХХС зависят от наличието на чернодробна стеатоза, стадия на чернодробна фиброза и генотипа на HCV инфекцията. Съществуват различия между генотип 1 и 3 на вируса по отношение на степента им на асоциация с интрацелуларните липидни капчици и серумните липиди.
6. Липидните показатели намират приложение в оценката на чернодробното увреждане и в прогнозата на чернодробната болест. Разнопосочният ефект на чернодробната фиброза и цироза върху серумните нива на триглицеридите, и LDL превръщат съотношението TG/LDL в потенциален маркер за чернодробна цироза при хронична инфекция с HCV генотип 1. Стойности на съотношението над 0.52 насочват с висока специфичност към чернодробна цироза, а стойности до 0.32 могат да допринесат за изключването на такава.
7. Чернодробната стеатоза влияе на стойностите на липидните измервания различно от чернодробната фиброза и цироза. Предсказващата стойност на съотношението TG/LDL за

- чернодробна фиброза и цироза намалява при наличието на чернодробна стеатоза.
8. TG/LDL съчетан с индиректни неинвазивни скорове за оценка на фиброзата като APRI скор и FIB-4 скор, подобрява разкриването на случаи с чернодробна цироза.
 9. Широко достъпните неинвазивни индиректни скорове за чернодробна фиброза и транзиторната еластография имат добра предиктивна стойност в разграничаването на начална от напреднала чернодробната фиброза при ХХС. Те не са достатъчни да заменят референтния стандарт на хистологичното изследване за пълния спектър на чернодробното увреждане. Комбинирането на разнотипни неинвазивни методи позволява откриването на повече случаи на чернодробна цироза.
 10. Серумните концентрации на МСР-1 при ХХС зависят от наличието на наднормено тегло и затлъстяване. Наднорменото тегло, затлъстяването и ИР са свързани с прогресията на чернодробната фиброза при ХХС.
 11. След лечение и ТВО се наблюдава нарастване на МСР-1. При пациентите с чернодробна стеатоза и тези без напреднала фиброза, ръстът в нивата МСР-1 е значим. Чернодробната стеатоза има значение за имунния отговор след ТВО при ХХС.
 12. Самостоятелното значение на чернодробната стеатоза при ХХС има основание да бъде проучено като фактор за прогресия или липса на адекватна регресия на чернодробното заболяване след ТВО.
 13. Кардиометаболитния риск при пациентите с ХХС не се определя от серумните холестеролови нива, базира се на традиционните рискови фактори и системна възпалителна активност, която произхожда от персистираща активация на клетъчния имунитет.
 14. Метаболитните фактори, които допринасят за прогресията на чернодробната стеатоза и фиброза, допринасят същевременно за кардиометаболитния риск при пациентите с ХХС.

IX. НАУЧНИ ПРИНОСИ

Оригинални научно-теоритични приноси:

1. Обяснени са двупосочните зависимости между характеристиката и тежестта на чернодробното заболяване при ХХС и промените в серумните липидни показатели: по-високи стойности на общия холестерол и LDL при чернодробна стеатоза; редукция на стойностите на общия холестерол и LDL с напредване на чернодробната фиброза към цироза.
2. Анализирани са механизмите на ИР, чернодробна стеатоза, нискостепенна системна възпалителна активност и ендотелна дисфункция паралелно за НАСБ и ХХС.
3. Предложено е морфологично обяснение на взаимодействията между вирусните и метаболитните фактори в чернодробния паренхим, като се позовава на данните за нарушено функционално зонирание на метаболитните процеси и последващо метаболитно увреждане на хепатоцитите при хроничната HCV инфекция.

Потвърдителни научно-теоритични приноси

4. Обяснени са механизмите на взаимодействие на HCV с основните липиди и транспортни липопротеини в човешкия организъм.
5. Обяснено е значението на липидните частици за вирусния жизнен цикъл и поддържането на хроничната инфекция.
6. Разграничено е значението на отделните фактори определящи тези взаимодействия – генотип на вируса, клиничен ход на HCV инфекцията, терапевтичен отговор, генетични предпоставки при човека.
7. Обяснени са предпоставките за формирането на чернодробната стеатоза и значението ѝ за ХХС.
8. Обяснени са механизмите, с които клетките на ММФС участват в промотиране на възпалението, фиброгенезата и в обратното развитие на чернодробното увреждане.
9. Потвърди се корелацията между количествените измерванията на вирусния товар и серумните триглицериди при инфектираните с HCV генотип 1, и съответно процент на хепатоцити засегнати от липидни отлагания при генотип 3.

10. Потвърди се асоциацията между показателите на ИР, ИТМ - наднормено тегло и затлъстяване, и наличието на напреднала чернодробна фиброза и цироза при ХХС.
11. Потвърди се корелацията на МСР-1 с ИТМ и наличието на наднормено телесно тегло при ХХС.
12. Потвърди се корелацията на показателя LS със стадия на чернодробна фиброза и възпроизводимостта на транзиторната еластография.

