

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
КЛИНИКА ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ
„УМБАЛ СВЕТИ ИВАН РИЛСКИ“

Ръководител Катедра: проф. Борис Богов, дмн

Научна специалност

Гастроентерология

Д-р Мария Димитрова Петкова –

Кунчева

**Хронични вирусни хепатити при пациенти с краен
стадий на хронична бъбречна недостатъчност и
бъбречна трансплантация**

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научни ръководители:

**► ПРОФ. КРАСИМИР АНТОНОВ, КЛИНИКА ПО
ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ, УМБАЛ „СВЕТИ ИВАН РИЛСКИ“
ЕАД, ГР. СОФИЯ**

**► ПРОФ. ЕМИЛ ПАСКАЛЕВ, КЛИНИКА ПО НЕФРОЛОГИЯ,
ТРАНСПЛАНТАЦИЯ И ДИАЛИЗНО ЛЕЧЕНИЕ НА УМБАЛ
„АЛЕКСАНДРОВСКА“**

СОФИЯ

2023

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	стр.3
ВЪВЕДЕНИЕ.....	стр.6
ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	стр.7
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	стр.34
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	стр. 35
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	стр.38
ДИСКУСИЯ.....	стр.83
ИЗВОДИ.....	стр.86
ПРИНОСИ.....	стр.88
ЛИТЕРАТУРА.....	стр. 89
ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	стр.103

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ХБЗ - хроничното бъбречно заболяване

eGFR - Скорост на гломерулна филтрация

HCV – hepatitis C virus

HBV - hepatitis B virus

HAV - hepatitis A virus

САЩ – Съединени Американски Щати

СЗО - Световната Здравна Организация

NANBH - non A, non B hepatitis

РНК (RNA) – рибонуклеинова киселина

CLDN1 - Клаудин-1

NK – natural killers

DC – dendritic cells

TLRs - tolllike receptors

RIG-I - ретиноева киселина - индуциран ген 1

PAMPs - патоген – асоцииран молекулярен патерн

IRF-3 - интерферон-регулаторен фактор 3

ISGs - интерферон стимулиращи гени

NS – неструктурен протеин

IFN- γ – интерферон гама

MHC - главен комплекс на тъканна съвместимост

CD – clusters of differentiation

ОБУ – остро бъбречно увреждане

БТ – бъбречна трансплантация; бъбречно-трансплантирани

RF – ревматоиден фактор

IgA – имуноглобулин А

IgM – имуноглобулин М

IgG – имуноглобулин G

ELISA – enzyme linked immunosorbent assay

АЛАТ - Аланинаминотрансфераза

АСАТ – Аспартат аминотрансфераза

EIA - ензимен имуноанализ

НСС – hepatocellular carcinoma

APRI - AST to Platelet Ratio Index

FIB – 4 - The Fibrosis-4 score

EASL – European association for the study of the liver

AASLD – American association for the study of the liver

ТВО – траен вирусологичен отговор

kPa – kilopascal

HIV – human immunodeficiency virus

МПГН – мембранопролиферативен гломерулонефрит

МН - мембранозна нефропатия

ОСГС - огнишна сегментна гломерулосклероза

PAS – Periodic acid -Schiff

ЗД – захарен диабет

ДДАс - директно-действащите антивирусни средства

KDIGO - Kidney Disease Improving Global Outcomes

RBV – Ribavirin

G1 – genotype 1

G3b – genotype 3b

SOF – Sofosbuvir

G/P – Glecaprevir/Pibrentasvir

SOF/VEL/VOX – Sofosbuvir/ Velpatasvir/ Voxilaprevir

RAVs – resistance- associated variants

БДГЕ - Българско дружество по гастроентерология гастроинтестинална ендоскопия и абдоминална ехография

CYP3A - cytochrome P450, family 3, subfamily A

CYP1A2- cytochrome P450, family 1, subfamily A2

DDIs – drug-drug interactions

ПЧР – първичен чернодробен рак

mTOR – mammalian target of rapamycin

MMF - mycophenolate mofetil

NGAL - неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин

MDRD – the modification of diet in renal disease

HRP - horse-radish peroxidase

ТМВ - тетраметилбензидин

PCR – Polymerase chain reaction

IU – international units

Мl – milliliter

Мсmол – micromole

Ng – nanogram

Alb – albumin

PT – prothrombin time

СРК – creatine Phosphokinase

Въведение

Лечението на хроничните вирусни хепатити при пациенти с хронични бъбречни заболявания и такива след бъбречна трансплантация е област изискваща комплексни и задълбочени познания в областите вирусология, гастроентерология и нефрология.

През последните няколко десетилетия беше установено, че редуцирането на гломерулната филтрация под критичното ниво води до постоянна тенденция към прогресиране на бъбречното увреждане. Това наблюдение предполага, че загубата на критичен брой нефрони провокира постоянен цикъл на последваща загуба на нефрони. Детайлни проучвания изтъкват набор от механизми, които заедно допринасят за прогресиране на хроничното бъбречно заболяване (ХБЗ) – гломерулни хемодинамични механизми на загубата на нефрони, протеинурия и проинфламаторни механизми.

Скоростта на гломерулна филтрация (eGFR), използваща серумния креатинин като биомаркер е най-достоверният показател за хронично гломерулно увреждане. При здрави хора GFR е в диапазона от 130 до 90 мл/мин/1,73 м², докато при пациенти със стадии 4 и 5 на ХБЗ тя е под 30 мл/мин/1,73 м². (1)

Данни от национални кохортни проучвания сочат, че пациентите с хепатит С вирусна инфекция имат по-висока заболеваемост от ХБЗ, като захарния диабет, хиперлипидемията и чернодробната цироза носят повишен риск за възникване на ХБЗ при носители на HCV-инфекцията. Има данни, че присъствието на HCV е с висока асоциация с влошаването на бъбречната функция. Скорошно голямо кохортно проучване с над 100 000 инфектирани с HCV ветерани от САЩ и 900 000 неинфектирани здрави контроли установи двойно повишен риск при първата група за развитие на ХБЗ.

Благодарение на откритията, отнасящи се до репликативният цикъл на вирусът на хепатит С и разработването на медикаменти, блокиращи репликацията на няколко нива – т.нар. директно - действащи антивирусни средства, лечението и прогнозата на заболяването претърпяха катарзис.

След въвеждането на протеазните инхибитори от първа генерация (Telaprevir, Bosceprevir) започнаха да се водят все по-чести дискусии за възможността за ерадикация на вируса. Революционното въвеждане на протеазни инхибитори втора генерация, последвано от навлизането в клиничната практика на пангенотипни режими за лечение на хепатит С доведе до създаване на световна инициатива на Световната Здравна Организация – Agenda 2030, изразяваща желание за елиминация на вируса до края на 2030 година.

1. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1.1 Общи данни

1.1.1 Исторически данни

Вирусът на хепатит С (HCV) е една от основните причини за чернодробно заболяване както в световен мащаб, така и у нас. Той е една от най – честите причини за възникване на хронично чернодробно увреждане, чернодробна цироза и хепатоцелуларен карцином. За първи път вирусът на хепатит С е бил изолиран от серум на болен, предварително класифициран с хепатит тип „ non-A, non-B“ през 1989г (Choo, 1989). Не дълго след това е установено, че новооткритият HCV е причина за 90% от хепатит тип „ non-A, non-B“ в Съединените Американски Щати (САЩ). Вирусът е класифициран като РНК – вирус и е причислен към семейството на Флавивирусите (Flaviviridae).

Откриването на вирусът на хепатит С стартира през далечената 1950г с идентифицирането на инфекциозен и наличен в серума хепатит. Малко по - късно американският вирусолог Stephen Feinstone и неговият екип доказват, че вирусът на хепатит А е причинител на въпросната инфекция. Доктор В. Blumberg и неговият екип доказват вирусът на хепатит В като причинител на същият тип инфекция.

До 1975г съществуването на вирусът на хепатит С все още не се предполага. Отново екипът на д – р Stephen Feinstone изказва концепцията, че повечето случаи на трансфузионно-асоцииран хепатит не са в резултат на патогенното действие нито на вирусът на хепатит А, нито на вирусът на хепатит В. Към настоящият момент кръщават неизвестният причинител „non A, non B hepatitis” – нито А, нито В хепатит.

На този етап броят новозаразени с хепатит чрез трансфузии на кръвни продукти значително намалява, след откриването на вирусът на хепатит В. Екипът на д-р Harvey J. Alter от своя страна открива, че ходът на протичане на свързаните с трансфузии хепатити не винаги е идентичен със случаите с доказана инфекция HBV, както и че HAV не е свързан с тези случаи. В резултат на тези съждения постепенно се оформя хипотезата, че съществува друг неидентифициран до момента инфекциозен агент, който е основно отговорен за заразените чрез хемотрансфузии болни от хепатит.

Това довежда до опити с животни (шимпанзета, тъй като генетично са най-сходни с човечите), при които се инжектира кръв от заразени хора и животните се разболяват от хепатит тип NANBH.

След провеждане на множество експериментални проучвания и изучаване на вирусната трансмисия при тези животни, се установява че NANBH се причинява от малък вирусен агент. През 1989г група учени успешно клонират малък фрагмент от генома на вируса на хепатит С (генотип 1), като доказват съществуването на вируса и това е момента на неговото откриване за света.

След откриването на HCV – репликоните (Lohmann et al.) нуждата от клониране на вируса изчезва (1999г) и дава платформа за старта на разработване на лекарства за HCV. Започва изучаването на РНК – репликацията върху тъканни култури. Групата на Takaji Wakita изолира HCV – репликон (HCV genotype 2a, наречен JFH-1) от кръвта на японски пациент с фулминантен хепатит. Следва трансфер на клонирания геном на HCV в Huh-7 клетки, реплициране на последния и доказване на активно заразяване от него на „наивни“ хепатоцити от шимпанзе. Следват позитивни проучвания и опити с шимпанзета, заразени с вируса на хепатит С по посочената методика. Това непосредствено доведе до откриването на HCV – противовирусните медикаменти през 2014г.

В допълнение на чернодробното си страдание, пациентите с хроничен вирусен хепатит С могат да имат и екстрахепатални прояви на заболяването в разнообразни органи и тъкани, включително бъбреците. До момента съществуват значително количесво доказателства, проследяващи връзката на хроничния вирусен хепатит С и хроничното бъбречно заболяване. HCV и ХБЗ са световен здравен проблем, актуален и днес.

1.1.2 Епидемиология

Според данни за Световната здравна организация от 2020г, 71 милиона души живеят с хроничен вирусен хепатит С и това води до смъртта на около 400,000 души годишно. Смята се, че броят на новозаразените е около 1,5 милиона души годишно. През 2011г в САЩ са били докладвани около 1200 случая на остър HCV, като същата цифра се движи около 3600 случая/годишно през 2018г. Острото протичане на инфекцията на вируса на хепатит се регистрира най – често при възрастни хора над 65 годишна възраст, а в групата между 0 и 19г заболяемостта от остър хепатит С е най-ниска.

Развиващите се страни, основно в Азия и Африка, имат най-висока заболяемост от остър хепатит С, в сравнение с развитите, индустриализирани райони в Европа и Северна Америка. За момента няма адекватни данни относно заболяемостта в развиващите се страни.

В Европа заболяемостта разделя континента на 3 макрорайона: Централна, Западна и Източна Европа. Според литературни данни от 2016г за централна Европа, където се причислява България, превалиращият генотип на вирусът на хепатит С е генотип 1 (70%), последван от генотип 3 (21%) на вируса, генотип 4 – 4.9%, генотип 2 – 3.2%, с много нисък процент участват заразените със смесени (химерни) форми на вируса, както и тези , заразени с генотип 6.

Според едноцентрово ретроспективно епидемиологично проучване от 2019г (Christo Pentchev и сътр.), проведено върху 1731 души, инфектирани с вируса на хепатит С от всички големи области в България, генотипното разпределение е подобно на това в Европа. В това проучване най-честият генотип на HCV е генотип 1 (89.8 %) , последван

по честота от генотип 3 (8.5 % - с по-ниска честота в сравнение с описаната в централна Европа – 21%).

Заболеваемостта от HCV при пациентите с ХБЗ е по-висока, в сравнение с общата популация. Вирусът на хепатит С може да причини хронично бъбречно заболяване по типа на гломерулонефрит (мембранопрролиферативен) или като следствие от смесената криоглобулинемия, която може да го съпътства (представляваща HCV/ anti-HCV имунни комплекси, асоциирани с ревматоидния фактор и комплемента). Епидемиологични проучвания от САЩ (NHANES III) и Тайван демонстрират силна асоциация между HCV – инфекцията и ХБЗ, като в допълнение HCV е честа последица от наличието на напреднали стадии на ХБЗ 4-5. Хемотрансфузиите и нозокомиалните трансмисии в диализните центрове допринасят за много по-високата заболеваемост от HCV в стадий 5 на ХБЗ, сравнено с общата популация. Епидемиологичните проучвания показват , че тази вирусна инфекция се асоциира с повишен риск и скъсено време до развитие на ХБЗ, въпреки редуцираното присъствие на други рискови фактори за напредната бъбречна увреда. (ERCHIVES Study). Друго проучване потвърждава, че HCV- положителни пациенти имат с 40% по-висок риск да развият бъбречна недостатъчност, в сравнение с HCV – негативни пациенти, като двете групи за приравнени по показателите – раса, възраст, пол, наличие или не на захарен диабет или артериална хипертония. Релевантно проучване, включващо 23820 души на възраст между 30-65 години е проведено в Тайван. То включва 18541 anti-HCV серум – негативни индивиди, съпоставени с 1095 anti-HCV серум – позитивни и показва същата тенденция на заболеваемостта от ХБЗ. REVEAL - HCV е голямо проспективно проучване в Тайван, даващо възможност за дългогодишно проследяване и анализ на естествената еволюция на HCV – инфекцията и дългосрочно развиващите се заболявания, асоциирани с тази хронична инфекция. Lai и сътрудници оценяват риска от развитие на ХБЗ и бъбречна недостатъчност и връзката им с HCV – серологичния статус, нивото на вирусно размножаване (HCV RNA) и генотипът на вируса на хепатит С. Те доказват, че хроничната HCV – инфекция е самостоятелен рисков фактор за редукция на гломерулната филтрация до краен стадий на бъбречна недостатъчност. Участници с ниски и високи нива на HCV RNA имат съответно с 2.6 и 4.3 – пъти по – висок риск от развитие на бъбречна недостатъчност, в сравнение с участници, които не страдат от хронична HCV – инфекция. Доказва се допълнително повишен риск при пациентите, заразени с генотип 1 на вируса. HCV - асоциираната криоглобулинемия често причинява мембранопрролиферативен гломерулонефрит на присадката след бъбречна трансплантация. Инфекцията може да доведе и до развитие на мембранозна нефропатия при бъбречно - трансплантирани пациенти, като това може да бъде релапс или възникване на заболяването de novo. Наблюдават се случаи на остро отхвърляне на присадката при тези пациенти, но асоциацията с HCV към момента е противоречива. Наблюдава се още асоциация на хроничната HCV – инфекция с повишен риск от гломерулопатия на присадката, както и гломерулен фенотип на хронично отхвърляне на присадката.

1.1.3 Етиология и патогенеза

Заразяването с хепатит С се осъществява основно при контакт със заразени кръв и кръвни продукти. Рисковите фактори за заразяване включват : хемотрансфузия, интравенозна употреба на наркотични вещества, високорискови сексуални практики, трансплантация на солидни органи от инфектиран донор, рискова работна среда (медицински персонал), хемодиализа, раждане от инфектирана майка (нисък риск), интраназална употреба на кокаин. Според американската асоциация за превенция и контрол на заболяванията , най-честият рисков фактор за остра HCV – инфекция в САЩ за периода от 1991- 1995 са интравенозните наркотични вещества (60%) последвани от сексуалния път на трансмисия на инфекцията (20%). Другите пътища на заразяване (рискова работна среда, хемодиализа, перинатален) са асоциирани с около 10% от инфекциите в този период. Потенциален рисков фактор е бил идентифициран в 90% от случаите на HCV – инфектирани. В останалите 10% не е разпознат рисков път за заразяване с вируса макар повечето хора в тази група да са били с нисък социо-икономически статус. С наличието на актуалните методи за скрининг , заразяването с HCV чрез трансфузия на инфектирани кръвни продукти е с честота около 1 на всеки 500,000 до 2,000,000 трансфузии в САЩ.

Хроничният вирусен хепатит С се дефинира с присъствието на откриваема вирусна репликация (HCV RNA) в серума за не по-малко от 6 месеца след доказване на остра инфекция. HCV е самоограничаваща се инфекция в около 15%-25% от пациентите, при които вирусната репликация в серума става неоткриваема и нивата на АЛАТ се нормализират. В около 75% до 85% от инфектираните индивиди не се наблюдава изчистване на вируса от серума, съответно персистира активно вирусно размножаване след 6-ти месец от заразяването и се развива хроничен хепатит. Честотата на хронифициране на инфекцията зависи от множество фактори, включително възраст на индивида по време на инжектирането, пол, етносна принадлежност и развитието или не на жълтеница по време на острата фаза. Според някои източници честота на инфекцията в някои проучвания е по-ниска при представители на женския пол, особено млади жени. Тези данни са изведени в ретроспективен анализ на два големи епидемични взрива от хепатит С, наблюдавани при бременни жени, получили Rh анти-D имуноглобулин и контаминирани с HCV. Направено е 17 годишно проследяване на 704 жени от ирландски произход с положително anti-HCV антитяло след трансфузия на Rh анти-D имуноглобулин, като процентът на хронифициране на инфекцията в групата е 55%. В друга кохорта от 917 жени от немски произход, получили също контаминиран Rh анти-D имуноглобулин се наблюдава същата честота на хронифициране на инфекцията (55%) след 20-годишно проследяване. В противоречие на изложеното проучванията NHANES и Dionysos изтъкват сходна честота на инфекцията в двата пола. Съществуват разлики в честотата на хроничната HCV – инфекция, развитието на усложнения, сред различни групи раси и етноси. По неясни причини афро-американците имат по-висока честота на инфекцията от представители на бялата раса или латиноси. В проспективно наблюдение в град Балтимор (Мериленд, САЩ) сред индивиди, употребяващи интравенозни наркотици, честотата на хроничната HCV – инфекция при афро-американците е 95% . Проучването NHANES също подкрепя данните за по-висока честота на хроничната инфекция сред афро-американците (86%), в сравнение с представителите на бялата раса (68%) (p=0.02). Установява се също повишен риск (от 2 до 4 пъти) от развитие на първичен чернодробен рак сред афро-американците.

Жълтеница и имунен отговор. Наличието на иктер и субективна симптоматика по време на острата фаза се свързва с понижен риск от хронифизиране на HCV – инфекцията, сравнено с аниктеричните случаи. В проспективно проучване на 142-ма инфектирани с история на интравенозна употреба и негативирани на вирусното размножаване е установена висока честота на субективните симптоми и наличие на видим иктер. ($p=0.03$). Според някои източници наличието на жълтеница и свързано с по – бурен имунен отговор от страна на Th1 лимфоцитите и цитокинен отговор към вируса на хепатит С.

Навлизване на вируса в хепатоцита.

HCV е преносим по кръвен път вирус, достигащ черния дроб чрез системната циркулация. Навлизането на вирусните частици в хепатоцита изисква наличието на поне 4 фактора, осигурени от гостоприемника, включително наличие на скавенджър рецептор клас В, тип 1 (scavenger receptor class B type I), оклудин, Клаудин-1 (CLDN1) и CD81. Допълнително CLDN6 и CLDN9 са известни заместители на CLDN1 като необходими фактори за инвазията на HCV в не-чернодробни клетки. Молекулата CD81, експресирана върху клетката – гостоприемник играе ролята на вирусен рецептор, свързващ вирусните частици и съответно осигурява тяхното навлизване в хепатоцита. Вирусният протеин E2 от своя страна се свързва с екстрацелуларни структури, в които взема участие CD8. HCV се характеризира с разнообразен свързващ потенциал, който включва и редица други молекули - receptor for low-density lipoprotein, специфичен за дендритните клетки (DC)-интрацелуларна адхезионна молекула 3 (DC-SIGN). E2 е най-вариабилният вирусен протеин, поради което неговите взаимодействия със CD81 се определят като щамово-специфични. Съществуват два хипервариабилни региона - HVR-1 и HVR-2, които търпят чести мутации, вероятно вследствие действието на вирус-неутрализиращи антитела и HCV – специфични цитолитични Т – лимфоцити (CTLs).

Имунитет на гостоприемника.

Вроденият имунитет е първата линия на защита и контрол на HCV – инфекцията, както и на редица други инфекции. По време на инфектиране с HCV, клетките продуцират интерферон тип 1 и се подготвяйки се да резистират на инфекцията, на вирусното размножаване, да промотират адаптивния имунитет и да активират НК - клетките, както и DC и Купферовите клетки. След навлизането на вируса в клетката се задейства вътреклетъчният имунитет чрез разпознаване на вирусни частици от гостоприемника, известен като патоген – асоцииран молекулярен патерн (PAMPs), за което допринасят вътреклетъчни патоген-разпознаващи рецептори. Тези рецептори включват - tolllike ресептори (TLRs) и ретиноева киселина - индуциран ген I (RIG-I) - подобни рецептори (RLRs). RIG-I свързва PAMP и HCV-RNA, активира се интерферон-регулаторен фактор 3 (IRF-3), което от своя страна благоприятства експресията на IFN- α/β и анти-вирусните /интерферон стимулиращи гени (ISGs). Секрецията на интерферон и цитокини допълнително активира НК, дендритните и Купферовите клетки. Тези клетки играят ключова роля в Т/В клетъчно-базираният имунитет. Вирусът на хепатит С има способността ефективно да избягва вроденият имунен отговор, което е причина за хронифицирането на инфекцията. Това е възможно поради противодействието на HCV

върху RIG-1 пътя и активното избягване на имунен конфликт. Този феномен е причината за хронифицирането на инфекцията при по-голямата част от инфектираните. По-финното обяснение на този механизъм включва не-структурните протеини на вируса - NS3 и NS4A, които формират комплекс, активиращ NS протеазен домейн, засягащ деактивация на IPS-1. След тази реакция IPS-1 е неспособен да активира по-нататък IRF-3, инфектираните хепатоцити не са способни да произвеждат бета-интерферон, още по-малко да експресират ISGs. NK клетките, които са голяма част от силата на вродения имунитет, играят важна роля в ерадикацията на HCV. Черният дроб е богат на NK клетки, които обичайно са активирани в ранната фаза на инфекцията с вируса на хепатит С. Активираните NK клетки приобщават вирусспецифични Т – клетки и индуцират антивирусния имунитет в чернодробния паренхим. Те също така елиминират инфектираните с вируса хепатоцити чрез директни цитолитични механизми както и индиректно, чрез секреция на цитокини вкл IFN- γ и тумор – некрозис фактор - α . Тези цитокини индуцират антивирусното действие на клетките-гостоприменици. Изненадващо, HCV е развил множество стратегии за противодействие на NK клетките на гостоприменика. Интересен е фактът, че активираните NK клетки допринасят за чернодробното увреждане, докато деактивираните или компроментирани NK клетки позволяват на вируса да продължи своята инвазия в гостоприменика.

Придобит имунитет. След навлизането и реплициране на вируса в чернодробните клетки, вирусните частици се транспортират до ендоплазмения ретикулум и се свързват с молекули на главният комплекс на тъканна съвместимост (МНС), които се транспортират до повърхността на клетките. Там тези молекули се разпознават от Т – клетките. Повечето клетки са клас CD8+ и разпознават антиген-презентиращи клетки посредством МНС клас I молекули. Около 10% от цитотоксините Т-клетки са клас CD4+, разпознаващи антигени, които се презентират от МНС клас II молекули. Основна функция на изброените Т-клетки е елиминиране на вирус – инфектирани клетки. Вирусът на хепатит С е развил механизми, които му помагат да избегне тяхното цитотоксично действие. Цитотоксичните Т-клетки играят огромна роля във вирусната ерадикация и имунопатогенезата на HCV инфекцията.

HCV и механизми на бъбречно увреждане.

Известни са четири механизма, по които хроничната HCV- инфекция би могла да доведе до развитие на бъбречно заболяване:

- депониране на имунни комплекси в гломерулите;
- директна вирусна инвазия в бъбречния паренхим;
- бъбречни усложнения, вследствие на екстрахепатални манифестации
- нефротоксичност от лекарства, използвани за лечение на хепатит С

Тези механизми често действат в синхрон и могат да доведат до развитие на един или няколко остри или хронични бъбречни синдрома. Острото бъбречно увреждане (ОБУ) води до остро бъбречно страдание при пациенти с остър или фулминантен криоглобулинемичен васкулит. Хроничната HCV – инфекция сама по себе си е отделен рисков фактор за развитие на ОБУ при пациенти с дехидратация, сепсис или тежко чернодробно увреждане. Има някои теории, според които директният ендотелен цитопатичен ефект на вируса би могъл да обясни засилената атеросклероза, която се наблюдава при HCV – инфектирани индивиди. Този конкретен механизъм се обвинява за относително бързата прогресия на хроничното бъбречно заболяване при HCV – положителни индивиди. Съществува значително повишен риск от остро протичаща гломерулопатия на присадката и остро отхвърляне на присадката по съдов тип при HCV - положителни реципиенти. Находката обикновено е с картина на тромботична микроангиопатия. От друга страна късните усложнения при БТ са били проследени в метаанализ, проведен върху 6365 HCV – положителни бъбречно трансплантирани пациента (Fabrizi , 2005), като е установено че продължителността на живот на присадката е скъсена, сравнено с HCV – отрицателни индивиди (Fabrizi, 2014). Загубата на присадката е в резултат de novo възникнал или релапс на гломерулонефрит, както и в резултат на повишена честота на хронична гломерулопатия на присадката (Малуф 2010). Патогенетичните усложнения в тази кохорта са : инфекции, посттрансплантационен диабет, лимфопролиферативни заболявания, гломерулонефрити, криоглобулинемични васкулити и чернодробна недостатъчност.

1.1.4 Патоанатомия

Хроничната инфекция от вируса на хепатит С води до постепенното развитие на чернодробно увреждане, чернодробна фиброза , формиране на фиброзни септи в чернодробния паренхим. Крайният стадий на чернодробна фиброза с чернодробната цироза. Хистологично степента на чернодробна фиброза най-често се категоризира по скалата на Metavir.

Криоглобулинемичен гломерулонефрит – около 30% от пациентите развиват мезангиокапилярен (мембранопролиферативен) гломерулонефрит. Криоглобулините преципитират в мезангиума на гломерулите, благодарение свързания с тях IgM карра Ревматоиден фактор (j-RF) и неговия афинитет към клетъчния фибронектин, представен в мезангиалния матрикс. Съпровождащото този механизъм ендотелно увреждане , засягащо

перитубуларните капиляри, включва интерстициално възпаление, което води до фиброза и нарушаване на бъбречната функция.

Не - криоглобулинемичният медиран от имунни комплекси гломерулонефрит оникновено също е мезангиокапилярен, без да има наличие на циркулиращи криоглобулини. Гломерулната патология в тези случаи е в резултат на циркулиращи HCV – IgG имунни комплекси. В някои гломерулни депозити се доказва вирусният неструктурен протеин 3 (NS3), които имат предимно линеарен характер и се разполагат в стената на капилярите в мезангиума.

При мембранозната нефропатия са доказани вирусни частици - HCV core RNA , депонирани в гломерулите и в частност базалната мембрана. IgA нефропатия и огнищна сегментна гломерулна склероза също са описани при пациенти с хронична HCV – инфекция, като към момента не е доказана ясна патогенетична връзка.

Директният вирусен цитопатичен ефект на HCV , в ролята на антиген, е демонстриран при индивиди, в чийто серум няма доказани антитела чрез ELISA или имат доказано положителна репликация (HCV RNA) в периферна кръв. Това насочва и към евентуален допълнителен патогенетичен механизъм на увреда по типа на директната вирусна гломерулна цитотоксичност. Би могло да се спекулира, че директният ендотелен цитопатичен ефект би могъл да обясни засилената атеросклероза, която се наблюдава при HCV – инфектирани индивиди. Този конкретен механизъм се обвинява за относително бързата прогресия на хроничното бъбречно заболяване при HCV – положителни индивиди.

1.1.5 Клинична картина

Класическата хронична инфекция с вирусът на хепатит С може да се презентира клинично с целия спектър на еволюция на хроничното чернодробно увреждане до достигането на крайните стадии на чернодробна фиброза, циротично преустройство на паренхима и проявите на декомпенсирана чернодробна цироза, чернодробна недостатъчност или първичен рак на черния дроб.

Въпреки основно хепатотропното си действие, вирусът има и доказано системно такова, като води до проява на екстрахепатални манифестации на инфекцията в 74% от инфектираните. Последните могат да се наблюдават много преди доказването на напреднало чернодробно заболяване и включват някои неспецифични симптоми – гадене, замаяност, абдоминална или мускулоскелетна болка, необяснима загуба на телесна маса, невропсихиатрични симптоми - депресия, раздразнителност, апатия, както и някои по-специфични манифестации, като криоглобулинемичен васкулит, лимфопрлиферативни заболявания (В- клетъчен не-Ходжкинов лимфом), хронично бъбречно заболяване,

захарен диабет тип 2, повишена честота на съдови инциденти (церебро – и кардиоваскуларни), кожна форма на порфирия (porphyria cutanea tarda), плосък лишей. (Tang, 2016)

Смесена криоглобулинемия. Протича като васкулит на средните и малки съдове, възникващ в резултат на циркулиращи имунни комплекси от клас IgG (криоглобулини) или такива от клас IgM, които преципитират при ниски температури и водят до разрушаване на ендотела и развитие на васкулит. (Sene, 2004). Клиничните манифестации на синдрома на смесената криоглобулинемия включва палпируема пурпура, артрит, незарастващи язви, периферна невропатия, засягане на централната нервна система и гломерулонефрит. (Cacoub, 2014; Sherman, 2015). Бъбречните прояви на HCV – инфекцията най-често са обвързани с мембранопротрофиращ гломерулонефрит, обикновено са свързани с прояви на средна до тежко по степен хронично бъбречно заболяване , микроскопска протеинурия и хематурия.

Засягането на **централна нервна система** при това заболяване е обект на усилено изучаване. Почти половината пациенти докладват когнитивни нарушения в различна степен (Kramer, 2002; Laskus, 2005). Когато чернодробното заболяване е в напреднал стадий, неврокогнитивните функции могат да бъдат засегнати от проявите на портална енцефалопатия, независимо от HCV – статуса.

Porphyria cutanea tarda е кожна форма на порфирия и се асоциира с хроничният вирусен хепатит С (Vonkowsky , 2000). Наблюдават се типичните за порфирия кожни лезии, без системни прояви на дефектите в порфириновата обмяна.

