Медицински университет – София
Медицински факултет
Катедра по Гастроентерология
УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“

Дисертационен труд на тема

Физични методи за стадиране на хроничните чернодробни заболявания

по област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт,
професионално направление 7.1 Медицина,
научна специалност: Гастроентерология
за придобиване на образователна и научна степен “доктор”

Докторант: д-р Теодора Савова Комитова
Научен ръководител: проф. д-р Йордан Георгиев Генов, дм

София
2020 г.

Съдържание

Използвани съкращения стр. 2

Въведение стр. 4

Литературен обзор стр. 6

Цел и задачи стр. 43

Пациенти стр. 44

Методи стр. 55

Резултати:

- Клинични характеристики на групите стр. 63
- Фактори, влияещи върху точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата стр. 80
- Определяне на прагови стойности (cut-offs) за неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата стр. 90
- Междугрупов сравнителен анализ на стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата стр. 107

Обсъждане стр. 120

Изводи стр. 129

Приноси стр. 130

Приложение стр. 131

Публикации стр. 141

Научни доклади (устни презентации) стр. 142

Библиография стр. 144

Използвани съкращения

на кирилица

АХ – Артериална хипертония

ВХ – Варици на хранопровода

ГЕВ – Гастроезофагеални варици

ГРГ – Горна референтна граница

ДЧЗ – Дифузни чернодробни заболявания

ЕВЛ – Ендоскопско връзково лигиране

ИСВ – Изолирани стомашни варици

КТ – Компютърна томография

МР – Магнитен резонанс

ПКК – Пълна кръвна картина

ПН – Портално налягане

ПХ – Портална хипертония

ХВХ – Хронични вирусни хепатити

ХХВ – Хроничен вирусен хепатит В

ХХС – Хроничен вирусен хепатит С

ХЧЗ – Хронични чернодробни заболявания

УЗ – Ултразвук

ЧБ – Чернодробна биопсия

ЧП – Чернодробна плътност

на латиница

2D-SWE – Two-dimensional Shear Wave Elastography

AASLD – American Association for the Study of Liver Diseases

ALD – Alcoholic Liver Disease

APRI – AST to Platelet Ratio Index

AUROC – The Area under the Receiver Operating Characteristic curve

BMI – Body Mass Index

BSG – British Society of Gastroenterology

EASL – European Association for the Study of the Liver

EASL-ALEH – European Association for the Study of the Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Higado

EFSUMB – European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology

EL – EchoLevel

ELF – The Enhanced Liver Fibrosis

FIB-4 – Fibrosis-4

HAAT – Hepatic Artery Arrival Time

HBV – Hepatitis B Virus

HCV – Hepatitis C Virus

HVPG – Hepatic venous pressure gradient

HIV – Human Immunodeficiency Virus

HVAT – Hepatic Vein Arrival Time

IQR – Interquartile range

kPa – Kilopascal

LSM – Liver stiffness measurement

MRE – Magnetic Resonance Elastography

NAFLD – Non-alcoholic Fatty Liver Disease

NASH – Non-alcoholic Steatohepatitis

NPV – Negative Predictive Value

NUC – Nucleos(t)ide analogue

Plts - Platelets

PPV – Positive Predictive Value

pSWE – point Shear Wave Elastography

RCR – Royal College of Radiologists

SCD – Skin capsule distance

SD – Standard deviation

Se – Sensitivity

Sp – Specificity

SRU – Society of Radiologists in Ultrasound

SVR – Sustained Virologic Response

SW – Shear wave

SWE – Shear wave elastography

TE – Transient Elastography

WFUMB - World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology

ВЪВЕДЕНИЕ

Причините за развитието на хроничните чернодробни заболявания (ХЧЗ) са различни, но патофизиологичните процеси при всички могат да водят до фиброза с краен стадий – цироза. ХЧЗ са с голямо медицинско значение и са социално-икономическа „тежест“ във всяка страна. Ранното диагностициране, стадиране и лечение на ХЧЗ е от първостепенно значение за ограничаване на прогресията им. Хистологичното изследване е референтен метод за оценка на чернодробната фиброза, който обаче има и някои ограничения. Поради инвазивността и дискордантността при интерпретацията от различни патолози при чернодробна биопсия, през последните години навлизат неинвазивни методи за оценка на чернодробната фиброза – серумни биомаркери и физични методи за измерване на чернодробната плътност [1,2,3,4].

Серумните биомаркери са с лесна приложимост и интерлабораторна възпроизводимост. Техните стойности показват добра корелация с наличието на цироза, като приложимостта на методите е предимно при хронични вирусни хепатити (ХВХ) [1].

Физичните методи за стадиране на чернодробната фиброза са магнитно-резонансна еластография (МРЕ) и ултразвук-базирани еластографии. МРЕ има висока точност при определяне на фиброзата, но е скъп метод, с ограничена клинична приложимост. Ултразвуковите еластографии за оценка на чернодробната фиброза са т. нар. shear wave еластографии. От тях по-добре проучена е транзиентната еластография. Останалите два метода – pSWE и 2D-SWE, са по-слабо изследвани. Данните относно SW еластографиите са основно за вирусни хепатити, а неинвазивната еластографска оценка на останалите дифузни чернодробни заболявания е слабо проучена [1,2,3,4,5].

Авансиралата чернодробна фиброза и цироза имат своите характеристики при B-mode ехография. Методът е с висока информативност, но позволява качествена, без количествена оценка и изисква добра квалификация. SW еластографиите позволяват количествено измерване на фиброзата. През 2017 г. EFSUMB и през 2018 г. EASL и AASLD препоръчват за предтерапевтична оценка на чернодробната фиброза при пациенти с хроничен вирусен хепатит С използването на неинвазивни методи. Според EASL ЧБ трябва да остане като

метод за оценка на фиброзата, само когато резултатите от неинвазивните методи не са заключителни или при ХЧЗ с комбинирана етиология [I,2,6,7].

В „Изисквания на НЗОК при лечение на хроничен вирусен С хепатит над 18-годишна възраст в извънболничната помощ“ от 1 януари 2020 г. оценката на фиброзата се осъществява чрез чернодробна биопсия с хистологично стадиране по METAVIR или чрез неинвазивни методи – ултразвукова еластография и серумни маркери [II].

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Чернодробна биопсия

Въведена от края на 19-ти век, чернодробната биопсия става основен метод за оценка на заболяванията на черния дроб. През 1883 г. Paul Ehrlich извършва за първи път перкутанна чернодробна биопсия в Германия по повод гликогеноза. В края на 50-те години на миналия век G. Menghini разработва 1-секундна аспирационна техника, която води до по-широкото използване на процедурата и разширява приложенията ѝ. След Menghini методът еволюира. Понастоящем перкутанната биопсия се извършва предимно от специалисти по гастроентерология, хепатология или от рентгенолози [8,9].

1. Видове чернодробна биопсия

Чернодробната биопсия може да се осъществи чрез различни техники, двете най-основни са перкутанна и трансюгуларна. Първата е най-често прилаганият метод, като може да е трансторакална или субкостална. Трансюгуларната биопсия се провежда при пациенти, които са с висок риск от кървене за осъществяване на перкутанна биопсия – с нарушения в коагулацията (коагулопатии, тромбоцитопении, тромбоцитопатии). Много рядко може да се използват други достъпи – лапароскопски (най-често при лапароскопия по друг повод), трансфеморален или трансгастрален под ендосонографски контрол [8-12].

Чернодробната биопсия може да се провежда на „сляпо“ или под образен контрол, който най-често е ултразвук, тъй като последният е широко достъпен, безопасен и осигурява проследяване на цялата интервенция в реално време. Методът позволява и ехографско постинтервенционално наблюдение на пациента [9-12].

EFSUMB, BSG и RCR препоръчват провеждането на перкутанна ЧБ да се осъществява под образен контрол, тъй като е по-безопасно, отколкото сляпата биопсия [10-12]

Чернодробната биопсия се провежда най-често с два вида биопсични игли: режещи (Tru-cut) или аспирационни (Menghini). Към днешна дата по-широко е

приложението на автоматичните „пистолети“ с режещи игли. Проведената с тях биопсия с едно въвеждане на иглата обикновено осигурява достатъчен обем от тъкан при липса на фрагментация за поставяне на хистологична диагноза [10]. H. Weiss et al. съобщават, че при провеждането на 95 070 УЗ-насочени биопсии с диаметър на иглата до 1.0 mm се наблюдават сериозни усложнения в 0.095% и смъртност в 0.0011% [13]. Друго проучване при 1192 пациенти показва, че с Tru-cut се получават по-добро качество на биоптата спрямо Menghini – 94% за Tru-Cut срещу 79.2% за Menghini. Точността за диагностициране на цироза е 89.5% за Tru-Cut и 65.5% за Menghini. Известно е, че при пациентите с цироза режещите игли имат по-малък риск от фрагментиране на биопсичния материал в сравнение с аспирационните [14].

BSG и RCR препоръчват използването на автоматични режещи игли [10].

2. Индикации

Индикациите се разделят на две основни групи – дифузни чернодробни заболявания или фокални хепатални лезии. При ДЧЗ ЧБ се провежда за стадиране и градиране, хистологична верификация на диагноза, определяне на прогноза, оценка при промяна в чернодробните функционални показатели, диагноза на холестатична болест, оценка на инфилтративни и грануломатозни заболявания, при хипербилирубинемия с неясен произход, при неясно фебрилно състояние, при съмнение за медикаментозно увреждане на черния дроб, след трансплантация – за установяване на усложнения или рецидив на основното заболяване [9-12].

В проучване от 2004 г. на индикациите за чернодробната биопсия в Клиниката по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ“ се установява, че най-честите индикации за ЧБ са хроничните вирусни хепатити – 77%, следвани от автоимунните чернодробни болести (14%) и 9% от биопсиите са проведени поради системни или метаболитни заболявания, инфекции, медикаментозно увреждане, неизяснен иктер, повишени чернодробни ензими или хепатомегалия [III].

Решението за провеждането на биопсия трябва да бъде взето след преценка на рисковете и ползите от интервенцията, както и ясно дефиниране на индикациите [III,9-12].

3. Контраиндикации

Абсолютните контраиндикации за провеждането на перкутанна ЧБ са отказ на пациента или липса на съдействие от негова страна, тежка коагулопатия (INR > 1.5), тромбоцити под 50 G/l, екстрахепатална билиарна обструкция, бактериален холангит, конгестивна сърдечна недостатъчност. Относителни контраиндикации могат да бъдат голям асцит, амилоидоза, миелопролиферативни заболявания, повишен билирубин > 85 µmol/l [9,10,12,15].

4. Предбиопсична подготовка и проследяване при ЧБ

Пациентите трябва да бъдат акуратно информирани за процедурата, включително и за алтернативните методи за оценка на чернодробното заболяване, за рисковете, ползите и ограниченията на метода, като задължително трябва да са подписали информирано съгласие [8-12].

Преди провеждането на ЧБ трябва да се разполага с актуални лабораторни изследвания (проведени максимум 5-7 дни преди интервенцията) – протромбиново време и ПКК, както и кръвна група. Таргетът на тромбоцитите и протромбиновото време за провеждане на безопасна ЧБ са ≥ 50 G/l и ≥ 50%, въпреки че няма единно мнение за праговите им стойности между отделните препоръки на дружествата (тромбоцити ≥ 50-80 G/l; INR 1.5 - 2). Пациентът трябва да преустанови приемът на не-салицилови антиагреганти 7-10 дни преди биопсията, аспирин – 3-7 дни, орални антикоагуланти – 2-5 дни, а хепарин и нискомолекулни хепарини за 12-24 ч. преди процедурата. Антитромботичните медикаменти могат да се възобновят 48-72 ч. след биопсията. Важно е да се отбележи, че нормалните коагулационни показатели, сами по себе си, не изключват възможността от поява на усложнения от ЧБ [9,10,11,12].

Чернодробната биопсия трябва да провежда на гладно, поради възможността за гадене и повръщане при вазовагални реакции, или при необходимост от седиране и анестезия при некооперативни и психо-моторно възбудени пациенти [9,11,16].

ЧБ не налага антибиотична профилактика. Изключения правят случаите на билио-ентерални анастомози, анамнеза за постбиопсични инфекциозни

усложнения, билиарен сепсис, клапни пороци или предшестващ епизод на инфекциозен ендокардит [10,11].