Оригинални научно-приложни приноси

1. Проучени са серумните общ холестерол, LDL, HDL, VLDL, триглицериди, Lp(a) и съотношения между тях за предиктивната им стойност в оценката на чернодробната стеатоза, фиброза и цироза;
2. Сравнени са серумните общ холестерол, LDL, HDL, триглицериди и Lp(a) при пациенти с НАСБ, ХХС с и без чернодробна стеатоза.
3. Намерена е корелация на триглицеридните нива с по-високи стойности на неинвазивните скорове за оценка на чернодробната фиброза; по-високи стойности на TG/LDL при напреднала чернодробна фиброза и цироза. Изведено и проучено е приложението на съотношението TG/LDL за неинвазивна оценка на стадия на фиброза и диагноза на чернодробната цироза.
4. Изведена е чернодробната стеатоза като фактор, свързан с по-високи стойности на LDL и общ холестерол, оказващ негативен ефект върху специфичността и чувствителността на TG/LDL за разграничаването на напреднала чернодробна фиброза и цироза.
5. Предложен е подход на съчетаване на TG/LDL с APRI скор за търсенето на чернодробна цироза при ХХС, като така диагностичните им възможности се допълват.

Потвърдителни научно-приложни приноси

6. Проучена е транзиторната еластография и съпоставени резултатите със стадия на чернодробна фиброза за първи път в група български пациенти с ХХС. Изведени са близки до посочените в литературните данни прагови стойности на показателя за стадията на сигнификантна, напреднала септална фиброза и чернодробна цироза при български пациенти с ХХС.

XI. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ

Статии

Valkov, I., Ivanova, R., Alexiev, A., Antonov, K., Mateva, L. Association of serum lipids with hepatic steatosis, stage of liver fibrosis and viral load in chronic hepatitis C. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017 Aug, Vol. 11, 15-20.

Valkov, I., Ivanova, R., Marinova, C., Alexiev, A., Antonov, K., Jelev, D., Ivanova, R.S., Mateva, L. A comparative analysis of serum lipids in patients with chronic hepatitis C, nonalcoholic fatty liver disease and healthy controls. *Acta Medica Bulgarica* 2017, Vol. XLIV, № 1, 5-10.

Вълков, Иван. Хроничен хепатит С - вирусна инфекция асоциирана с липидната обмяна. *Българска хепатогастроентерология*, Бр 2, 2016г, 40-44.

Антонов, К., Вълков, И., Попов, Д., Алексиев, А. Fibroscan за оценка на чернодробната фиброза при пациенти с хронични HBV и HCV инфекции. *Българска хепатогастроентерология*. Бр. 2, 2014г, 28-32.

Kancheva, L., Nikolov, P., Velikova, T., Valkov, I., Nikolov, R., Mateva, L. Soluble CD14 is associated with disease activity and severity in chronic viral hepatitis C and B. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* (Под печат).

Участия в международни научни форуми и научни съобщения.

I. Valkov, T. Velikova, K. Tumangelova-Yuzeir, D. Kyurkchiev, K. Antonov. Monocyte chemoattractant protein -1 concentrations in serum depend on overweight in chronic hepatitis C patients and increase after sustained virologic response. 25th UEG Week Барселона, Испания, 28.10.-01.11.2017, постер с награда National Scholar Award.

I. Valkov, R. Ivanova, A. Alexiev, K. Antonov, L. Mateva. Association of serum lipids with fatty liver, stage of fibrosis and viral load in chronic hepatitis C. 1st International Conference on Fatty Liver. Севилья, Испания 1-3.06.2017 г.

R. Ivanova, I. Valkov, Tz.Marinova, A.Alexiev, K.Antonov, L.Mateva. Cardiometabolic risk factors and carotid intima media thickness in patients with chronic hepatitis C. *Atherosclerosis*. 2017 Aug. Vol. 263, e267.

R. Ivanova, I. Valkov, C. Marinova, A. Alexiev, K. Antonov, D. Jelev, L. Mateva. Comparative analysis of serum lipids in patients with chronic hepatitis C, nonalcoholic fatty liver disease, and healthy controls. *Atherosclerosis*. 2016 Sep. Vol. 252, e154–e155.

I. Valkov, C. Marinova, A. Alexiev, K. Antonov, D. Jelev, R. Ivanova, L. Mateva. Comparative analysis of serum lipids in patients with chronic hepatitis C and B, nonalcoholic fatty liver disease, and healthy controls. EASL Monothematic conference: Microbiota, Metabolism and NAFLD. Инсбрук, Австрия 26-28.02.2015 г.

ХІІ. ПРИЗНАТЕЛНОСТ

Благодарни сме на

Доц. Доброслав Кюркчиев, Д-р Цветелина Великова и екипа на Лаборатория по клинична имунология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”, за помощта при обработката на серумните проби и изследването на МСР-1 по метода на количествен ELISA.

Д-р Ирена Иванова и екипа на Клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Иван Рилски” за помощта при обработката на серумните проби, изследването на Lp(a) по проект и други клинично-лабораторните показатели.

Съвет по медицинска наука към Медицински университет – София за полученото финансиране по програма „Млад изследовател” ДОГОВОР №14-Д/2014 г по проект „Роля на серумните липиди във вирусната кинетика, патогенезата и терапевтичния отговор на хроничната HCV инфекция. Проследяване и съпоставяне на липидния статус с клинични, образни, лабораторни, вирусологични и хистологични методи за оценка на чернодробното заболяване”.