Lichen planus е хронично кожно-мускулно заболяване от възпалителен характер, при което се наблюдава кератинизиране на засегнатата повърхност от кожата или лигавиците. Най - засегнатите участъци са крайниците, лицето, скалпа, ноктите и лигавичните повърхности на гастроинтестиналния и генитоуринарния тракт. (Nagao, 2004)

1.1.6 Диагноза

1.1.6.1 Диагностика на HCV - инфекцията

Диагноза на наскоро придобит хепатит С, хроничен хепатит С и ре-инфекция с HCV

Всички пациенти със съмнение за *de novo* наскоро придобита HCV инфекция трябва да бъдат тествани за anti-HCV антитела и за HCV RNA или HCV core antigen в серум или плазма. Наскоро придобит хепатит С може да се подозира, при клиничните знаци и симптоми, съвместими с остър хепатит (ниво на АЛАТ > 10 пъти над горна референтна граница и/или жълтеница), при липса на история за хронично чернодробно заболяване или

друга причина за остър хепатит и/или ако е открит нов вероятен източник на предаване на инфекцията с HCV.

Anti-HCV антияло позитивни, HCV RNA-негативни или HCV core antigen-негативни пациенти със съмнение за *de novo* наскоро придобита HCV инфекция, трябва да се ретестуват за HCV RNA 12 и 24 седмици по-късно, за потвърждение на окончателното очистване на организма от вируса.

Всички пациенти със съмнение за хронична HCV инфекция трябва да бъдат тествани за anti-HCV антитела в серум или плазма като първа линия диагностичен тест.

Ако anti-HCV антитела са открити при пациенти със съмнение за хронична HCV инфекция, те трябва да бъдат изследвани за HCV RNA или за HCV core antigen.

Anti-HCV антителата трябва да се изследват в серум или плазма чрез ензимен имуноанализ (EIA).

HCV RNA трябва да се изследва в серум и плазма чрез чувствителен молекулярен метод с долна граница на откриване ≤ 15 IU/ml.

HCV core antigen в серум или плазма, доказан чрез ензимен имуноанализ (EIA), е маркер за HCV репликация и може да бъде използван като алтернатива на HCV RNA за доказване на HCV виремия.

Където чувствителен анализ за доказване на HCV RNA не е наличен или не е финансово достъпен, може да се използва количествено изследване на HCV RNA с долна граница на откриване $\leq 1\,000$ IU/ml (3,0 Log₁₀ IU/ml).

Скрининг за хроничен хепатит С

Стратегията за скриниране на инфекцията с HCV трябва да се определи съгласно локалната епидемиология на HCV инфекцията, да е в рамките на местния, регионалния и националния планове за действие.

Скринирането за anti-HCV антитела и диагнозата на инфекцията с HCV трябва да бъдат свързани с превенцията, медицинската грижа и лечението.

Скринирането за инфекция с HCV трябва да се базира на откриването на anti-HCV антитела в серум или плазма чрез използването на EIA.

Изследването на цялостна кръв чрез сухи кръвни тестове може да бъде използвано като алтернатива на изследването на anti-HCV антитела в серум или плазма, получени чрез венопунктура, след тяхното доставяне в централна лаборатория, където ще бъде извършен EIA.

Бързи диагностични тестове, използващи серум, плазма, цялостна кръв или слюнка, могат да заменят класическите EIAs като point-of-care тестове за улесняване на скрининга за anti-HCV антитела и подобряване достъпа за медицински грижи.

Ако са доказани anti-HCV антитела, трябва да се определи наличието на HCV RNA чрез молекулярен анализ или наличието на HCV core antigen чрез EIA в серум или плазма за да се идентифицират пациентите с вiremия. (Български консенсус за диагноза, лечение и проследяване на болни с хроничен хепатит С, 2020)

Оценка на тежестта на чернодробната болест

Оценката на тежестта на чернодробното болест трябва да бъде извършена преди лечението.

Чернодробната цироза трябва да бъде разпозната, тъй като някои терапевтични режими трябва да бъдат нагодени, като следлечебно проследяване за НСС е задължително.

Следлечебно проследяване за НСС трябва да се извършва при пациенти с напреднала фиброза (METAVIR score F3).

Степента на фиброза трябва да се изследва първоначално (преди старта на лечението) чрез неинвазивни методи, включващи измерване на чернодробна плътност или серумни биомаркери. APRI (AST to Platelet Ratio Index) и FIB-4 (The Fibrosis-4 score) са нескъпи, надеждни и широко използвани биомаркерни панели, препоръчвани от Европейската асоциация за изучаване на черния дроб (EASL), Американската асоциация за изучаване на черния дроб (AASLD) и Световната здравна организация. Чернодробната биопсия би трябвало да се запази само в случаите, при които има неопределеност или потенциални допълнителни етиологии.

Доказване и измерване на HCV RNA и HCV core antigen

Наличието на вiremия, отразено чрез присъствието на HCV RNA или HCV core antigen, трябва да бъде демонстрирано преди да се инициира лечението. Откриването и измерването на HCV RNA в серум и плазма трябва да бъде извършено чрез чувствителен тест с долна граница на откриване от ≤ 15 IU/ml. Откриването и измерването на HCV core antigen трябва да бъде извършено чрез EIA. Откриването на HCV RNA може да бъде извършено чрез евтин point-of-care тест с долна граница на детекция ≤ 1000 IU/ml (3,0 Log₁₀ IU/ml), където чувствителен HCV RNA тест не е наличен и/или не е финансово подходящ.

Определяне генотипа на HCV

Лечението с пангенотипни режими, включващи sofosbuvir/velpatasvir или glecaprevir/pibrentasvir, може да бъде започнато без познаване на генотипа и подтипа с висока вероятност за успех. Все още е полезно да се определи HCV генотипа и подтипа там където такова определяне е налично, не ограничава достъпа до медицинска грижа и помага да се идентифицират пациентите, които имат полза от прецизиране на лечението.

Изследване на HCV резистентност - тестване за HCV резистентност преди лечение от първа линия не се препоръчва.

1.1.6.2 Диагностика и стадиране на бъбречното страдание в рамките на хроничната HCV – инфекция.

Индикациите за провеждане на бъбречна биопсия при пациенти с хронична HCV – инфекция не се различават особено от тези при други гломерулни заболявания. Бъбречната биопсия е незаменима в изясняване на прецизната хистологична картина на заболяването и установяване на връзката между гломерулните лезии и активната инфекция с вирусът на хепатит С. Допълнително хистологичното изследване дава възможност за оценка на обема активни лезии в бъбречния паренхим, което е важно за провеждането на адекватна клинична оценка на необходимостта от провеждане на имunosупресивна терапия. При превес на хроничните лезии в бъбречният паренхим, вероятността за отговор към имunosупресивното лечение е значително намалена. Поради гореизложеното, при някои пациенти би могло да се избегне имunosупресия, при доказване на тежки хронични лезии, особено ако липсват екстраренални причини за провеждането и. (Kidney Disease: Improving Global Outcomes, 2012).

Класифицирането на бъбречната функция в различните стадии на ХБЗ от друга страна е важно за избора на адекватна противовирусна терапия при тази група болни и се извършва след оценка скоростта на гломерулната филтрация. Според класификацията на KDIGO пациентите се разделят в следните групи:

1. I-ви стадий с креатининов клирънс - ≥ 90 ml/min/1.73 m².
2. II-ри стадий - 89-60 ml/min/1.73 m².
3. III-ти стадий - 59-30 ml/min/1.73 m²
 - 3.1 IIIa 59-45 ml/min/1.73 m²
 - 3.2 IIIb 44-30 ml/min/1.73 m².
4. IV-ти стадий - 29-15 ml/min/1.73 m².
5. V-ти стадий - под 15 ml/min/1.73 m².

1.1.6.3 Оценка на чернодробната фиброза при HCV – инфектирани пациенти с хронично бъбречно заболяване. Според съвременната концепция биохимичните неинвазивни скорове за оценка на чернодробната фиброза - (FibroTest/FibroMeter, aspartate aminotransferaseto-platelet ratio index [APRI], Forns, or FIB-4), както и морфологичната оценка (определяне на чернодробната фиброза чрез еластография), имат сравнима по ефективност точност при оценяването на чернодробната фиброза за пациенти с ХБЗ степен 4-5 спрямо общата популация (Liu, 2011). Неинвазивните методики, особено еластографията, са достатъчно достоверни за скрининг и изключване на значима фиброза или чернодробна цироза (стадии на фиброза Ф3/4), (Jadoul, 2014). Не е ясно дефинирана точността на другите неинвазивни скорове за оценка в тази група болни към момента.

Използването на чернодробна биопсия като метод за стадиране на чернодробната фиброза при пациенти с хроничен вирусен хепатит С в общата популация вече не се смята за необходимост преди започване на противовирусна терапия. Това се дължи на високата ефективност на съвременните директно-действащи антивирусни медикаменти, както и достъпа на медицинските специалисти до пангенотипно действащи медикаменти с вероятност за постигане на траен вирусологичен отговор (ТВО) в 96 до 100% от случаите. По тази причина подходът към кандидатите за бъбречна трансплантация с хронична HCV – инфекция еволюира през последните години.

Трайният вирусологичен отговор се характеризира елиминиране на некроинфламаторните промени в чернодробния паренхим и дори би могъл да доведе до регресия на циротичните промени, потенциално намаляване на свързаните с чернодробната цироза усложнения и да подобри преживяемостта. (Serpaggi, 2006). Дори при отсъствието на регресия на цирозата, провеждането на бъбречна трансплантация само по себе си е с по-добър успех при липсата на усложнения от порталната хипертония (EASL, 2012).

Поради гореизложеното необходимостта от провеждане на чернодробна биопсия при пациенти с хроничен вирусен хепатит С и ХБЗ степен 4-5 драстично намалява и се практикува по изключение. Дефинирането тежестта на чернодроната фиброза и цироза е свързано с оценка на клинично значимата портална хипертония. (Garcia-Tsao, 2016). Диагностичният подход включва фиброгастроскопия, неинвазивна радиологична оценка или директно измерване на порталното налягане.

Според шестият консенсус от Baveno, наличието на значима портална хипертония е малко вероятно (и в тези случаи фиброгастроскопията може да бъде избегната с до 90 % точност) при пациенти с компенсирана чернодробна цироза и измерена с еластография плътност на черния дроб < 20 kPa, както и тромбоцитен брой > 150,000/mm³ (Baveno VI, 2015) . Валидността на този подход при пациенти, провеждащи хроничен диализ е неизяснена. Сумарно чернодробната фиброза на всички HCV- инфектирани пациенти с ХБЗ трябва да бъде стадирана с неинвазивни биохимични и морфологични методи. До използването на чернодробна биопсия може да се прибегне в случаите на разминаване в двете методики или суспекция за друга етиология на чернодробното страдание. (EASL, 2018)

1.1.7 Скрининг при пациенти с ХБЗ за инфекция с вируса на хепатит С

Пациентите на диализно лечение и субгрупите пациенти с различна степен на ХБЗ, които все още не провеждат диализно лечение имат повишена честота на HCV – инфекцията. Причините скриниране на тази рискова група включват – ранна диагноза и лечение на HCV, диагностична оценка на етиологичната причина за развитието на ХБЗ, идентификацията инфектираните пациенти и вземане на противоепидемични мерки в диализните центрове и вземане на важни решения, съпоровждащи грижата и подготовката на тези пациенти за бъбречна трансплантация. Всеки бъбречно болен, с рискови фактори за вирусен хепатит С, трябва да бъде изследван.

В допълнение изясняването на вирусологичния статус на пациентите с ХБЗ е важно, поради доказано повишеният риск от развитие на ХБЗ 4ст съпътстващ активната HCV – инфекция, както и способността на последната да акцелерира влошаването на бъбречната функция и достигането до бъбречна недостатъчност , т.е. ХБЗ 5ст. (Crook, 2005; Nouredine,2010; Wyatt,2008).

1.1.8 Бъбречно засягане в хода на хепатит С вирусната инфекция.

Дискусията за връзка между наличието на протеинурия и инфекция с вируса на хепатит С тече отдавна. (Huang , 2006; Lee, 2010). Рискът от наличие на протеинурия при ко-инфекция на HCV с вирусът на HIV също е доказано повишен спрямо група пациенти, заразени само с вирусът на HIV. (Wyatt , 2008). Допълнително наличието на положително anti-HCV антитяло се асоциира значимо с наличието на протеинурия. (Huang , 2006). В ретроспективно кохортно проучване, включващо над 470000 възрастни пациенти с HCV инфекция, се установява повишен риск от достигане последна степен на хронично бъбречно заболяване и бъбречна недостатъчност спрямо такива без доказана инфекция. (Tsui , 2007). В унисон с тези данни може да се предположи, че субклиничната или недиагностицирана гломерулопатия често е съчетана с HCV инфекция.

В полза на това твърдение в една кохорта от 30 пациента с чернодробна цирроза и хроничен вирусен хепатит С, по време на чернодробна трансплантация, са били направени

бъбречни биопсии. При 25 от 30-те пациента е установен гломерулонефрит, медиран от циркулиращи имунни комплекси (McGuire, 2006).

Описани са различни типове на хистологично увреждане, асоциирани с хроничната HCV – инфекция :

мембранопролиферативен гломерулонефрит (МПГН), мембранозна нефропатия (МН), огнищна сегментна гломерулосклероза (ОСГС), пролиферативен гломерулонефрит, фибриларен гломерулонефрит, IgA нефропатия, тромботична ренална микроангиопатия, бъбречно засягане по типа на васкулит и интерстициален нефрит. (Stehman-Breen, 1999; Baid, 1999).

Тип I МПГН се асоциира с тип II смесена криоглобулинемия и е най-честата HCV-асоциирана гломерулопатия. Типичните бъбречни клинични манифестации включват протеинурия, микроскопска хематурия, артериална хипертония, остър нефрит и нефритен синдром. Въпреки това в повечето случаи бъбречното заболяване протича асимптоматично, поради пациентите с известна HCV трябва на бъдат скринирани за протеинурия, хематурия и хипертония, както и криоглобулинемия. (Markowitz; Arase, 1998)

1.1.8.1 Диагностика на HCV- индуцираните гломерулни лезии.

Уместно е HCV- положителните пациенти да бъдат скринирани ежегодно за наличие на микроалбуминурия, микроскопска хематурия, Ревма фактор, криоглобулинемия, фактори на комплемента и хипертония. Провеждането на бъбречна биопсия е задължително при пациенти с доказана протеинурия, редуцирана бъбречна функция и доказана криоглобулинемия. Съответно при пациенти с установен МПГН или мембранозен ГН трябва да бъде проведен скрининг за хепатит С. (Kamar, 2008). Доказването на вирусни частици, чрез електронна микроскопия, в бъбречния биоптат при носители на вирусен хепатит С се изтъква от няколко студии. (Bosman , 1998; Sabry, 2005) В кохортата на Sabry вирусните частици се откриват в състава на имунни комплекси, с размери около 30-45 nm в диаметър и локализирани като електронно плътни депозити в парамезангиума.

1.1.8.2 Криоглобулинемичен гломерулонефрит.

Пациентите с HCV-индуцирана смесена криоглобулинемия обикновено нямат симптоми или клинична манифестация. (Perico, 2009) Бъбречното засягане е докладвано в поне 1/3 от пациентите с тип II смесена криоглобулинемия (с честота от 20% до 56% в различни студии) – Johnson, 1993.

Триадата пурпура, астения и артралгии е налична в около 30% от тези случаи. (Monti, 1995). Криоглобулинемичният васкулит е наличен в едва 2-3% от случаите. (Agnello, 2004) Пациенти с HCV-асоцииран криоглобулинемичен гломерулонефрит се презентират с олигурична форма на остро бъбречно увреждане в 5% от случаите. (Meyers, 2003). Повечето пациенти имат значима артериална хипертония. Серумните нива на C4 и C1q фракциите на комплемента обикновено са много ниски. Нивата на АЛАТ са повишени при 70% от болните. Повечето от тях имат положителен Ревматоиден фактор (RF) (Roccatello, 2007).

Екстрареналните манифестации обикновено са придружени от релапс на бъбречното заболяване, като развитието на терминален стадий на ХБЗ т.е. бъбречна недостатъчност е едва в около 10 % от тези случаи. (Tarantino, 2005). Бъбречните биопсии показват увреждане по типа МПГН. Възпалителните клетки инфилтрират гломерулните капилляри. 1/3 от пациентите развиват васкулит на малките бъбречни артерии. (Beddhu, 2002). На имунофлуоресцентна микроскопия се виждат C3, IgM и IgG депозити в капилярната стена и мезангиума.) Fabrizi, 2008).

1.1.8.3 Мембрано-пролиферативен гломерулонефрит

МПГН тип I е типът гломерулонефрит, който най-често е асоцииран с хроничният вирусен хепатит С. Трябва да бъде изключен при anti-HCV-положителни индивиди с налична протеинурия, криоглобулинемия и хипокомplementемия. Най-често е асоцииран с втори тип смесена криоглобулинемия. (Yamabe). Положителен вирусен това р докладван в 80% от случаите с МПГН, свързан с криоглобулинемия, но само в около 25% от случаите с криоглобулинемия. (Misiani). Лезиите се характеризират с ендокapилярна пролиферация, моноцитна инфилтрация, двойно контурирана базална мембрана, големи по-размер еозинофили, PAS- позитивни интралуменни депозити, както и васкулит на малките и средни бъбречни артерии. (Fornasieri).

1.1.8.4 Мембранозна нефропатия

Описани са ограничен брой случаи на мембранозна нефропатия при HCV – инфектирани индивиди. Клинично и микроскопски не се различава от инициалната мембранозна нефропатия. Обикновено серумните нива на фракциите на комплемента са нормални и не се откриват криоглобулини или RF в серума. В проучване върху бъбречни реципиенти, които са били HCV-положителни, 3.6% от тях са развили мембранозна нефропатия след трансплантацията. (Morales) Всички от тях са имали доловима HCV RNA. Клиничната картина и хистологичната характеристика на бъбречното увреждане е била идентична с посттрансплантационна de novo мембранозна нефропатия. В ред на тези мисли се предполага връзка между развитието на посттрансплантационна мембранозна нефропатия и активната инфекция с вируса на хепатит С

1.1.8.5 ОСГС и IgA Нефропатия

Съществуват няколко доклада показващи асоциация между ОСГС и HCV. Shah I и сътрудници докладват пациент с HCV- асоциирана ОСГС и нефротичен синдром, чийто клиничен дебют протича с остра бъбречна недостатъчност. Асоциацията между IgA нефропатията и HCV – инфекцията е докладвана в няколко студии (Ji, Gonzalo, Dei).

1.1.8.6 Диабетна нефропатия.

В множество публикации е доказана връзката между хроничната HCV- инфекция и развитието на захарен диабет тип 2. Заболеваемостта от ЗД тип 2 при болните с HCV варира между 7.4% и 43.2%. (Ambachew, 2019). Пациенти над 40 годишна възраст, носители на инфекцията, са с 3 пъти по-висок риск от развитие на захарен диабет спрямо общата популация. Висока заболеваемост от HCV се наблюдава и при пациенти с доказана диабетна нефропатия. (Soma). При претърпялите бъбречна трансплантация наличието на HCV се смята за предиктивен фактор за възникването на захарен диабет (ЗД). Gentil и сътрудници доказват, че пациентите с хроничен вирусен хепатит С имат по-висока честота на ЗД след бъбречна трансплантация.

В голямо кохортно проучване с 33479 бъбречно трансплантирани не се намира асоциация между наличието на HCV, диабетна нефропатия и развитието на краен стадий на бъбречна недостатъчност. (Batty, 2001). Честотата на нововъзникнал ЗД след бъбречна трансплантация (БТ) е била по-висока в групата получили присадка от HCV-положителен донор. (Abbott , 2004). HCV – инфекцията е доказано свързана с по-бързата прогресия на диабетната нефропатия. (Crook, 2004)

1.1.8.7 Лечение на HCV – асоциираните гломерулопатии и криоглобулинемичната нефропатия.

Подходите за менажиране на тези заболявания имат няколко направления.

1. Противовирусната терапия за лечение на HCV води до намаляване синтезата на криоглобулини и циркулиращи имунни комплекси, което би довело до редукция на негативното действие на вируса върху бъбречната функция и структура.
2. Неспецифична имуносупресия – с цел превенция формирането на имунни комплекси и за терапия на криоглобулин-асоциирания васкулит [34,40].

3. Ренопротективни и антихипертензивни медикаменти
4. Имуносупресивна терапия с Циклофосфамид (2 mg/kg дневно за 2-4 месеца), Рутиксимаб (375 mg/m² веднъж седмично за 4 седмици), пулсова терапия с глюкокортикоиди (0.5-1 гр/ден за 3 дни)
5. Плазмафереза – с дискутабилен ефект [

1.1.9 Лечение на хроничния вирусен хепатит С при пациенти с ХБЗ.

Въвеждането на високо ефективни и добре поносими медикаменти от групата на директно-действащите антивирусни средства (ДДАс) позволи лекуването на HCV във всички стадии на ХБЗ и остави интерферона и Рибавирин в миналото. Настоящите режими с ДДАс винаги включват две или повече лекарства в различен механизъм на действие, с които прекратяват репликацията на вируса на хепатит С, с предимството на висока ефективност и ниски нива на резистентност към терапията. Въпреки, че повечето съвременни публикации сочат, че повечето режими с ДДАс могат да бъдат използвани в различни стадии на ХБЗ, измерването на гломерулната филтрация и оценката на бъбречната функция са релевантни и трябва да бъдат съобразени при избора на терапия.

Много студии изтъкват удължена продължителност на живота при пациенти, които са преминали успешно противовирусна терапия и са постигнали ТВО. (KDIGO, 2022) Оценката на ТВО се извършва на 12-та или 24-та седмица след края на терапията и при липса на вирусно размножаване в посочените срокове терапията се смята за успешна.

За повечето пациенти с ХБЗ, както и в общата популация, потенциалните ползи от противовирусната терапия надхвърлят възможните нежелани реакции. (Falade-Nwulia, 2017). Все още няма яснота по въпроса каква трябва да бъде минималната очаквана продължителност на живота, под която ползата от противовирусна терапия е дискутабилна. (AASLD, 2022)

Според препоръките на KDIGO:

1. Всички пациенти с ХБЗ (степен 1-5), пациентите провеждащи диализно лечение, и бъбречно – трансплантираните пациенти (с ХБЗ 1-5) с хронична HCV – инфекция трябва да бъдат оценени и обсъдени за стартиране на противовирусна терапия с ДДАс;
2. Изборът на конкретен режим на лечение трябва да бъде съобразен с предходно лечение (ако е имало такова), възможни лекарствени взаимодействия, гломерулната филтрация, стадият на чернодробна фиброза, дали пациентите са кандидат или не за бъбречна и/или чернодробна трансплантация, наличието на коморбидитет. Ако няма достъпни пангенотипни режими, генотипът и субгенотипът трябва да бъдат включени като фактор при избора на противовирусен медикамент.

3. Терапията на кандидатите за бъбречна трансплантация трябва да бъде координирана с трансплантационен център.
4. Препоръчва се оценка на лекарствените взаимодействия между ДДАс и използваните имunosупресивни медикаменти при бъбречно - трансплантираните болни преди стартиране на терапия.
5. Стриктен мониторинг на нивата на калциевриновите инхибитори по време на и след края на терапията с ДДАс при бъбречно-трансплантирани.
6. Всички пациенти с ХБЗ (степен 1-5), пациентите провеждащи диализно лечение, и бъбречно – трансплантираните пациенти (с ХБЗ 1-5) с хронична HCV – инфекция трябва да бъдат изследвани за хепатит В и при необходимост да се провежда противовирусна терапия за хепатит В .

Развитието на ДДАс стартира след мапинга на генома на HCV, който съдържа не-структурни протеини (NS) и идентифицирането на репликативния цикъл на вируса , който включва амплификация на генома от РНК-полимераза NS5B.

Няколко протеазни инхибитора с наставка „-превир“ са ефективни срещу NS3/NS4 сериновата протеаза. Напоследък широко навлязоха и нова генерация протеазни инхибитори, които имат по-висока бариера на резистентност и по-висока ефективност. Протеинът NS5A също има съществена роля във вирусното размножаване, лекарствата блокиращи този белтък, наречени NS5A инхибитори – наставка „асвир“, имат отлична противовирусна активност, но релативно ниска бариера на резистентност. Ключова роля в репликацията на вируса на хепатит С е амплификацията на генома от РНК-полимераза NS5B. Нейното действие може да бъде блокирано от нуклеотидни и не-нуклеотидни инхибитори (наставка „бувир“).

В множество студии е установена ефикасността и безопасността на терапията с ДДАс при пациенти с ХБЗ. Пациентите в стадий на ХБЗ 1-3б могат да бъдат третирани с идентични медикаменти като общата популация.

Американската и европейската асоциации за изучаване на черен дроб не препоръчват модификация на дозата на противовирусната терапия при индивиди с лека до средна редуция на гломерулната филтрация. ДДАс имат вариабилна бъбречна елиминация , макар последните данни да показват ограничено значение на редуцираната бъбречна елиминация при пациенти в стадий на ХБЗ стадий 4 и 5.

Ombitasvir/paritaprevir/dasabuvir базирани режими:

Комбинацията ombitasvir/paritaprevir/ ritonavir and dasabuvir, известна като режим 3Д, може да бъде използвана без добавяне на Рибавирин за лечението на хроничен вирусен хепатит С генотип 1a и 1b. Комбинацията ombitasvir/paritaprevir/r (2D) може да се използва за лечение и на хронична HCV – инфекция на заразени с генотип 4 на вируса. Потенциалното бъбречно засягане при употребата на тези медикаменти е оценено при над 2000 пациента в различни студии като незначимо. При 22 пациента с гломерулна филтрация между 30 и 59 mL/min се е наложила адаптация на дозата.

В друго проучване е направено сравнение между пациенти с нормална или леко редуцирана бъбречна функция и такива в стадий на ХБЗ 4 и 5, които са преминали през лечение с въпросният режим. По време на 12 седмичният период на лечение наличието на редуцирана бъбречна функция не се е отразило на метаболизма и ефективността на 3Д комбинацията. Според авторите не се налага промяна или редукция на дозата на 3Д дори при напреднала ХБЗ.

В проучването RUBY-I е оценена безопасността и ефективността на 3Д терапията при 20 наивни на терапия пациенти, които са били в стадий на ХБЗ 4 и 5. (RBV е бил добавен към терапията на тези пациенти, които са били носители на генотип 1a на HCV). 13 от тях са провеждали хронична диализа. Постигнат в ТВО при 18 от тях (90%). 1 пациент със степен на фиброза F3, генотип 1a е релапсирал на 4-та седмица след края на терапията, а друг пациент е починал 14 дни след края на лечението поради левостранна систолна дисфункция. По отношение на безопасността, повечето нежелани събития са били леки до средно тежки, като никое от тях не се смята за свързано с терапията. Не се е наблюдавало влошаване на бъбречната или чернодробната функция по време на терапията. Опитът в реалната клинична практика показва подобни резултати.

В две студии, оценяващи ефективността и безопасността на 3Д терапията с или без Рибавирин в 69 пациента с хроничен вирусен хепатит С в стадий на ХБЗ 4 и 5 (GFR < 30 mL/min) или провеждащи хронична диализа. 65 души (94.2%) от тях са носители на генотип 1 на вируса, включително 29 случая (44.6%) с генотип 1a. 25 души са били наивни на предходна противовирусна терапия и 31 са имали оформена чернодробна цироза в компенсирани стадий (45%). Лекувани са с 3Д за период от 12 седмици, като при 32 души е добавен Рибавирин към терапията. Честотата на ТВО 12 е 97% (65/67).

По отношение на профила на безопасност – не се е наложило спиране на терапията с 3Д при никой от пациентите, приемът на Рибавирин е бил прекратен при двама болни, петима души са развили нежелано събитие – инфекция на уринарния тракт, 20-ма сърдечна недостатъчност, 1 артрит, 1 предсърдно мъждене. (Cholongitas, 2018)

Актуални директно действащи антивирусни средства (ДДАС), одобрени в Европа за лечение на инфекцията с HCV

Продукт	Съдържание	Дозиране
Sofosbuvir	Таблетки съдържащи 400 mg sofosbuvir	1 таблетка еднократно на ден
Sofosbuvir/ Velpatasvir	Таблетки съдържащи 400 mg sofosbuvir и 100 mg velpatasvir	1 таблетка еднократно на ден
Sofosbuvir/ Velpatasvir/ Voxilaprevir	Таблетки съдържащи 400 mg sofosbuvir, 100 mg velpatasvir и 100 mg voxilaprevir	1 таблетка еднократно на ден с храна
Glecaprevir/ Pibrentasvir	Таблетки съдържащи 100 mg glecaprevir и 40 mg pibrentasvir	3 таблетки еднократно на ден с храна
Grazoprevir/ Elbasvir	Таблетки съдържащи 100 mg grazoprevir и 50 mg elbasvir	1 таблетка еднократно на ден

Пангенотипни режими.

Софосбувир базираните съдържат Sofosbuvir (SOF), който е полимеразен инхибитор и е основен фактор в множество съвременни ДДАС режима. Тази молекула има предимно бъбречна елиминация (80%) и в миналото беше разрешена само за индивиди с гломерулна над 30 ml/min (ХБЗ стадий G1- G3b). По-нови данни сочат , че употребата на Софосбувир – базирани режими при пациенти с ХБЗ ст 4-5 (съответно гломерулна филтарция < 30 ml/min), е безопасна, високоефективна и се толерира добре от пациентите, включително при тези, провеждащи диализно лечение. В предходно проучване дозата на SOF е била редуцирана на 400 mg три пъти седмично или 400 mg всеки втори ден, при което се установява отново висока ефективност и добър толеранс от страна на пациентите. (Agarwal , 2017).

От по-нови проучвания става ясно, че редукция на дозата не е необходима от гледна точка на безопасността на терапията при тази група болни(Borgia, 2019; Chuang, 2021). При анализ на 16 независими проучвания на пациенти, провеждащи хронидиализа, които са били лекувани със SOF- базирани режими , не са били докладвани сериозни нежелани събития, въпреки употребата на пълната доза на медикаментите.

Към настоящият момент SOF-базираните режими са одобрени от европейската и американска асоциация за изучаване на черен дроб за употреба при всички стадии на ХБЗ. Монотерапията със Софосбувир не се препоръчва, поради недостатъчна ефективност.

SOF/VEL е еднотаблетен режим (400/100 mg), който се предписва за период от 12 седмици, независимо от генотипа на вируса на хепатит С. В проучванията във фаза III, този режим демонстрира ТВО > 95% с отличен профил на безопасност при пациенти с генотип 1-6. (Feld, 2015)

Добавяне на Рибавирин се предвижда при пациенти с чернодробна цироза, които са генотип 3 и е препоръчително при такива с декомпенсирана чернодробна цироза (EASL, Khalili, 2017) Всички останали пациенти могат да бъдат лекувани с фиксиран 12 – седмичен режим, който не изисква терапевтично мониториране. В световния опит лечението със SOF/VEL без RBV постига ТВО12 при 98.5% в различни стадии на фиброза. Степените на вирусологичен отговор са съответно при пациентите в стадий на фиброза F0-F2 до 98.6% и до 99.7% при тези в стадии на фиброза F0-F1.

Предвид това, че пациентите, които в момента имат нужда от лечение в по-голям процент от случаите са в началните стадии на фиброза, нашите резултати се покриват със световния опит и показват висока ефективност на лекарството. В повечето случаи режимът не изисква промяна в съпътстващите медикаменти и честотата на излекуване не беше засегната от употребата на инхибитори на протонната помпа.

Sofosbuvir е нуклеотиден аналог и NS5B – полимеразен инхибитор. Velpatasvir е пангенотипен неструктурен вирусен протеазен NS5A – инхибитор, а Voxilaprevir инхибира 3/4A (NS3/4A) протеазата.