Над 80% от усложненията при ЧБ възникват в първите 10-12 часа след интервенцията, поради което всички препоръки са за динамичен контрол на пациентите през първите часове. EFSUMB и AASLD предлагат период за активно проследяване от поне 4 часа, BSG и RCR – поне 3 часа. Наблюдението включва активно търсене на проява на усложнение - артериално налягане, пулс, дишане, болка. Виталните показатели трябва да бъдат измервани на 15-30 минути през първите 2 часа, през които се проявяват над 60% от усложненията. В деня на биопсията се препоръчва постелен режим, а тежка физическа дейност (работа, спорт) са контраиндицирани през следващите 48 часа [9,10,12]

5. Техника на перкутанна трансторакална чернодробна биопсия

Трансторакалната ЧБ при ДЧЗ се осъществява интеркостално в десния дял (най-често 7-мо или 8-мо междуребрие), мястото на биопсията се почиства антисептично и се анестезира с 1% лидокаин от кожата до перитонеума. Много рядко процедурата се извършва под обща анестезия – при некооперативни пациенти, деца и пациенти с психиатрични заболявания. Пациентът трябва да не диша по време на биопсията, за да се избегнат лацерации на черния дроб. Освен насочване чрез УЗ, EFSUMB препоръчва и използването на Doppler-ехография за оценка на съседни съдове. При провеждане на интервенцията под визуален контрол в реално време (УЗ) се намалява риска от компликации. Клинично проучване доказва, че ултразвуковото асистиране определя най-точна и безопасна траектория за биопсия [10-12,17].

6. Усложнения при ЧБ

Усложнението представлява неблагоприятно събитие, неочаквано, дори и предвидимо, възникнало в резултат на инвазивната процедура, независимо от техническата й точност. Според стандартите на Дружеството за Интервенционална Радиология (Society of Interventional Radiology - SIR) усложненията се разделят на леки и тежки. Леките са два подкласа: А – не налагат терапия и нямат последствия; В – необходима е симптоматична терапия, но нямат последствия, възможно е хоспитализация с наблюдение в

рамките на денонощие. Тежките усложнения са четири подкласа: A – изискват терапия и хоспитализация < 48 ч.; B – изискват интервенционална терапия и хоспитализация в интезивен сектор, пролонгирана хоспитализация > 48 ч.; C – наблюдават се трайни увреждания; D – леталитет [11,18].

Появата на усложнения зависи от много фактори, извън описаните от страна на пациента (коагулация). Такива са техниката на биопсията (на „сляпо“ или под УЗ-контрол; перкутанна, трансюгуларна и т.н.), видът и диаметърът на иглата (G), броят въвеждания и опитът на лекаря. Швейцарско проучване при 3501 биопсии установява честота на тежки усложнения 1.68 % при извършването им от интернист, провеждащ < 12 биопсии годишно, срещу 0% при лекар, които извършва повече от 50 биопсии на година. Проучване от Франция на 2082 чернодробни биопсии съобщава за 0.57% честота на тежки усложнения и установява, че рискът от усложнения се повишава с увеличаване на броя въвеждания на иглата (26.6% при еднократно въвеждане срещу 68% при ≥ 2 въвеждания, $p<0.001$) [10-12,19,20]. Поради необходимостта от придобиване на определена квалификация, в България чернодробна биопсия могат самостоятелно да осъществяват лекари, придобили сертификат „Интервенционална абдоминална ехография – трето ниво“.

Най-честото усложнение след ЧБ е болка, може да възникне в 25% от случаите. Обикновено е лека до умерена – на пункционното място, в десен хипохондриум или с ирадиация към дясно рамо (n. phrenicus). Най-често, когато не е свързана с тежко усложнение, преминава от неопиоидни аналгетици (Metamizole, Acetaminophen). Сериозните усложнения при ЧБ са 1-2%, а леталитетът – под 0.2%, като най-честите причини за него са хеморагия, билиарен перитонит и пневмоторакс. Други усложнения, освен болката, са: вазовагални реакции, чернодробен хематом, хемоперитонеум, пневмоторакс, хемоторакс, хемобилия, билирагия, артерио-венозна фистула, перфорация на друг орган – колон, жлъчен мехур, бъбрек, надбъбрек (при сляпа биопсия). Тежките хеморагии се манифестират с хемодинамична нестабилност до шок, перитонеално дразнене, спад на хемоглобина над 20 g/l; налагат реанимационна терапия, медикаментозна хемостаза, при неуспех – оперативно или радиологично лечение (емболизация). Използването на B-mode ехографско изследване постинтервенционално позволява своевременно диагностициране

на усложненията. EFSUMB дава препоръки и за използването на контрастно-усилена ехография за установяване на активно кървене [10-12,15,21,22].

7. Патохистологична оценка

Освен техниката и опитът на лекаря, множество други фактори влияят на точната хистологична оценка. За стадиране на дифузните чернодробни заболявания е важен размерът на биоптата, като се препоръчва използването на 16-18 G диаметър на иглата за осигуряване на необходимия брой портални пространства за хистологична диагноза – минимум 11, както и размер на материала 2-2.5 cm. G. Colloredo et al. имат за цел да установят оптималната дължина и необходимия диаметър на биоптат за акуратното стадиране на ХВХ. Проучването установява, че са необходими 11-15 пълни портални тракта, и че биоптат с дължина 2 – 2.5 cm осигурява този брои в 94% от случаите. От голямо значение е и т.нар. “sampling error”, резултат от факта, че хистологичният материал, осигурен от еднократно въвеждане на биопсичната игла, представлява 1/50 $000^{-та}$ от черния дроб, което поставя под въпрос неговата репрезентативност за целия орган [9,10,12,23-25].

Друг фактор, от който зависи точната интерпретация на биопсичния материал, е опитът на патолога, в идеалния случай той е строго специализиран в областта на хепатологията, което на практика рядко се среща. При интерпретация на препарата от двама независими патолози диагностичното разминаване може да е над 25%. Колаборацията между клиницист и патолога е съществен фактор за правилната патохистологична оценка [9,10,11,12].

Чернодробната биопсия е метод, който директно отразява патологичните процеси в черния дроб. Недостатъци на метода са инвазивност, „sampling error“ и интра- и интеробсервационна вариабилност на резултатите. В стремежа да се елиминира риска от усложнения и да се търси оценка на по-голям обем от органа или на целия орган, в съвременната хепатология все повече се изследват и използват възможностите на неинвазивните методи за оценка на чернодробната фиброза – серумни биомаркери и измерване на чернодробната плътност чрез еластография [1,2,3].

Неинвазивни методи за оценка на хроничните чернодробни заболявания

I. Ултразвукова чернодробна еластография

1. Ултразвукова еластография – история, физични основи, понятия и принципи

Палпацията е физикален метод за определяне на твърдостта на различни тъкани. Мануалната палпация датира от поне 1500 г. пр. Хр., описана в папирусите на Ebers. Хипократ описва различни форми на мануалната палпация – на кости, млечна жлеза, рани, черва, язви, матка, кожа и тумори. Мануалната палпация е приложима само за повърхностни структури и дава само качествена, но не и количествена оценка. Еластографията, измервайки тъканната твърдост в дълбочина, успява да преодолее тези недостатъци на палпацията [26] .

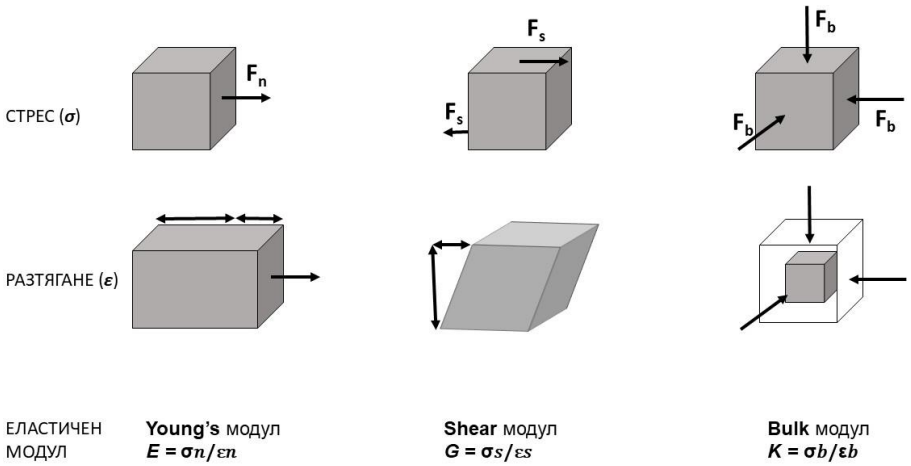
Ултразвуковата еластография, като образен метод за определяне на тъканна твърдост, е описана за първи път през 90-те години на XX в. Еластографията оценява промяната в еластичността на меките тъкани в резултат на патологични и физиологични процеси. Известно е, че солидните тумори се различават механично от заобикалящата ги здрава тъкан. Подобно на това, фиброзата, асоциирана с хроничните чернодробни болести, прави черния дроб по-твърд от нормалното. По определение “твърдост” е свойството на материята да противодейства на пластична деформация от приложена сила. Това свойство зависи от физичната величина “плътност”, най-често тя е обемна (масова) плътност, която представлява съотношение на масата на материята към заемания обем. Колкото по-плътна е дадена материя, толкова по-твърда е тя, т.е. еластографията измерва чернодробната плътност чрез свойството твърдост [27,28,29] .

Еластографията оценява тъканна еластичност – свойството на тъканите да противодействат на деформация, предизвикана от приложена сила, и да връщат първоначалната си форма след премахване на силата. Еластичността се описва със **закона на Hooke:**

$$\sigma = Г^{*}\varepsilon$$

Стресът (***σ***) представлява силата, приложена на единица площ с мерни единици килопаскали - kPa (N/m^2), а отклонението (***ε***) е деформацията на единица площ. Еластичният модул ***Г*** установява връзката между стреса **σ** и отклонението **ε** – в мерни единици kPa. Съществуват три вида еластични модули ***Г*** според вида на деформация (*фиг. 1*):

1. **Young's** модул ***E*** – приложеният стрес (σn) предизвиква отклонение (εn), което е перпендикулярно на повърхността $\sigma n = E * \varepsilon n$. Деформацията на обекта е по основната ос.
2. **Shear** модул ***G*** (Модул на деформация) – стресът на разтягане (σs) предизвиква отклонение с разтягане (εs), което е тангенциално на повърхността $\sigma s = G * \varepsilon s$. Обектът променя формата си, но запазва обема си, механичният стрес се получава като са приложени две срещуположни сили в две паралелни равнини.
3. **Bulk** модул ***K*** *(*Обемен модул*)* – нормална сила или налягане, насочено навътре (σb), предизвиква обемно отклонение или промяна в обема (εb) $\sigma b = K * \varepsilon b$. Обектът се деформира във всички посоки в резултат на приложен стрес [27,29,30,31,32].



Фиг. 1. Видове еластични модули [60]

Колкото по-висок е еластичният модул ***Г***, толкова материята е по-устойчива на деформация, т.е. има по-висока плътност [27,29,31,32].

Описаните уравнения представят различните видове деформации. Еластичният модул ***Г*** се характеризира и с пропагираща скорост на вълните*:* $\boldsymbol{c = \sqrt{Г/\rho}}$, където ***c*** – скорост на вълната, ρ – плътност на материята [27,29,31,32].

Съществуват два вида вълни според начина им на генериране в ултразвукова среда: лонгитудинални вълни и вълни на разтягане (shear waves). В лонгитудиналните вълни движението на частиците е паралелно на посоката на пропагиране на вълната и се дефинират от Bulk модула ***K***: $\boldsymbol{c_L = \sqrt{K/\rho}}$. Скоростта на лонгитудиналната вълна ($\boldsymbol{c_L}$) е 1540 m/s в меки тъкани. Скоростта на ултразвуковата вълна е 1350 - 1600 m/s. Тъй като лонгитудиналните вълни се генерират в B-mode ултразвук, то разликата в скоростите между УЗ и лонгитудиналната вълна е малка и съответно *K* между различните меки тъкани не позволява адекватна тъканна разлика (контраст) за еластографски измервания. При Shear waves (вълните на разтягане) движението на частиците е перпендикулярно на посоката на пропагиране на вълната и се определят от Shear модула ***G***: $\boldsymbol{c_S = \sqrt{G/\rho}}$. Скоростта на shear wave ($\boldsymbol{c_S}$) е средно 1-10 m/s в меки тъкани. Тази ниска скорост позволява високи разлики в ***G*** между различните тъкани, т.е. достатъчен тъканен контраст за еластографски измервания [2,27,29,31,32].