Комбинацията SOF/VEL/VOX е индицирана за лечение на хроничен вирусен хепатит С при възрастни пациенти без оформена чернодробна цироза, както и при такива в компенсирани стадии на чернодробното заболяване, при които е проведен неуспешен опит за лечение с ДДАс, съдържащи NS5A – инхибитори или само терапия със Софосбувир без NS5A- инхибитор.

Всяка таблетка съдържа 400 mg Sofosbuvir, 100 mg Velpatasvir и 100 mg Voxilaprevir. Препоръчителната доза е от 1 таблетка дневно, приета по време на хранене за период от 8 до 12 седмици. При проведен метаанализ относно ефективността на 12-седмичния режим със SOF/VEL/VOX процентът пациенти, постигнали траен вирусологичен отговор (ТВО 12) е 96.2% (докладван в проучването POLARIS-1, което включва пациенти с генотип 1,2,3,4,5 и 6 с хронична HCV – инфекция, които имат предходна неуспешна противовирусна терапия с ДДАс, съдържащи NS5A- инхибитор) и 97.8% (докладвани в POLARIS-4 при пациенти с генотип 1-4 с предхождаща терапия с ДДАс, несъдържащи NS5A – инхибитор).

В проведеният анализ (POLARIS) наличието на RAVs при началото на терапията не оказва влияние на вирусологичния отговор в групата лекувана с SOF/VEL/VOX за 12 седмици. Данните от POLARIS не докладват сериозни нежелани реакции в анализиранията група пациенти. Режимът не се препоръчва при пациенти с декомпенсирана чернодробна цироза (с оценена чернодробна функция по Child-Pugh клас В или С). (CADTH, 2018)

G/P е пангенотипен режим - комбинация с фиксирана доза 300mg glecaprevir (NS 3/4A протеазен инхибитор) и 120 mg pibrentasvir (NS5A инхибитор) в 3 таблетки, дневен прием, дадени веднъж дневно с храна. Режимът може да бъде предписан за период от 8,12,16 седмици при пациенти с хроничен вирусен хепатит С в различни стадии на фиброза, както и при пациенти с компенсирана чернодробна цироза, независимо от генотипа на вируса на хепатит С (БДГЕ). Това включва и пациенти, които са били лекувани неуспешно с режими базирани на NS5A-инхибитор или такива, включващи NS3/4A протеазен, но не и такива, лекувани и с двата класа инхибитори.

От обширен систематичен анализ на над 10 различни клинични проучвания върху медикамента, публикуван през 2018г, става ясно, че процентът на ТВО при пациенти, приемали G/P се движи между 90.9% и 99.7% В изследваната група са включени хора, носители на генотип 1,2,3,4,5,6 на HCV и са приемали таблетките с продължителност 8, 12 или 16 седмици. В кохортата има пациенти в разнообразен стадий на фиброза, както и такива с компенсирана чернодробна цироза (с оценка на чернодробната функция по Child – Pugh от 5г.). От същия анализ става ясно, че медикамента е с изключителен профил на безопасност (сравним с плацебо) и добра поносимост от страна на пациентите.

Поради елиминацията на G/P през билиарния тракт, този режим е единствения пангенотипен, който е разрешен за употреба при пациенти с високостепенно хронично бъбречно заболяване (eGFR \leq 30 mL/min) или такива, провеждащи хронидиализа.(CADTH, 2018) 8 – седмичният режим на лечение с G/P постига висок процент траен вирусологичен отговор (ТВО) на седмица 12 след края на терапията при пациенти, които са заразени с HCV генотип 1-6. Този режим на лечение се толерира изключително добре от пациентите и няма съществена разлика в постигането на ТВО 12 в сравнение с 12-седмичната терапия с G/P при пациенти с хроничен вирусен хепатит С, инфектирани с генотип 1-6 на вируса и в стадий на компенсирана чернодробна цироза (Brown, 2019).

Настоящите международни и национални препоръки вече не налагат приоритизиране на лечението и пациентите в късните стадии на чернодробно увреждане (БДГЕ, EASL) Реалният клиничен опит с G/P режимът , особено при пациенти в напреднали стадии на чернодробно увреждане се свежда до ограничен брой доклади (EASL, 2018).Все още е обект на дискусия дали ТВО12 е еднакво висок в рамките на клиничните проучвания и в условията на реалната клинична практика. В клиничната практика пациентите често са коморбидни и получават голям брой съпътстващи медикаменти, водещи до потенциални лекарствени взаимодействия, което прави лечението на хепатит С по-голямо предизвикателство от очакваното.

При здрави хора абсорбцията на G/P не се влияе от прием на храна. Двете молекули могат да бъдат слабо инхибирани от CYP3A и CYP1A2. Билиарната екскреция е основен път на елиминацията им от организма . По тази причина не се изисква промяна в дозата на двата медикамента при пациенти, които страдат от хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) или провеждат хронидиализа. Но тази терапия не се препоръчва при пациенти с умерена или тежкостепенна чернодробна недостатъчност (Child-Pugh B и Child-Pugh C).

Безопасността и ефективността на G/P са потвърдени още от проучването им във фаза 3 на клиничните изпитвания - EXPEDITION-4 и CERTAIN-1, в които бяха включени пациенти с 4-5 степен ХБЗ, такива провеждащи хронична диализа и с терминална бъбречна недостатъчност. Още при провеждането на фаза 1 на клиничните проучвания за G/P беше демонстрирано слаб ефект на ritonavir върху фармакокинетиката на glecaprevir и pibrentasvir. Допълнително се оказа, че антиретровирусните препарати : raltegravir, dolutegravir и rilpivirine могат безопасно да се приемат заедно с G/P (проучване EXPEDITION-2). Някои субстрати на цитохромите (CYP) – Кофеин, Midazolam, Omeprazole, се оказаха незасегнати от едновременният прием с G/P. Glecaprevir/pibrentasvir са безопасни за прием с други медикаменти от гледна точка на нежелани лекарствени взаимодействия (DDIs).(Lu-Hua Gao, 2021)

1.1.10 Клиничен подход към HCV – инфектирани болни преди и след бъбречна трансплантация.

Многобройни проучвания сочат, че бъбречната трансплантация (БТ) е най-добрата терапевтична опция при пациенти с бъбречна недостатъчност. Преживяемостта е сигнификантно по-добра при пациенти с ХБЗ ст5, които се провели бъбречна трансплантация, в сравнение с тези в листата на чакащите, независимо от възрастта и/или коморбидността на реципиента. (Port; Wolfe, 1999). По отношение на популацията инфектирани с HCV, преживяемостта на пациентите на хронична диализа е сигнификантно по-ниска в сравнение с бъбречно-трансплантираните. (Bloom; Pereira)

В допълнение на това, одобрението на ДДАс за лечение на HCV при пациенти на диализа и такива, преживели БТ позволява успешно ерадикаране на вируса в почти всички пациенти преди и след БТ. Пациентите постигнали ТВО преди трансплантация , не релапсират след трансплантация, въпреки употребата на мощни имуносупресивни медикаменти. (Nicot F, Kamar , 2010). По тази причина подходящите реципиенти трябва да бъдат вземани в предвид за БТ, независимо от техния HCV – статус. Преди ерата на терапията с ДДАс, преживяемостта на пациентите с персистираща вирусемия след БТ беше по-ниска в сравнение с БТ с негативен HCV – статус (Legendre, Mathurin), но все пак по-добра, в сравнение с тези, останали на диализно лечение.

Преживяемостта на присадката е значимо по-малка при нелекуваните пациенти с хроничен вирусен хепатит С, сравнено с HCV - незаразените. (Cruzado; Forman). Въпреки, че прогресията на чернодробната фиброза при HCV- положителни бъбречно-трансплантирани има вариабилен ход, са били докладвани случаи на чернодробна цироза и хепатоцелуларен карцином в хода на инфекцията. (Kamar, Roth)

При отсъствието на белези на деконоенсация на чернодробната цироза, липсата на значима портална хипертония и липсата на езофагеални варици се препоръчва изолирана бъбречна трансплантация. Излекуването на HCV води до спиране напредването на чернодробната фиброза, а в някои случаи до нейната регресия и стабилизиране на чернодробната функция. (Pol, 2004) Комбинираната бъбречно-чернодробна трансплантация се предлага в случаи на декомпенсирана чернодробна цироза и/или клинично значима портална хипертония. (Eason , 2008). Лечението на HCV при пациенти с декомпенсирана

чернодробна цироза се асоциира с повишен риск от нежелани събития , като ползата от провеждане на противовирусно лечение в много ситуации не надвишава риска.

Пациентите с чернодробна цироза, които са постигнали ТВО, но въпреки това развиват усложнения – асцит, портална енцефалопатия и/или влошаване на чернодробната функция, трябва да бъдат предложени за комбинирана бъбречно-чернодробна трансплантация. Таймингът на антивирусната терапия при индивиди, предложение за комбинирана трансплантация, трябва да бъде съобразен с трансплантационната програма, както и да се вземе предвид, че в някои страни е разрешена трансплантация на органи от HCV-положителни донори. Употребата на ДДАс трансформира терапията на HCV преди и след БТ. Тези лекарства имат потенциала да бъдат използвани безопасно при пациенти на диализно лечение, както и такива след БТ, с честота на постигане на ТВО >95%, сравнима с тази в общата популация.

Смята се ,че при HCV- инфектирани, преминали БТ, е уместно да се лекуват с ДДАс в ранния посттрансплантационен период, с цел избягване на декомпенсация вследствие на персистираща HCV вирусемия.

При пациентите с компенсирана чернодробна цироза без клинично значима портална хипертония и проведена БТ от жив донор без дълъг период на изчакване, би могло да се стартира терапия с ДДАс малко по-късно, с оглед избягване на възможни лекарствени взаимодействия перитрансплантационно. Ако за БТ от жив донор е необходимо изчакване по-дълго от 24 седмици, е редно да се предложи терапия за HCV преди извършването на БТ. Това дава възможност да се проведе 12 седмична терапия с ДДАс и да се потвърди ТВО на 12-та седмица след края на терапията.

Проследяването и скрининг за ПЧР при БТ пациенти не се различава от това в общата популация от пациенти с чернодробна цироза и е редно да се извършва на всеки 6 месеца. Оценката на възможни усложнения на чернодробната цироза не е обвързана с факта дали пациента получава противовирусна терапия или не.

Употреба на имunosупресори :

Необходима е стриктна оценка на БТ, приемащи имunosупресори, на които им предстои терапия с ДДАс. Степента на имunosупресия не е обвързана с ефективността на противовирусната терапия и не редуцира възможността за излекуване от HCV – инфекцията, контрастно на предшестващите интерференово режими. Главно съображение при тези пациенти са възможните лекарствени взаимодействия между имunosупресивните медикаменти, използвани при БТ и ДДАс. Употребата на Циклоспорин например, в комбинация с ДДАс изисква строг терапевтичен и при необходимост редуция на дозата, предвид това ,че някои ДДАс биха могли да повишат нивата на имunosупресора с няколко пункта (Dick, 2016). В тази група влизат ombitasvir/paritaprevir with dasabuvir. Сопълнително нивата на ДДАс могат да се повишат в резултат на употребата на циклоспорини , например G/P, като този режим може да повиши нивата на Такролимус, поради което изисква строг мониторинг на нивата на последния. (Vixby , 2019)

Лекарствени взаимодействия: Те са важен фактор, който трябва да се вземе предвид при избора на ДДА режим. Важните лекарствени взаимодействия на Такролимус и Циклоспорин с ДДАс могат да доведат до екстремно повишени или много ниски нива на имunosупресията. Протеазните инхибитори имат повишен риск от лекарствени взаимодействия с групата на циклоспорин, mTOR – инхибиторите. (Munoz-Gomez , 2017).

NS5B инхибиторите (SOF) или NS5A- инхибиторите (LDV) имат нисък риск от развитие на лекарствени взаимодействия с циклоспорин, mTOR – инхибиторите, но могат да взаимодействат с други съпътстващи лекарства. Други протеазни инхибитори, като paritaprevir, имат сходни лекарствени взаимодействия с cyclosporine, tacrolimus, и everolimus. Няма значими взаимодействия на протеазните инхибитори с mycophenolate mofetil (MMF).

Основна причина за лекарствените взаимодействия е фактът, че някои протеазни инхибитори са конкурентен субстрат на имunosупресорите и/или потенцират /намаляват действието на някои цитохроми - CYP3A, CYP3A. Това може да доведе намалена плазмена концентрация и потенциална редуция на противовирусното действие. Сайтът Hepatitis Drug Interactions на университета в Ливърпул (<http://www.hep-druginteractions.org>) е надежден източник на информация и може да се използва за мониторинг и предварителна оценка на потенциалните лекарствени взаимодействия.

1.1.11 Оценка на бъбречната функция в хода на безинтерферонова противовирусна терапия чрез биомаркери.

През последното десетилетие подобреното разбиране на ранния патофизиологичен отговор на бъбрека към стресови фактори доведе до откриване на редица гени и протеини, които бързо се индуцират в бъбрека (Devarajan, 2006). С откриването, тълкуването и валидирането на неутрофилния гелатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) се разкриват нови възможности за търсене на нов подход за оценка на бъбречната функция при ОБУ и ХБЗ.

NGAL представлява 25 kDa липокалин, първоначално изолиран от човешки неутрофили (Kjeldsen). Принадлежи към семейството на малки белтъци (липокалини), ангажирани с трансмембранния транспорт на липофилни съединения (Kouner). По време на ембрионалното развитие на бъбреците NGAL подпомага епителното диференциране на мезенхимните прогениторни клетки, което води до развитието на гломерули, проксимални тубули, бримка на Хенле и дистални тубули. Въпреки това се наблюдава подчертана експресия на NGAL в увредени епителни клетки в бъбрека, дебелото черво, черен и бял дроб. Не е изненадващо, че проучванията на генната експресия при ОБУ показват бързо и мощно повишение на NGAL mRNA в дисталните сегменти на нефрона, по-специално в плътния възходящ край на бримката на Хенле и събирателните каналчета. Последващият синтез на NGAL протеин в дисталния нефрон секретират основната част на уринната фракция на NGAL.

Въпреки че плазменият NGAL се филтрира през гломерула, той във висока степен се реабсорбира в проксималния тубул. Това означава, че екскрецията на NGAL се дължи на бъбречна увреда със засягане на реабсорбцията в проксималния тубул и/или индукция на синтез на NGAL de novo в дисталния тубул (Han). NGAL се очертава като един от най-

обещаващите нови биомаркери за ОБУ в клиничната практика.(Volignano). Разработването на бързи и точни платформи за измерване серумната и/или плазмена концентрация на NGAL допълнително улеснява широкото използване и валидиране на NGAL като биомаркер (Devarajan). При проучване в група пациенти с установена ОБУ (с повишени двойно над горна референтна граница нива на серумния креатинин) с различна етиология се открива значително повишение на NGAL в серума и урината в сравнение със здрави контроли (Mori). Нивата на уринния и серумния NGAL корелират с тези на серумния креатинин, а бъбречната биопсия показва интензивно натрупване на имунореактивен NGAL като чувствителен показател за установена ОБУ при хора (Mc Prou). При пациенти след алографтна бъбречна трансплантация NGAL е ранен предиктивен биомаркер за забавена функция на графта вследствие на исхемия-реперфузия (Lebkowska). NGAL е оценен като обещаващ биомаркер за ОБУ и забавена функция на графта (дефинирана като необходимост от диализа в рамките на първата седмица след операцията) при пациенти подложени на бъбречна трансплантация (Mishra). NGAL се очертава не само като отличен биомаркер за ранно диагностициране на ОБУ, но също така показва висока прогностична стойност по отношение тежестта на ОБУ. При различни пациентски групи е доказана корелация между ранните постоперативни стойности и клиничния изход (Benett, Dent).

В мултицентрично проучване (Испания) са анализирани бъбречно-трансплантирани пациенти от 15 центъра, лекувани с директно действащи антивирусни средства (ДААс). Изследвани са ефективност, поносимост и влияние на имunosупресивните медикаменти, бъбречна функция (протеинурия-ПУ) и наличие на захарен диабет. Включени са 109 пациента (9 от тях са с трансплантирани бъбрек и черен дроб). Лечението е проведено основно със Софосбувир базирани режими (91%) в комбинация с Ледипасвир (55%), Симепревир (14%) или Даклатасвир (13%). В 9 случая (7%) е използвана комбинацията Паритапревир/Омбитасвир/Ритонавир + Дасабувир. Нежеланите лекарствени реакции са пренебрежими (23.5%). Постигнат е ТВО в 97.8% % от случаите. Намерено е значимо подобрение на чернодробната функция ($P < 0.001$). Бъбречната функция (оценена чрез скорост на гломерулна филтрация) и протеинурията са останали непроменени (Gentil, 2016)

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата работа е да се установи ефекта и влиянието от ерадикацията на вируса на хепатит С в кохорта от български пациенти с хронично бъбречно заболяване и

такива с бъбречна трансплантация върху бъбречната функция в края на провежданата противовирусна терапия и при едногодишно проследяване на бъбречната функция след излекуване на HCV – инфекцията.

Подцел на проекта е данните да бъдат корелирани с ключови показатели и биомаркери оценяващи бъбречната и чернодробна функция – серумен креатинин, скорост на гломерулна филтрация, неутрофилен гелатиназа – асоцииран липокалин (NGAL), скорови системи за оценка на чернодробната функция – APRI, FIB4.

За осъществяване на целта са поставени следните задачи:

1. Събиране на кохорта от пациенти с хроничен вирусен хепатит С и хронично бъбречно заболяване и/или бъбречна трансплантация, провели терапия с директно-действащи антивирусни средства.
2. Събиране на кохорта от пациенти с хроничен вирусен хепатит С без хронично бъбречно заболяване - контролна група, провели терапия с директно-действащи антивирусни средства.
3. Детайлно клинично-лабораторно фенотипизиране.
4. Оценка на чернодробната фиброза преди старта на терапията с ДААс, както и 6 месеца след края на терапията, с неинвазивни методи за оценка на чернодробната фиброза и в трите групи болни.
5. Проучване на биомаркер – оценка бъбречното увреждане чрез изследване на неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) преди и след успешна ерадикация на вируса на хепатит С(HCV).
6. Да характеризираме динамиката на неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) преди и след успешна ерадикация на вируса на хепатит С(HCV) в хода на противовирусната терапия при пациенти с хроничен вирусен хепатит С без ХБЗ, чрез изследване на NGAL двукратно – преди началото на противовирусната терапия, в края на терапията и при проследяване на 12^{ти} месец след края на противовирусното лечение.
7. Разработване и усвояване на специализиран клинично – лабораторен алгоритъм за екзактно и безопасно менажиране и проследяване на терапията с директно – действащи антивирусни медикаменти в рамките на координиран мултидисциплинарен екип според известните особености и специфични нужди на кохортата пациенти с хронична вирусна HCV- инфекция и хронично бъбречно заболяване, както и/или бъбречна трансплантаци.
8. Изследване на корелациите между динамиката на NGAL в хода на противовирусната терапия, както и след оценка на ТВО 12/ ТВО24 с показателите, характеризиращи бъбречната функция – стойности на серумния креатинин, гломерулна филтрация (изчислена по MDRD формула), протеинурия.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В настоящото изследване участват общо 103 лица, а именно:

1. Група от пациенти с ХБЗ и хроничен вирусен хепатит С, провеждащи диализно лечение, които са лекувани с ДДАс (n = 30)
2. Група пациенти с бъбречна трансплантация и хроничен вирусен хепатит С, които са лекувани с ДДАс (n=27) т.е. всички пациенти с БТ и хепатит С.
3. Контролна група от пациенти с хроничен вирусен хепатит С в различни стадии на фиброза, с нормална бъбречна функция, които са лекувани с ДДАс (n=46)

Всяко лице от групата пациенти е с дефинитивна диагноза хроничен вирусен хепатит С, поставена според изискванията на европейската и американска асоциация за изучаване на черен дроб. Бъбречната функция е характеризирана и категоризирана според локалните, европейските и световни изисквания. Пациентите са изследвани в периода октомври 2016 – декември 2021г. При всеки пациент е снета подробна анамнеза, изследвани са соматичен статус, проведено е образно изследване на коремни органи (абдоминална ехография с оценка на кръвотока посредством Доплерово изследване), категоризирана е степента на чернодробна фиброза посредством неинвазивни скорове (APRI, FIB-4), изследван е вирусологичният статус според локалните и световни регулации, проведено е генотипизиране на вирусът на хепатит С при всички пациенти.

3.1 Изследване на NGAL : Събирането и съхранението на данните за болестта в съответствие с приетите норми за съхранение на лична информация и конфиденциалност. След подписване на информирано съгласие, от участниците в изследването се взема между 7 и 10ml кръв, от която се отделя серума и пробите се процесират за изолиране на NGAL. Изследването на NGAL ще се осъществи на 3 етапа за пациентите с хроничен вирусен хепатит С – преди началото на противовирусната терапия, в края на терапията и при проследяване на 12^{-ти} месец след края на противовирусното лечение.

Изолирането на NGAL от венозна кръв се осъществява при използване на ELISA - аналитично имунохимично изследване върху твърда фаза, което позволява установяването на специфична субстанция в течна проба, чието присъствие бива количествено или качествено определено. Методът се гради на антиген-антитяло реакция и е сред най-чувствителните за идентифициране и измерване на различни цитокини и други разтворими молекули. Използва се кит за детекция на NGAL в серум (Human Lipocalin-2/NGAL ImmunoassayELISA), следвайки установените лабораторни протоколи и препоръките на производителя.

Използваният кит е твърдофазов „сандвич“ ELISA за *in vitro* количествено определяне на NS0-експресиран рекомбинантен човешки липокалин-2 в биологични материали. При този метод гнездата на съответната микротитърна плака са натоварени с високоспецифични

моноклонални антитела срещу Липокалин-2. След добавяне на изследваната проба се извършва свързване на разтворимия фактор към фиксираните върху гнездата на плаката антитела. След това се добавя биотинилирано антитяло, което също се свързва специфично с антигена. От тук идва името на метода „сандвич“ ELISA, тъй като търсеният антиген попада между двете специфични за него антитела. Към така получените комплекси се добавя конюгат (horse-radish peroxidase (HRP)-стрептавидин), който се свързва с биотина и осъществява ензимна реакция след добавяне на тетраметилбензидин (ТМВ)-субстрат с образуване на цветен продукт.

Ензимната реакция се стопира с H_2SO_4 , след което се извършва спектрофотометрично отчитане. Интензитетът на цветния продукт е правопрпорционален на количеството антиген в биологичната проба. Построява се стандартна крива според калибраторите на всеки кит и по нея се определя количеството на търсения фактор в тестваните проби.

3.2 Определяне на вирусния товар и генотипизиране на вирусът на хепатит С:

Амплификация на вируса чрез Real-Time PCR технология, определяне на генотип и където е необходимо субгенотипизиране в сертифицирана лаборатория - Лаборатория по порфирии и молекулярна диагностика на чернодробни заболявания, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“.

Оценка на чернодробната фиброза чрез неинвазивни скорове за оценка :

3.3.1 APRI – aspartate aminotransferase to platelet ratio index.

Оригиналната разработка на теста е от Wai и сътр. (2003 г.). Многобройни студии доказват неговата стойност и отлична точност при прогнозиране на напреднала фиброза при различни форми на чернодробни заболявания:

$APRI\ score = [(ASAT/горна\ референтна\ раница\ на\ ASAT) \times 100] / \text{брой\ тромбоцити}$

В метаанализ от 40 студии става ясно, че $APRI\ score > 1$ има чувствителност 76% и специфичност 72% за поставяне диагноза чернодробна цироза. Допълнително при $APRI\ score > 0.7$ вероятно се касае за сигнификантна чернодробна фиброза (чувствителност 77% при 72% специфичност на метода).

3.3.2 FIB – 4

Тази точкова система се основава на изчисления, свързани с възраст, тромбоцитен брой, AST и ALT.

Разработена е с цел откриване на фиброза при пациенти с HIV/HCV инфекция⁽¹⁷⁾. Впоследствие е валидирана при пациенти с хронична HCV - инфекция.

$$\text{FIB-4} = \frac{\text{Age (years)} \times \text{AST (U/L)}}{\text{Platelet Count (10}^9\text{/L)} \times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}$$

При използване на cut off <1.45, FIB4 има отрицателна предиктивна стойност за напреднала фиброза от 90%. При нарастване на отрязващата стойност на 3.25, FIB4 би имал 97% специфичност и положителна предиктивна стойност от 65% за напреднала фиброза. В групата пациенти, при които тази формула е била валидирана за първи път, над 70% имат FIB4 <1.45 или >3.25 и според авторите тези пациенти биха избегнали чернодробната биопсия с точност от 86%

3.3 За статистическа обработка на данните бяха използвани следните статистически методи:

1. Дескриптивен анализ – представени са средните аритметични стойности при оценяване на централната тенденция и стандартните отклонения при оценка на разсейването на изследваните количествени признаци;
2. Непараметричен анализ – за определяне на вида на разпределението и последващо решение за използвания тест за сравнение на две или повече променливи – параметричен/непараметричен;
3. Т-тест на Стюдънт за сравняване на средни величини между две независими извадки, при положение, че са покрити всички критерии за правомерната му употреба;
4. Непараметричен тест на Ман-Уитни за проверка за хипотези за различие между две независими извадки, когато не са изпълнени условията за употреба на Т-тест на Стюдънт;
6. Корелационен анализ – за търсене на взаимовръзка между различни променливи (корелация на Пирсън, при покриване на всички критерии за правомерната му употреба и корелация на Spearman при останалите случаи);
8. Коефициент на рангова корелация на Spearman

Получените резултати бяха анализирани чрез софтуерния пакет на IBM SPSS Statistics 25.0. За ниво на статистическа значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, бе избрано $p < 0.05$.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1 Демографски и клинични характеристики на изследваната група с ХБЗ и бъбречна трансплантация

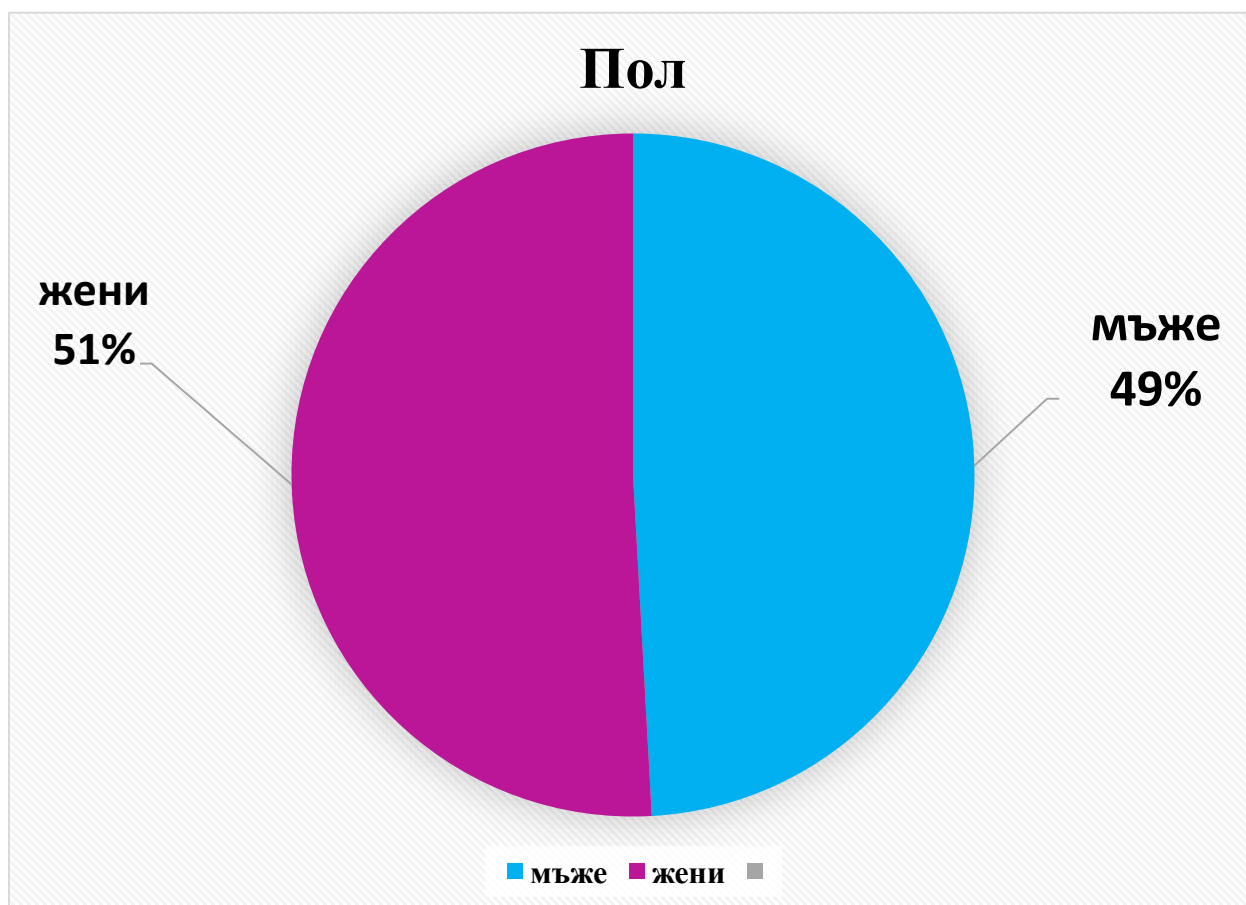
4.1.1 Демографски характеристики

Таблица 1. Демографски и клинични характеристики на общата кохорта пациенти с ХБЗ и БТ

Възраст	47.17 ± 12.16
Пол (М/Ж)	28/29
Продължителност на заболяването в години (НСV – инфекция)	11.82±9.71
Продължителност на заболяването в години (ХБЗ)	16.19±7.34
Давност на присадката	13.27±5.66

Данните са представени като средни стойности ± стандартни отклонения. Половото разпределение на изследваните пациенти е представено в следната диаграма (Фигура 1):

Фигура 1. Полово разпределение на пациентите с хронично бъбречно заболяване и бъбречна трансплантация

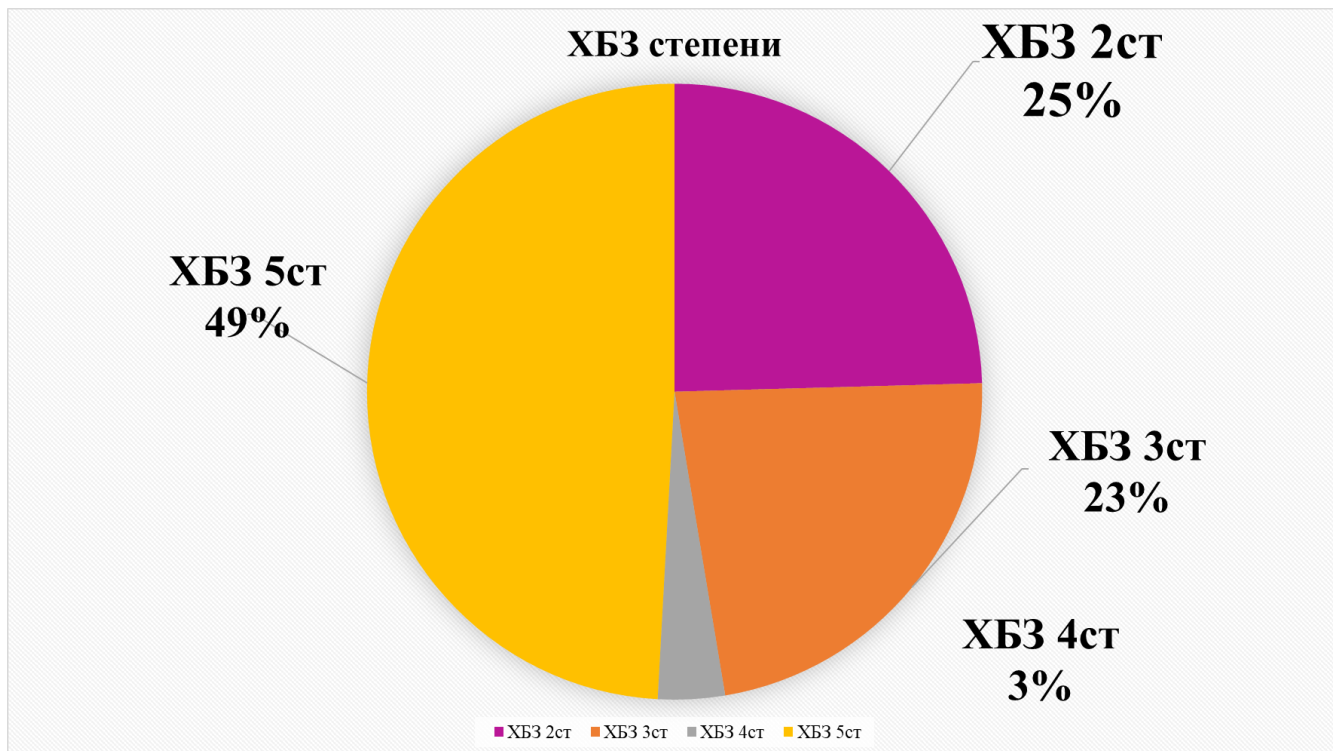


В тази група от общо 57 пациента – 28 са мъже (49%) и 29 (51%) са жени. 27 пациента в групата са пациенти с трансплантиран бъбрек, съответно 30 от пациентите са такива, провеждащи диализно лечение.