Трите вида деформация и еластични модули не са независими и имат взаимовръзка. Известно е, че твърдите материи се опитват да върнат първоначалната си форма след деформация. Връзката между Young's модула E и Shear модула G се осъществява с коефициента на Poisson (Poisson's ratio v): $\boldsymbol{E = 2(v + 1)G}$. Изхождайки от високото водно съдържание на меките тъкани, Poisson's ratio v е близо до 0.5 на некомпресируемата среда, като $E = 3G$. Ако заместим G от уравнението за скорост на shear wave ($c_s = \sqrt{G/\rho}$), то $\boldsymbol{E = 3G = 3\rho c_s^2}$ (плътността ρ – kg/m^3, c_s – m/s, ρc_s^2 – kg/m*s^2 = J/m^3 = N/m^2 = **Pa,** 1 kPa = 1000 Pa). Описаната връзка между Young's модула E, Shear модула G и скоростта на shear wave c_S е важна, тъй като според използвания модул се представят различни параметри на еластографията с различни мерни единици: m/s или kPa. Ултразвуковата еластография, базирана на shear wave, измерва директно скоростта на shear wave c_S в m/s или Young's модула E в kPa [27,29-32].

2. Видове еластография

EFSUMB предлага еластографията да се разглежда като вид индиректна „палпация“, която позволява измерване и изобразяване на биомеханичните възможности на тъканите, свързани с еластичните възстановителни сили, които възникват в резултат на разтягаща деформация. Последната води до тъканно разместване на ниво микрони [2,3,27,30,33].

Най-общото УЗ-базираните еластографии се разделят на:

- **Strain еластография** – strain elastography (SE), strain rate imaging (SRI), acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging;
- **Shear wave еластография** – transient elastography (TE), point shear wave elastography (pSWE), two-dimensional shear wave elastography (2D-SWE) [2,3,27,30].

Strain imaging дава качествена оценка на тъканното разместване, съответно плътността, измервайки физически тъканното разместване, паралелно на приложения стрес (сила) [2,3,27,30].

Shear wave еластографията (SWE) оценява количествено плътността на тъканите, измервайки скоростта на shear waves – динамичният стрес генерира shear waves паралелно (TE) и перпендикулярно (pSWE, 2D-SWE) [2,3,27,30].

Според начините на генериране на въздействие върху тъканите (въздействащата сила) и на оценка на плътността, еластографиите се разделят на полустатични и динамични. При полустатичните (SE, SRI) силата, предизвикваща деформация, се прилага чрез мануална компресия на повърхността на тялото или чрез вътрешни физиологични движения (сърдечна или дихателна дейност). При динамичните (ARFI strain imaging, TE, pSWE и 2D-SWE) стимулът/приложената сила е или механична вълна (TE), или ултразвукови сигнали (различни при ARFI strain imaging, pSWE и 2D-SWE) [2,3,27-31].

Strain еластография оценява добре еластичността на повърхностни структури – млечна жлеза или щитовидна жлеза, но не и на дълбоко разположени структури като черен дроб [2,3]

Различните видове еластографии са заложени в различни машини [2,3]:

Strain elastography: Esaote, General Electric, Philips, Siemens, Hitachi Aloka, Toshiba/Canon, Samsung Medison, Ultrasonix, Mindray Zonare, SonoScape

TE: FibroScan (Echosens, Paris)

pSWE: Siemens, Philips, Hitachi Aloka, Esaote

2D-SWE: Toshiba/Canon, Philips, Siemens, Mindray Zonare, General Electric, Supersonic Imagine, Esaote

2.1. Strain еластография

2.1.1. Strain Imaging

SE и SRI – при тях операторът упражнява мануална компресия върху тъкан чрез ултразвуков трансдюсер или разместването се генерира от вътрешни физиологични движения (сърдечна дейност, дишане). Индуцираното тъканно разместване е в същата посока на приложената сила. Измерванията се извършват чрез различни методи, зависещи от производителя: радиофреквентно ехо-корелационно проследяване или Doppler processing (при използването му методът се нарича strain rate imaging - SRI), или комбинация от двата метода. Мануално или физиологично генерираният стрес не е измерим количествено. Измерванията се представят като полутрансперантна цветна карта, наречена еластограма, която се суперпонира върху B-mode образа. Цветната скала зависи от производителя. Обикновено слабата деформация (твърди тъкани) се кодира в син цвят, а лесната деформация (меки тъкани) се представят в червен цвят. Полуколичествено измерване може да се извърши чрез т.нар. съотношение на разтягането (strain ratio), което се изчислява чрез съотношението между разтягането на околната тъкан (обикновено нормална) към разтягането в таргета (най-често лезия). Ако strain ratio > 1, таргетната структура се компресира по-слабо от околната, т.е. е с по-висока плътност [2,3,27,32,34-38].

През 2007 г. Н. Григоров представя нова изобразителна техника на Hitachi SonoElastography – еластографски метод за получаване на еластичен образ в реално време, използвайки мануална компресия на тъканите чрез трансдюсер. Тази strain еластография е подходяща за повърхностни структури, но не и за дълбоко разположени органи. Предимството й е при доказването на тумори (структури с по-голяма плътност), които се изобразяват в B-mode като изоехогенни. През 2014 г. авторът сравнява конвенционалния B-mode УЗ, Doppler-ехографията и компресионната strain еластография, като установява, че последната няма предимство пред другите два метода за диагноза на чернодробната цироза [IV, V].

2.1.2. ARFI strain imaging

Този метод използва акустична радиационна сила с висок интензитет и кратка продължителност (0.1-0.5 ms), която предизвиква тъканно разместване 10-20 μm, перпендикулярно на повърхността. Изобразяването на измерването отново е чрез еластограма в B-mode [2,3,30,27,39].

2.2. Shear wave еластографии

2.2.1. Транзиентна еластография (TE)

TE е първата SWE за оценка на чернодробната плътност, въведена през 2003 г. от Echosens – FibroScan™. Представлява едноизмерна еластография – 1D-TE, съставена от ултразвуков трансдюсер и механично вибриращо устройство. FibroScan не предлага B-mode, с който да се определи позиционирането на сондата и не може да променя дълбочината на измерването. Сондата се поставя интеркостално в десните междуребрия (измерванията се осъществяват в десния чернодробен дял), чрез вибрация и механична вълна с ниска честота на повърхността на тялото се генерира shear wave (40-50 Hz), която пропагира през тъканта. Същата сонда използва A-mode УЗ за измерване на скоростта на shear wave и изчисляване на Young's модула *E*. Чернодробната плътност се представя в kPa – обхватът е между 2.5 – 75 kPa. Апаратът автоматично отхвърля измерванията, които нямат точна вибрационна форма или коректно проследяване на вибрационното пропагиране. Изследваната тъкан е с обем 4 cm^3, което е над 100 пъти повече от чернодробен биоптат. Продължителността на изследването е около 5 минути. За акуратни резултати при TE са необходими минимум 10 измервания, при ниво на успеваемост (success rate) ≥ 60% - броят валидни измервания, съотнесен към общия брой измервания, и IQR ≤ 30% (interquartile range – обхваща измерванията между $75^{-ти}$ и $25^{-ти}$ персентил). Измерванията са неуспешни, когато няма валидни вибрации и са неточни, когато са: по-малко от 10, IQR > 30% или SR < 60 %. Резултатът се представя като медиана от $10^{-те}$ валидни измервания [1,2,3,4,27,30,33,40-44].

SR при TE зависи в голяма степен от BMI. Клинично проучване на L. Castera et al. на 13 369 пациенти за 5 години установява, че точността на метода намалява при пациенти с BMI > 30 kg/m^2 и с увеличаване на обиколката на талията. Неуспешни измервания са регистрирани при 3.1%, а неточни – при

15.8%. Други фактори, влияещи върху акуратността на измерванията с ТЕ, са възраст > 52 г., женски пол, захарен диабет тип 2, артериална хипертония и опитът на оператора. Според EFSUMB за минимален необходим тренинг се приема осъществяването на поне 100 ТЕ [2,45].

Стандартната сонда М (3.5 MHz) измерва на дълбочина 2.5 до 6.5 cm. С цел преодоляване на ограниченията, свързани с обезитет, Echosens разработва XL сонда (2.5 MHz): за пациенти с BMI > 30 kg/m^2, с разстояние между кожа и чернодробна капсула (SCD) повече от 2.5 cm, като измерва на дълбочина от 3.5 до 7.5 cm. Софтуерът на системата контролира избора между двата вида сонди според дълбочината на измерването. За деца и при гръдна обиколка с размер < 75 cm се използват S сонди 5.0 MHz (S1 – гръдна обиколка < 45 см, S2 – 45 до 75 cm), те измерват на дълбочина между 1.5 и 5.0 cm. Стойностите на ЧП, измерени чрез XL и S сондите, се различават от тези, измерени с М сондата и не са стандартизирани в клинични проучвания. В зависимост от вида на сондата, системата се нуждае от рекалибриране на 6 – 12-месечен период. Освен ограниченията, свързани с обезитет, ТЕ (независимо от вида сонда) не може да се прилага при пациенти с асцит [2,3,5,41,46,47].

Освен да бъде неинвазивен и лесен за ежедневна клинична практика, всеки метод трябва да има добра възпроизводимост от отделния оператор, както и от различни оператори. Различни проучвания показват добрата репродуктивност на ТЕ с intraclass correlation coefficient (ICC) > 0.90, т.е. в над 90% от случаите измерванията ще се възпроизведат със същите резултати [2].

2.2.2. pSWE

Познати са два pSWE продукта: Virtual Touch^{TM} Quantification (VTQ/ARFI) от Siemens, 2008 г. и ElastPQ^{TM} от Philips, 2013 г. [3,27].

pSWE се осъществява със стандартна УЗ конвексна сонда, като в реално време в B-mode се позиционира курсорът на ROI на желаното място за измерване на чернодробната плътност. Трансдюсер автоматично произвежда акустичен фокусиран радиационен импулс, който генерира shear wave (50 – 100 Hz), последната преминава през тъканта, перпендикулярно на приложената сила (импулс). Скоростта на SW е правопропорционална на корен квадратен от тъканната еластичност. Скоростта се измерва в m/s, като най-високата

теоретична възможна скорост в най-твърдата среда е около 6 m/s. Скоростта се повишава с увеличаване на плътността на тъканите, т.е. с увеличаване на степента на фиброзата. Резултатът от pSWE изследването се представя в m/s или преизчислен в kPa според Young's модула. Обемът на измерване е 0.5-1.0 cm^3. За точен резултат са необходими също 10 измервания с IQR ≤ 30 %, като невалидните измервания се изобразяват „x.xx" или „0.00". Резултатът се представя като медиана от $10^{-те}$ валидни измервания. Предимство на pSWE пред ТЕ е използването му с B-mode, като така се избягват артефакти и точно се позиционира ROI. Освен това, методът може да се прилага и при пациенти с асцит [1,2,3,5,27,30,33,41].

Възпроизводимостта на двата метода VTQ и ElastPQ се различава според клиничните проучвания. В проучване от 2011 г. на F. Guzman-Aroca et al. при 50 здрави доброволци с VTQ, ICC е 0.86. През 2014 г. G. Ferraioli et al. изследват точността и репродуктивността на ElastPQ при 69 здрави доброволци. Установява, че в групата на доброволците методът е с отлична репродуктивност при един оператор: ICC = 0.96, а за различни оператори – ICC = 0.93 [2,48,49].

2.2.3. 2D-SWE

2D-SWE е метод, при който се формира цветно-кодирана количествена еластограма в реално време в B-mode. Цветовете, кодиращи тъкан с висока плътност, са в червено, ниската плътност е кодирана в синьо. Методът е инкорпориран в УЗ апарати и се провежда с конвексен трансдюсер. Тъканното разместване се осъществява: чрез ултразвук-индуцирана радиационна сила на различни дълбочини (Toshiba/ Canon, Philips, Siemens, Mindray Zonare); чрез множество симултанни паралелни ултразвукови фокусирани радиационни импулси (General Electric); или чрез ултразвуково-индуциран фокусиран радиационен импулс, който преминава по-бързо в дълбочина от shear wave, за да се създаде Mach cone – shear wave с форма на пресечен конус (SuperSonic Imagine - SSI). Измерва се скоростта на SW в m/s и след това се трансформира в Young's модула – kPa. Обхватът на метода е 2 -150 kPa [1-5,27,30,33,41].

2D-SWE измерва най-голям обем от структурата в сравнение с останалите УЗ-базирани еластографии – 20 cm^3. По този начин се редуцира т. нар. sampling error. Поради ултрабързите образни характеристики на SSI – над 5000 frame/s,

се осигурява премахване на нискочестотни артефакти, в резултат на дишане и сърдечна дейност, което осигурява по-точни измервания [30,33,50].