4.1.2 Разпределение на пациентите в изследваната група според стадия на ХБЗ

В зависимост от бъбречната функция, оценена посредством скоростта на гломерулна филтрация, пациентите в изследваната група бяха разпределени процентно, според стадия на ХБЗ, като 25% от имаха ХБЗ ст.2; 23% имаха ХБЗ ст.3, 3.5% имаха ХБЗ стадий 4 и 49% от тях имаха ХБЗ ст.5 (фигура 2):

Фиг. 2 Разпределение на пациентите в изследваната група според стадия на ХБЗ (преди стартиране на противовирусната терапия)



Съответно разпределението на скоростта на гломерулна филтрация в групата (табл.2) показва средна стойност на гломерулната филтрация 24 ml/min, при минимална стойност 5 ml/min и максимална 77 ml/min.

Табл. 2 Скорост на гломерулна филтрация (ml/min/1.73m²)

N	Valid	57
	Missing	0
Mean		27.49
Median		24.00
Std. Deviation		20.096
Minimum		5
Maximum		77
Percentiles	25	9.00

	50	24.00
	75	44.50

Съответните нива на серумния креатинин имаха (табл.3) стартово – средна стойност на серумния креатинин – 198 $\mu\text{mol/l}$, максимална стойност – 996 $\mu\text{mol/l}$ и минимална 80 $\mu\text{mol/l}$:

Табл.3 Нива на серумния креатинин стартово ($\mu\text{mol/l}$)

N	Valid	57
	Missing	0
Mean		374.49
Median		198.00
Std. Deviation		272.483
Minimum		80
Maximum		996
Percentiles	25	130.00
	50	198.00
	75	641.00

При пациентите с проведена бъбречна трансплантация беше изследвана 24-часова протеинурия преди стартиране на противовирусното лечение. Условно бяха разделени на следните три групи (табл. 4):

Табл. 4 Разпределение на пациентите спрямо нивата на протеинурия.

	Брой пациенти (n):	Процент пациенти(%):
Протеинурия между 150 mg и 0.5g/24h	10	37
протеинурия – от 0.5 до 1.5g/24h	13	48
протеинурия над 1.5g/24h	4	14.8

За по-комплексна оценка на бъбречното страдание изследвахме маркер за остра бъбречна увреда, а именно неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин (NGAL). В рамките на остро бъбречно увреждане стойностите на NGAL, обвързани с тежка остра бъбречна увреда варират между 14 до 148 (според степента на остро бъбречно увреждане). Все още няма валидирана стойност на този показател при хронично бъбречно заболяване. При анализ на NGAL преди стартиране на противовирусното лечение, получихме следните стойности в изследваната група болни (табл. 5).

Табл.5 Разпределение стойностите на NGAL при бъбречно – трансплантираните болни и пациентите на диализно лечение

N	Valid	57
	Missing	0
Mean		14.64382
Median		12.80000
Std. Deviation		6.706516
Minimum		3.800
Maximum		28.670
Percentiles	25	9.01600
	50	12.80000
	75	20.42500

От фигурата е видно, че средната стойност на NGAL в изследваната група е 12.8 ng.ml, при максимални стойности до 28.6ng/ml.

4.1.3 Разпределение на пациентите по стадий на чернодробна фиброза:

По отношение на степента на чернодробна фиброза, кохортата с бъбречна трансплантация имаше следното разпределение (фигура 3) – 93% (n=25) от тази група имаха данни за хроничен хепатит и нямаше данни за напреднала фиброза при тези пациенти, докато 7% (n=2) бяха с циротично преустройство на черния дроб, съответно неинвазивните скорове за оценка на чернодробната фиброза сочеха наличие на високостепенна фиброза.

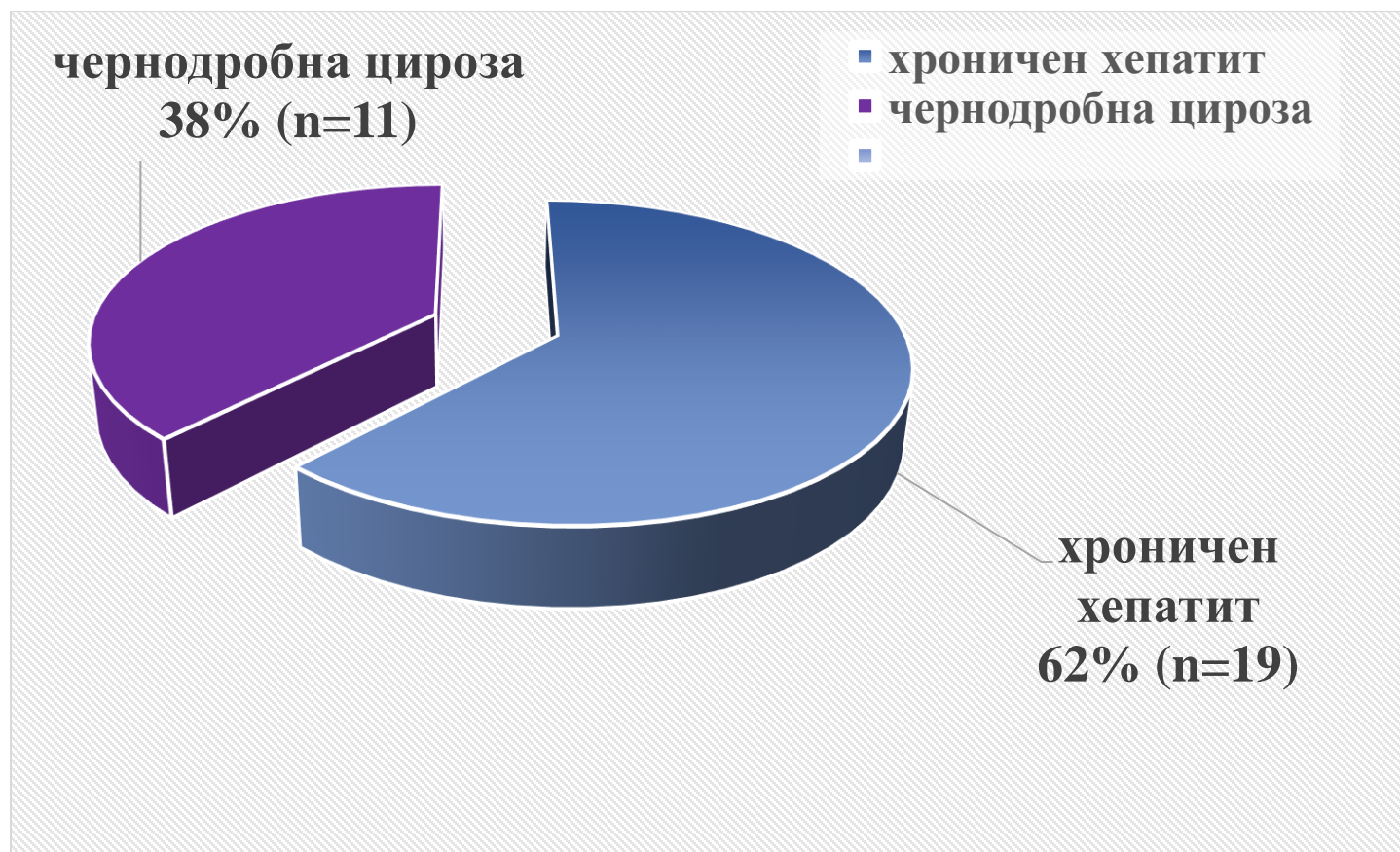
Фигура 3 Степен на чернодробна фиброза при пациентите с БТ.

Степен на чернодробна фиброза



В групата на пациентите, провеждащи хронична диализа разпределението по степен на фиброза има следния вид: (фигура 4) – 38% от пациентите в тази група имаха доказана чернодробна цирроза, съответно високостепенна фиброза (изчислена с неинвазивните скорове за оценка на чернодробната фиброза), като допълнително чрез абдоминална ехография и провеждане на фиброгастроскопия беше стадиране порталната хипертензия при тях. Останалите 62% (n=19) от пациентите на хронична диализа нямаша данни за високостепенна чернодробна фиброза и бяха класифицирани като пациенти с хроничен хепатит.

Фигура 4. Степен на чернодробна фиброза при пациентите на диализно лечение:



Общо за тази група разпределението по степен на фиброза в изследваната група има следния вид: 44 души (77.2%) от пациентите са в стадий на хроничен хепатит и при тях липсват данни за наличие на високостепенна чернодробна фиброза, докато 13 човека, съответно 22.8% имат поставена диагноза чернодробна цирроза. (представено на таблица 6).

Таблица 6. Разпределение на пациентите на диализно лечение и БТ по степен на фиброза.

	Хроничен хепатит (n)	Чернодробна цирроза (n)
Пациенти на диализно лечение	19	11

Бъбречно трансплантирани	25	2
Общо за групата	44 (77.2%)	13 (22.8%)

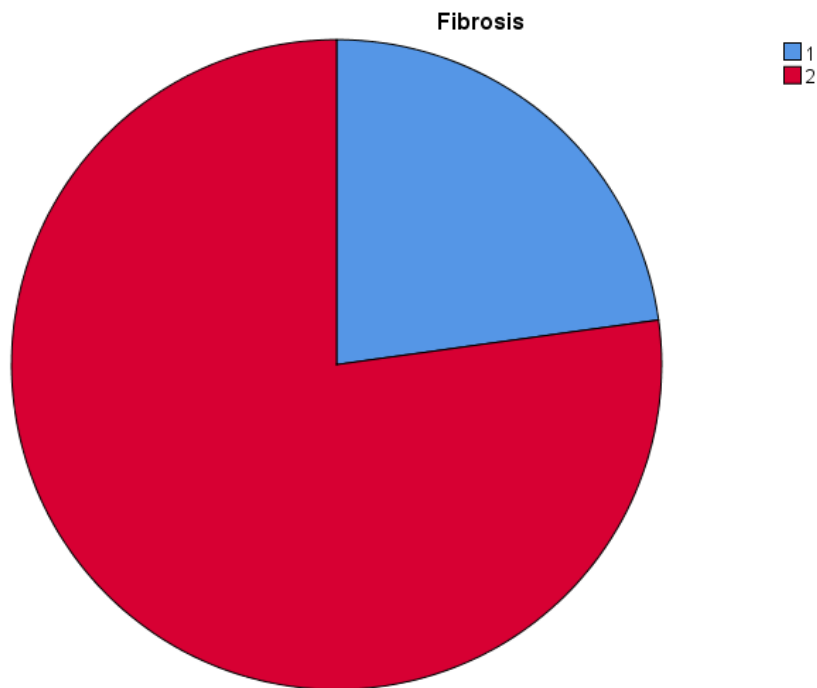
Оценката на степента на фиброза беше проведена с неинвазивни скорове за оценка при всички изследвани в групата. Според резултатите от скоровите оценки бяха разпределени в горепосочените групи.

На табл.7 е представено разпределението на APRI и FIB - 4 скор в цялата група преди старта на лечението:

Табл.7 Стойности на APRI и FIB-4 преди старта на терапията

		APRI	FIB4
N	Valid	57	57
	Missing	0	0
Mean		1.12280701754	2.38807017543
		3860	8597
Median		.620000000000	1.890000000000
		000	0000
Std. Deviation		1.36616349469	1.87660639624
		4390	1908
Skewness		2.380	2.248
Std. Error of Skewness		.316	.316
Kurtosis		5.028	5.670
Std. Error of Kurtosis		.623	.623
Minimum		.110000000000	.520000000000
		000	000
Maximum		6.000000000000	9.800000000000
		0000	0000
Percentiles	25	.400000000000	1.205000000000
		000	0000
	50	.620000000000	1.890000000000
		000	0000
	75	.920000000000	2.945000000000
		000	0000

Съответно разпределението според степента на фиброза, класифицирано с помощта на APRI и FIB-4 скоровите оценки, има следния вид (фиг.5):



Тук за дефинитивна стойност и съответно чернодробна цироза е използвана стойност на APRI скора над 1, съответно на FIB – 4 скора над 3,25. В цялата изследвана група общо 13 пациента имат APRI score >1, като същите тези болни имат FIB – 4 скор >3,25 и съответно са класифицирани в стадий на чернодробна цироза според скоровите оценки за фиброза. Същите пациенти са класифицирани в стадий на чернодробна цироза и по ехографски белези. От 13-те пациента с оформена чернодробна цироза при нито един няма данни за декомпенсация на чернодробното заболяване и съответно чернодробната функция беше класифицирана по Child-Pugh в клас А. Всички 13 пациента с чернодробна цироза бяха оценени с фиброгастроскопия, поради данни за налягане в порталната система >10mmHg. Резултатите са представени на таблица 8.

Табл. 8 Оценка на порталната хипертония при пациентите в изследваната група:

	Резултати от ФГС, при налягане в порталната вена >10mmHg
--	----------------------------------------------------------

Варици на хранопровода I ст	6
Варици на хранопровода II ст	2
Варици на хранопровода III ст	0
Варици на хранопровода IV ст	0
Портална гастропатия	7
Без варици на хранопровода	5

В тази група 6 пациента имаха варици на хранопровода I степен (Baveno), 2-ма имаха варици на хранопровода II ст, нямаше пациенти с високостепенни варици на хранопровода (III или IV степен), седем души имаха портална хипертензивна гастропатия и петима пациенти с чернодробна цироза нямаша данни за варици на хранопровода.

4.1.4 Оценка на чернодробната функция на пациентите в изследваната група.

Протосинтетична чернодробна функция беше оценена чрез нивата на серумният албумин и протромбиновото време. Разпределението на тези показатели стартово (преди началото на лечението) е показано на таблица 9.

Таблица 9. Разпределение на серумният албумин и протромбиновото време (PT) при пациентите в изследваната група.

		PT преди старта на ДДАс	Серумен албумин преди старта на ДДАс
N	Valid	57	57
	Missing	0	0
Median		13.500	39.00
Std. Deviation		1.5809	4.986
Skewness		3.598	.301
Std. Error of Skewness		.316	.316
Kurtosis		21.152	-.649
Std. Error of Kurtosis		.623	.623
Minimum		10.7	29
Maximum		22.8	50

От таблицата се вижда, че протосинтетичната функция в групата е съхранена. Отклонение от групата има при един пациент с удължено протромбиново време, което се дължи на прием на антикоагулант (Аценокумарол).

Стойностите на серумният билирубин в групата, като показател за оценка на чернодробната функция имаха следното разпределение (таблица 10):

Табл.10. Разпределение стойностите на серумния общ билирубин преди началото на лечение с ДДАс

N	Valid	57
	Missing	0
Median		15.00
Std. Deviation		10.316
Skewness		.976
Std. Error of Skewness		.316
Kurtosis		.054
Std. Error of Kurtosis		.623
Minimum		5
Maximum		45
Percentiles	25	10.00
	50	15.00
	75	24.00

От таблицата става видно, че средната стойност на серумният билирубин в групата е 15 $\mu\text{mol/l}$, което е стойност в референтни граници.

Трансаминазната активност при пациентите в изследваната група, преди стартиране на противовирусната терапия беше лекостепенна, с максимални стойности на АЛАТ до 260 U/l и средна стойност 44 U/l. Съответно средната стойност на АСАТ 34 U/l, при максимална стойност 89 U/l (табл. 11).

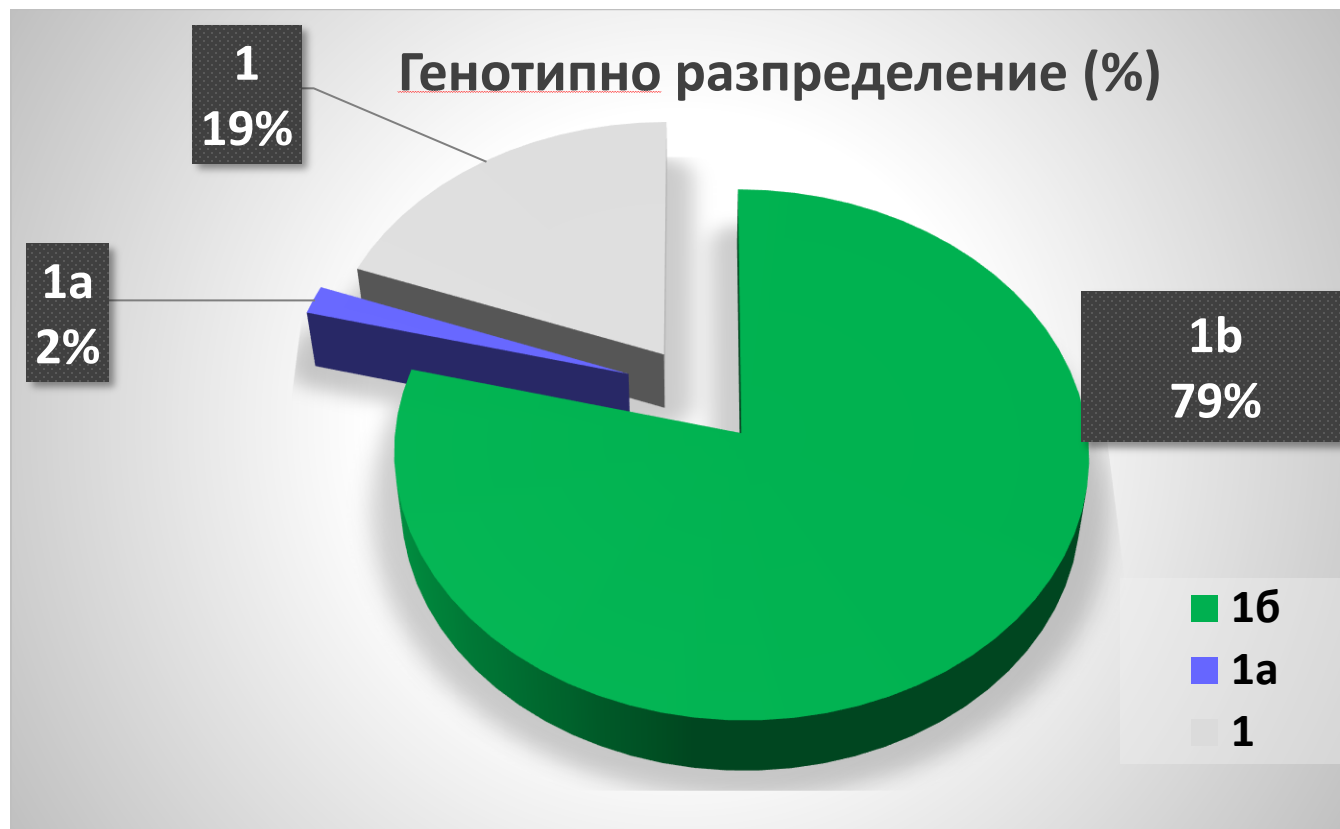
Табл. 11 Трансаминазна активност преди начало на лечението с ДЦАс

		АЛАТ преди началото на терапията	АСАТ преди началото на терапията
N	Valid	57	57
	Missing	0	0
Median		44.00	34.00
Std. Deviation		47.935	19.012
Skewness		2.797	.862
Std. Error of Skewness		.316	.316
Kurtosis		8.976	.371
Std. Error of Kurtosis		.623	.623
Minimum		6	10
Maximum		260	89
Percentiles	25	29.00	22.50
	50	44.00	34.00
	75	67.00	49.50

4.1.5 Характеристика на HCV- вирусологичния профил на изследваната група.

По отношение на разпределението по генотип на HCV – инфекцията стана ясно, че най-често разпространения генотип в групата е 1. При всички бъбречно – трансплантирани пациенти беше проведено субгенотипизиране на вируса, както и при някои от пациентите на диализно лечение. Разпределението по генотип в групата е отразено на фигура 6.

Фиг. 6 Генотипно разпределение на пациентите в групата



Всички пациенти в групата са заразени с генотип 1 на вируса. От фигурата става ясно, че при 19% от пациентите HCV – инфекцията е с генотип 1, като при тези болни не е било провеждано субгенотипизиране на вируса (поради наличие на пангенотипни режими за лечение на този етап). 79% са заразени съответно с генотип 1b (най-често разпространения за страната) и само 2% (1 пациент) е носител на генотип 1a.

Наблюдаваха се разнообразни стойности на HCV RNA в изследваната група преди началото на терапията, като те са показани на таблица 12. Максималната стойност на вирусен товар в изследваната група беше 3437000 IU/ml, минималната съответно 120 IU/ml, а усреднено за цялата група вирусното размножаване беше от порядъка на HCV RNA – 67098 IU/ml.

Табл. 12 Разпределение на вирусния товар в изследваната група

HCV RNA (IU/ml)

N	Valid	57
	Missing	0
Mean		485390.96
Median		67098.00
Std. Deviation		903988.117
Minimum		120
Maximum		3437000
Percentiles	25	12003.00
	50	67098.00
	75	440708.50

4.1.6 Съпътстващи заболявания и съпътстващи медикаменти

Най честите съпътстващи заболявания на пациентите в изследваната група бяха – артериална хипертония (62%, n=35); захарен диабет (36%, n=21); дислипидемия (22%, n=13); остеопороза (n=9, 15%); доброкачествена хиперплазия на простатата (n=6, 10%). Разпределението им в групата е показано на таблица 13.

Табл. 13 Характеристика на най-честите придружаващи заболявания на пациентите в изследваната група.

Нозологична единица	Брой пациенти (n):	Процентно разпределение(%):
Артериална хипертония	35	62
Захарен диабет	21	36
Дислипидемия	13	22
Остеопороза	9	15
Доброкачествена хиперплазия на простатата	6	10

Най-често използваните медикаменти, за лечение на придружаващите заболявания бяха клас антихипертензива и противодиабетни средства.

Всички пациенти с бъбречна трансплантация провеждаха имunosупресивна терапия. Използваните имunosупресори и имуномодулатори при пациентите в изследваната група са представени на таблица 14. Желаните нива на имunosупресорните медикаменти при бъбречно – трансплантираните пациенти също са представени на таблица 14.

Табл. 14 Желани нива на имunosупресорните медикаменти

Наименование на медикамент	Желани нива на медикамента за постигане на имunosупресия	Измерване ниво на медикамента преди старта на терапията
Циклоспорин А	50-70 микрограма/литър	да
Такролимус	5-6 микрограма/литър	да
Преднизолон	10-15мг/ден дневен прием	не
Микофенолат мофетил	Спира се преди терапия с ДДАс	не
Сиролимус	5-7 микрограма/литър	да
Еверолимус	5-7 микрограма/литър	да

4.2 Контролна група

За сравнителен анализ се избра контролна група пациенти с хроничен вирусен хепатит С, с нормална бъбречна функция и без медицинска история за бъбречно заболяване в миналото, на които им предстоеше противовирусно лечение с ДДАс. В нея бяха включени 46 пациента с хроничен вирусен хепатит С, със сходно възрастово и полово разпределение като изследваната група. Участие в тази група взеха 20 мъже (43.5%) и 26 жени (56.5%) и имаха разнородни стадии на чернодробна фиброза.

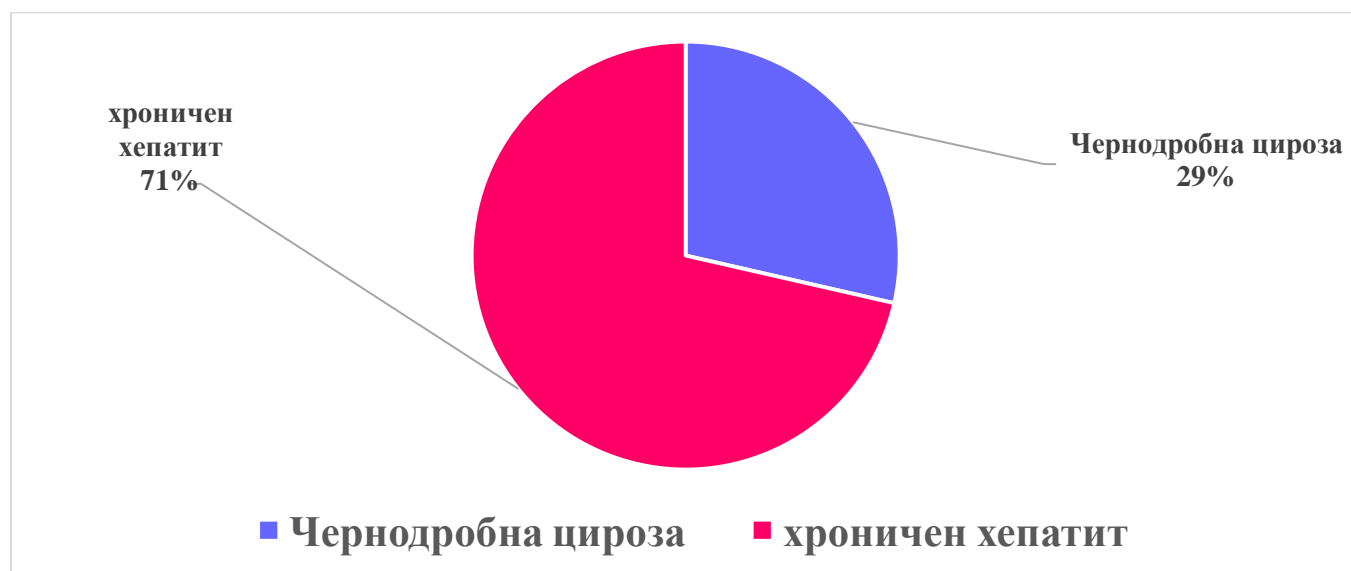
4.2.1 Демографски характеристики на контролната група

В нея бяха включени 46 пациента с хроничен вирусен хепатит С, със сходно възрастово и полово разпределение като изследваната група. Участие в тази група взеха 20 мъже (43.5%) и 26 жени (56.5%)- табл.15

Табл.15 Възрастово разпределение и демографски характеристики на пациентите от контролната група.

Възраст	45.12 ± 10.52
Пол (М/Ж)	20/26
Продължителност на заболяването в години (HCV – инфекция)	7.67±10.22

Степента на фиброза отново беше оценена с неинвазивни скорове за оценка – APRI, FIB-4. (фиг. 7) и разпределението по степен на фиброза беше следното:



71% от пациентите в контролната група нямаха данни за напреднала фиброза (n=36), а 29% (n=10) имаха данни за оформена чернодробна цироза.

При всички пациенти се проведе абдоминална ехография, с измерване на порталното налягане и след това беше оценена порталната хипертония, аналогично на изследваната група (табл.16).

Табл.16 Оценка на порталната хипертония при пациентите в контролната група:

	Резултати от ФГС, при налягане в порталната вена >10mmHg
Варици на хранопровода I ст	5
Варици на хранопровода II ст	1
Варици на хранопровода III ст	0
Варици на хранопровода IV ст	0
Портална гастропатия	4
Без варици на хранопровода	4

В тази група 5 пациента имаха варици на хранопровода I степен (Baveno), 1 пациент имаше варици на хранопровода II ст, нямаше пациенти с високостепенни варици на хранопровода (III-та или IV-та степен), 4-ма души имаха портална хипертензивна гастропатия и четирима души с чернодробна цироза нямаша данни за варици на хранопровода. Всички пациенти с чернодробна цироза бяха в компенсиран стадий на чернодробната функция, нямат история на декомпенсация в миналото и тяхната чернодробна функция беше оценена като Child-Pugh клас A. 1 пациент от тези с чернодробна цироза имаше Child-Pugh клас A= бт, за сметка на завишен серумен билирубин.

Всички пациенти в тази група бяха инфектирани с генотип 1 на вируса на хепатит С. Не е провеждано субгенотипизиране при пациентите в контролната група, поради наличието на пангенотипни режими за лечение на HCV – инфекцията на този етап.

Нивата на серумния креатинин при тези болни имаха средна стойност 73.04 $\mu\text{mol/l}$ (+/- 15.6), скорост на гломерулна филтрация 89 ml/min (+/- 10.9).

Вирусният товар в тази група имаше максимална стойност HCV RNA – 2534600 IU/ml; и средна стойност за групата HCV RNA – 3400 IU/ml (табл.17):

Табл. 17 Разпределение на вирусния товар в контролната група - HCV RNA (IU/ml)

N	Valid	46
	Missing	0
Mean		455871.82
Median		52130.00
Std. Deviation		303988.117
Minimum		3400

Maximum	2534600
---------	---------

При всички пациенти в контролната група изходно бяха изследвания нива на NGAL, като не се откриха нива над cut off- стойността (>14 ng/ml) (табл. 18)

Табл.18 Разпределение стойностите на NGAL в контролната група: NGAL преди началото на ДДАс (ng/ml)

N	Valid	46
	Missing	0
Mean		5.14598
Median		9.60000
Std. Deviation		3.104513
Minimum		1.600
Maximum		11.420

След анализ на ко-морбидитета в тази група стана ясно, че 28 човека (61%) страдат от артериална хипертония, 7 души (15%) имат захарен диабет, 6 души (13%) имат дислипидемия, 2-ма души (4%) имат остеопороза, 10 мъже имат доброкачествена хиперплазия на простатата (22%), 4 души имат пристъпно предсърдно мъждене (9%) - таб.13

Табл. 13 Характеристика на най-честите придружаващи заболявания на пациентите в контролната група:

Нозологична единица	Брой пациенти (n):	Процентно разпределение(%):
Артериална хипертония	28	61
Захарен диабет	7	15
Дислипидемия	6	13
Остеопороза	2	4
Доброкачествена хиперплазия на простатата	10	22
Пристъпно предсърдно мъждене	4	9

Всички пациенти в тази група бяха лекувани с пангенотипен режим Glecaprevir/Pibrentasvir за период от 8 или 12 седмици (табл.14). Най-често се налагаше промяна в : антихипертензивната терапия (замяна или редукция на дозата на медикаменти с потенциално или доказано взаимодействие с противовирусната терапия) за периода на времетраене на противовирусната терапия.