Честотният диапазон, в който се генерира SW е по-широк (60 – 600 Hz) спрямо този при FibroScan, което осигурява по-добра дискриминативна способност по отношение на фиброза [51].

2D-SWE може да се използва и при пациенти с асцит за оценка на чернодробната плътност [2,3,30,41].

Представените данни показват, че 2D-SWE изследва на по-голям обем и с по-голяма точност, което е и причина EFSUMB да препоръча три измервания като достатъчни за точни резултати, при IQR ≤ 30% [2]. През 2013 г. I. Sporea et al. изследват необходимия брой измервания за постигане на точни резултати при 2D-SWE, както и как трябва да се представи крайният резултат: средната аритметична стойност (mean) или медианата (median). Изследвани са 449 пациенти чрез ТЕ и 2D-SWE, сравнена е корелацията на ЧП, измерена чрез ТЕ и 2D-SWE, като е използвана медианата на 5 валидни 2D-SWE измервания или средната стойност на три, или пет 2D-SWE измервания. Установена е еднаква корелация с ЧП, независимо от това дали е измерена с ТЕ или с 2D-SWE. Не е установена сигнификантна разлика между медианата и средната стойност на 5 валидни 2D-SWE измервания, и средната стойност на 3 валидни 2D-SWE измервания: 7.6 kPa, 7.7 kPa и 7.6 kPa [52]. През 2016 г. F. Bende et al. също изследват оптималния брой измервания на чернодробната плътност с 2D-SWE (GE), като сравняват група с 5 измервания спрямо група с 10 измервания. Разпределението на пациентите според фиброзата е: F<2 (39.5%), F2-F3 (25%) и F4 (35.5%). Не се установява статистически значима разлика между двете групи, независимо от степента на фиброза, което доказва, че 5 измервания са достатъчни за точно определяне на плътността, дори и при напреднала фиброза [53].

Репродуктивността на метода при един оператор е отлична, с ICC 0.90 – 0.95. Възпроизводимостта на изследването, извършено в различни дни, от различни оператори е 0.83 – 0.90. Репродуктивността зависи от опита на оператора. EFSUMB препоръчва минимален тренинг за 2D-SWE 300 абдоминални ехографии и 50 2D-SWE изследвания. Така се осигурява по-висока честота на хомогенни цветни прозорци, което е необходимо за точни измервания. Приложимостта на метода е съпоставима с ТЕ – изследването се осъществява с

точни резултати в 84.5% до 90%. Като основни фактори за неуспех се определят обезитетът, лошият акустичен прозорец и дишането по време на изследването. R. Sirli et al. съобщават, че при напреднала възраст и висок BMI е необходим по-голям брой измервания [2, 54-56].

За да се осъществяват точно измерванията с еластография, то те трябва да се проведат по стандартизиран протокол и да се познават факторите, независимо от фиброзата, които променят чернодробната плътност. Strain еластографията е метод за оценка на повърхностни структури, тъй като измерванията в дълбочина не могат да бъдат точни и не се препоръчва от EASL-ALEH, EFSUMB, WFUMB и SRU за стадиране на чернодробните заболявания. За тази цел се използва SWE [1,2,3,33,41]. Съществува обаче и метод, който обединява strain с shear wave еластография, който служи за комплексна оценка на чернодробната фиброза – Combi-Elasto (Hitachi Arietta 850). Методът предлага и два показателя за неинвазивна ултразвукова оценка на стеатозата (ATT) и на активността (A index). Combi-Elasto е иновативен и непроучен метод, чието приложение при ХЧЗ все още е недефинирано. Към момента, липсват публикации в световната литература за метода.

3. Техника на провеждане на чернодробна УЗ еластография

SWE се провежда по следния стандартизиран протокол [1,2,3,27,33,41]:

- Пациентът не е приемал храна за поне 3-4 часа и е в покой 10-20 минути.
- Изследването се провежда при пациент, легнал по гръб с отведена над главата дясна ръка. За подобряване на акустичния прозорец с отваряне на десните междуребрия, пациентът може да се постави в леко лява латерална позиция.
- Измерванията се осъществяват в десния чернодробен дял, интеркостално, при добър акустичен прозорец (без сенки от ребра).
- ROI се позиционира на 1.5 – 2 cm под капсулата на черния дроб, като оптималната дълбочина за генериране на SW е 4.0 – 4.5 cm от трансдюсера, а максимална – до 6-7 cm.
- Трансдюсерът се разполага перпендикулярно на чернодробната капсула.

- При позициониране на ROI се избягват големи съдове, жлъчни канали или фокални промени.
- Пациентът не трябва да диша по време на отделните измервания, като дишането се задържа в експириум.
- При ТЕ се избира съответната сонда според хабитуса на пациента.
- За ТЕ и pSWE е необходимо да се осъществят минимум 10 измервания в една и съща локализация, като резултатът се представя с медиана. За 2D-SWE са необходими 3-5 измервания за точен резултат.
- При измервания в Young's модул (kPa) е необходимо IQR ≤ 30%, а при m/s – IQR ≤ 15 % [1,2,3,27,33,41].

Редица клинични проучвания са доказали, че приемът на храна повишава чернодробната плътност. През 2009 г. I. Mederacke et al. изследват с ТЕ 56 пациенти с ХХС и 19 доброволци – на гладно и след прием на храна. ЧП се повишава непосредствено след приема на храна, с максимум на първия час, като се нормализира на 180 минута. При пациентите с изходна ЧП ≤ 10 kPa има повишение с поне 1 kPa, а при тези с нормална плътност – ЧП се повишава до стойности над референтните [57]. Подобно проучване на U. Arena et al. от 2013 г. демонстрира, че приемът на храна влияе върху ЧП и изследването трябва да се осъществява минимум 120 мин. след прием на храна [58]. A. Berzigotti et al. изследват 19 пациенти с цироза чрез ТЕ, Doppler УЗ – портален и артериален кръвоток, преди и 30 мин. след прием на храна, при 10 пациенти е проследено и HVPG. Резултатите показват значително повишаване на ЧП след прием на храна, като при пациентите с цироза артериалният буферен отговор е важен фактор, който определя промените в чернодробната плътност, но промяната в ЧП не е предиктор за постпрандиалното повишаване в HVPG [59] .

A. Samir et al. установяват, че най-доброто място за измервания на ЧП е горната част на десния чернодробен дял. Измерванията в левия дял са неточни поради анатомичната близост със сърцето, като резултатите са зависими от сърдечната дейност [60]. T. Toshima et al. провеждат pSWE в десния и левия дял при 79 пациенти с хронична чернодробна болест и 24 доброволци. Резултатите показват статистически значима разлика за ЧП между двата дяла, сигнификантна

корелация с хистологичния стадий на фиброза, като стандартните отклонения за измерванията в десния дял са сигнификантно по-малки от левия [61].

Дълбочината на измерванията също е фактор, влияещ върху резултатите от проведената чернодробна еластография. A. Potthoff et al. показват, че pSWE е най-точна на дълбочина от 5-6 cm с конвексен трансдюсер и измерванията не трябва да се осъществяват близо до капсулата [62]. C. Wang et al. през 2014 г. публикуват подобно проучване за 2D-SWE като оптимална дълбочина на измерванията е 3-5 cm от трансдюсер и на 1-2 cm под капсулата [63]. Най-малка вариабилност в резултатите се получава при използване на конвексен трансдюсер (pSWE, 2D-SWE) [2].

Дишането по време на еластография води до повишаване на вариабилността, дълбокият инспириум или Валсалва прийомът водят до повишаване на венозното пълнене към черния дроб от сърцето (както при сърдечна недостатъчност) и повишават ЧП. Поради тези причини измерванията се осъществяват при задържане на дишането в експириум за 3-4 секунди [3,33].

За да се получат акуратни измервания със SWE, всички описани изисквания трябва да са спазени. Съществуват обаче фактори, които повлияват ЧП, независимо от фиброзата [1,2,3,27,33,41].

4. Фактори, повлияващи чернодробната плътност, независимо от фиброзата

В биологичните тъкани действат две различни механични величини срещу приложена деформация – еластичност и вискозитет [29,31]. Това означава, че чернодробната плътност ще се определя и от други фактори, освен фиброзата (еластичност). Познаването на тези фактори е необходимо за точна интерпретация на получените резултати. Препоръчва се тези фактори да бъдат изключени преди провеждането на чернодробна еластография или поне да бъдат интерпретирани при представяне на резултатите [2,3].

Фактори, които променят чернодробната плътност са: инфилтративни заболявания на черния дроб, билиарна обструкция с дилатация на билиарната система, застойна сърдечна недостатъчност (ЗСН), тежка стеатоза, повишаване на аминотрансферазите – остър хепатит (независимо от етиологията).

Провеждането на етиологично или патогенетично лечение на ДЧЗ може да доведе до намаляване на чернодробната плътност [1,2,3,33,40,41].

Изхождайки от факта, че чернодробната плътност не отразява само фиброзата, V. Loustaud-Ratti et al. проследяват с ТЕ 41 пациенти с амилоидоза с различно засягане (черен дроб, сърце или и двата органа), 26 здрави контроли, 50 пациента с ХХС и 18 пациенти с десностранна сърдечна недостатъчност (етилогично различни от амилоидозата). Изследването показва, че пациентите с чернодробно засягане от амилоидоза имат сигнификантно по-високи стойности на ЧП спрямо контролите и спрямо пациентите с ХХС, като има и тенденция за по-висока ЧП и спрямо пациентите със ЗСН, без сигнификантност. Стойност от 17.3 kPa се приема за cut-off за амилоидозна инфилтрация на черния дроб [64]. K. Ichikawa et al. описват случай на остра Т-клетъчна левкемия (HTLV-1) с инфилтрация на черния дроб. При проследяване на ЧП с ТЕ преди и след химиотерапия се установява намаляване от 25.4 kPa на 4.3 kPa [65].

G. Millonig et al. проследяват чернодробната плътност при пациенти с билиарна обструкция, непосредствено преди дезобструкцията, на 3-ти, и на 5-ти ден след това. При всички пациенти успешният билиарен дренаж води до намаляване на ЧП и това корелира с намалението на билирубина, като средното намаление на ЧП е 1.2 ± 0.56 kPa за 1 g/dL билирубин [66].

K. İçen et al. изследват 181 пациенти със СН и намалена фракция на изтласкване (ФИ), като ЧП е оценена с ElastPQ (pSWE). Пациентите са разделени от клас I до IV по NYHA. Проучването показва, че ЧП може независимо да определи класа по NYHA и увеличаването на ЧП с 1 kPa отразява риска за преминаване от клас I-II по NYHA в клас III-IV с 94.4%. ЧП ≥ 7 kPa има 82.8% чувствителност и 81.8% специфичност за NYHA III-IV class [67]. G. Millonig et al. изследва 10 пациенти с конгестивна СН, всички те имат повишена ЧП с медиана 40.7 kPa, при компенсиране на СН с диуретици и загуба на тегло средно с 3.0 kg, ЧП намалява до 17.8 kPa [68].

Стеатозата в черния дроб е друг фактор, които може да доведе до увеличаване на ЧП, независимо от фиброзата. S. Petta et al. изследват 253 пациенти с ТЕ, като фиброзата е оценена хистологично като F0-F2. Медианата на ЧП е сигнификантно по-висока при пациентите с тежка стеатоза (≥ 66%) в сравнение с тези с по-ниски степени на стеатоза [69].

Повишението на аминотрансферазите има позитивна корелация със стойностите на чернодробната плътност, независимо от етиологията. Така при вирусни хепатити е установено, че противовирусната терапия води до намаляване на ЧП пропорционално на понижаване на ензимите [1,2,3,41].

При пациенти с остър алкохолен хепатит преустановяване на алкохолната употреба за период от 1 до 4 седмици, също води до намаляване на ЧП [1,2,3,41].

6. Референтни стойности при здрави хора

Чернодробната еластография служи за оценка на чернодробната фиброза при дифузни чернодробни заболявания (ДЧЗ) и на фокални чернодробни лезии [1,2,3,27,41]. Обект на този дисертационен труд е първото приложение.

Следва да се отбележи, че SWE с нормални стойности може да изключи сигнификантна фиброза (F<2) [2].

Стойностите за ТЕ при здрави хора варират от 4.4 до 5.5 kPa, по-високи са при мъжете, и не зависят от възрастта [2,70-72]. За pSWE – VTQ стойностите, които се съобщават за здрави хора, са 1.07 – 1.19 m/s, като няма разлика спрямо пола [73,74]. За pSWE – ElastPQ средната стойност при здрави доброволци е 3.5 kPa или 1.08 m/s, като мъжете имат по-високи стойности [75,76]. Съобщаваните стойности на ЧП при 2D-SWE за SSI и GE са съответно 6.0 ± 1.4 kPa и 5.1±1.3 kPa, и се съобщава за зависимост от пол и възраст [77,78].