Табл. 14 Режими на лечение на HCV – инфекцията при пациентите в контролната група.

ДДАс режим	Продължителност на терапията	Брой пациенти (n)	Разпределение в %
Glecaprevir/ Pibrentasvir	8 седмици	28	61
Glecaprevir/ Pibrentasvir	12 седмици	18	39

4.3 Избор на противовирусна терапия при пациентите в изследваната група.

4.3.1 Избор на лечение при бъбречно - трансплантираните пациенти.

Всички пациенти в тази група бяха инфектирани с HCV генотип 1b. По време на старта на тяхната терапия в България беше достъпен режимът - Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir/Dasabuvir (Exviera/Viekirax), с който всички те бяха лекувани за период от 12 седмици. Терапията беше подчинена изцяло на националните и европейски изисквания за лечение на хроничен вирусен хепатит С. Избраният режим с директно-действащи антивирусни медикаменти е доказано високо ефективен за лечение на HCV – инфектирани с генотип 1b и е доказано безопасен за пациенти с бъбречно заболяване, поради основно жлъчната си елиминация.

Преди старта на терапията задължително бяха оценени възможните лекарствени взаимодействия между ДДАс и съпътстващите медикаменти.

Най-често се налагаше промяна в : антихипертензивната терапия (замяна или редукция на дозата на медикаменти с потенциално или доказано взаимодействие с противовирусната терапия); спиране на антилипидемичните медикаменти по време на противовирусното лечение (само за период от 12 седмици); корекция на имunosупресорните медикаменти или спиране на някои от тях, поради потенциални взаимодействия с ДДАс.

При всички пациенти се налагаше стриктно терапевтично мониториране на имunosупресорните медикаменти – преди начало на противовирусното лечение, от 3 до 7 дни след началото, на 1-ви месец от старта на ДДАс и след края на терапията или при суспекция на нежелана реакция на по-ранен етап в хода на лечението.

4.3.2 Избор на терапия при пациентите, провеждащи диализно лечение.

Генотипно пациентите в групата бяха разпределени по следния начин: 1 пациент беше инфектиран с генотип 1a на HCV, 7 пациента с генотип 1b, останалите 22 с генотип 1 (без да е проведено генотипизиране).

Поради поява на достъп до пангенотипни режими на този етап от проучването, част от пациентите бяха лекувани с такива.

Схемата на лечение в тази група е представена на таблица 15.

Табл.15 Режими на лечение на HCV – инфекцията при пациентите на диализно лечение.

ДДАс режим	Продължителност на терапията	Брой пациенти (n)	Разпределение в %
Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir/Dasabuvir	12 седмици	7	23
Glecaprevir/ Pibrentasvir	8 седмици	14	47
Glecaprevir/ Pibrentasvir	12 седмици	9	30

Съответно 47% от пациентите в тази група бяха лекувани с пангенотипен режим Glecaprevir/ Pibrentasvir за период от 8 седмици, 30% от тях бяха лекувани със същият режим за период от 12 седмици и 23% бяха лекувани с Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir/Dasabuvir за период от 12 седмици.

Преди старта на терапията отново бяха оценени възможните лекарствени взаимодействия между ДДАс и съпътстващите медикаменти.

Най-често се налагаше промяна в : антихипертензивната терапия (замяна или редукция на дозата на медикаменти с потенциално или доказано взаимодействие с противовирусната терапия); спиране на антилипидемичните медикаменти по време на противовирусното лечение (само за период от 12 седмици).

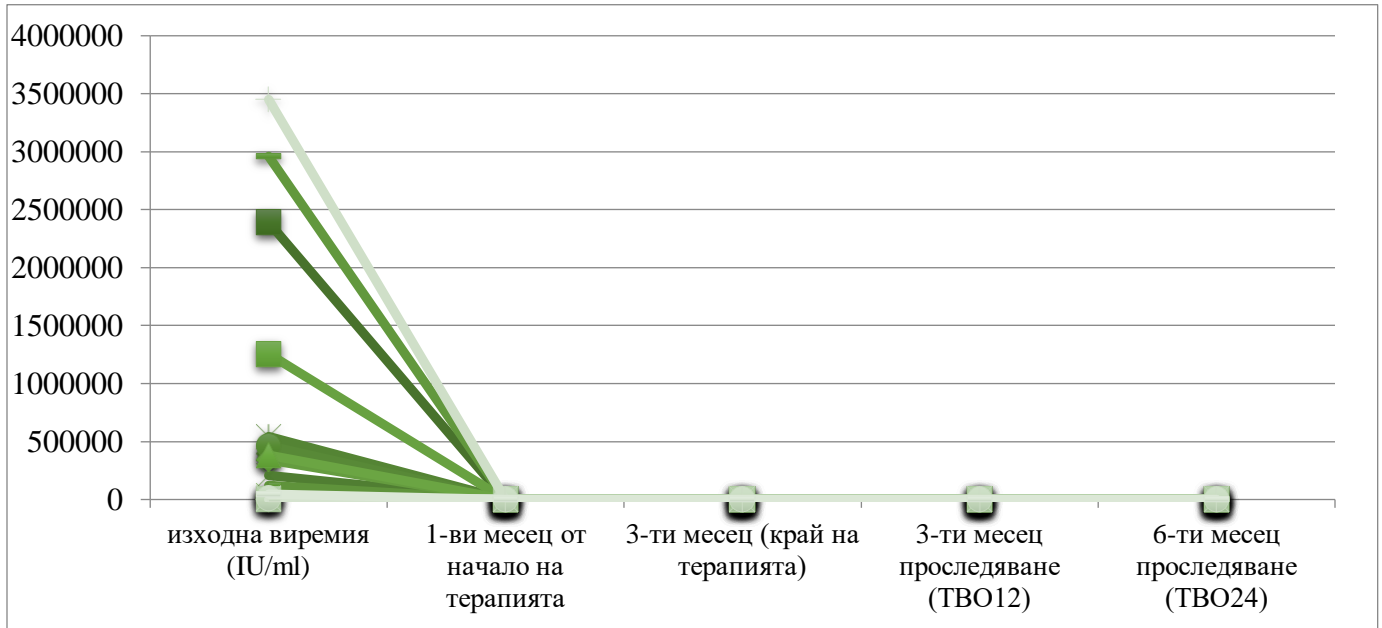
4.4 Анализ ефективността и безопасността на лечението в трите групи.

4.4.1 Оценка на трайния вирусологичен отговор.

Оценката на ТВО в изследваната и контролната група се осъществи на 12-та и 24-та седмица след края на противовирусното лечение. Независимо от избрания терапевтичен режим, всички пациенти и в двете групи, постигнаха траен вирусологичен отговор на 12-та и 24-та седмица след края на лечението. Ефективността на ДДАс в изследваните болни беше 100% (Фиг.8, фиг.9, фиг.10)

Фиг. 8 Оценка на вирусологичния отговор при бъбречно-трансплантираните пациенти

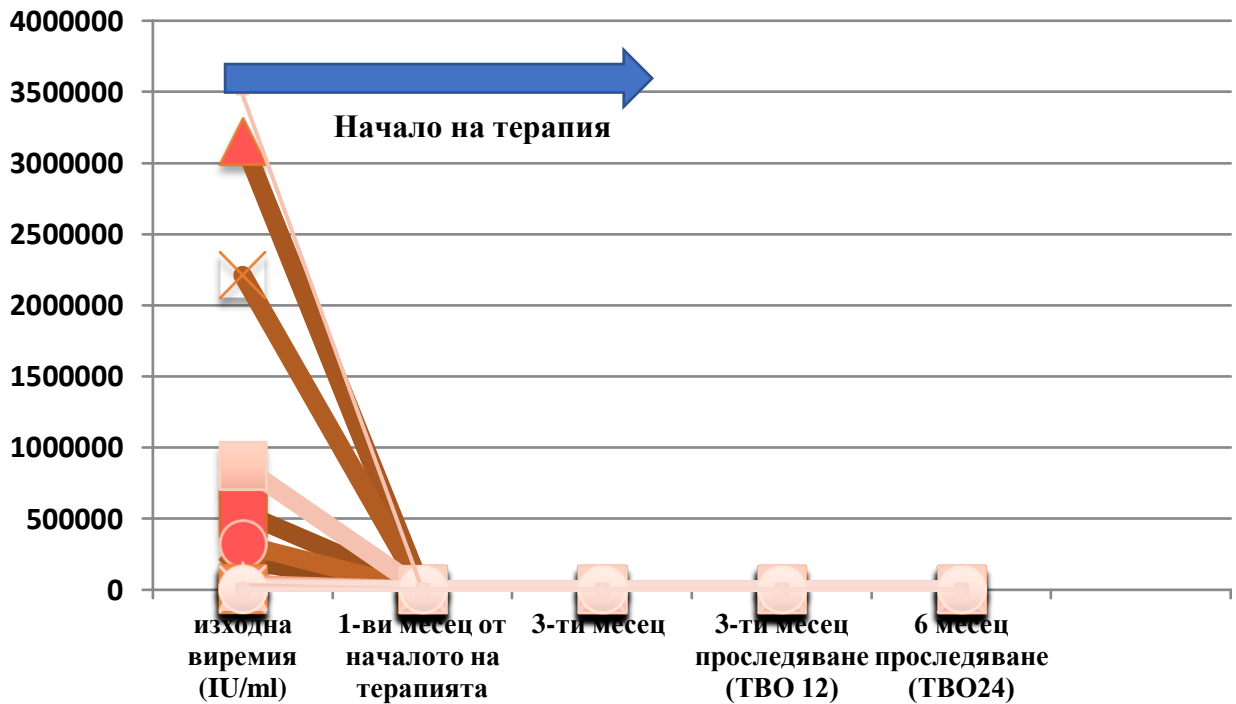
HCV RNA(IU/ml)



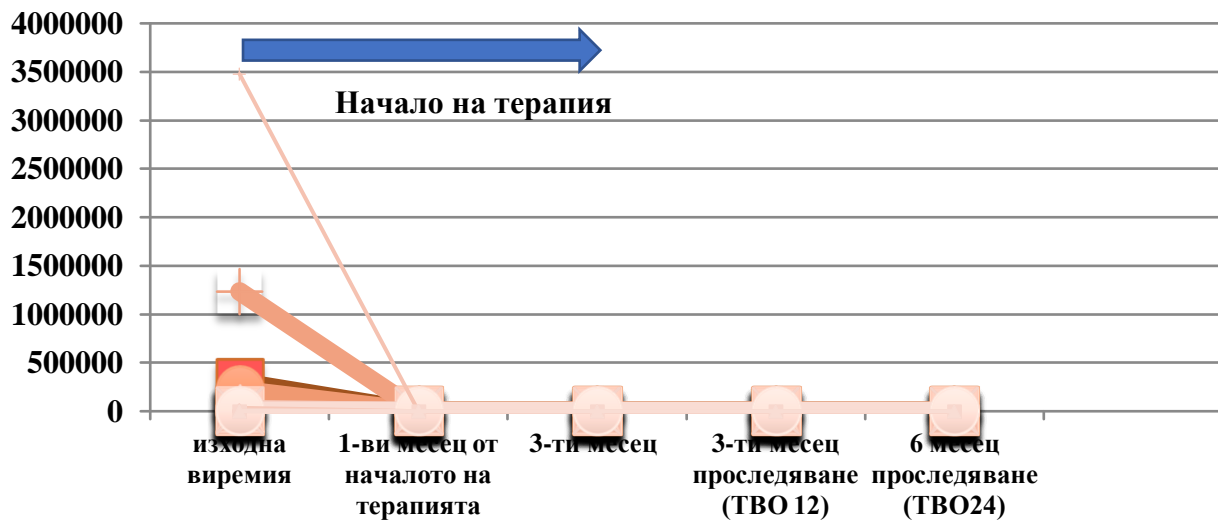
Проследяване на вирусологичния отговор

Фиг. 9 Оценка на вирусологичния отговор при пациентите на диализно лечение

HCV RNA(IU/ml)



**Фиг. 10 Оценка на вирусологичния отговор при пациентите в контролната група
HCV RNA(IU/ml)**

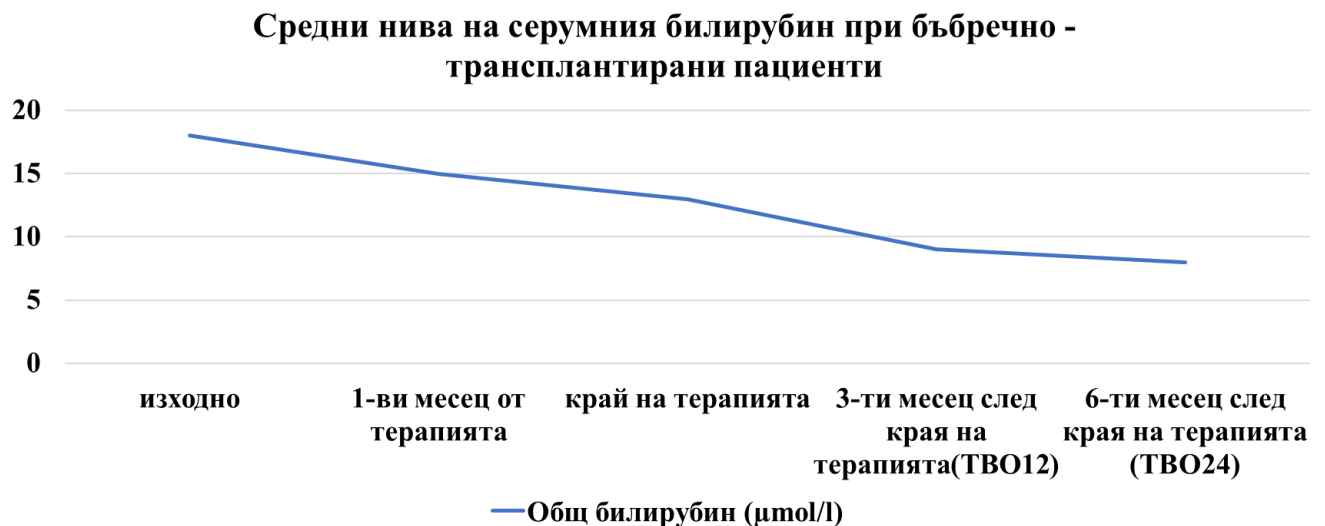


4.4.2 Оценка на биохимичния отговор към терапията.

4.4.2.1 Динамика в стойностите на серумния билирубин

При всички пациенти в изследваната група се наблюдава редукция в стойностите на серумния билирубин, до неговото нормализиране при проследяване на 6-ти месец и на 12-ти месец след края на терапията (фиг. 11.). Благоприятната динамика в нивата на серумния билирубин не зависи от стадия на ХБЗ при пациентите в изследваната група.

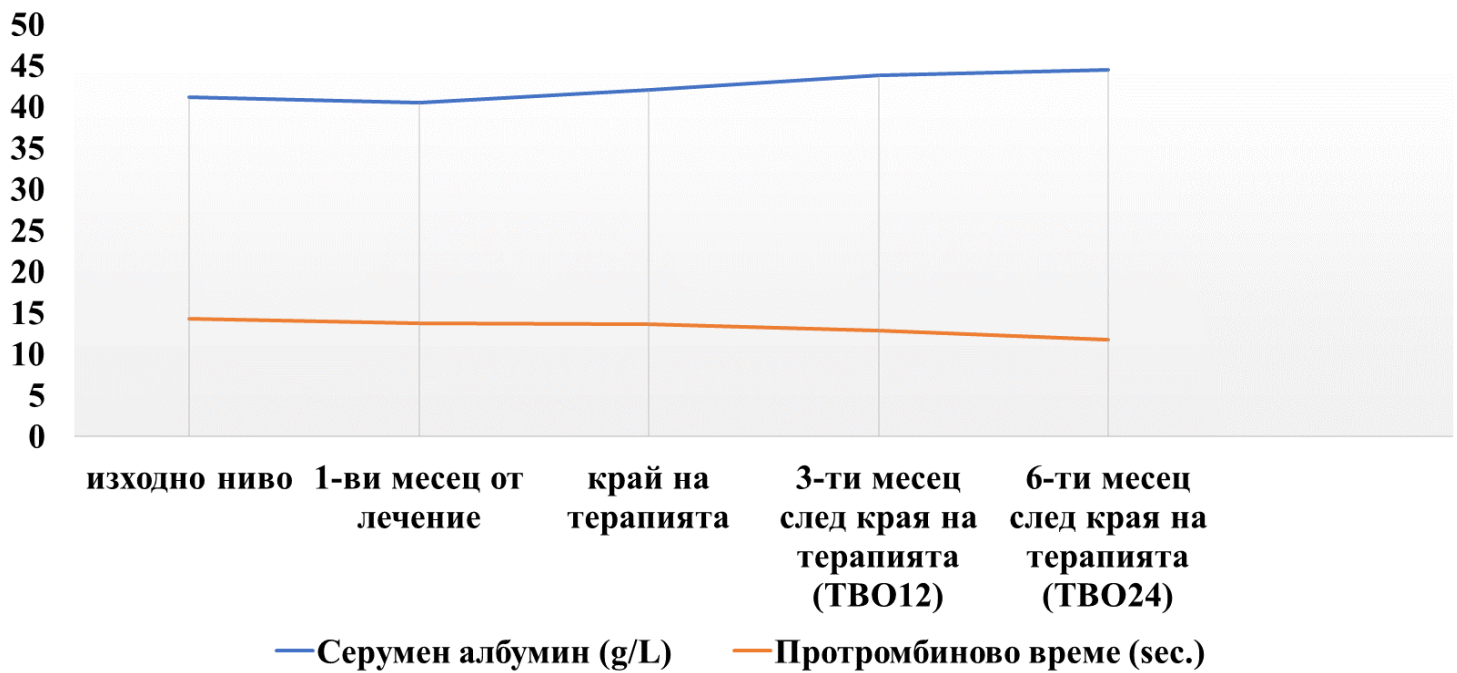
Фиг. 11 Динамика в средните стойности на серумния билирубин при бъбречно-трансплантираните болни и пациентите на хронидиализа



4.4.2.2 Динамика в протосинтетичната чернодробна функция в изследваната група

За оценка и проследяване на протосинтетичната чернодробна функция по време на терапията с ДДАс се изследваха контролно серумният албумин и протромбиновото време. (фиг.12).

Фиг. 12 Динамика в протосинтетичната чернодробна функция



Наблюдава се подобряване в нивата на серумния албумин в хода на терапията и след края на лечението при оценка на ТВО 12 и ТВО 24 (фиг.12), като разликата в нивата на серумния албумин показва статистическа значимост при $p < 0.005$ (табл.16), доказано с t-test за чифтни разлики.

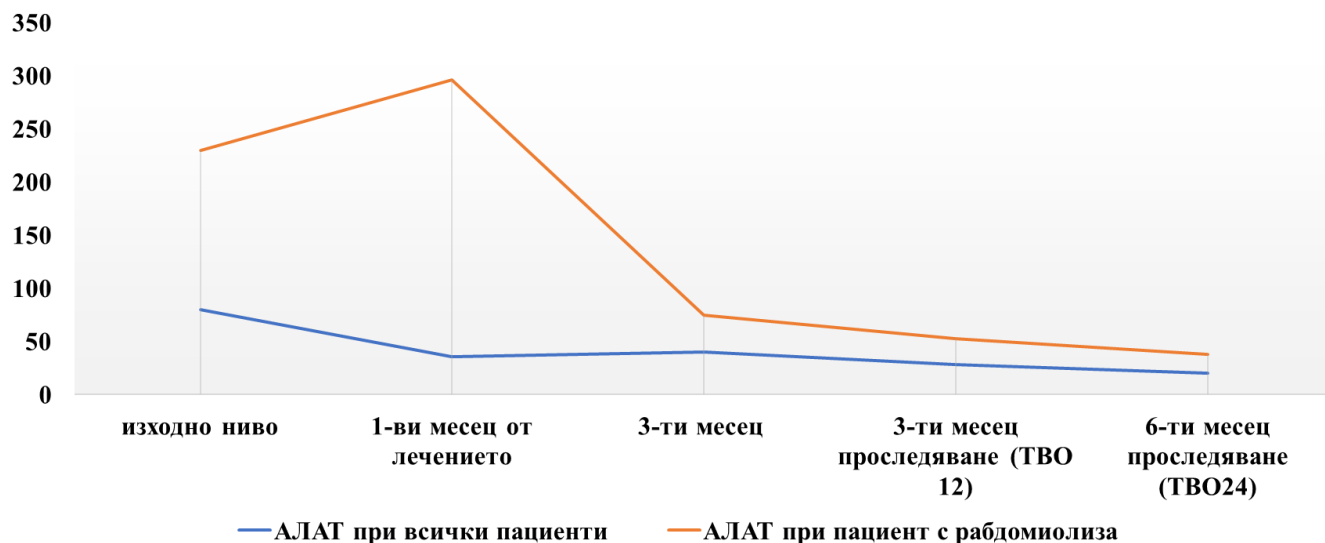
Табл. 16 Paired Samples Test за динамиката на серумния албумин преди началото на противовирусната терапия и 6 месеца след края на лечението

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower
Pair 1	Alb при начало на терапията - Alb при оценка на ТВО 24	-3.737	3.446	.456	-4.651

Paired Samples Test					
		Paired Differences			
		95% Confidence Interval of the Difference			
		Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	Alb при начало на терапията - Alb при оценка на ТВО 24	-2.822	-8.187	56	.000

Цитолитичната активност при пациентите в изследваната група претърпя следната динамика, отразена на фиг. 13

Фиг.13 Динамика в трансаминазната активност

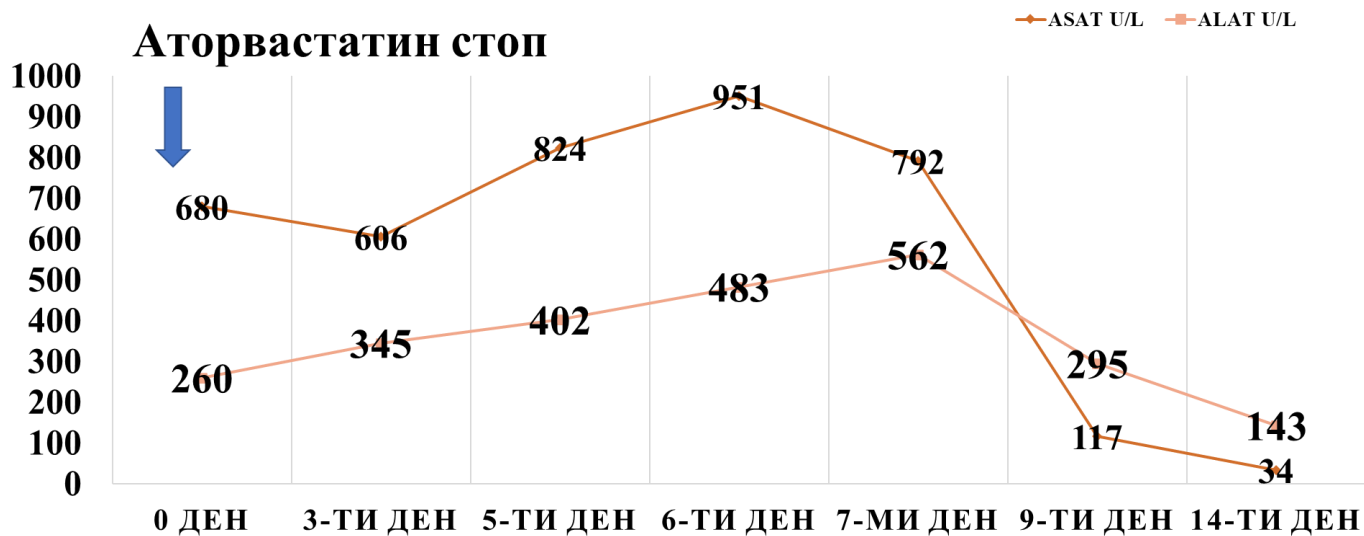


От графиката става ясно, че цитолитичната активност в изследваната група постепенно, но сигурно изчезва и стойностите на АЛАТ се нормализират и остават нормални при проследяване след края на лечението.

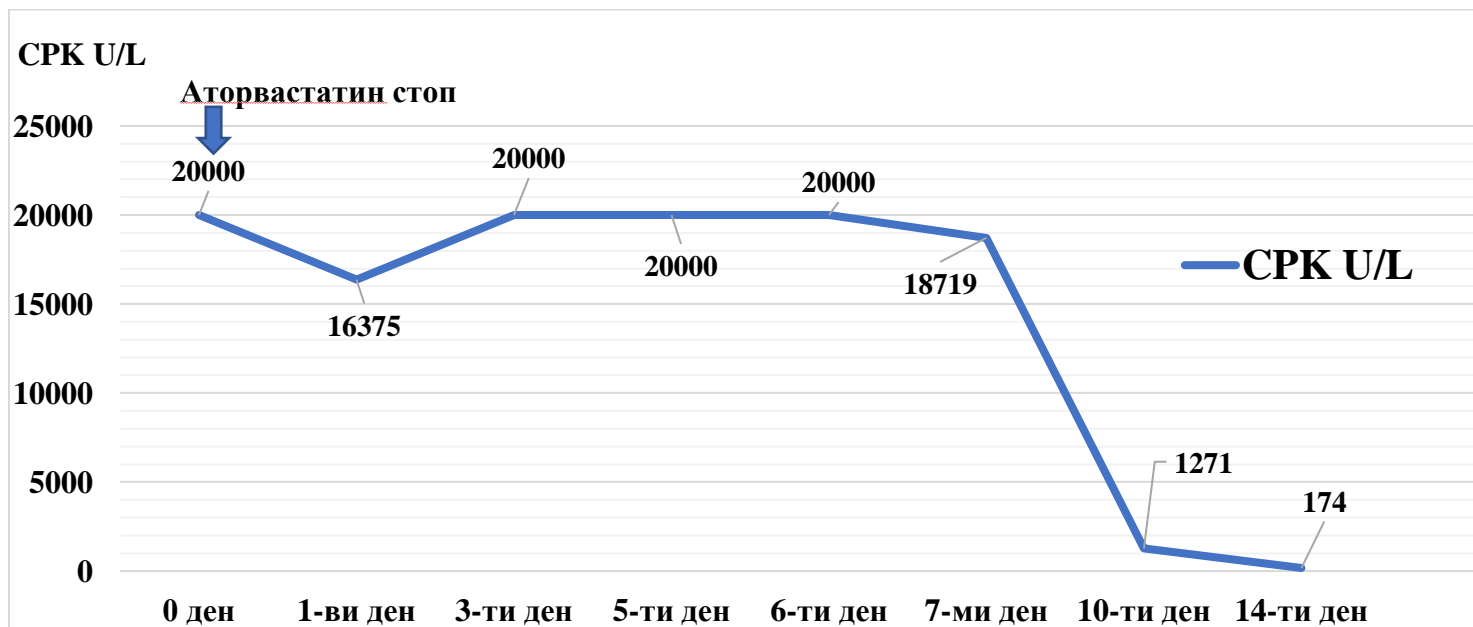
Поради лекарствено взаимодействие, при прием на забранен от екипа медикамент, при един пациент се наблюдаваше средна по тежест странична реакция. След комбиниране на протеазен инхибитор и Аторвастатин (забранен за употреба съвместно с протеазни инхибитори и с доказани взаимодействия с медикаментите в състава на 3D терапията) наблюдавахме рабдомиолиза.

Незабавно прекратихме приемът на Аторвастатин, започна се инфузионно и антиоксидантно лечение и се продължи противовирусната терапия с Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir+/Dasabuvir. В хода на лечението, за период от 14 дни постигна нормализиране на АСАТ и креатинфосфокиназата, както и редукция в стойностите на АЛАТ (фиг.14. и фиг.15). По време на токсичния момент се наблюдаваше влошаване на бъбречната функция, като наблюдавахме постепенно възстановяване до изходни нива на серумния креатинин и гломерулната филтрация за период от 2 месеца (фиг.16)

Фиг.14 Трансаминазна активност при пациент с рабдомиолиза

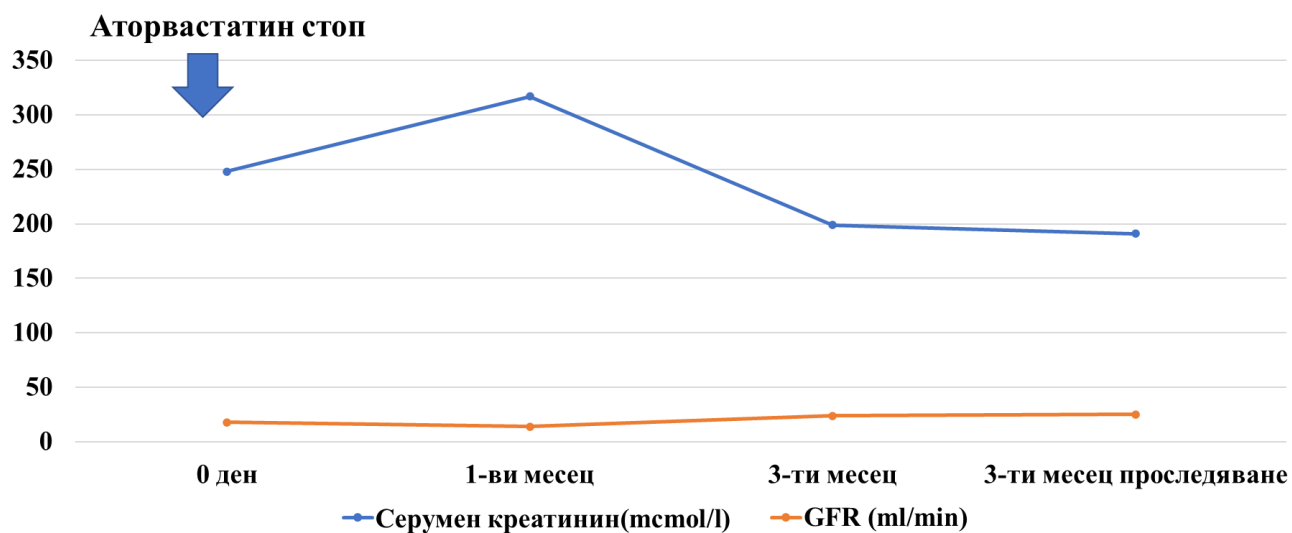


Фиг. 15 Динамика в стойностите на креатинфосфокиназата при пациент с рабдомиолиза.



Мониторирането на бъбречната функция в тази ситуация е отразено на фиг.16. Проследявахме стриктно пациента за период от 12 месеца.

Фиг. 16 Динамика в бъбречната функция при пациент с рабдомиолиза



4.4.2.3 Динамика в бъбречната функция по време на лечението с ДДАс и при проследяване до 1 година след края на лечението.