7. Епидемиологични данни за ДЧЗ

Независимо от етиологията, при всички ХЧЗ може да протича продължителна фиброгенеза и да се достигне до цироза с всички нейни усложнения. Значимостта им е клинична и социално-икономическа. В САЩ ДЧЗ са 12-та причина за смърт – 1.4% от общата смъртност [27,79].

Европа е с най-голям дял на чернодробни заболявания в света. За 2016 г. в Европа употребяващи алкохол са 312/100 000, с хепатит В – 130/100 000 и с хепатит С – 212/100 000. Общата смъртност от чернодробни заболявания в Европа е 151 513 души за 2015 г. Употребата на алкохол причинява 5.9% от общата смъртност и повече от 25% от смъртните случаи между 20 – 39 годишна възраст [80]. Честотата на пациентите, диагностицирани с NAFLD, е по-ниска от реалната, което е резултат от това, че при наличие на друга етиология при NAFLD (вирус, алкохол), неалкохолната болест не се съобщава като етиологичен

фактор. Данни от 2000 г. до 2015 г. показват, че превалирането на NAFLD в Европа е 23.71%, като от 1988 г. до 2016 г. повече от 11.9% от чернодробните трансплантации са в резултат на NASH-цирози [81]. NAFLD е част от метаболитния синдром, голяма част от пациентите имат ЗД тип 2, обезитет, хипертриглицеридемия, което кара Eslam M. et al. да предложат нов термин, който да замести NAFLD - Metabolic Associated Fatty Liver Disease (MAFLD). Критериите за поставяне на диагнозата са наличието на чернодробна стеатоза и поне две метаболитни нарушения [82]. По отношение на вирусните хепатити – около 15 милиона души са с HBV инфекция в ЕС и около 13 милиона са anti-HCV позитивни в Европа, от които 6 милиона са с вирусна репликация, а 3.2 милиона от тях са в ЕС [83-85]. EASL създава проект HEPAHEALTH, чрез който се събират и анализират данните за чернодробни заболявания от 35 Европейски държави, събират се данни за модифицируемите фактори при ДЧЗ (алкохол, обезитет и вирусни хепатити) и се описва тяхната промяна във времето, прави се преглед на държавните политики и интервенциите, които могат да редуцират експозицията на популационно равнище на рисковите фактори [80].

Изложените епидемиологични данни показват големия дял на ДЧЗ сред общата заболеваемост, поради което хепатологичната общност търси нови методи, които да са лесно достъпни, безопасни, с възможност за повторяемост и с висока клинична ефективност за диагноза и проследяване на пациентите с ХЧЗ. Развитието на сигнификантна фиброза е основният предиктор за прогресия на ДЧЗ до цироза и появата на нейните усложнения, което е и причина за необходимостта от своевременното й диагностициране [1,2,41].

8. Клинично приложение на SWE

EASL-ALEH и EFSUMB поставят две основни цели пред неинвазивните методи за оценка на чернодробната фиброза, в частност пред еластографията: откриване на пациентите със сигнификантна фиброза (F≥2) и най-вече тези с цироза (F4) [1,2].

8.1 Клинично приложение на SWE при хроничен вирусен хепатит С (ХХС)

Всички видове SWE еластография могат да бъдат използвани като първа линия за оценка на степента на фиброза при пациенти с ХХС. Точността им е най-висока за изключване на цироза с NPV > 90% [1,2,3,6,7,86].

Чрез ТЕ може да разграничи липсата на сигнификантна фиброза (F0-1) от наличието й (F≥2), но установяването на отделните стадии на фиброза не е точно. Стойности 6.8 – 7.6 kPa идентифицират сигнификантна фиброза, а стойности между 11 – 15 kPa представят cut-offs за цироза. Американската гастроентерологична асоциация (AGA) предлага използването на ТЕ пред серумните тестове за диагностициране на цироза, като приема cut-off 12.5 kPa. ТЕ може да се използва със същата диагностична точност и при ко-инфектирани с HCV/HIV [1,2,3,6,7,86,87].

Български гастроентерологични центрове съобщават данни за приложението на ТЕ при пациенти с вирусни хепатити. Р. Цонев в своя дисертационен труд изследва 366 пациенти с хронични вирусни хепатити, като предлага ТЕ да се извършва в няколко последователни серии от 10 изследвания в различни междуребрия по средна аксиларна линия, и добавяне към еластографията и на серумен маркер – FibroTest или FIB-4. Авторът представя cut-off стойности за F≥2 – 10 kPa, а за F4 – 16 kPa [VI]. Друг авторски колектив – К. Антонов и съавт. изследват 56 пациенти с HBV и 49 пациенти с HCV. Установява се сигнификантна корелация между ЧП и фиброзния стадий по METAVIR – за HCV (r=0.565, p<0.001) и за HBV (r=0.429, p<0.0001). При HCV стойност ≥ 6.3 kPa е прагова за сигнификантна фиброза (AUROC 0.81, чувствителност 68%, специфичност 83%), а стойност на ЧП ≥ 12.3 kPa е с AUROC 0.88, чувствителност 71% и специфичност 94% за цироза [VII]. И. Иванова и съавт. през 2014 г. представят данни за 30 пациенти с HCV и 55 пациенти с HBV, като установяват, че ЧП ≥ 7 kPa има специфичност 95.3% и чувствителност 55.0% за дефиниране на сигнификантна фиброза [VIII]. По-късно същият авторски колектив сравнява ТЕ, APRI и FIB-4 спрямо ЧБ. Прагова стойност за ЧП < 10 kPa, за APRI < 0.5 и за FIB-4 < 1.45 изключват цироза съответно при 100%, 85% и 91% от пациентите. При ЧП > 15 kPa цироза се потвърждава с ЧБ в 60%, при пациентите с фалшиво позитивни резултати е установен повлияващ фактор (хемосидероза, алкохол, висока възпалителна активност) [IX].

pSWE VTQ (ARFI) е с най-репрезентативни данни от интернационално мултицентрично проучване, 10 центъра и 5 страни в Европа и Азия при 914 пациенти с ХХС. Получени са различни стойности за сигнификантна фиброза и за цироза при европейските и при азиатските пациенти: при европейците cut-off за сигнификантна фиброза е 1.21 m/s, а за цироза – 1.74 m/s, докато за азиатците

F≥2 – 1.32 m/s и за цироза – 1.55 m/s [88]. За ElastPQ предиктивните стойности за сигнификантна, за авансирала фиброза (F3) и за цироза са съответно 6.43 kPa, 9.54 kPa и 11.34 kPa. Подобно на TE, и pSWE не е дискриминативна по отношение на отделните степени на фиброза [89]. L. Rizzo et al. сравняват AUROC на ARFI и TE, като установяват, че ARFI е сигнификантно по-точна от TE за диагноза на F≥2 и F3 (0.86 vs. 0.78, p=0.024; 0.94 vs. 0.83, p=0.002), докато за цироза имат еднаква предиктивна стойност (0.89 vs. 0.80, p=0.09). pSWE е с по-добра приложимост от TE – 97% vs. 90%, тъй като TE е с по-голямо ниво на неуспешни измервания при пациенти с обезитет и с асцит [90].

2D-SWE е с висока диагностична точност за сигнификантна, за напреднала фиброза и за цироза (AUROC > 0.90), като диагностичната стойност е по-добра от тази при TE: 0.92 за 2D-SWE vs. 0.84 за TE (p=0.002) за сигнификантна фиброза, като двата метода имат сходна диагностична точност за F3 (2D-SWE 0.98 vs. TE 0.96, p=0.14) и F4 (2D-SWE 0.98 vs. TE 0.96, p=0.48). Предложени са cut-offs стойности за 2D-SWE (SSI): за сигнификантна фиброза F≥2 – 7.1 kPa , F3 – 8.7 kPa и F4 – 10.4 kPa [91]. I Sporea et al. изследват 149 пациенти с HCV с 2D-SWE (GE). За сигнификантна фиброза AUROC е 0.909, за F3 – 0.954 и за цироза – 0.942. Cut-off за F≥2 е 7.0 kPa (чувствителност 85.75%, специфичност 80.5%), за F3 – 9.2 kPa (чувствителност 85.3%, специфичност 91.5%) и за цироза 10.7 kPa (чувствителност 84.6%, специфичност 91.4%) [92].

Д. Кофинова и съавт. изследват 53 деца с различни чернодробни заболявания и установяват, че ЧП ≥ 6.16 kPa има чувствителност 82.8% и специфичност 82.6% за сигнификантна фиброза (p<0.001). Чрез 2D-SWE се разграничава наличието на напреднала F≥3 при cut-off 7.12 kPa със специфичност 100% и чувствителност 100% (p<0.001) [X].

Трите вида SWE са първи избор за оценка на фиброзата при пациенти с ХХС преди терапия. При пациентите, успешно ерадикирани за HCV (SVR), ЧП намалява по време на терапията, дори и при пациенти с напреднала фиброза и цироза. Това намаление се дължи не само на фиброзен регрес, но и намаляване на възпалението. За неинвазивната оценка на фиброзата стоят два основни въпроса: как се доказва, че точно фиброзата е регресирала и какъв е точният cut-off след SVR, който ще дефинира групата с намален риск за усложнения, свързани с чернодробната болест [1,2]. R. D'Ambrosio et al. изследват 33 пациенти с HCV-цироза преди и след противовирусно лечение, като ги

проследяват средно 61 м. след постигане на SVR чрез ЧБ и ТЕ. При проследяването 20 пациенти (61%) са с хистологично доказан регрес във цирозата, ЧП при тях е сигнификантно по-ниска, отколкото при пациентите без хистологична промяна (9.1 kPa vs. 12.9 kPa, p=0.01). Установява се, че при проследяването ЧП е под 12 kPa при 5 пациенти (38%) с F4 и при 19 пациенти (95%) с F≤3. Диагностичната точност на ТЕ за диагноза на F4 след лечение намалява, като методът е с чувствителност 61% и специфичност 95% за установяване на цироза. Този резултат показва, че ТЕ не може да се използва за доказване на регрес при цироза след противовирусна терапия [93]. Клинични проучвания от 2012 г. и 2016 г. откриват две съвсем различни cut-off стойности за определяне на пациентите с повишен риск от чернодробна декомпенсация и усложнения, свързани с чернодробната болест – 10.5 kPa и 7.0 kPa. Освен това периодът, след постигане на SVR, в който трябва да се осъществи еластографското проследяване, не е дефиниран [94,95].

Поради представените данни, EFSUMB и EASL-ALEH не препоръчват мониторинг на фиброзните промени по време и след лечение на HCV. Неинвазивните методи (в частност SWE) имат високо ниво на фалшиво негативни резултати и не могат да определят фиброзния регрес, нито да дефинират пациентите, които не трябва повече да се проследяват за хепатоцелуларен карцином (HCC) и усложнения, свързани с цирозата [1,2].

8.2 Клинично приложение на SWE при хроничен вирусен хепатит B (ХХВ)

Всички видове SWE могат да диагностицират цироза при пациентите с ХХВ. Аминотрансферази, повишени над 5хГРГ, намаляват точността на еластографията при ХХВ [1,2,27,33,41].

ТЕ е с висока предиктивна стойност за дефиниране на сигнификантна фиброза и на цироза при пациентите с HBV. За F≥2 се съобщава AUROC 0.80 – 0.90 с cut-off 6.6 – 8.8 kPa , а за цироза – AUROC 0.81 – 0.97 със стойности на cut-off 9.4 – 13.4 kPa. AGA предлага използването на ТЕ пред серумните тестове за диагностициране на цироза с cut-off 11.0 kPa [2,86,96-98].

К. Антонов и съавт. предлагат при HBV cut-off за сигнификантна фиброза 7.2 kPa (AUROC 0.81, чувствителност 70%, специфичност 83%) и за цироза ≥ 11 kPa (AUROC 0.87, чувствителност 93%, специфичност 93%) [VII].