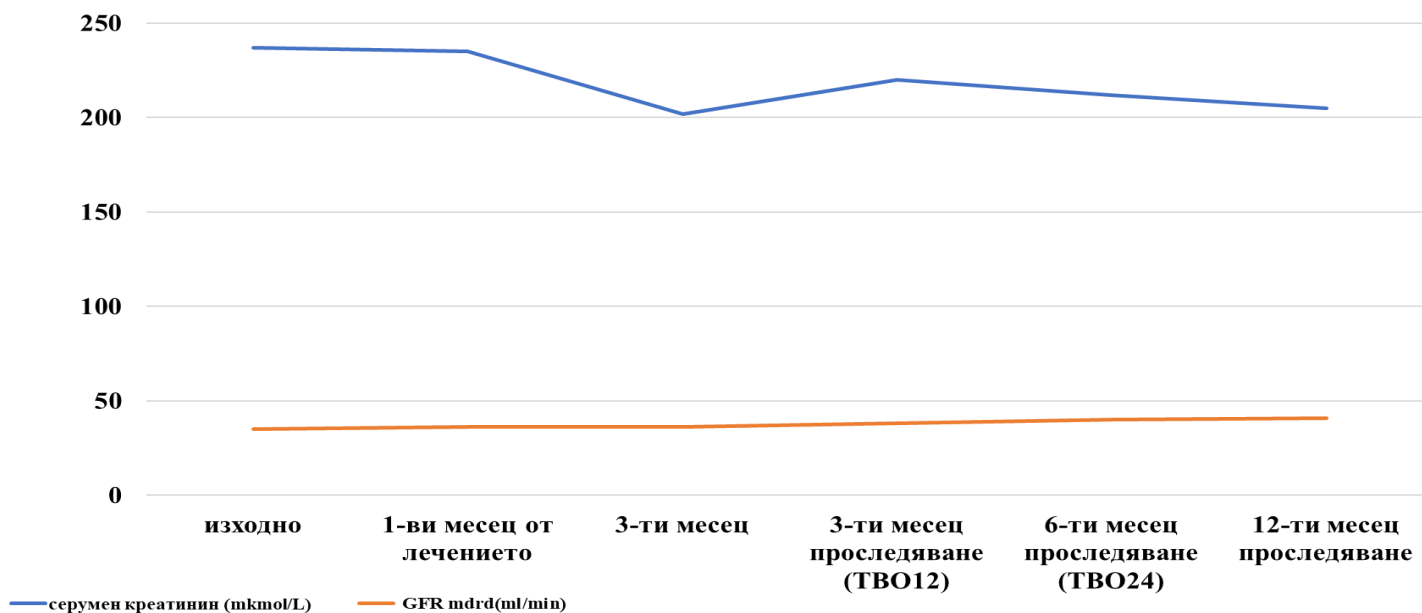
4.4.2.3.1 Проследяване на бъбречната функция при пациентите с бъбречна трансплантация.

В тази група пациенти при първоначалният анализ се установи, че попадат индивиди в стадий на ХБЗ (според гломерулната филтрация) от 1 до 3, без да има такива в краен стадий на ХБЗ, съответно нямаше пациенти на диализно лечение.

Преди началото на противовирусната терапия с ДДАс внимателно бяха селектирани потенциално опасните лекарствени взаимодействия и беше изграден алгоритъм за стриктно биохимично проследяване на целевата група в хода на терапията, както и при проследяване, дори след оценка на трайният вирусологичен отговор на седмица 24, с цел дългосрочно проследяване ефекта на ерадикацията на вируса на хепатит С върху бъбречната функция.

В хода на работа установихме, че съществува положителна динамика в изследваната група пациенти по отношение на бъбречната функция, подобряване на гломерулната филтрация и спад на серумния креатинин в групата при дългосрочно проследяване (фиг. 17). Някои пациенти преминаха в по-нисък стадий на ХБЗ при проследяване.

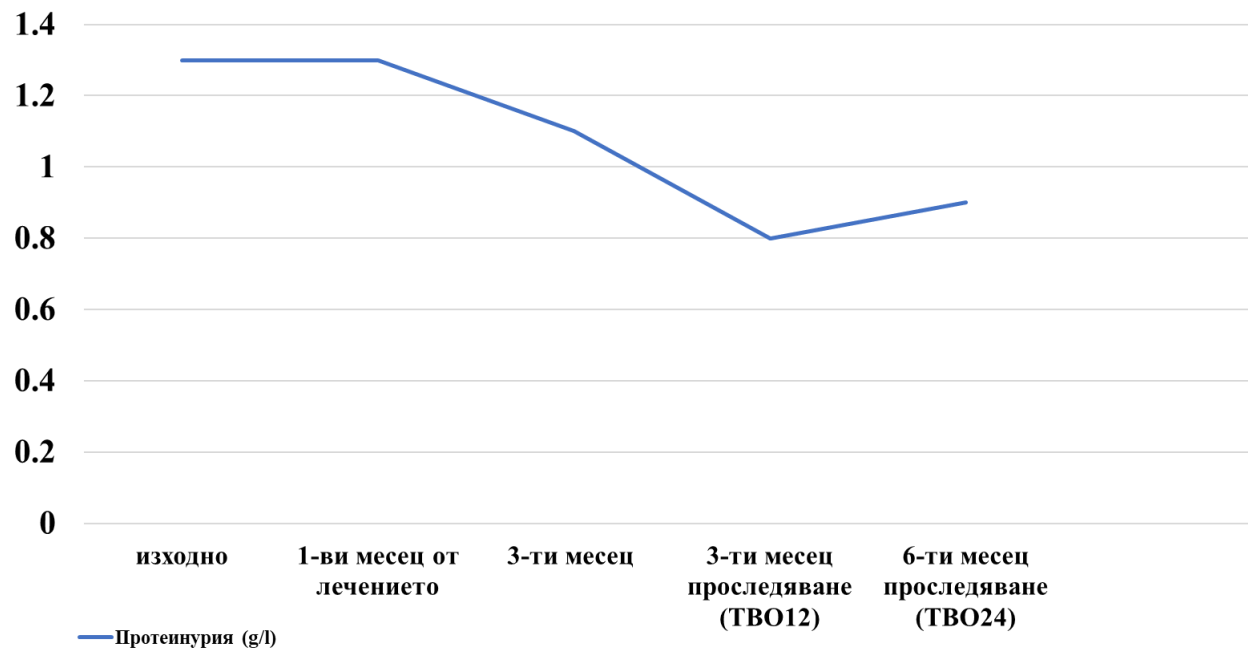
Фиг.17 Динамика в серумния креатинин и гломерулната филтрация (ml/min) при бъбречно -трансплантирани пациенти.



За изграждане на комплексна оценка на бъбречната функция, проследихме също нивата на протеинурия при пациентите в тази група (БТ). Установихме, че общо за групата нивата на протеинурия са по-ниски спрямо изходните (фиг.18). Поради малкият брой пациенти

(n=27), статистическата значимост на този извод трудно би могла да се дефицира на този етап, но тенденцията за намаление на протеинурията е налична т.е. има клинична значимост.

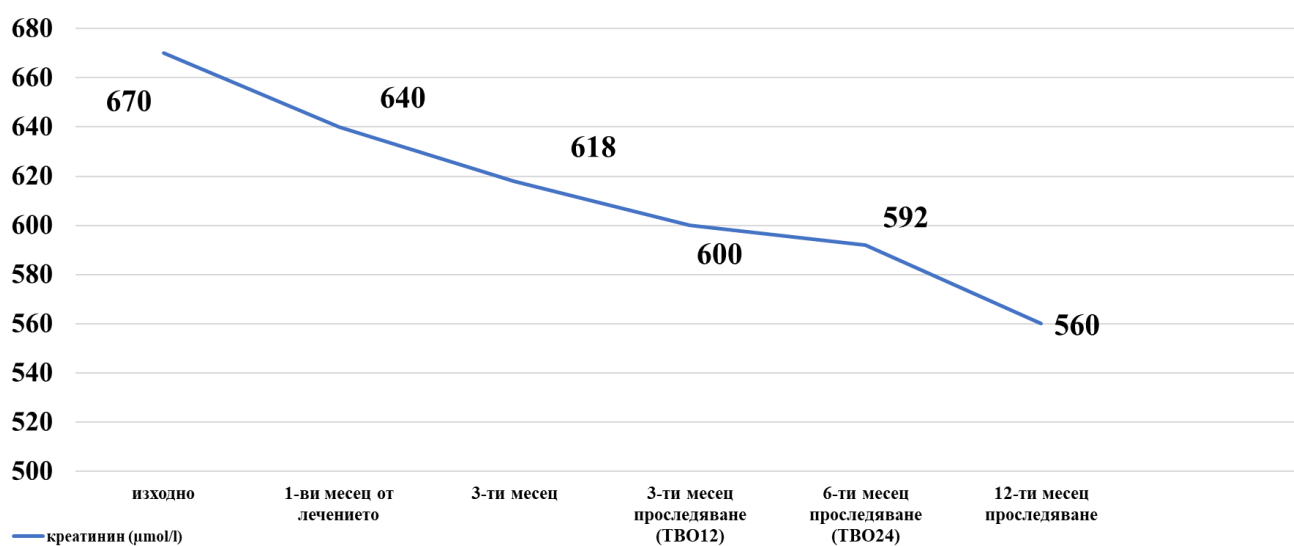
Фиг. 18. Динамика в 24-часова протеинурия при бъбречно -трансплантирани пациенти – по време на терапия и при проследяване



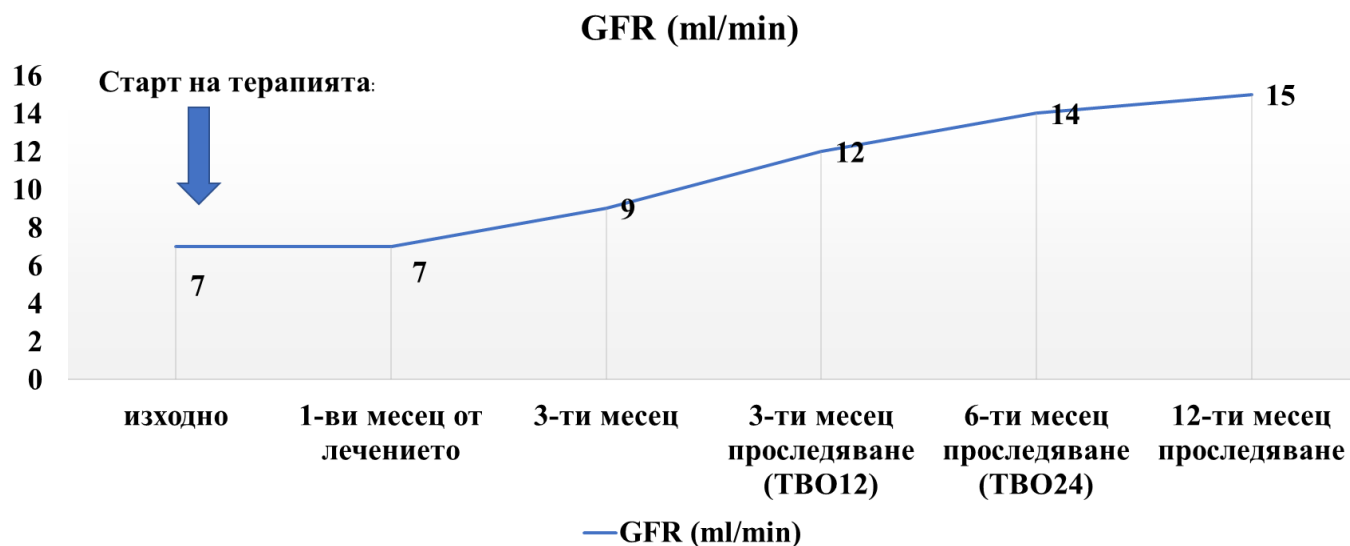
4.4.2.3.2 Проследяване на бъбречните показатели при пациентите на диализно лечение.

В тази група пациенти трудно би могло да се говори за подобрена бъбречна функция, предвид крайният стадий на бъбречна увреда. Въпреки това е редно да се отбележи позитивната динамика по отношение средните стойности на серумният креатинин (фиг. 19) и гломерулната филтрация и в тази група болни.

Фиг.19 Динамика в серумния креатинин при пациентите на диализно лечение.



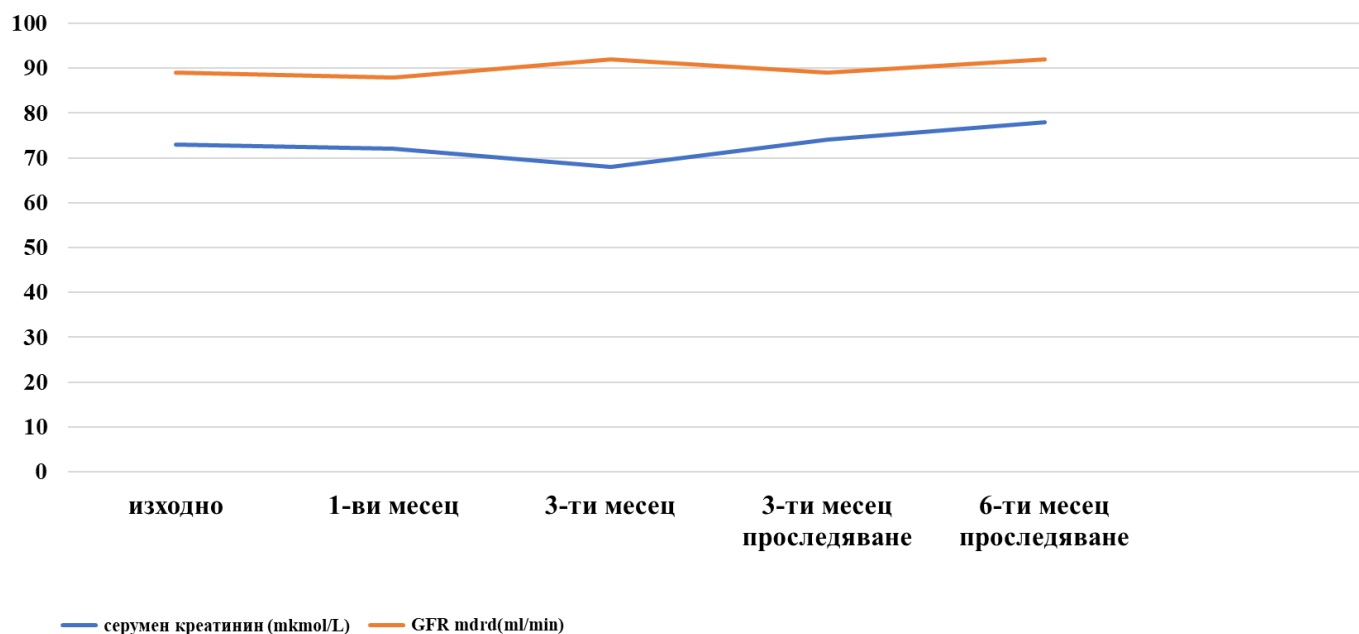
Фиг.20 Динамика в гломерулната филтрация при пациентите на диализно лечение.



4.4.2.3.3 Проследяване на бъбречните показатели при пациентите от контролната група.

В контролната група пациенти не се намери статистически значима динамика в бъбречната функция (фиг. 21) по време на лечението и при проследяване на 6-ти месец след края на противовирусното лечение с ДДАс ($p > 0.05$)

Фиг.21 Динамика в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация при пациентите от контролната група.



Интерпретативно би могло да се каже, че няма разлика в бъбречната функция при пациентите в контролната група в хода на терапията и при шест месечно проследяване.

4.4.2.4 Сравнителен анализ на динамиката в бъбречната функция и някои бъбречни показатели по време на лечението с ДДАс и при проследяване до 1 година след края на лечението.

4.4.2.4.1 Сравнителен анализ в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация време на лечението с ДДАс и при проследяване до 1 година след края на лечението

Динамиката в стойностите на тези показатели за изследваната група от бъбречно-трансплантирани и пациенти на диализно лечение имаше следният вид (табл.17)

Табл.17 Paired Samples Statistics (descriptive) разпределение на серумния креатинин и гломерулната филтрация преди терапия и при проследяване

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Серумен креатинин при начало на терапията –	374.49	57	272.483	36.091
	Серумен креатинин на 12-ти месец след края на терапията	309.58	57	214.007	28.346
Pair 2	Гломерулна филтрация при начало на терапията –	27.49	57	20.096	2.662
	Гломерулна филтрация на 12-ти месеца след края на терапията	31.47	57	21.532	2.852

Двата показателя показаха статистически значима разлика в нивата ($p < 0.005$) (табл. 18) при проследяване техните стойности преди и след края на противовирусната терапия, както и при едногодишно проследяване след края на терапията.

Табл.18 Корелация в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация – Paired samples t-test за чифтни разлики

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Серумен креатинин при начало на терапията – Серумен креатинин на 12-ти месец след края на терапията	57	.970	.000
Pair 2	Гломерулна филтрация при начало на терапията – Гломерулна филтрация на 12-ти месеца след края на терапията	57	.983	.000

За подкрепа на нулевата ни хипотеза – че има статистически значима разлика и подобрение в бъбречната функция при тази група болни, проведохме сравнителен анализ с тест за чифтни разлики (Paired samples t-test). Установихме, че действително в изследваната група съществува статистически значима разлика в динамиката на бъбречните показатели – ниво на серумен креатинин и скорост на гломерулна филтрация (табл. 19), при висок доверителен интервал (>95%).

Табл. 19 Paired Samples Test тест за чифтни разлики между серумния креатинин и скоростта на гломерулна филтрация преди лечение с ДДАс и при едногодишно проследяване след края на терапията.

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower
Pair 1	Серумен креатинин при начало на терапията – Серумен креатинин на 12-ти месец след края на терапията	64.912	83.445	11.053	42.771
Pair 2	Гломерулна филтрация при начало на терапията – Гломерулна филтрация на 12-ти месеца след края на терапията	-3.982	4.086	.541	-5.067

Paired Samples Test – тест за чифтни разлики

		Paired Differences 95% Confidence Interval of the Difference Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	Серумен креатинин при начало на терапията – Серумен креатинин на 12-ти месец след края на терапията	87.053	5.873	56	.000
Pair 2	Гломерулна филтрация при начало на терапията – Гломерулна филтрация на 12- ти месеца след края на терапията	-2.898	-7.358	56	.000

При пациентите от контролната група не наблюдавахме съществена динамика в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация преди старта на терапията с ДДАс и до 6 месеца след края на лечението.

4.4.2.4.2 Сравнителен анализ в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация време на лечението с ДДАс и при проследяване при пациентите в контролната група

При пациентите от контролната група не наблюдавахме съществена динамика в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация преди старта на терапията с ДДАс и до 6 месеца след края на лечението.

Табл. 20 Paired Samples Test тест за чифтни разлики между серумния креатинин и скоростта на гломерулна филтрация преди лечение с ДДАс и при едногодишно проследяване след края на терапия при пациентите в контролната група

Paired Differences 95% Confidence Interval of the Difference Upper	df	Sig. (2-tailed)
--------------------------------------------------------------------------------	----	-----------------

Pair 1	Серумен креатинин при начало на терапията – Серумен креатинин на 6-ти месец след края на терапията	7.057	46	.145
Pair 2	Гломерулна филтрация при начало на терапията – Гломерулна филтрация на 6-ти месеца след края на терапията	-0.898	46	.561

По отношение на NGAL при пациентите в контролната група не се наблюдаваше статистически значима разлика в серумната концентрация на NGAL преди началото на терапията с директно-действащи противовирусни средства и на 6-ти месец след края на противовирусната терапия (табл.21)

Табл. 21 Paired Samples Test – сравнителен анализ в серумните концентрации на NGAL в контролната група

		df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	NGALизходно - NGAL в края на противовирусна терапия	46	.431
Pair 2	NGALизходно – NGAL при TBO 24	46	.128

4.4.2.4.3 Сравнителен и корелационен анализ на динамиката в бъбречната функция и нивата на NGAL по време на лечението с ДДАс и при проследяване до 1 година след

края на лечението при бъбречно-трансплантираните пациенти и тези на диализно лечение.

- ▶ На този етап от проучването си поставихме задача да оценим тежестта на бъбречната увреда чрез изследване серумната концентрация на NGAL (сурогатен маркер за остро бъбречно увреждане) при наличие на активна вирусна HCV – инфекция в българската популация в група пациенти с хронично бъбречно заболяване и бъбречно - трансплантирани болни. Предполагахме връзка между степента на бъбречно увреждане и стойностите на NGAL в серума в изследваната група.
- ▶ Допълнителна задача, която си поставихме беше да установим има ли разлика в бъбречната функция и нивата на NGAL, преди и след ерадикация на вируса на хепатит С, при пациенти лекувани с директно-действащи антивирусни средства с различна степен на ХБЗ или бъбречна трансплантация.

Методиката използва ELISA и високоспецифични моноклонални антитела към Липокалин-2. Спектрофотометрично се отчита реакция с цветен продукт, като интензитетът на цветния продукт е правопрпорционален на количеството антиген в биологичната проба.

За целите на анализа използвахме установената стратификация на пациентите според стадий на ХБЗ (съгласно класификацията на KDIGO):

Табл. 22. Процентно разпределение на пациентите в изследваната група според стадия на ХБЗ.

	Брой пациенти	Процент
2 (eGFR 60-89 ml/min)	14	25%
3 (eGFR 59-30 ml/min)	13	23%
4 (eGFR 29-15 ml/min)	2	3.5%
5 (eGFR <15 ml/min)	28	49%
Общо	57	100%

Наблюдаваше се завишена стойност на NGAL в групата преди старта на терапията с ДДАс.

Намерихме **съответствие** между стадия на ХБЗ (27 болни в група 1 са в стадий на ХБЗ 2 и 3 , съответно със стойности на GFR между 89-30 ml/min и 30 болни в група 2 са в стадий на ХБЗ 4 или 5, съответно с GFR <29ml/min, групите са оформени за целта на анализа и са отразени в таблица 21) и по-високите стойности на изследвания показател (Табл 24, Табл.25), при $p < 0.05$.

Табл. 23 Разпределение на пациентите в ниско- (ст.2,3) и високостепенна ХБЗ (ст.4,5)

NGAL start	Стадий на ХБЗ	Брой	Mean Rank	Sum of Ranks
	Група 1 (ХБЗ 2-ра и 3-та степен)	27	14.86	416.00
	Група 2 (ХБЗ 4-та и 5-та степен)	30	36.41	619.00
	Общ брой	57		

Групата пациенти с ХБЗ 4 и 5 имаха измерени отчетливо по-високи нива на NGAL (средна стойност 36.41 ng/ml), в сравнение с пациентите в по-нисък стадий на ХБЗ (средна стойност на NGAL 14.86 ng/ml) – табл.23

Табл.24 Mann-Whitney test

	NGAL при начало на терапията
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	416.000
Z	-5.338
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

Grouping Variable: CKD stage

При проследяване стойностите на NGAL в хода на противовирусната терапия и след негативиране на вирусното размножаване наблюдавахме статистически значима разлика ($p < 0.005$ и доверителен интервал $> 95\%$) и съответно статистически значим спад в стойностите на изследвания показател, доказан чрез paired samples t-тест за чифтни разлики (табл.26) на седмица 24 след края на терапията, като тази тенденция се запази и на 1 година след края на противовирусната терапия.

Табл. 26 Paired Samples T-Test NGAL

	df	Sig. (2-

		Upper			tailed)
Pair 1	NGAL изходно - NGAL в края на противовирусна терапия	.425046	-.794	57	.431
Pair 2	NGAL изходно - NGAL при ТВО 12	2.070348	3.888	57	.000
Pair 3	NGAL изходно – NGAL след 1 година	2.631903	8.841	57	.000

От проведените изследвания и анализ направихме следните изводи:

1. Стойностите на NGAL изходно и стойностите на вирусния товар HCV RNA не показват корелация (Spearman, $p > 0.005$) – табл. 27

Табл. 27 Корелационен анализ между нивото на вирусното размножаване и нивото на NGAL преди старта на терапията.

		NGAL start	HCV RNA (IU/ml)
Spearman's rho	NGAL start	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.080
		N	57
IU/ml)HCV RNA		Correlation Coefficient	-.234
		Sig. (2-tailed)	.080
		N	57

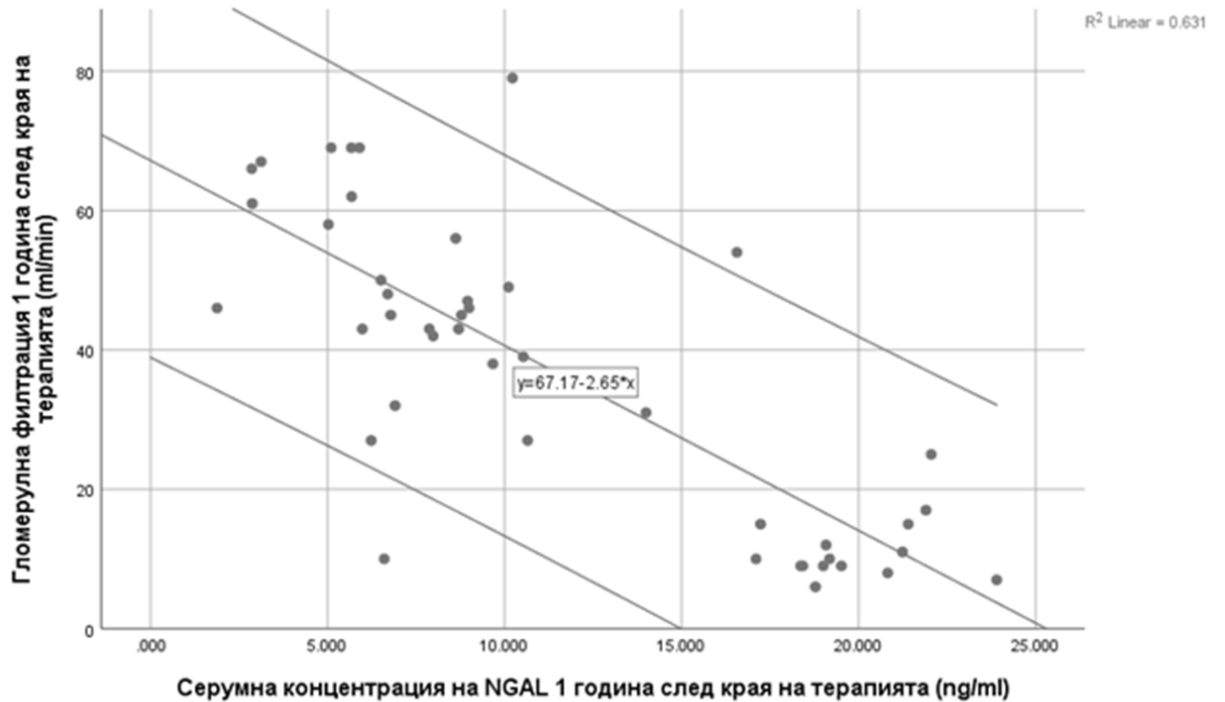
2. След края на противовирусната терапия част от пациентите преминаха в по-лек стадий на ХБЗ, като подобрението в бъбречната функция общо за групата е статистически достоверно ($p = 0.05$, Paired samples t-test табл.28).

Табл. 28 Paired Samples Test – сравнителен анализ в стадията на ХБЗ преди терапия и 12 месеца след края на терапията.

		Paired Differences			
		95% Confidence Interval of the Difference			
		Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	ХБЗ стадий преди старта на противовирусното лечение – ХБЗ стадий 12 месеца след края на противовирусното лечение	.337	2.934	57	.005

3. За да се оцени връзката между моментните стойности на серумната концентрация на NGAL и гломерулната филтрация се изчисли коефициента на рангова корелация на Spearman. В анализа бяха включени всички 57 болни. Предварителният анализ чрез преглед на корелационна матрица показва монотонна асоциация между двата показателя. (фигура 21)

Фиг. 21 Коефициент на рангова корелация на Spearman между гломерулната филтрация и серумната концентрация на NGAL 1 година след края на лечението с ДДАс



Установи се статистически значима силна обратна корелация с $r_s = -0.764$, $p < 0.0001$.

- Показателите за редуция на чернодробното възпаление АСАТ, АЛАТ проследени 1 година след лечение корелират с гломерулната филтрация ($p = 0.02$, при $r_s = 889$, Pearson), което показва, че подобряването на чернодробното възпаление и подобряването на бъбречната функция са взаимно свързани.

В подкрепа на това твърдение е и корелацията на серумния албумин (свързан с чернодробната функция), с гломерулната филтрация при проследяване ($p = 0.03$, при $r_s = 846$, Pearson) – табл. 29

Табл.29 Корелация по Pearson между серумният албумин и гломерулната филтрация при проследяване.

		Серумен албумин при проследяване (48-ма седмица)
GFR (ml/min) 48- ма седмица	Pearson Correlation	-.030
	Sig. (2-tailed)	.846
	N	57

Серумният билирубин също корелира с гломерулната филтрация при проследяване, като $p=0.05$, но при нисък $r_s = 286$, Pearson – табл. 30

Табл. 30 Корелация по Pearson между серумният билирубин и гломерулната филтрация при проследяване.

		Билирубин при проследяване седмица 24
GFR (ml/min) 48-ма седмица	Pearson Correlation	.286
	Sig. (2-tailed)	.057
	N	57

- Установява се статистически значимо подобрение в чернодробната функция при всички пациенти по отношение на следните показатели – серумен албумин, серумен билирубин, протромбиново време, АЛАТ, АСАТ, при висока достоверност : $p<0.001$, и висок $r_s>>571$. – таблица 31

Табл.31 Параметри, проследени в началото и 1 година след края на противовирусното лечение

Параметри, проследени в началото и 1 година след края на противовирусното лечение	Брой пациенти	r _s	p
Протромбиново време	57	.895	.000
Серумен албумин	57	.682	.000
Серумен общ билирубин	57	.731	.000
АЛАТ	57	.571	.000
АСАТ	57	.714	.000

4.4.4 Оценка на безопасността на противовирусното лечение в изследваната група.

В световната литература и клиничен опит профилът на безопасност на директно-действащите противовирусни средства е отличен.

Необходимостта от спазване на установените правила за мониториране на чернодробната и бъбречна функция в хода на терапията, както и неизменно навременната оценка на възможните лекарствени взаимодействия на ДДАс със съпътстващите медикаменти, които приемат кандидатите за противовирусно лечение, е неуспорима.

От нашият клиничен опит в изследваната група от пациенти с хронично – бъбречно заболяване и бъбречно – трансплантирани болни, стана ясно ,че безопасността на ДДАс в реалната ни клинична практика е абсолютно съпоставима с тази от световния клиничен опит.

Най-често наблюдаваната странична реакция в изследваната група беше главоболието (при 30% от пациентите, n=17) в първите 14 дни на терапията. При трима пациенти по-висока честота на главоболия се наблюдаваше до 30 дни след старта на терапията. Нито един от тези болни нямаше анамнеза за мигрена или подобни пристъпи в миналото. Главоболието беше овладявано лесно с аналгетици и не се отрази на продължителността на терапията или на комплайънса на пациентите.

Втората по честота странична реакция, докладвана от пациентите, беше астено-адинамия. Наблюдаваше се в около 25% от пациентите (n=14). При четирима души това оплакване се запази до края на противовирусното лечение, след което премина спонтанно.

Регистрира се една средна по тежест нежелана реакция. Наблюдавахме рабдомиолиза при пациент на терапия с 3D – режимът (на 10-ти ден след началото на прием на противовирусните медикаменти), който беше приемал Atorvastatin, въпреки инструкциите на екипа. Наблюдавахме висока цитолитична активност с нива на АСАТ до 951 U/l (референтна стойност 35 U/l), АЛАТ до 562 U/l (референтна стойност 38 U/l) и екстремно завишени нива на креатинфосфокиназата до 20 000 U/l. Приемът на Atorvastatin беше прекратен незабавно, като противовирусната терапия не беше прекратена и пациентката завърши курса на лечение успешно. След 14 дневен срок реакцията се овладя, постепенно трансаминазите се нормализираха и креатинфосфокиназата след 14 дни спадна до нива около 174 U/l. В хода на това събитие наблюдавахме влошаване на бъбречната функция на пациента, който беше бъбречно-трансплантиран и провеждаше съответна имunosупресивна терапия. При изходен серумен креатинин 248 $\mu\text{mol/l}$, наблюдавахме покачване в стойността му синхронно с всички други биохимични отклонения. След спад в стойностите на аминотрансферазите и креатинфосфокиназата, наблюдавахме и постепенен спад на серумния креатинин до 191 $\mu\text{mol/l}$. Реакцията беше овладяна успешно и нарушенията бяха напълно реверзibilни.

В заключение безопасността на ДДАс при пациенти с хронично бъбречно заболяване и бъбречна трансплантация е сравнима с тази в общата популация. Не наблюдавахме по-тежки нежелани лекарствени реакции от регистрираните до момента в световен мащаб.

5. Дискусия

В унисон с инициативата на Световната здравна организация (СЗО) 2030 за елиминация на хроничният вирусен хепатит С в световен мащаб е и концепцията на настоящият научен труд.

Високият процент скрита заболяемост, липсата на скринингови програми във всички населени места по света, липсата на достатъчна информираност сред населението за потенциалните тежки социални и здравосложни последици, които биха могли да възникнат вследствие на HCV – инфекцията, както и все още липсата на достъп до терапия навсякъде по света, са само част от препятствията, които трябва да бъдат преодолени за постигане на целта 2030 - а именно елиминация на вирусът на хепатит С от планетата.

За постигане на тази цел могат да спомогнат микроелиминации на вируса в различни ендемични групи. Обект на настоящият научен труд е именно такава група от болели.

В изследваната група пациенти с проведена бъбречна-трансплантация и такива с провеждащи хроничен диализа наблюдавахме сходно демографско разпределение. За сравнение на получените резултати избрахме сходна по демографски показатели контролна група от пациенти, на които също предстоеше лечение за хроничен вирусен хепатит С. Всички пациенти бяха стадирани с неинвазивни методи за скорова оценка в две основни групи – такива с напреднала фиброза и чернодробна цироза и такива с ненапреднала фиброза в различни стадии на фиброза.

Това условно разделение на пациентите в две групи - с напреднала фиброза/цироза и ненапреднала фиброза помогна за правилната селекция на противовирусен медикамент, както и адекватното определяне на продължителността на лечението с ДДАс и за правилният избор на противовирусна терапия. Допълнително стадирание на пациентите с чернодробна цироза извършихме чрез провеждане на фиброгастроскопия, което позволи оценка на порталната хипертония.

В подготовка за старта на лечението беше извършено генотипизиране, съгласно всички световни и локални регулации, на всички пациенти и субгенотипизиране на някои от тях, което позволи отново да се избере най-подходящият противовирусен медикамент.

По отношение на безопасността на терапията основно място заемаше съхранението на бъбречната функция и дефинирането на рискови лекарствено-лекарствени взаимодействия преди първият прием на ДДАс.

Стриктното терапевтично мониториране на имunosупресорните медикаменти при бъбречно-трансплантираните пациенти от своя страна ни позволи да осигурим безопасност за присадката по време на лечението с ДДАс.

След приключване на противовирусното лечение проследихме пациентите за период от една година, чрез биохимични и биомаркери.

След провеждане на подробен корелационен и сравнителен анализ, установихме че подобрието на чернодробната функция по отношение на всички изследвани показатели е статистически значимо и достоверно, което кореспондира с описаният световен и клиничен опит и се документира за първи път за български пациенти с бъбречна трансплантация и хронична HCV – инфекция. Придобитият клиничен опит ни позволи да установим някои основни насоки на клинично поведение и подход към тази кохорта български пациенти.

След излекуване на HCV – инфекцията наблюдавахме подобряване на бъбречната функция в групата на бъбречно – трансплантираните пациенти и подобряване на серумният креатинин и гломерулната филтрация при пациентите на хроничен диализ. Във втората група предвид напредналите промени в бъбречния паренхим и наличието на бъбречна недостатъчност, не бихме могли да говорим за подобрена бъбречна функция.

При сравнителен анализ на пациентите с ХБЗ с контролната група установихме, че при вторите не се наблюдава значима разлика в бъбречната функция - нито от позитивен, нито от негативен характер. Което би могло да се интерпретира по следния начин – видно е, че в групата на бъбречно-заболелите с хроничен вирусен хепатит С, наличието на активна вирусна репликация и съответно активна HCV – инфекция, вирусът оказва цитопатично действие върху бъбречния паренхим по множество механизми. В този ред на мисли, отстраняването на един от етиологичните фактори за хронична бъбречна увреда доведе до подобрене на бъбречната функция.

Потискането на имунния отговор създава предпоставки за по-значимо увреждане на бъбреците в резултат на HCV – инфекцията при пациенти на имуносупресивна терапия.

В подкрепа на това твърдение намерихме, че общото количество белтък, изследвано в 24-часова урина (протеинурия) в изследваната група бъбречно-трансплантирани пациенти търпи тенденция за редукция след края на лечението за хепатит С. Като характеристика на текущото изследване следва да се подчертае, че броят на болните с бъбречна трансплантация е малък (n=27), но са обхванати всички такива пациенти, поради което би трябвало да приемем посочените връзки по-скоро като показателни за наличие на тенденции, а не на окончателни корелации. В същото време наличието на малък такъв контингент е оптимална клинична характеристика. От гледна точка на пациентите провеждащи хроничен диализ, проследяването на протеинурия беше неосъществимо.

В търсене на допълнителен маркер , който да даде по-комплексна оценка визия относно повлияването на бъбречната функция от ерадикацията на вируса на хепатит С изследвахме неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин (NGAL). Изследването беше проведено стартово и в рамките на 6-месечно и едногодишно проследяване след края на терапията при всички пациенти в изследваната група, както и при всички пациенти в контролната група.

NGAL е проучен маркер за остро бъбречно увреждане и позволява по-прецизна оценка на моментното състояние на бъбречната функция, както и дава насоки за наличието на остро-увреждащ фактор на фона на хронично страдание.

За удобство на анализа на резултатите по отношение на NGAL разделихме пациентите в проучваната група на две подгрупи – такива с напреднал стадий на ХБЗ (4-та и 5-та степен на ХБЗ) и такива с по-лека степен на ХБЗ (2ст и 3ст). Всички бъбречно-трансплантирани пациенти попаднаха във втората група стартово. Намери се **съответствие** между стадия на ХБЗ и по-високите стойности на NGAL. При пациентите в по-напреднал стадий на ХБЗ намерихме по-висока средна стойност на изследвания показател при статистическа достоверност на твърдението ($p < 0.05$).

Допълнително при проследяване стойностите на NGAL в хода на противовирусната терапия и след негативиране на вирусното размножаване наблюдавахме статистически значима разлика ($p < 0.005$ и доверителен интервал $> 95\%$) и съответно статистически значим спад в стойностите на изследвания показател, доказан чрез paired samples t-тест за чифтни разлики на седмица 24 и на 1 година след края на противовирусната терапия. Последният резултат обективизира съждението, че бъбречната функция се подобрява след ерадикацията на вируса на хепатит С, както и фактът, че цитопатичният ефект на HCV върху бъбречната тъкан е редуциран след края на терапията.

Интересно наблюдение е, че не намерихме връзка между стойностите на NGAL изходно и стойностите на вирусния товар HCV RNA (липсва корелация, Spearman, $p > 0.005$). Очевидно е достатъчно наличието на вирусно размножаване, без значение от стойността на вирусния товар, за да се задействат финните механизми на бъбречна увреда при болните с хроничен вирусен хепатит С. Този извод е в унисон с цитираните в литературния обзор механизми на бъбречно увреждане.

Наблюдавахме също и силна обратна корелация между гломерулната филтрация 1 година след приключване на противовирусното лечение и стойностите на NGAL в серума, което е в подкрепа на основната теза за благоприятният ефект на ерадикацията на HCV върху бъбречната функция.

Ефективността на терапията в изследваните групи пациенти беше 100%, което е в унисон с честотата на траен вирусологичен отговор към съответните терапии в световен мащаб, което показва, че ДДАс за лечение на хроничната HCV-инфекция са с еднаква ефективност и безопасност при пациенти от българската популация, провеждащи диализно лечение и такива с БТ.

Не наблюдавахме зависимост между степента на чернодробна фиброза и ефективността на терапията. В допълнение установихме, че подобрението на чернодробната и бъбречна функция след ерадикацията на HCV не зависи от степента на чернодробното увреждане.

6. ИЗВОДИ

- 1. Пациентите след бъбречна трансплантация и хронична HCV – инфекция демонстрират наличието на бъбречно увреждане.**
- 2. Намаляването на чернодробното възпаление (АСАТ, АЛАТ), проследени 1 година след лечение с ДДАс, корелира с подобряване на гломерулната филтрация и редукция на бъбречното увреждане.**
- 3. Степента на бъбречното увреждане при пациентите с бъбречна трансплантация и тези на диализно лечение, не корелира с нивото на HCV RNA или HCV - генотипа, както и със степента на чернодробното увреждане.**
- 4. Постигането на трайна ерадикация на HCV при бъбречно-трансплантирани пациенти води до значимо намаление на бъбречното увреждане и подобряване на бъбречната функция.**
- 5. При пациентите на хронична хемодиализа с хронична HCV – инфекция постигането на ТВО води до значимо намаляване на ОБУ, съпроводено с редукция на азотемията.**
- 6. Налице е значима разлика в степента на ОБУ между пациентите с хронична HCV – инфекция и бъбречна трансплантация спрямо тези на диализно лечение.**
- 7. Няма разлика в честотата на постигнатият ТВО спрямо хроничната HCV – инфекция между пациентите без изходно бъбречно увреждане, бъбречно-трансплантираните пациенти и тези на диализно лечение.**
- 8. Лечението с NS3/NS4a протеазни инхибитори и NS5A – инхибитори е високо ефективно и безопасно при пациенти на хронична хемодиализа, както и при бъбречно-трансплантирани пациенти.**
- 9. При пациентите с бъбречна трансплантация имunosупресията трябва да се съобразява с прилаганото антивирусно лечение с помощта на терапевтично мониториране.**

10. Всички медикаменти, давани във връзка с коморбидността, подлежат на проверка за възможни лекарствени взаимодействия с прилаганата антивирусна терапия.

7. Приноси

1. За първи път цялостно е обхваната и анализирана българската популация от бъбречно -трансплантирани пациенти с хронична HCV-инфекция.
2. Научният труд дава насока за клиничен и терапевтичен подход , в хода на терапия с ДДАс, в изследваната популация от бъбречно-трансплантирани пациенти и такива на диализно лечение.
3. За първи път в България се разглежда подробно връзката на бъбречното увреждане с хроничната HCV- инфекция и повлияването на бъбречната функция от ерадикацията на вируса на хепатит С при бъбречно - трансплантирани пациенти.
4. Подобриенето на чернодробната и бъбречна функция след ерадикацията на HCV не зависи от степента на чернодробното увреждане при бъбречно-трансплантирани пациенти.
5. Налице е първата успешна микроелиминация на хроничната HCV-инфекция в България при пациентите претърпели БТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wasley A and Alter M.J. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis*, 2000. 20(1): 1-16.
2. Alter M.J. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. *Clin Liver Dis*, 1997. 1(3): 559-68. 3. Charlton M. Hepatitis C infection in liver transplantation. *Am J Transplant*, 2001. 1(3): 197-203.
4. [No authors listed]. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C 2002 (June 10-12, 2002). *Gastroenterology*, 2002. 123(6): 2082-99.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep*, 1998. 47: 1-39.
6. Choo Q.L, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a bloodborne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 1989. 244(4902): 359-62.
7. Lauer G.M and Walker B.D. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 2001. 345(1): 41-52.
8. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, et al. Hepatitis C virus syndrome: a constellation of organ- and non-organ specific autoimmune disorders, B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and cancer. *World J Hepatol* 2015;7(3):327–343. DOI: 10.4254/wjh.v7.i3.327.
9. Mohamed AA, Elbedewy TA, El-Serafy M, et al. Hepatitis C virus: a global view. *World J Hepatol* 2015;7(26):2676–2680. DOI: 10.4254/wjh.v7.i26.2676.
10. Centre for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2018surveillance/HepC.htm#Figure3.1>
11. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2020. [NobelPrize.org](https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2020/summary/). Nobel Media AB 2020. Tue. 27 Oct 2020. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2020/summary/>.
12. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purceli RH. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science* 1973;182(4116):1026–1028. DOI: 10.1126/science.182.4116.1026.
13. Bayer ME, Blumberg BS, Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukaemia, Down's Syndrome and hepatitis. *Nature* 1968;218(5146):1057–1059. DOI: 10.1038/2181057a0.
14. Bukh J. The history of hepatitis C virus (HCV): basic research reveals unique features in phylogeny, evolution and the viral life cycle with new perspectives for epidemic control. *J Hepatol* 2016;65(1 Suppl):S2–S21. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.07.035.
15. Lanford, Robert E et al. The chimpanzee model of viral hepatitis: advances in understanding the immune response and treatment of viral hepatitis. *ILAR J* 2017;58(2):172–189. DOI: 10.1093/ilar/ilx028.

16. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 2001;55(3):133–159. DOI: 10.18926/AMO/32025.
17. Lohmann V, Körner F, Koch J, et al. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999;285(5424):110–113. DOI: 10.1126/science.285.5424.110.
18. Duverlie G, Czeslaw W. Cell culture systems for the hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2007;13(17):2442–2445. DOI: 10.3748/wjg.v13.i17.2442.
19. Courouge M, Vallet-Pichard A, Pol S. HCV and the kidney. *Liver Int.* 2016;36:S28–33.
20. Lai T, Lee M, Yang H, You S, Lu S, Wang L, et al., for the REVEAL-HCV Study Group. High hepatitis C viral load and genotype 2 are strong predictors of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2017;92:703–9.
21. Glasscock R, Warnock D, Delanave P. The global burden of chronic kidney disease: estimates, variability and pitfalls. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13:104–14.
22. Fabrizi F, Donato F, Messa P. Association between hepatitis C virus and chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Ann Hepatol.* 2018;17:364–91.
23. Goossens N, Negro F. Cardiovascular manifestations of hepatitis C virus. *Clin Liver Dis.* 2017;21:465–73.
24. Nahon P, Bourcier V, Lavese R, Audureau E, Cagnot C, Marcellin P, et al. ANRS CO12 CirVir Group. Eradication of hepatitis C virus infection in patients with cirrhosis reduces risk of liver and non-liver complications. *Gastroenterology.* 2017;152:142–56.
25. Aby E, Dong T, Kawamoto J, Pisegna R, Benhammou N. Impact of sustained virologic response on chronic kidney disease progression in hepatitis C. *World J Hepatol.* 2017;9:1352–60.
26. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Loury I, Loustaud-Ratti V, Yamamoto AM, Camproux AC, Hausfater P, Musset L, Veyssier P, Raguin G, Piette JC. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. *Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatite C. Medicine (Baltimore)* 2000; 79: 47-56 [PMID: 10670409 DOI: 10.1097/00005792-200001000-00005]
27. Huang JF, Chuang WL, Dai CY, Ho CK, Hwang SJ, Chen SC, Lin ZY, Wang LY, Chang WY, Yu ML. Viral hepatitis and proteinuria in an area endemic for hepatitis B and C infections: another chain of link? *J Intern Med* 2006; 260: 255-262 [PMID: 16918823 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2006.01686.x]
28. Tsui JI, Vittinghoff E, Shlipak MG, O'Hare AM. Relationship between hepatitis C and chronic kidney disease: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1168-1174 [PMID: 16524948 DOI: 10.1681/ASN.2005091006]

29. Butt AA, Wang X, Fried LF. HCV infection and the incidence of CKD. *Am J Kidney Dis* 2011; 57: 396-402 [PMID: 21185632 DOI: 10.1053/j.ajkd.2010.09.023]
30. Dalrymple LS, Koepsell T, Sampson J, Louie T, Dominitz JA, Young B, Kestenbaum B. Hepatitis C virus infection and the prevalence of renal insufficiency. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 715-721 [PMID: 17699487 DOI: 10.2215/CJN.00470107]
31. Moe SM, Pampalone AJ, Ofner S, Rosenman M, Teal E, Hui SL. Association of hepatitis C virus infection with prevalence and development of kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2008; 51: 885-892 [PMID: 18440680 DOI: 10.1053/j.ajkd.2008.03.009]
32. Lee MH, Yang HI, Lu SN, Jen CL, Yeh SH, Liu CJ, Chen PJ, You SL, Wang LY, Chen WJ, Chen CJ. Hepatitis C virus seromarkers and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: long-term predictors from a community-based cohort study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4587-4593 [PMID: 20855826 DOI: 10.1200/JCO.2010.29.1500]
33. Lai TS, Lee MH, Yang HI, You SL, Lu SN, Wang LY, Yuan Y, L'Italien G, Chien KL, Chen CJ; REVEAL-HCV Study Group. Hepatitis C viral load, genotype, and increased risk of developing end-stage renal disease: REVEAL-HCV study. *Hepatology* 2017; 66: 784-793 [PMID: 28370058 DOI: 10.1002/hep.29192]
34. Cruzado JM, Carrera M, Torras J, Grinyó JM. Hepatitis C virus infection and de novo glomerular lesions in renal allografts. *Am J Transplant* 2001; 1: 171-178 [PMID: 12099366 DOI: 10.1034/j.1600-6143.2001.10212.x]
35. Hammoud H, Haem J, Laurent B, Alamartine E, Diab N, Defilippis JP, Berthoux P, Berthoux F. Glomerular disease during HCV infection in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 Suppl 4: 54-55 [PMID: 8918756 DOI: 10.1093/ndt/11.supp4.54]
36. Morales JM, Pascual-Capdevila J, Campistol JM, FernandezZatarain G, Muñoz MA, Andres A, Praga M, Martinez MA, Usera G, Fuertes A, Oppenheimer F, Artal P, Darnell A, Rodicio JL. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection in renal transplant patients. *Transplantation* 1997; 63: 1634-1639 [PMID: 9197359 DOI: 10.1097/00007890-199706150-0 0017]
37. Vosnides GG. Hepatitis C in renal transplantation. *Kidney Int* 1997; 52: 843-861 [PMID: 9291208 DOI: 10.1038/ki.1997.403]
38. Morales JM, Campistol JM, Andrés A, Rodicio JL. Hepatitis C virus and renal transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 177-183 [PMID: 9529620 DOI: 10.1097/00041552-199803000-0 0006]
39. Baid S, Tolkoff-Rubin N, Saidman S, Chung R, Williams WW, Auchincloss H, Colvin RB, Delmonico FL, Cosimi AB, Pascual M. Acute humoral rejection in hepatitis C-infected renal transplant recipients receiving antiviral therapy. *Am J Transplant* 2003; 3: 74-78 [PMID: 12492714 DOI: 10.1034/j.1600-6143.2003.30113.x]

40. Baid-Agrawal S, Farris AB 3rd, Pascual M, Mauiyyedi S, Farrell Salvadori M et al. New HCV treatments August 9, 2018|Volume 8|Issue 4| WJT|www.wjgnet.com 94 ML, Tolkoﬀ-Rubin N, Collins AB, Frei U, Colvin RB. Overlapping pathways to transplant glomerulopathy: chronic humoral rejection, hepatitis C infection, and thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 2011; 80: 879-885 [PMID: 21697808 DOI: 10.1038/ki.2011.194]
41. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, Griffin MD, Larson TS, Cosio FG. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007; 7: 2124-2132 [PMID: 17608832 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01895.x]
42. World Health Organisation. Hepatitis C: fact sheet, (2017), Updated: October 2017; Accessed: January 23, 2018
43. Mateva L, K. Antonov , et al. (2012), Chronic hepatitis B and C in Bulgaria: why we need of screening?, World Hepatitis Day 2012; Warshow.
44. Simonova M, T. Hadzhiolova, S. Pavlova, D. Takov, K. Katzarov (2016), HCV Genotype Distribution Among Patients with Chronic Hepatitis C in Bulgaria – Clinic of Gastroenterology, Military Medical Academy – Sofia. 1:44-49
45. Christo Pentchev, Mariya Petkova , Victor Alargkof, Yana Boyanova, Donika Todovichin, Aneta Ivanova, Assen Aleksiev, Krasimir Antonov, Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C virus infection among Bulgarian patients: A single center experience, прието за печат в Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences.
46. Alter M.J. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. *Clin Liver Dis*, 1997. 1(3): 559-68.
47. Dodd R.Y, Notari E.P.t., and Stramer S.L. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated windowperiod risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion*, 2002. 42(8): 975-9.
48. Roth W.K, et al. Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donations in central Europe. *Transfusion*, 2002. 42(7): 862-8.
- 49.** Farci P, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med*, 1996. 335(9): 631-4
50. Bellentani S and Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol*, 2001. 35(4): 531-7.
51. Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. Irish Hepatology Research Group. *N Engl J Med*, 1999. 340(16): 1228-33.
52. Wiese M, et al. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*, 2000. 32(1): 91-6.

53. Seeff L.B, et al. Long-term mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B, and type C hepatitis: A National Heart, Lung, and Blood Institute collaborative study. *Hepatology*, 2001. 33(2): 455-63.
54. Villano S.A, et al. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology*, 1999. 29(3): 908-14.
55. Howell C, Jeffers L., and Hoofnagle J.H. Hepatitis C in African Americans: summary of a workshop. *Gastroenterology*, 2000. 119(5): 1385-96.
56. Gruner N.H, et al. Association of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells with viral clearance in acute hepatitis C. *J Infect Dis*, 2000. 181(5): 1528-36
57. Lechner F, et al. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med*, 2000. 191(9): 1499-512
58. Haid S, Grethe C, Dill MT, Heim M, Kaderali L, Pietschmann T. Isolate-dependent use of Claudins for cell entry by hepatitis C virus. *Hepatology* 2013; Epub ahead of print [PMID: 23775920 DOI: 10.1002/hep.26567]
59. Masciopinto F, Freer G, Burgio VL, Levy S, Galli-Stampino L, Bendinelli M, Houghton M, Abrignani S, Uematsu Y. Expression of human CD81 in transgenic mice does not confer susceptibility to hepatitis C virus infection. *Virology* 2002; 304: 187-196 [PMID: 12504561 DOI: 10.1006/viro.2002.1631]
60. Zeisel MB, Felmlee DJ, Baumert TF. Hepatitis C virus entry. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 87-112 [PMID: 23463198 DOI: 10.1007/978-3-642-27340-7_4]
61. Flint M, Maidens C, Loomis-Price LD, Shotton C, Dubuisson J, Monk P, Higginbottom A, Levy S, McKeating JA. Characterization of hepatitis C virus E2 glycoprotein interaction with a putative cellular receptor, CD81. *J Virol* 1999; 73: 6235-6244 [PMID: 10400713]
62. Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavalette A, Staropoli I, Fong S, Amara A, Houles C, Fieschi F, Schwartz O, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Altmeyer R. DCSIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem* 2003; 278: 20358-20366 [PMID: 12609975 DOI: 10.1074/jbc.M301284200]
63. Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G, Traboni C, Nicosia A, Cortese R, Vitelli A. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 2002; 21: 5017-5025 [PMID: 12356718 DOI: 10.1093/emboj/cdf529]
64. Roccasecca R, Ansuini H, Vitelli A, Meola A, Scarselli E, Acali S, Pezzanera M, Ercole BB, McKeating J, Yagnik A, Lahm A, Tramontano A, Cortese R, Nicosia A. Binding of the hepatitis C virus E2 glycoprotein to CD81 is strain specific and is modulated by a complex interplay between hypervariable regions 1 and 2. *J Virol* 2003; 77: 1856-1867 [PMID: 12525620 DOI: 10.1128/JVI.77.3.1856-1867.2003]

65. Saito T, Owen DM, Jiang F, Marcotrigiano J, Gale M. Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA. *Nature* 2008; 454: 523-527 [PMID: 18548002 DOI: 10.1038/nature07106]
66. Liu HM, Gale M. Hepatitis C Virus Evasion from RIG-I-Dependent Hepatic Innate Immunity. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 548390 [PMID: 21274284 DOI: 10.1155/2010/548390]
67. Saito T, Gale M. Regulation of innate immunity against hepatitis C virus infection. *Hepatol Res* 2008; 38: 115-122 [PMID: 18021225]
68. Schoggins JW, Rice CM. Innate immune responses to hepatitis C virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 219-242 [PMID: 23463203 DOI: 10.1007/978-3-642-27340-7_9]
69. Loo YM, Owen DM, Li K, Erickson AK, Johnson CL, Fish PM, Carney DS, Wang T, Ishida H, Yoneyama M, Fujita T, Saito T, Lee WM, Hagedorn CH, Lau DT, Weinman SA, Lemon SM, Gale M. Viral and therapeutic control of IFN-beta promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 6001-6006 [PMID: 16585524 DOI: 10.1073/pnas.0601523103]
70. Golden-Mason L, Rosen HR. Natural killer cells: multifaceted players with key roles in hepatitis C immunity. *Immunol Rev* 2013; 255: 68-81 [PMID: 23947348 DOI: 10.1111/imr.12090]
71. Zinkernagel RM, Haenseler E, Leist T, Cerny A, Hengartner H, Althage A. T cell-mediated hepatitis in mice infected with lymphocytic choriomeningitis virus. Liver cell destruction by H-2 class I-restricted virus-specific cytotoxic T cells as a physiological correlate of the 51Cr-release assay? *J Exp Med* 1986; 164: 1075-1092 [PMID: 3489805 DOI: 10.1084/jem.164.4.1075]
72. Neumann-Haefelin C, Thimme R. Adaptive immune responses in hepatitis C virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 243-262 [PMID: 23463204 DOI: 10.1007/978-3-642-27340-7_10]
73. Fornasieri A, Armelloni S, Bernasconi P, Li M, de Septis CP, Sinico RA, et al. High binding of immunoglobulin M kappa rheumatoid factor from type II cryoglobulins to cellular fibronectin: a mechanism for induction of in situ immune complex glomerulonephritis? *Am J Kidney Dis* 1996;27 (4):476-83.
74. Cao Y, Zhang Y, Wang S, Zou W. Detection of the hepatitis C virus antigen in kidney tissue from infected patients with various glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24 (9):2745-51.
75. Fabrizi F, Messa P, Martin P. Novel evidence on hepatitis C virus-associated glomerular disease. *Kidney Int* 2014;86 (3):466-9.
76. Tsui JI, Vittinghoff E, Shlipak MG, Bertenthal D, Inadomi J, Rodriguez RA, et al. Association of hepatitis C seropositivity with increased risk for developing end-stage renal disease. *Arch Int Med* 2007;167(12):1271-6.

77. Cosio FG, Sedmak DD, Henry ML, Al Haddad C, Falkenhain ME, Elkhammas EA, et al. The high prevalence of severe early posttransplant renal allograft pathology in hepatitis C positive recipients. *Transplantation* 1996;62(8):1054–9.
78. Baid S, Pascual M, Williams Jr WW, Tolckoff-Rubin N, Johnson SM, Collins B, et al. Renal thrombotic microangiopathy associated with anticardiolipin antibodies in hepatitis C-positive renal allograft recipients. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(1):146–53.
79. Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Kanwal F, Dulai G. Post-transplant diabetes mellitus and HCV seropositive status after renal transplantation: meta- analysis of clinical studies. *Am J Transplant* 2005;5(10):2433.
80. Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Messa P. Meta-analysis of observational studies: Hepatitis C and survival after renal transplant. *J Viral Hepat* 2014;21(5):314–24.
81. Maluf DG, Archer KJ, Mas VR. Kidney grafts from HCV +ve donors: advantages and disadvantages. *Transplant Proc* 2010;42(7):2436–46.
82. Tang, L., Marcell, L. & Kottiril, S. Systemic manifestations of hepatitis C infection. *Infect Agents Cancer* **11**, 29 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13027-016-0076-7>
83. Sene D, Ghillani-Dalbin P, Thibault V, et al. Longterm course of mixed cryoglobulinemia in patients infected with hepatitis C virus. *J Rheumatol.* 2004;31:2199–206.
84. Cacoub P, Gragnani L, Comarmond C, Zignego AL. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Dig Liver Dis.* 2014;46 Suppl 5:S165–73.
85. Sherman AC, Sherman KE. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection: navigating CHASM. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2015;12:353–61
86. Kramer L, Bauer E, Funk G, et al. Subclinical impairment of brain function in chronic hepatitis C infection. *J Hepatol.* 2002;37:349–54.
87. Laskus T, Radkowski M, Adair DM, Wilkinson J, Scheck AC, Rakela J. Emerging evidence of hepatitis C virus neuroinvasion. *AIDS.* 2005;19 Suppl 3:S140–4.
88. Bonkovsky HL, Barnard GF. The Porphyrrias. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2000;3:487–500.
89. Nagao Y, Sata M. Hepatitis C virus and lichen planus. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:1101–13.
90. Български консенсус за диагноза, лечение и проследяване на болни с хроничен хепатит C, 2020
91. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerulonephritis Work Group. KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidney Int Suppl.* 2012;2:139–274.
92. Liu CH, Liang CC, Huang KW, et al. Transient elastography to assess hepatic fibrosis in hemodialysis chronic hepatitis C patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:1057–1065.

93. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009;9(suppl 3):S1–S155.
94. Jadoul M, Horsmans Y. Impact of liver fibrosis staging in hepatitis C virus (HCV) patients with kidney failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29: 1108–1110.
95. Serpaggi J, Carnot F, Nalpas B, et al. Direct and indirect evidence for the reversibility of cirrhosis. *Hum Pathol*. 2006;37:1519–1526.
96. European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2012;57:167–185
97. Garcia-Tsao G, Abraldes JG, Berzigotti A, et al. Portal hypertensive bleeding in cirrhosis: risk stratification, diagnosis, and management: 2016 practice guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2017;65:310–335.
98. de Franchis R. Expanding consensus in portal hypertension: report of the Baveno VI Consensus Workshop: stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol*. 2015;63:743–752.
99. European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69:461–511.
100. Cresswell FV, Fisher M, Hughes DJ, et al. Hepatitis C core antigen testing: a reliable, quick, and potentially cost-effective alternative to hepatitis C polymerase chain reaction in diagnosing acute hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2015;60:263–266.
101. Miedouge M, Saune K, Kamar N, et al. Analytical evaluation of HCV core antigen and interest for HCV screening in haemodialysis patients. *J Clin Virol*. 2010;48:18–21.
102. Crook ED, Penumalee S, Gavini B, et al. Hepatitis C is a predictor of poorer renal survival in diabetic patients. *Diabetes Care*. 2005;28:2187– 2191.
103. Nouredine LA, Usman SA, Yu Z, et al. Hepatitis C increases the risk of progression of chronic kidney disease in patients with glomerulonephritis. *Am J Nephrol*. 2010;32:311–316.
104. Wyatt CM, Malvestutto C, Coca SG, et al. The impact of hepatitis C virus coinfection on HIV-related kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*. 2008;22:1799–1807
105. Huang JF, Chuang WL, Dai CY, Ho CK, Hwang SJ, Chen SC, Lin ZY, Wang LY, Chang WY, Yu ML. Viral hepatitis and proteinuria in an area endemic for hepatitis B and C infections: another chain of link? *J Intern Med* 2006; 260: 255-262 [PMID: 16918823]
106. Relationship between hepatitis C and chronic kidney disease: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1168-1174 [PMID: 16524948 DOI: 10.1681/ASN.2005091006]

- 107 Lee JJ, Lin MY, Yang YH, Lu SN, Chen HC, Hwang SJ. Association of hepatitis C and B virus infection with CKD in an endemic area in Taiwan: a cross-sectional study. *Am J Kidney Dis* 2010; 56: 23-31 [PMID: 20400217 DOI: 10.1053/ j.ajkd.2010.01.015]
108. Wyatt CM, Malvestutto C, Coca SG, Klotman PE, Parikh CR. The impact of hepatitis C virus coinfection on HIV-related kidney disease: a systematic review and metaanalysis. *AIDS* 2008; 22: 1799-1807 [PMID: 18753863 DOI: 10.1097/QAD.0b013e32830e0152]
109. Huang JF, Chuang WL, Dai CY, Ho CK, Hwang SJ, Chen SC, Lin ZY, Wang LY, Chang WY, Yu ML. Viral hepatitis and proteinuria in an area endemic for hepatitis B and C infections: another chain of link? *J Intern Med* 2006; 260: 255-262 [PMID: 16918823]
110. Tsui JI, Vittinghoff E, Shlipak MG, Bertenthal D, Inadomi J, Rodriguez RA, O'Hare AM. Association of hepatitis C seropositivity with increased risk for developing end-stage renal disease. *Arch Intern Med* 2007; 167: 1271-1276 [PMID: 17592100 DOI: 10.1001/archinte.167.12.1271]
111. McGuire BM, Julian BA, Bynon JS, Cook WJ, King SJ, Curtis JJ, Accortt NA, Eckhoff DE. Brief communication: Glomerulonephritis in patients with hepatitis C cirrhosis undergoing liver transplantation. *Ann Intern Med* 2006; 144: 735-741 [PMID: 16702589 DOI: 10.7326/0003-4819-144-10-200605160 -00007]
112. Stehman-Breen C, Alpers CE, Fleet WP, Johnson RJ. Focal segmental glomerular sclerosis among patients infected with hepatitis C virus. *Nephron* 1999; 81: 37-40 [PMID: 9884417 DOI: 10.1159/000045243]
- 113 Baid S, Pascual M, Williams WW, Tolckoff-Rubin N, Johnson SM, Collins B, Chung RT, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvin RB. Renal thrombotic microangiopathy associated with anticardiolipin antibodies in hepatitis C-positive renal allograft recipients. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 146-153 [PMID: 9890320]
114. Markowitz GS, Cheng JT, Colvin RB, Trebbin WM, D'Agati VD. Hepatitis C viral infection is associated with fibrillary glomerulonephritis and immunotactoid glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2244-2252 [PMID: 9848778]
- 115 Arase Y, Ikeda K, Murashima N, Chayama K, Tsubota A, Koida I, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Kobayashi M, Kobayashi M, Kumada H. Glomerulonephritis in autopsy cases with hepatitis C virus infection. *Intern Med* 1998; 37: 836-840 [PMID: 9840704 DOI: 10.2169/internalmedicine.37.836]
116. Kamar N, Izopet J, Alric L, Guilbeaud-Frugier C, Rostaing L. Hepatitis C virus-related kidney disease: an overview. *Clin Nephrol* 2008; 69: 149-160 [PMID: 18397713 DOI: 10.5414/CNP69149]
117. Bosman C, Valli MB, Bertolini L, Serafino A, Boldrini R, Marcellini M, Carloni G. Detection of virus-like particles in liver biopsies from HCV-infected patients. *Res Virol* 1998; 149: 311-314 [PMID: 9879610 DOI: 10.1016/S0923-2516(99)89011-6]

- 118 Sabry A, E-Agroudy A, Sheashaa H, El-Husseini A, Mohamed Taha N, Elbaz M, Sobh M. HCV associated glomerulopathy in Egyptian patients: clinicopathological analysis. *Virology* 2005; 334: 10-16 [PMID: 15749118 DOI: 10.1016/j.virol.2005.01.013]
119. Perico N, Cattaneo D, Bikbov B, Remuzzi G. Hepatitis C infection and chronic renal diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 207-220 [PMID: 19129320 DOI: 10.2215/CJN.03710708]
120. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 465-470 [PMID: 7678440 DOI: 10.1056/NEJM199302183280703]
121. Monti G, Galli M, Invernizzi F, Pioltelli P, Saccardo F, Monteverde A, Pietrogrande M, Renoldi P, Bombardieri S, Bordin G. Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. *GISC. Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. QJM* 1995; 88: 115-126 [PMID: 7704562]
122. Agnello V, De Rosa FG. Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 2004; 40: 341-352 [PMID: 14739110 DOI: 10.1016/j.jhep.2003.10.009]
123. Meyers CM, Seeff LB, Stehman-Breen CO, Hoofnagle JH. Hepatitis C and renal disease: an update. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 631-657 [PMID: 14520615 DOI: 10.1016/S0272-6386(03)00828-X]
124. Roccatello D, Fornasieri A, Giachino O, Rossi D, Beltrame A, Banfi G, Confalonieri R, Tarantino A, Pasquali S, Amoroso A, Savoldi S, Colombo V, Manno C, Ponzetto A, Moriconi L, Pani A, Rustichelli R, Di Belgiojoso GB, Comotti C, Quarenghi MI. Multicenter study on hepatitis C virus-related cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 69-82 [PMID: 17185147 DOI: 10.1053/j.ajkd.2006.09.015]
125. Tarantino A, Moroni G, Banfi G, Manzoni C, Segagni S, Ponticelli C. Renal replacement therapy in cryoglobulinaemic nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1426-1430 [PMID: 7816255]
126. Beddhu S, Bastacky S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinemia. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 398-409 [PMID: 12352634 DOI: 10.1097/0000 5792-200209000-00005]
127. Fabrizi F, Lunghi G, Messa P, Martin P. Therapy of hepatitis C virus-associated glomerulonephritis: current approaches. *J Nephrol* 2008; 21: 813-825 [PMID: 19034865]
128. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, Fukushi K, Osawa H, Miyata M, Inuma H, Sasaki T, Kaizuka M, Tamura N. Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 220-223 [PMID: 7579088]
129. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, Vendramin G, Comotti B, Tanzi E, Scudeller G. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed

- cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117: 573-577 [PMID: 1326246 DOI: 10.7326/0003-4819-117-7-573]
130. Fornasieri A, D'Amico G. Type II mixed cryoglobulinaemia, hepatitis C virus infection, and glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 Suppl 4: 25-30 [PMID: 8918748 DOI: 10.1093/ndt/11.supp4.25]
131. Morales JM, Pascual-Capdevila J, Campistol JM, Fernandez-Zatarain G, Muñoz MA, Andres A, Praga M, Martinez MA, Usera G, Fuertes A, Oppenheimer F, Artal P, Darnell A, Rodicio JL. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection in renal transplant patients. *Transplantation* 1997; 63: 1634-1639 [PMID: 9197359 DOI: 10.1097/00007890-199706150-00017]
132. Shah HH, Patel C. Long-term response to peginterferon in hepatitis C virus-associated nephrotic syndrome from focal segmental glomerulosclerosis. *Ren Fail* 2013; 35: 1182-1185 [PMID: 23879705 DOI: 10.3109/0886022X.2013.815568]
133. Ji F, Li Z, Ge H, Deng H. Successful interferon- α treatment in a patient with IgA nephropathy associated with hepatitis C virus infection. *Intern Med* 2010; 49: 2531-2532 [PMID: 21088367 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.4365]
134. Gonzalo A, Navarro J, Bárcena R, Quereda C, Ortuño J. IgA nephropathy associated with hepatitis C virus infection. *Nephron* 1995; 69: 354 [PMID: 7753282 DOI: 10.1159/000188494]
135. Dey AK, Bhattacharya A, Majumdar A. Hepatitis C as a potential cause of IgA nephropathy. *Indian J Nephrol* 2013; 23: 143-145 [PMID: 23716924 DOI: 10.4103/0971-4065.109443]
136. Ambachew, S., Eshetie, S., Geremew, D. *et al.* Prevalence of type 2 diabetes mellitus among hepatitis C virus-infected patients: a protocol for systematic review and meta-analysis. *Syst Rev* 8, 60 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13643-019-0976-x>
137. Soma J, Saito T, Taguma Y, Chiba S, Sato H, Sugimura K, Ogawa S, Ito S. High prevalence and adverse effect of hepatitis C virus infection in type II diabetic-related nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 690-699 [PMID: 10752528]
138. Gentil MA, Luna E, Rodriguez-Algarra G, Osuna A, GonzálezMolina M, Mazuecos A, Cubero JJ, Del Castillo D. Incidence of diabetes mellitus requiring insulin treatment after renal transplantation in patients with hepatitis C. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 887-891 [PMID: 11981079 DOI: 10.1093/ndt/17.5.887]
139. Batty DS, Swanson SJ, Kirk AD, Ko CW, Agodoa LY, Abbott KC. Hepatitis C virus seropositivity at the time of renal transplantation in the United States: associated factors and patient survival. *Am J Transplant* 2001; 1: 179-184 [PMID: 12099367 DOI: 10.1034/j.1600-6143.2001.10213.x]
140. Abbott KC, Lentine KL, Bucci JR, Agodoa LY, Koff JM, Holtzmuller KC, Schnitzler MA. Impact of diabetes and hepatitis after kidney transplantation on patients who are affected by

hepatitis C virus. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 3166-3174 [PMID: 15579520 DOI: 10.1097/01.ASN.0000145439.48387.BF]

141. Crook ED, Penumalee S, Gavini B, Filippova K. Hepatitis C is a predictor of poorer renal survival in diabetic patients. *Diabetes Care* 2005; 28: 2187-2191 [PMID: 16123488 DOI: 10.2337/diacare.28.9.2187]

142. KDIGO 2022 CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR THE PREVENTION, DIAGNOSIS, EVALUATION, AND TREATMENT OF HEPATITIS C IN CHRONIC KIDNEY DISEASE, dec, 2022

143. Falade-Nwulia O, Suarez-Cuervo C, Nelson DR, et al. Oral direct-acting agent therapy for hepatitis C virus infection: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2017;166:637–648.

144. American Association for the Study of Liver Diseases and Infectious Diseases Society of America. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. Accessed September 22, 2022. <http://www.hcvguidelines.org>

145. Agarwal SK, Bagchi S, Yadav RK. Hemodialysis patients treated for hepatitis C using a sofosbuvir-based regimen. *Kidney Int Rep.* 2017: 2831–2835.

146. Borgia SM, Dearden J, Yoshida EM, et al. Sofosbuvir/velpatasvir for 12 weeks in hepatitis C virus-infected patients with end-stage renal disease undergoing dialysis. *J Hepatol.* 2019;71:660–665.

147. Chuang WL, Hu TH, Buggisch P, et al. Ledipasvir/Sofosbuvir for 8, 12, or 24 weeks in hepatitis C patients undergoing dialysis for end-stage renal disease. *Am J Gastroenterol.* 2021;116:1924–1928.

148. Българско дружество по гастроентерология, гастроинтестинална ендоскопия и абдоминална ехография, КОНСЕНСУС ЗА ДИАГНОЗА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА БОЛНИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С, 2020 г.

149. Clinical Review Report: Glecaprevir / Pibrentasvir (Maviret), Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2018 Feb, CADTH Common Drug Reviews., PMID: 30462453, Bookshelf ID: NBK533768

150. [Robert S Brown Jr](#)¹, [Maria Buti](#)², [Lino Rodrigues](#), Glecaprevir/pibrentasvir for 8 weeks in treatment-naïve patients with chronic HCV genotypes 1-6 and compensated cirrhosis: The EXPEDITION-8 trial, *J Hepatol.* 2020 Mar;72(3):441-449. doi: 10.1016/j.jhep.2019.10.020. Epub 2019 Nov 2.

151. 7. [Lu-Hua Gao](#),¹ [Qing-He Nie](#),¹ and [Xi-Tai Zhao](#), Drug–Drug Interactions of Newly Approved Direct-Acting Antiviral Agents in Patients with Hepatitis C, *Int J Gen Med.* 2021; 14: 289–301.

152. CADTH COMMON DRUG REVIEW Clinical Review Report SOFOSBUVIR / VELPATASVIR / VOXILAPREVIR (VOSEVI), February 2018

153. Feld JJ, Jacobson IM, Herzode C, Asselah T, Ruane P, Gruener N, Abergel A, Mangia A, Lai LC, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection *N Engl J Med* 2015; 373: 2599–260 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1512610> PMID: 26571066
154. EPCLUSA, Gilead Sciences Inc. EPCLUSA (sofosbuvir and velpatasvir) tablets for oral use. US prescribing information Foster City, CA. Revised: August 2017
155. Khalili M, Welzel T, Terrault N, Lim J, Sridhar A et al Safety and efficacy of velpatasvir and sofosbuvir based regimens for the treatment of HCV genotype 1–6: results of the HCV-TARGET study. *J Hepatic* 2017, 66:S716–71
156. Rashad S. Barsoum, Emad A. William, Soha S. Khalil, Hepatitis C and kidney disease: A narrative review, *Journal of Advanced Research*, Volume 8, Issue 2, 2017, Pages 113-130, ISSN 2090-1232, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2016.07.004>.
157. Cholongitas E, Pipili C, Papatheodoridis GV. Interferon-free regimens in patients with hepatitis C infection and renal dysfunction or kidney transplantation. *World J Hepatol.* 2017 Feb 8;9(4):180-190. doi: 10.4254/wjh.v9.i4.180. PMID: 28217256; PMCID: PMC5295158.
158. Port FK, Wolfe RA, Mauger EA, et al. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA.* 1993;270:1339–1343.
159. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;341:1725– 1730.
160. Bloom RD, Sayer G, Fa K, et al. Outcome of hepatitis C virus-infected kidney transplant candidates who remain on the waiting list. *Am J Transplant.* 2005;5:139–144.
161. Pereira BJ, Natov SN, Bouthot BA, et al. Effects of hepatitis C infection and renal transplantation on survival in end-stage renal disease. The New England Organ Bank Hepatitis C Study Group. *Kidney Int.* 1998;53: 1374–1381.
162. Kamar N, Toupance O, Buchler M, et al. Evidence that clearance of hepatitis C virus RNA after alpha-interferon therapy in dialysis patients is sustained after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14: 2092–2098.
163. Nicot F, Kamar N, Mariame B, et al. No evidence of occult hepatitis C virus (HCV) infection in serum of HCV antibody-positive HCV RNA negative kidney-transplant patients. *Transpl Int.* 2010;23:594–601.
164. Legendre C, Garrigue V, Le Bihan C, et al. Harmful long-term impact of hepatitis C virus infection in kidney transplant recipients. *Transplantation.* 1998;65:667–670.
165. Mathurin P, Mouquet C, Poynard T, et al. Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome. *Hepatology.* 1999;29:257–263.

166. Cruzado JM, Casanovas-Taltavull T, Torras J, et al. Pretransplant interferon prevents hepatitis C virus-associated glomerulonephritis in renal allografts by HCV-RNA clearance. *Am J Transplant.* 2003;3:357–360.
167. Forman JP, Tolkoff-Rubin N, Pascual M, et al. Hepatitis C, acute humoral rejection, and renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:3249– 3255.
168. Kamar N, Rostaing L, Selves J, et al. Natural history of hepatitis C virus-related liver fibrosis after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2005;5:1704–1712.
169. Roth D, Gaynor JJ, Reddy KR, et al. Effect of kidney transplantation on outcomes among patients with hepatitis C. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22: 1152–1160.
170. Pol S, Carnot F, Nalpas B, et al. Reversibility of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hum Pathol.* 2004;35:107–112
171. Eason JD, Gonwa TA, Davis CL, et al. Proceedings of Consensus Conference on Simultaneous Liver Kidney Transplantation (SLK). *Am J Transplant.* 2008;8:2243–2251.
172. Dick TB, Lindberg LS, Ramirez DD, et al. A clinician’s guide to drug-drug interactions with direct-acting antiviral agents for the treatment of hepatitis C viral infection. *Hepatology.* 2016;63:634–643.
173. Bixby AL, Fitzgerald L, Leek R, et al. Impact of direct-acting antivirals for hepatitis C virus therapy on tacrolimus dosing in liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2019;21:e13078.
174. Munoz-Gomez R, Rincon D, Ahumada A, et al. Therapy with ombitasvir/paritaprevir/ritonavir plus dasabuvir is effective and safe for the treatment of genotype 1 and 4 hepatitis C virus infection (HCV) in patients with severe renal impairment: a multicenter experience. *J Viral Hepat.* 2017;24:464–471.
175. Devarajan , P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. – *J. Am. Soc. Nephrol.*, 17, 2006, 6, 1503-1520.
176. K j e l d s e n , L., B. J. Cowland et N. Borregaard. Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse – *Biochim. Biophys. Acta*, 1482, 2000, 1-2, 272-283.
177. K o y n e r , J. et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney Int.*, 74, 2008, 8, 1059-1069.
178. Han , M. et al. Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in the rat. *BMC Nephrol.*, 6, 2012, 13-25.
179. Bolignano , D. et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. – *Am. J. Kidney Dis.*, 52, 2008, 3, 595-605.

180. Devarajan , P. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL): A new marker of kidney disease. – Scand. J. Clin. Lab. Invest., 68, 2008, 89-94.
181. Mori , K. et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophoreiron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. – J. Clin. Invest., 115, 2005, 3, 610–621
182. Mc Ilroy , D. R., G. Wagener et H. T. Lee. Neutrophil gelatinase- associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery: the effect of baseline renal function on diagnostic performance. – Clin. J. Am. Soc. Nephrol., 5, 2010, 2, 211-219.
183. Lebkowska , U. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C could predict renal outcome in patients undergoing kidney allograft transplantation: A prospective study. – Transpl. Proc., 41, 2009, 1, 154-157.
184. Mishra , J. et al. Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation. – Pediatr. Nephrol., 21, 2006, 6, 856-863.
185. Bennett, M. et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: A prospective study. – Clin. J. Am. Soc. Nephrol., 3, 2008, 3, 665-673.
186. Dent , C. L. et al. Plasma NGAL predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. – Crit. Care, 11, 2007, 6, R127.
187. M.A. Gentil, C. González-Corvillo*, M. Perelló, S. Zarraga, C. Jiménez-Martín, L.R. Lauzurica, A. Alonso, A. Franco, D. Hernández-Marrero, and A. Sánchez-Fructuoso; Hepatitis C Treatment With Direct-Acting Antivirals in Kidney Transplant: Preliminary Results From a Multicenter Study; 2016 Elsevier Inc; Transplantation Proceedings, 48, 2944e2946 (2016)

Публикации свързани с дисертационния труд:

I. Публикации в списания с ISI импакт фактор (след всяка публикация се посочва импакт фактор на списанието в годината на публикуване)
 Christo Pentchev, Mariya Petkova , Victor Alargkof, Yana Boyanova, Donika Todovichin, Aneta Ivanova, Assen Aleksiev, Krasimir Antonov, Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C virus infection among Bulgarian patients: A single center experience, прието за печат в Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences.

II. Публикации в чуждестранни списания без ISI импакт фактор
 Ch. Pentchev, V. Alargkof, D. Krasteva, **M. Petkova**, Y. Boyanova, A. Ivanova, A. Aleksiev, K. Antonov. Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C virus infection among Bulgarian patients: A single center experience. World Congress of Gastroenterology Abstracts; Turk J Gastroenterol 2019; 30(3): S137-S912.

Popov DR, Antonov KA, Atanasova EG, Pentchev CP, Milatchkov LM, Petkova MD, Neykov KG, Nikolov RK. Renal cell carcinoma presented with a rare case of icteric Stauffer syndrome: A case report. *World J Clin Cases* 2022; 10(25): 9087-9095 [DOI: [10.12998/wjcc.v10.i25.9087](https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i25.9087)]

III. Публикации в национални списания

1. **М. Петкова**, Р. Томова, И. Вълков, К. Антонов, Л. Матева. Българска хепатогастроентерология, Бр 1, 2015г, 33-36. Клиничен случай на болест на Уилсън – рядко заболяване с добра прогноза при адекватна диагноза и лечение.
2. **М.Петкова, К.Антонов**, Е.Паскалев. Нови подходи на оценка на бъбречната функция при пациенти с хронични вирусни хепатити и различна степен на хронично заболяване. *MedInfo* 2019; 11:28-30.
3. **Петкова, М.**, Д. Кръстева, Х. Пенчев, Е. Атанасова, Ц. Маринова, К. Антонов, Д. Желев. Лечение на хронична HCV-инфекция с комбинация Софосбувир/Велпатасвир: клиничен опит. Българска хепатогастроентерология, 2020, 13-17;
4. **М.Петкова**^{1,2}, Х.Пенчев^{1,2}, Е.Атанасова^{1,2}, Ц.Маринова^{1,2}, Д.Желев^{1,2}, К.Антонов^{1,2}.¹УМБАЛ „Св.Иван Рилски“, гр. София, ²Медицински университет София, Първи клинични резултати от приложението на SOF/VEL/VOX (VOSEVI) при пациенти с хронична HCV – инфекция, неотговорили на предишна терапия с ДДАс, Българска хепатогастроентерология, 2020, 13-17
5. Пенчев, Х., **М. Петкова**, Д. Кръстева, Р. Томова, С. Драгнева, Цв. Маринова, Я. Боянова, Н. Желева, А. Иванова, Р. Иванова, А. Алексиев, Д. Попов, Д. Желев, К. Антонов. Ледипасвир/Софосбувир при пациенти с хроничен вирусен хепатит С – опит на един клиничен център. Българска хепатогастроентерология, 2020, 9-12;
6. Д.Кръстева, Х.Пенчев, **М.Петкова**, А.Иванова, А.Алексиев, Д.Попов, Р.Иванова, Д.Желев, К.Антонов. Съвременен подход на лечение на хроничен вирусен хепатит С в реалната клинична практика. *PRO MEDIC*. 2019/бр.1, стр. 54-60.
7. Пенчев, Х., **М. Петкова**, Е. Атанасова, Ц. Маринова, А. Иванова, Р. Николов, К. Антонов. Наличие на антитела срещу SARS-CoV-2 при пациенти с хронична HCV инфекция и значението им за тежестта на чернодробното увреждане. Българска хепатогастроентерология. 2020, 2:25-27
8. ^{1,2}М.Петкова, ^{2,3}А.Балканска, ^{1,2}К.Антонов. Български клиничен опит върху лекарствено - индуцираната чернодробна токсичност - приета за печат в списание Българска хепатогастроентерология, 2022, брой 1.

IV. Участия в учебници, монографии, сборници, ръководства

1. Болести на храносмилателната система . Вътрешни болести, диагноза и терапия. том. II. под ред. На Жени Милева, Гео Нешев и Александър Шинков, АРСО София 2020:

- Зоя Спасова, Росен Николов, Мария Петкова – Болести на хранопровода. 380 – 387
- Зоя Спасова, Мария Петкова – Заболявания на червата. Хронични възпалителни заболявания на червата. Язвен колит. 405-407
- Зоя Спасова, Мария Петкова – Заболявания на червата. Болест на Крон. 407-410
- Зоя Спасова, Мария Петкова – Заболявания на червата. Лечение на хроничните възпалителни заболявания на червата. 410-412

2. Гастроентерология 2020 том I , под редакцията на Захарий Кръстев и Росен Николов, Зуум Дизайн ООД

- Мария Петкова, Зоя Спасова – Гастроезофагеална рефлуксна болест . 20- 27
- Мария Петкова, Захарий Кръстев – ГЕРБ - усложнена и екстраезофагеална. 39-42
- Мария Петкова, Захарий Кръстев – Хранопровод на Барет . 47-49
- Мария Петкова, Зоя Спасова – Стрикттури на хранопровода. 57-65
- Мария Петкова, Зоя Спасова – Язвен колит. 240-245
- Мария Петкова, Зоя Спасова – Болест на Крон. 246 - 252
- Мария Петкова, Зоя Спасова – Бременност и ИВД. 263 – 270

3. Гастроентерология 2020 том II, под редакцията на Захарий Кръстев и Росен Николов, Зуум Дизайн ООД

- Мария Петкова, Зоя Спасова – Лечение на болните с Язвен колит. 113- 117
- Мария Петкова, Зоя Спасова – Лечение на болните с Болест на Крон. 118- 120

V. Участия в международни научни форуми

1. Tomova R., **Petkova M.**, Krastev Z., Tomov B., Spassova Z. Oxandrolon- induced toxic hepatitis treated with glucocorticoids.(e-poster NrP060). Gastro Update Europe 2016 29-30 April, Prague, Czech Republic.

2. Ch. Pentchev, V. Alargcof, D. Krasteva, **M. Petkova**, Y. Boyanova, A.Ivanova, A. Aleksiev, K. Antonov. Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C virus infection among Bulgarian patients: A single center experience. World Congress of Gastroenterology Abstracts; Turk J Gastroenterol 2019; 30(3): S137-S912.

VI. Участия в национални научни форуми

1. **Петкова М.**, Кръстева Д., Дереджян С., Антонов К., Спасова З., Кръстев З., Матева Л. „Хронична HEV- инфекция при пациент с улцерозен колит, провеждащ биологична терапия с а-TNF – препарат”. II-ра национална конференция по хепатология на тема „Неалкохолна стеатозна болест и алкохолна чернодробна болест”, 02-03 декември 2016г - постер
2. **Петкова М.**, Попов Д., Сираков М., Иванова Р., Матева Л. „Хепатоцелуларен карцином без хистологично потвърждение – палиативно лечение/ТАСЕ”, II-ра национална конференция по хепатология на тема „Неалкохолна стеатозна болест и алкохолна чернодробна болест”, 02-03 декември 2016г - постер
3. **М. Петкова.** К.Антонов „ Остра върху хронична чернодробна недостатъчност като първа изява на болест на Уилсън при жена на 19 години ", орална презентация на I-ва национална конференция по хепатология, *гр.София, 27-28.11.2015г*
4. **М. Петкова**, О.Косева, К. Антонов, Л. Матева, З. Кръстев. „Безинтерферонова антивирусна терапия при пациент с декомпенсирана чернодробна цироза и HCV- етиология” орална презентация на I-ва национална конференция за млади гастроентеролози. 27- 28 март 2015г
5. **Петкова М**, Милачков Л, Митев С, Тумангелова – Юзеир К, Младенова Ц, Иванова – Тодорова Е, Кюркчиев Д, Стефанова Д, Спасова З, Николов Р, Антонов К, Матева Л. „Пациент с реактивация на латентна туберкулозна инфекция на фона на терапия с Адалimumаб – клиничен случай” орална презентация на III- ти национален конгрес за млади гастроентеролози 24 - 25 март 2017г
6. Кръстева Д., **Петкова М.**, Желева Н., Боянова Я., Атанасова Е., Маринова Ц., Антонов К., Желев Д., Матева Л., Кръстев З.. Динамика в маркерите за неинвазивна оценка степента на чернодробно увреждане при лекувани с ДДАС пациенти с хроничен хепатит С. II Национална конференция по хепатология. 02 - 03.12.2016 г. София, България - Постер
 7. Кръстева Д., **Петкова М.**, Петкова Т., Антонов К., Матева Л., Иванова Р. „ Демография на HCV- инфекцията в България”, Национална конференция по гастроентерология, гр.Варна 02-04 юни 2016г. – постер , награден с 2-ро място
8. **М. Петкова.** Остра върху хронична чернодробна недостатъчност в практиката, Национална конференция по гастроентерология с международно участие, Златни пясъци, 09-11 май 2019г. **орална презентация**
1. 9. С. Митев, **М. Петкова**, А. Апостолова, С. Драгнева, Н. Гешева, Р. Николов, К. Антонов, Д. Желев, З. Спасова, Ц. Младенова, Е. Иванова-Тодорова, Д. Кюркчиев, Е.Наумова, Л.Матева. „HCV–свързана чернодробна цироза при обикновен

променлив имунодефицит с преобладаващи отклонения в броя и функцията на В-клетките», Национална конференция по гастроентерология, гр.Варна 02-04 юни 2016г.- постер

10. Академия Психосоматика – септември 2020 , орална презентация – клиничен случай

11. НАЦИОНАЛНА КОНФЕРЕНЦИЯ ПО НЕФРОЛОГИЯ

Албена, 28.09.2017 - 01.10.2017 г., симпозиум Абви - Лечението на бъбречно болни пациенти“проф.Красимир Антонов
„Представяне на клиничен опит“ – орална презентация

12. М.Петкова, К.Антонов, А.Алексиев, Р.Иванова, Л.Матева -Автоимунен хепатит или лекарствено индуцирано чернодробно увреждане (DILI)?, награден постер национална конференция по Гастроентерология , 2018г

13. Скринингова програма за болест на Гоше, IV Национална Конференция по хепатология, 7-8 декември, 2018, София, М.Петкова
Орална презентация

14. Лечение на хроничен вирусен хепатит С при пациенти в краен стадий на ХБЗ, ¹ М.Петкова,¹К.Антонов,²Е.Паскалев, ¹Л.Матева
¹Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Св.Иван Рилски“, МУ-София; ²Клиника по Нефрология и трансплантация, УМБАЛ „Александровска“, МУ-София – Национална конференция на младите хепатогastroентеролози - Тематична среща за диализно болни, Пампорово 2019 – орална презентация

15. Х.Пенчев, М.Петкова, Д.Кръстева, К.Антонов, А.Иванова. Хроничен вирусен хепатит С в българската популация. IV Национален конгрес за млади гастроентеролози. 23-24 март, 2018г. гр.София. **Орална презентация**

16. М.Петкова, К.Антонов, Е.Паскалев, Л.Матева. Лечение на хроничен вирусен хепатит С при пациенти в краен стадий на хронично бъбречно заболяване. IV Национален конгрес за млади гастроентеролози. 23-24 март,2018г. гр.София.**Орална презентация**

17. Клиничен случай на пациент с трансплантиран бъбрек, хроничен вирусен хепатит С и рабдомиолиза, ¹М.Петкова, ¹Ц.Маринова ¹К.Антонов, ²Е. Паскалев, ¹Л.Матева¹Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД, МУ-София; ²Клиника по нефрология и трансплантация – УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, МУ-София, Национална конференция по Гастроентерология, Пловдив 2017г, постер I-ва награда

VII. Членство в научни организации и други:

- Българско дружество по гастроентерология, гастроинтестинална ендоскопия и абдоминална ехография
- Асоциация на младите хепатогastroентеролози

- European Association for the Study of the Liver
- **European Crohn's and Colitis Organisation**