Различни проучвания изследват дали повишените аминотрансферази влияят на ЧП. H. Chan et al. и M. Fraquelli et al. доказват, че при повишена ALT има промяна в ЧП. Първият авторски колектив установява, че при пациенти с HBV с еднакъв фиброзен стадий, тези с повишена ALT имат повишена ЧП. Диагностичната точност на метода допълнително намалява при ниските степени на фиброза, когато ALT е повишена. Това поставя въпроса за определянето на различни cut-offs при пациенти с нормални и повишени стойности на ALT. M. Fraquelli et al. установяват, че умерената и тежката възпалителна активност, и стеатозата са фактори, влияещи върху ЧП. Те не намират влияние на възрастта върху ЧП [99,100]. A. Cardoso et al. показват с AUROC анализ, че повишението на ALT не влияе върху измерените стойности чрез ТЕ при пациенти с HBV, като ALT-специфични cut-off стойности не променят сигнификантно диагностичната точност на метода [101].

ТЕ има място при проследяване на т. нар. неактивни HBV „носители“ (нормална ALT, HBsAg <1000 IU/ml и HBV-DNA <2000 IU/ml), като методът може да изключи наличието на фиброза и да определи кои пациенти ще се нуждаят от биопсия за преценка за фиброзния стадий [2]. F. Invernizzi et al. установяват, че при неактивните „носители“ ЧП < 5 kPa кореспондира с минимални или липсващи хистологични промени [102]. L Castera et al. изследват 329 HBeAg-негативни пациенти с ХХВ (от тях – 201 неактивни HBV “носители”), като проследяват ТЕ, Fibrotest и APRI. Установяват, че стойностите на ТЕ, Fibrotest и APRI са сигнификантно по-ниски при неактивните „носители“ спрямо тези с активна инфекция – съответно 4.8 vs. 6.8 kPa, $p < 0.0001$; 0.16 vs. 0.35, $p < 0.0001$; и 0.28 vs. 0.43, $p < 0.0001$. При 82 от тези пациенти са повторени изследванията и сигнификантна разлика във времето се запазва [103].

pSWE – VTQ е с подобна на ТЕ диагностична точност за сигнификантна фиброза, за напреднала фиброза и за цироза [3]. VTQ е с AUROC 0.88 за F≥2 със стойност 1.34 m/s и с AUROC 0.93 при cut-off 1.87 m/s за цироза [104]. pSWE – ElastPQ е с добра предиктивна стойност за сигнификантна фиброза и цироза, с AUROC 0.94 за F≥2 със стойност 6.99 kPa и с AUROC 0.89 за цироза при cut-off 9.00 kPa. Фиброзата и възпалителната активност сигнификантно корелират с измерванията на ЧП при ElastPQ [105].

2D-SWE също е с много добра диагностична стойност по отношение на сигнификантна фиброза и цироза [3]. За 2D-SWE (SSI) се съобщават следните

cut-off стойности и AUROC: за F≥2: 7.1 kPa (AUROC 0.88), за F≥3: 7.9 kPa (AUROC 0.93) и за F4: 10.1 kPa (AUROC 0.98) [106]. F. Bende et al. изследват 331 пациенти с HBV с 2D-SWE (GE) и предлагат следните cut-off стойности: за F≥2 – 6.7 kPa, за F≥3 – 8.2 kPa и за цироза – 9.3 kPa [107].

8.3 Клинично приложение на SWE при неалкохолна стеатозна болест (NAFLD)

При пациентите с NAFLD корелацията с фиброзата е по-слаба, отколкото при хроничните вирусните хепатити, поради влиянието на стеатозата върху ЧП. Допълнително влияние върху резултатите имат обезитетът – BMI ≥ 30 kg/m^2 и увеличената обиколка на талията (> 90 cm за мъже, > 80 cm за жени) [1,2,3,41].

Чрез SWE може да се изключи напреднала фиброза при NAFLD и да се определи кои пациенти имат нужда от допълнителна оценка на фиброзата. Наличието на F2-F4 е най-важният прогностичен фактор за усложнения, свързани с чернодробната болест, и за леталитет при NAFLD. Определянето на сигнификантна и на авансирала фиброза при NAFLD чрез неинвазивни методи е по-малко точно, отколкото с ЧБ [1,2,41].

ТЕ за оценка на NAFLD е изследвана в много проучвания. Ограниченията, свързани с обезитет, донякъде се преодоляват с XL сондата. Последната се използва при SCD > 3.4 cm и III клас обезитет (BMI ≥ 40 kg/m^2). ТЕ е с по-добра приложимост за установяване на цироза, отколкото за сигнификантна фиброза [2,3,41]. Метаанализ на 1047 пациенти с NAFLD показва, че ТЕ е със следната диагностична точност за установяване на: F≥2 – 79% чувствителност и 85% специфичност, F3 – 75% чувствителност и 82% специфичност, и F4 – 92% чувствителност и 92% специфичност [108]. V. Wong et al. сравняват ТЕ с ЧБ при 246 пациенти и установяват, че AUROC за F≥3 и за F4 са 0.93 и 0.95, а cut-off от 7.9 kPa има специфичност, чувствителност, негативна и позитивна предсказваща стойност за F≥3 съответно 91%, 75%, 52% и 97%. Авторите съобщават, че ЧП не се влияе от стеатозата, възпалението и BMI при изследваните от тях пациенти [109]. Същият авторски колектив изследва ЧП чрез XL и M сонда, като установява, че резултатите от измерванията с двете сонди имат добра корелация помежду си (r=0.95). Стойностите, измерени с XL сондата, са по-ниски с 1.5 – 2 kPa. Двата вида сонди са с 90% чувствителност и 90% специфичност за изключване и потвърждаване на сигнификантна фиброза, на напреднала

фиброза и на цироза, като стойностите за M сондата са: 5.8 и 9.0 kPa (F≥2), 7.9 и 9.6 kPa (F3), и 10.3 и 11.5 kPa (F4), а за XL сондата са: 4.8 и 8.2 kPa (F≥2), 5.7 и 9.3 kPa (F3), и 7.2 и 11.0 kPa (F4) [110].

pSWE – VTQ е метод, за който се съобщава, че при cut-off > 1.10 m/s може да разграничи пациенти с NAFLD от тези с NASH, като стойностите за напреднала фиброза (F≥3) и цироза (F4) са: 1.77 m/s и 1.9 m/s [111]. Метаанализ на 723 пациенти с NAFLD от 7 клинични проучвания демонстрира, че VTQ (ARFI) има чувствителност 80.2% и специфичност 85.2% за сигнификантна фиброза [112]. D. Roccarina et al. сравняват pSWE – ElastPQ с TE при 319 пациенти с NAFLD и съобщават, че оптималните cut-off стойности за отделните фиброзни стадии са по-ниски при ElastPQ спрямо TE (ElastPQ - F≥2: 6.8 kPa, F≥3: 8.2 kPa, F4: 12.5 kPa; TE - F≥2: 7.9 kPa, F≥3: 10.1 kPa, F4: 13.2 kPa). Сравнявайки ElastPQ с TE, методът има същата диагностична стойност за сигнификантна фиброза (AUROC 0.885 vs. 0.810) и по-висока за напреднала фиброза (AUROC 0.927 vs. 0.878), и за цироза (AUROC 0.992 vs. 0.935) [113].

Клинично проучване (C. Cassinotto et al.) сравнява трите вида SWE при пациенти с NAFLD. Всички методи имат сходна приложимост за диагностициране на сигнификантна фиброза и цироза, като само за F≥2 2D-SWE е с по-добра диагностична стойност от VTQ (AUROC 0.89 vs. 0.84, p=0.004). Cut-offs за 2D-SWE (SSI) и TE при стадиране на фиброзата са с чувствителност ≥ 90%, като стойностите са много сходни: 6.3/ 6.2 kPa за ≥F2, 8.3/ 8.2 kPa за ≥F3 и 10.5/ 9.5 kPa за F4 [114].

8.4 Клинично приложение на SWE при алкохолна чернодробна болест (ALD)

При пациентите с ALD, както и при другите нозологични единици, е важно да се открият тези с напреднала фиброза, при които има риск от декомпенсация и развитие на хепатоцелуларен карцином (HCC). Чрез SWE може да се изключи напреднала фиброза, като при интерпретация на резултатите трябва да се имат предвид и допълнително повлияващи ЧП фактори, като продължаваща алкохолна употреба или наличие на остър алкохолен хепатит [1,2,3,41].

TE, както и при другите етиологии, може да разграничи липсваща и нискостепенна фиброза (F0-1) от напреднала фиброза, и цироза [2,3,41]. Систематичен преглед от 2015 г. на 14 клинични проучвания показва, че cut-off

за F≥2 е 7.5 kPa (чувствителност 94 %, специфичност 89 %), за F≥3 – 9.5 kPa (чувствителност 92 %, специфичност 70%), и за цироза - 12.5 kPa (чувствителност 95 %, специфичност 71%) [115]. AGA също препоръчва cut-off 12.5 kPa за диагностициране на цироза с ТЕ [86]. Различни клинични проучвания изследват влиянието на алкохолния прием и съответно – на абстиненцията върху ЧП. E. Gelsi et al. съобщават за сигнификантно намаляване на стойностите на ЧП, измерена чрез ТЕ при абстиненция – на осми ден след прекратяване на алкохолната употреба ЧП намалява с 41.7%, а на ден 60-ти – с 66.7% [116]. Намаляването на ЧП е асоциирано с понижението на AST. Проучване на S. Mueller et al. показва, че при изключване на пациенти с AST>100 IU/l AUROC за диагностициране на цироза чрез ТЕ се повишава от 0.921 на 0.945 [117]. J. Trabut et al. представят данни, които показват, че преустановяването на алкохолната употреба за 7 дни води до средно намаление на ЧП, измерена с ТЕ от 7.2 на 6.1 kPa. Авторите съобщават и за сигнификантна разлика в стойностите на ЧП спрямо AST над и под 100 IU/l [118]. Клинично проучване от 2015 г. сравнява пациенти с ALD и HCV и установява, че cut-offs при двете етиологии за F1-2, за F3 и за F4 са сходни при липса на повишение на AST над 150 IU/l (HCV: 5.1 kPa, 9.0 kPa и 11.9 kPa; ALD: 4.9 kPa, 8.1 kPa и 10.5 kPa) [119].

За приложението на pSWE и 2D-SWE при ALD има единични проучвания. Според F. Liu et al. чрез pSWE – VTQ може да изключи напреднала фиброза и цироза, а също и да се разграничи F0-1 (1.38 ± 0.33 m/s) от сигнификантна фиброза (1.49 ± 0.30 m/s), от напреднала фиброза (1.76 ± 0.22 m/s) и от цироза (2.28 ± 0.53 m/s) [120]. M. Thiele et al. сравняват ТЕ с 2D-SWE при 199 пациенти с ALD и определят cut-offs при ТЕ и 2D-SWE съответно - 9.6 kPa и 10.2 kPa за F≥2, а за цироза 19.7 kPa и 16.4 kPa. NPV е по-висока от PPV и за двата вида еластография [121].

8.5 Клинично приложение на SWE при автоимунни чернодробни заболявания: автоимунен хепатит (AIH), първичен склерозиращ холангит (PSC) и първичен билиарен холангит (PBC)

Най-малко данни за приложението на SWE има при тази група хронични чернодробни заболявания [1,2].

J. Hartl et al. изследват ЧП с ТЕ при 34 пациенти с AIH, като установяват добра корелация с хистологичния стадий фиброза (r=0.611, p<0.001). AUROC е

0.95 за цироза с cut-off 16.0 kPa, като измерванията са зависими от активността на заболяването и затова предлагат еластографията да се провежда след поне 6-месечен период на имуносупресивна терапия [122].

При PSC TE е метод, който добре корелира с фиброзата, като може да разграничи F0-1 от напреднала фиброза и е с най-висока диагностична точност за цироза (AUROC 0.88). Висока изходна чернодробна плътност или повишаваща се във времето е с лоша прогноза – смърт, необходимост от трансплантация, чернодробна енцефалопатия, асцит, варикозно кървене или развитие на карцином. Доминантни стриктури с интрахепатална билиарна дилатация компрометират провеждането на еластография, тъй като има независимо от фиброзата повишаване на ЧП [2,123].

Клинично проучване с 85 пациенти (31 AIH, 26 PBC, 16 PSC и 3 PSC/AIH, и 9 PBC/AIH overlap синдром) изследва приложението на ARFI при пациенти с автоимунни чернодробни болести. ARFI корелира добре със степента на фиброза при AIH, PSC и overlap синдромите. Стойностите зависят от билирубина и AST, но не и от възрастта, BMI или дълбочината на измерването. Cut-off 2.04 m/s за цироза (Ishak F > 5) има чувствителност 90% и специфичност 74.7% (AUROC 0.872) [124].

Друго клинично проучване изследва ElastPQ при пациенти с AIH и PBC. При 49 пациенти с AIH cut-off 4.47 kPa е с чувствителност 93.6% и специфичност 44.4% за сигнификантна фиброза, а cut-off 9.28 kPa е с чувствителност 63.6% и специфичност 86.8% за цироза. При 41 пациенти с PBC cut-off 5.56 kPa има чувствителност 81.8% и специфичност 73.3% за F≥2, а cut-off 6.04 kPa е с чувствителност 100% и специфичност 81.6% за напреднала фиброза. ElastPQ е с AUROC 0.77 за сигнификантна фиброза и AUROC 0.81 за цироза, като AUROC кривите са по-високи от тези при APRI и FIB-4 [125].

Представените данни за приложението на трите вида SWE при различни етиологични групи показат, че резултатите от един вид еластография не могат да се сравняват директно с тези от друг вид. EASL-ALEH, EFSUMB и WFUMB съобщават, че праговите стойности от един вид еластография не може да се използват за друг вид SWE, нито да се екстраполират от една етиологична група към друга [1,2,3,41].

Изложените данни за приложението на SWE при различните ХЧЗ демонстрират, че най-добре е проучено използването на еластографските методи при пациенти с хронични вирусни хепатити, и то най-вече при ХХС. Мястото на SWE при останалите етиологични групи (NAFLD, ALD, AILD) е все още слабо дефинирано и са нужни още клинични проучвания за определяне на точността на методи за стадиране на фиброзата при тях. Освен това, данните относно приложението на SWE са предимно за TE, като другите два вида еластографии (pSWE, 2D-SWE) са по-слабо проучени. В България, до момента, са представени данни само за приложението на TE при пациенти над 18-годишна възраст, като липсват проучвания за използването на другите два вида SWE при ДЧЗ.

8.6 Клинично приложение на SWE за оценка на порталната хипертония (ПХ)

Порталната хипертония, съпътстваща напредналите стадии на фиброза и цирозата, е основна причина за поява на усложнения като асцит, енцефалопатия и кървене от варици. Стандарт за нейното определяне е Hepatic venous pressure gradient (HVPG), който със стойност над 10 mmHg дефинира клинично значима портална хипертония (КЗПХ), която е с риск за развитие на варици, а HVPG ≥ 12 mmHg повишава риска от кървене от варици [1,2,3,41,126,127].

Поради инвазивността на HVPG за определяне на порталното налягане (ПН), се търсят други неинвазивни сурогатни методи. TE и HVPG имат корелационен коефициент 0.55 – 0.86. Въпреки, че измерването на ЧП не може да достигне точността на HVPG, метаанализ доказва, че TE има AUROC 0.93 за КЗПХ. Повечето клинични проучвания са проведени при пациенти с вирусна и алкохолна етиология. При нелекувани пациенти с HCV-цирози ЧП > 20-25 kPa е с висока специфичност за КЗПХ, а при пациенти, постигнали SVR, КЗПХ има при ЧП > 20 kPa. Известно е, че ЧП намалява след постигане на SVR, като това намаление не е задължително да води до намаляване на ПХ и е необходимо клинично проследяване, независимо от ЧП [1,2,3,27,41,128-130].

Високите стойности на ЧП имат сигнификантна корелация с наличието и размера на вариците (езофагеални, гастроезофагеални, стомашни), като AUROC е между 0.78 и 0.84. За да се увеличи предиктивната стойност на неинвазивните методи за оценка на ПХ и вариците, към ЧП се добавя и броят на

тромбоцити – при ЧП < 20 kPa и тромбоцити > 150 G/L има много малък риск вариците да са високостепенни (ВХ ст. III-IV) и да се нуждаят от лечение. Тези критерии са заложени в Baveno VI консенсус за ПХ. Baveno VI критериите имат чувствителност 87% и NPV 98%, като точно идентифицират 98% от пациентите, които могат да избегнат провеждането на горна ендоскопия, без това да крие риск за кръвоизлив. Тези критерии спестяват 21% от ендоскопските изследвания. Чрез своето разширение – Expanding The Baveno VI criteria, се либерализират стойностите на ЧП < 25 kPa и тромбоцити > 110 G/L, и се откриват почти всички пациенти с необходимост от терапия на вариците (с много нисък риск за пропускането им <5%), така се спестяват 40% от ендоскопиите [1,2,3,41,131-133].

A. Colecchia et al. правят ретроспективен анализ на 498 пациенти с компенсирана напреднала чернодробна болест, при които са измерени чернодробната плътност (ЧП) и плътността на слезката (ПС) с ТЕ, изследвани са тромбоцитите и е проведена горна ендоскопия. ЧП, ПС, тромбоцитите и Child-Pugh скорът са независими предиктори за наличието на високостепенни варици. Добавяйки към Baveno VI критериите (ЧП < 20 kPa и тромбоцити > 150 G/L) и ПС < 46 kPa, се установява, че вероятността за пропускане на пациенти с високостепенни варици е 0% [134].

II. Ултразвукови методи за оценка на стеатозата

1. Ултразвукова оценка на стеатозата в B-mode

УЗ като неинвазивен и широко достъпен метод, е и първи избор за неинвазивна оценка на стеатозата. Последната води до повишаване на ехогенността на чернодробния паренхим спрямо тази на бъбрека, лоша визуализация на съдове, билиарни канали, диафрагма и дорзални сегменти на черния дроб [135]. Проучване на S. Saadeh et al. показва чувствителност 100% и PPV 62 % за установяване на стеатоза > 33% чрез B-mode абдоминална ехография [136]. B. Palmentieri et al. изследват чернодробни заболявания с различна етиология чрез ЧБ и чрез B-mode УЗ, като последният има 91% чувствителност, 89% специфичност, 89% NPV и 94% PPV за наличието на стеатоза [137]. Чувствителността на метода намалява значително при стеатоза ≤ 30% [138]. УЗ диагностицира по-добре макровезикуларна, отколкото

микровезикуларна стеатоза (чувствителност 61 % и специфичност 100% vs. чувствителност 43% и специфичност 73%). УЗ B-mode има няколко ограничения като метод за оценка на чернодробната стеатоза: зависи от опита на оператора, от класа на ехографската машина, не може да оценява количествено стеатозата и малки промени в нея [135,139].

2. Контролиран атенюационен параметър: CAP - Controlled attenuation parameter (FibroScan, Echosens)

CAP е неинвазивна технология за количествена оценка на стеатозата, свързана с УЗ атенюация. Тя е заложена във FibroScan заедно с ТЕ. Обхватът на метода е от 150 до 400 dB/m, като са необходими 10 валидни измервания за точен резултат [1,2,41,135]. W. Wong et al. предлагат за точни резултати да се използва IQR < 40 dB/m [140]. При изследване на 115 пациенти чрез CAP и чрез хистология се установява сигнификантна корелация на CAP със стеатозата (r = 0.81, p<0.00001). AUROC за диагностициране на стеатоза > 10% е 0.91, а за стеатоза > 33% - 0.95 [141]. Метаанализ на 11 кохорти установява AUROC за S≥1 (> 10%) – 0.85, за S≥2 (> 33%) – 0.88 и за S≥3 (> 66%) – 0.87, като cut-off стойностите за S≥1, S≥2, S≥3 са съответно 232.5 dB/m, 255 dB/m и 290 dB/m [142]. S. Petta et al. изследват пациенти с NAFLD и установяват, че CAP > 300 dB/m може да води до повишаване на ЧП, независимо от фиброзата, и до погрешна интерпретация на стадия на фиброзата, особено при пациенти с F0-2 [143].

3. Хепаторенални индекси – HRI, EchoLevel

Стеатозата води до повишаване на атенюацията на ултразвука в черния дроб спрямо десния бъбрек и разликата в отслабването на УЗ в двата органа може да се използва за количествена оценка на стеатозата. Измерването на EchoLevel и определянето на HRI е нов образен клиничен метод. Изследването се провежда с конвексен трансдюсер, като ROI са овални с размер 1-2 cm и се позиционират в черния дроб и кортекса на десния бъбрек, в хомогенни зони, без жлъчни и кръвоносни съдове. Измерванията се осъществяват на еднаква дълбочина в двата органа – между 2 и 7 cm под капсулата, като може да се измерят субкостално в дясна медио-клавикуларна линия или латерално – в десни интеркостални пространства (9-12 междуребрие). EchoLevel (EL) измерва

средната стойност на интензитета в пиксели в ROI. EL се измерва в -dB и е линеарен на интензитета. Нула (0) dB е равно на максимум интензитет, т.е. бяло със сива скала 255. Минимум интензитет е равно на -99 dB или черно със сива скала нула (0). Хепатореналните индекси се изчисляват като разлика или съотношение между EL на черния дроб и десния бъбрек: HRI-diff (EL Liver – EL Kidney) и HRI-ratio (EL Liver / EL Kidney) [144].

Единични клинични проучвания изследват клиничното приложение на HRI за диагностициране и количествена оценка на стеатозата. H. Von Volkmann et al. установяват, че при пациенти с NAFLD HRI-diff е сигнификантно по-висок, отколкото при здравите контроли – 6.2 dB vs. 1.97dB (p=0.012), а HRI-ratio е сигнификантно по-ниско – 0.9 dB vs. 1.01 dB (p<0.0001) [144]. В друго клинично проучване HRI се измерва чрез DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) образи от архива на апарата PACS (picture archiving and communication system), при което се установява, че HRI ≥ 1.34 е с 92% чувствителност и 85% специфичност за откриване на стеатоза > 5% (NPV 94%, PPV 79 %) [145].

4. Коефициент на атенюация – attenuation coefficient (ATT)

Коефициентът на атенюация (ATT) е нов диагностичен метод за оценка на стеатозата в B-mode. Използват се множество УЗ вълни с различна честота и стеатозата се оценява като разлика в обратно получените сигнали. ATT се измерва в dB/cm/MHz. Измерванията се осъществяват в реално време върху избрана от оператора зона (ROI) – разположена на дълбочина 40 – 100 mm [146, 147].

Методът все още не е добре проучен. N. Tamaki et al. изследват 351 пациенти с хронични чернодробни заболявания чрез ATT и ЧБ. Средната стойност на ATT за различните степени на стеатоза S0, S1, S2 и S3 са съответно 0.55, 0.63, 0.69 и 0.85 dB/cm/MHz, като ATT се повишава с повишаване на степента на стеатоза (p < 0.001). AUROC за S ≥ 1, S ≥ 2, и S ≥ 3 са съответно 0.79, 0.87 и 0.96. Чувствителността и специфичността за S ≥ 1 са 72% и 82%, за S ≥ 2 – 87% и 72% и за S ≥ 3 – 82% и 89% [146]. В друго клинично проучване се сравняват ATT и CAP и се установява еднаква диагностична стойност между двата метода при оценка на стеатоза, като ATT има предимството на B-mode образа и по-добра приложимост при пациенти с подкожна мастна тъкан ≥ 2cm [147].

III. Контрастно-усилена ехография (КУЕ) за оценка на фиброзата

Процесите на фиброгенеза и съдово ремоделиране при хроничните чернодробни заболявания водят до капиляризация на синусоидите, формиране на артерио-венозни (АВ) и порто-венозни (ПВ) шънтове при пациентите с цироза [148]. КУЕ позволява демонстриране на промените в чернодробната хемодинамика, както и индиректна оценка на ПН. Поради развитието на АВ и ПВ шънтове времето за достигане на контрастния агент от чернодробната артерия и порталната вена до чернодробните вени е по-късо при пациенти с цироза спрямо тези без цироза. Времето за достигане на контраста до чернодробната вена (Hepatic Vein Arrival Time – HVAT) е обратно пропорционално на стадия на фиброзата [149].

HVAT се измерва като прозорецът на интерес (ROI) се поставя в дясна или средна чернодробна вена (HV) на 3-5 cm преди конфлуенса с v. cava inferior. За позициониране на съдовете е необходимо Doppler изследване. Измерванията се провеждат интеркостално с конвексен трансдюсер, при нисък механичен индекс 0.08 - 0.1. Най-често се използва втора генерация контрастен агент SonoVue (Bracco, Milan). След инжектиране на контраста, се записва кривата време-интензитет TIC (time-intensity curve) от HV. HVAT представлява времето от инжектирането до трайното повишаване на сигнала в TIC с повече от 10 % от изходния [150, 151].

Измерването на HVAT чрез КУЕ е малко проучен метод. M. Kim et al. показват, че HVAT е сигнификантно по-късо при цироза в сравнение със здрави контроли (13.3 ± 3.2 vs. 30.5 ± 3.3 sec; $p<0.001$). Установява се статистически сигнификантна негативна корелация между HVPG и HVAT ($r = -0.545$; $p<0.001$). HVAT корелира с Child-Pugh score ($r = -0.162$; $p<0.001$) и степента на вариците, като HVAT е сигнификантно по-късо при пациенти с високостепеннни варици, отколкото при пациенти с нискостепенни (10.8 ± 2.0 vs. 14.3 ± 3.5 sec; $p=0.018$) [150]. T. Abbattista et al. покават, че времето за достигане на максимален интензитет в TIC - Time to peak intensity (TPI) при циротици е сигнификантно по-малко от това при нециротици и здрави контроли (40.7 ± 13.7 vs. 49.4 ± 12.8 и 51.2 ± 13.7 sec; $p < 0.05$). Авторите съобщават, че HVAT > 17 sec. е с 91.1%

чувствителност и 93.6% специфичност за изключване на цироза [151]. Други авторски колективи изследват освен HVAT и транзитните времена от чернодробната артерия или порталната вена до чернодробните вени. Y. Shi et al. установяват сигнификантно по-къси HVAT, както и транзитни времена между артерията / порталната вена и чернодробните вени при пациентите с цироза в сравнение с здравите доброволци (21.58 ± 4.18 vs. 29.00 ± 3.81, p<0.0001; 6.74 ± 2.34 vs. 14.34 ± 2.66, p<0.0001; 5.65 ± 3.31 vs. 10.41 ± 3.49, p=0.002) [152]. Y. Goto et al. представят данни за сигнификантно по-късите slope градиенти на порталната вена в TIC при F2/F3 и цироза спрямо F0/1 [153].

IV. Серумни биомаркери за оценка на фиброзата

Серумните биомаркери са неинвазивни методи за оценка на фиброзата, стремящи се да преодолеят недостатъците на чернодробната биопсия – евтини (за непатентованите), лесно приложими в ежедневната клинична практика, широко достъпни, с добра интерлабораторна възпроизводимост (>95%), с минимално ниво на „sampling error" и липса на дискордантност в интерпретацията [1,154 – 157].

Серумните маркери за оценка на чернодробната фиброза се разделят на директни и индиректни. Индиректните включват тестове, използвани в клиничната практика за откриване на промените, свързани с чернодробната функция. Такива са: ALT, AST/ALT, APRI (AST, тромбоцити), Forns индекс (възраст, тромбоцити, холестерол, GGT), FIB-4 (възраст, тромбоцити, AST и ALT), FibroIndex (AST, тромбоцити, гама-глобулин), HepaScore (възраст, пол, билирубин, GGT, алфа-2-макроглобулин, хиалуронова киселина), FibroTest®/FibroSure® (хаптоглобин, алфа-2-макроглобулин, аполипопротеин A1, GGT, билирубин, ALT, пол, възраст) и FibroMeter (алфа-2-макроглобулин, ALT, AST, GGT, протромбинов индекс, урея, тромбоцити, пол, възраст). Тези маркери не са специфични за чернодробно увреждане, поради което са наречени „индиректни". С развитието на познанията за процеса на чернодробната фиброгенеза, са индентифицирани разтворими протеини, които се използват като „директни" серумни маркери. Те включват екстрацелуларни матриксни компоненти – хиалуронова киселина, матриксни металопротеинази (MMP1/9) и техните тъканни инхибитори (TIMP1), трансформиращи растежни фактори α и β,

ламинини, колаген тип IV и проколаген тип III. TIMP-1, аминотерминалният пропептид на тип III проколаген (PIIINP) и хиалуроновата киселина са обединени в ELF® (Enhanced Liver Fibrosis) [XI,1,157,158].

Голяма част от серумните маркери са разработени за оценка на фиброзата при пациенти с хроничен хепатит С (в много по-малка степен за хроничен хепатит В, ко-инфекция HCV/HIV, NAFLD и другите ХЧЗ), като те са показали добра приложимост за диагностициране на чернодробна цироза и в по-малка степен на сигнификантна фиброза F≥2, и не могат да служат за разграничаване на ранните стадии на фиброза [1,157,158].

Никой от серумните маркери не е специфичен за чернодробна фиброгенеза и може да интерферира с промени, настъпващи в други органи и системи. Затова интерпретацията на всеки един тест трябва да бъде критична, поради риска от фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати. Пример за това е повишаване на хиалуроновата киселина след нахранване и при пациенти с хронични възпалителни заболявания, напр. ревматоиден артрит. При използването на FibroTest, наличието на хемолиза или синдром на Gilbert може да доведе до фалшиво позитивни резултати, поради намаляване на хаптоглобина или повишаване на билирубина [1,159,160].

Най-често използваните, достъпни и лесни за приложение серумни биомаркери са APRI и FIB-4. Метаанализ от 2011 г. показва, че стойност 0.7 за APRI има 77% чувствителност и 72% специфичност за наличие на сигнификантна фиброза, а стойност 1.0 има 76% чувствителност и 72% специфичност за цироза [161]. За FIB-4 стойности 1.6 и 3.6 имат съответно 93.2% NPV и 90.8% PPV за цироза [162].

Български колектив B. Pencheva et al. представят данни за референтните стойности на ELF, AST/ALT, ARPI, GPRI (GGT, тромбоцити), FIB-4, и Forns Index при 82 здрави доброволци. Авторите установяват сигнификантно по-високи стойности на ELF, APRI и GPRI при мъжете в сравнение с жените. Няма сигнификантна разлика в стойностите на AST/ALT, FIB-4 и Forns index спрямо пола. Установена е силна корелация между възраст и Forns index ($r = 0.781$; $p < 0.001$), както и умерена – между BMI и AST, ALT, INR, APRI, GPRI, и Forns Index [163].

О. Косева в дисертацията си „Серумни маркери за чернодробна фиброза и фиброгенеза (клинично приложение)“ представя разработен от колектива

серумен маркер SOS FS = алфа-2-макроглобулин + хаптоглобин, който е с добри възможности за установяване или изключване на напреднали фиброзни промени при пациенти с хронични вирусни хепатити. При пациенти с HBV SOS FS превъзхожда директния маркер хиалуронова киселина, а също така и APRI [XII].

T. Tada et al. изследват 55 пациенти с ХХС, като сравняват диагностичните възможности на SWE, FIB-4, APRI и Forns index за идентифициране на сигнификантна фиброза при сравнение с хистология. AUROC на SWE за сигнификантна фиброза е 0.94, докато за FIB-4, APRI и Forns index са съответно 0.86, 0.88 и 0.83. Точността на SWE, FIB-4, APRI и Forns index за диагностициране на напреднала фиброза е 90.9%, 76.4%, 74.5% и 67.2%, т.е. SWE е с по-голяма точност от серумните биомаркери [164].

Представените данни в литературния обзор показват, че еластографските методи за оценка на чернодробната фиброза са иновативни и са в развитие. Основните данни за тяхното приложение са за ТЕ, като за другите два вида SWE (pSWE, 2D-SWE) има значително по-малко информация в световната литература и липсват данни в България за точността и за клиничната значимост на методите при пациенти над 18-годишна възраст. Освен това, основната част от клиничните проучвания са за пациенти с ХХС и данните за другите ХЧЗ са ограничени. Директното сравняване на трите вида SWE при различни етиологични групи е проведено само в няколко клинични проучвания в света. Единични са и съобщенията в световната литература за приложението на КУЕ-базираните методи HVAT и транзитното време между чернодробната артерия и чернодробната вена (HA-HVTT) за диагностициране на цироза. От неинвазивните методи за оценка на стеатозата най-много проучвания има за CAP, като за ELs и ATT – те са единични. За последните два метода няма представени данни в страната. При справка в световната литература не се установиха публикации за приложението на Combi-Elasto като метод за комплексна оценка на ДЧЗ (фиброза, стеатоза, активност). Всичко изложено до тук е стимул за настоящия дисертационен труд. Наличието на сигурни доказателства за силна корелация между изследванията чрез неинвазивните физични методи и стадия на ХЧЗ, установени при българските пациенти, би дало важни клинични данни на Гастроентерологията в страната за комплексната оценка на дифузните чернодробни заболявания.

ЦЕЛ

Да се изследва клиничната стойност на физичните методи, основани на ултразвук, за оценка на фиброзата и стеатозата при ХЧЗ.

ЗАДАЧИ

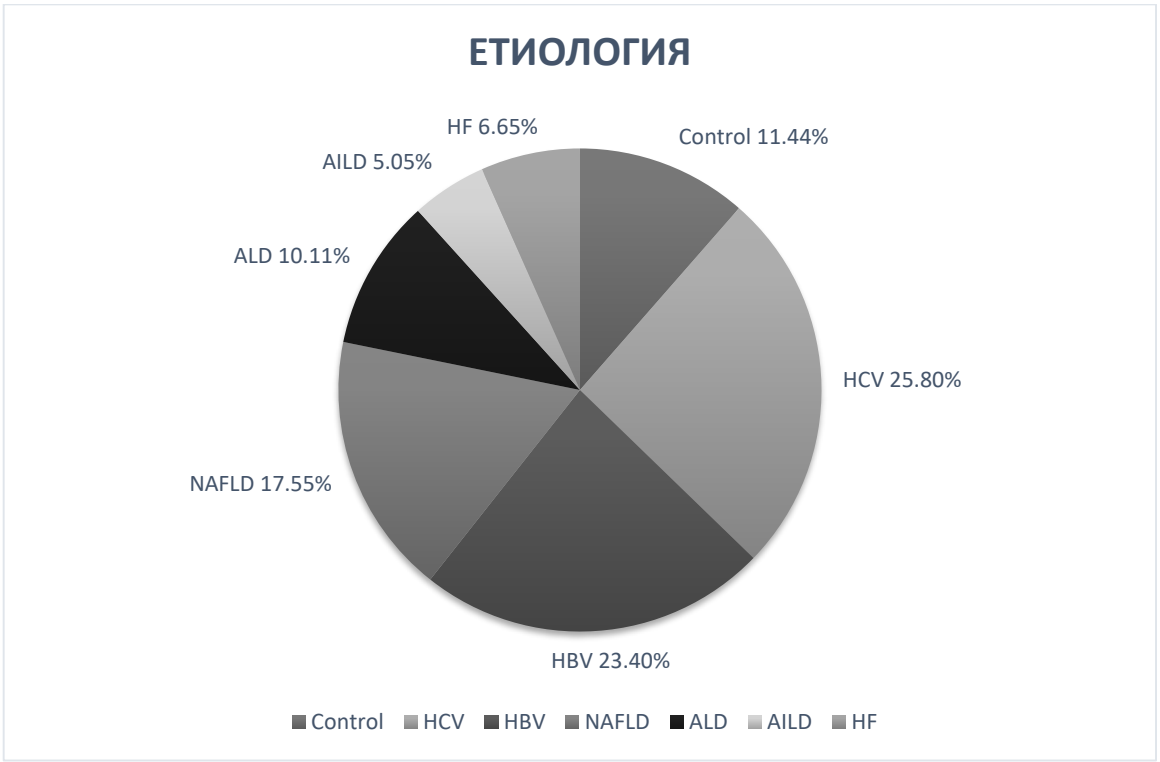
1. Да се определят праговите стойности (cut-offs) за нормална чернодробна плътност при здрави контроли за всеки от трите вида SWE.
2. Да се изследва корелацията между чернодробната плътност, измерена чрез трите вида SWE (TE, pSWE, 2D-SWE), и хистологичния стадий на фиброза при пациенти с ХЧЗ.
3. Да се изследват допълнителни фактори, повлияващи ЧП, независимо от фиброзата.
4. Да се определят праговите стойности (cut-offs) за наличие на сигнификантна фиброза (F≥2) и на цироза (F4) чрез всеки от трите вида SWE при различните ХЧЗ.
5. Да се определят праговите стойности (cut-offs) за изключване на сигнификантна фиброза (F<2) и на цироза (F4) чрез всеки от трите вида SWE при различните ХЧЗ.
6. Да се изследва корелацията между неинвазивните методи за оценка на ултразвуковата атенюация (CAP, HRI-diff, HRI-ratio, ATT) и стеатозата.
7. Да се определят cut-offs за стеатоза при пациентите с NAFLD чрез CAP, HRI-diff, HRI-ratio и ATT.
8. Да се изследва значението на КУЕ за определяне на наличието на цироза и да се определят cut-offs на HVAT и HA-HVTT за цироза.
9. Да се направи междугрупов сравнителен анализ на стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата.

ПАЦИЕНТИ

За периода от юни 2018 г. до декември 2019 г. са изследвани общо 333 пациенти с дифузни чернодробни заболявания и 43 здрави доброволци, 234 мъже и 142 жени, на средна възраст 52.40 години (19-88 години). Дисертацията включва 7 групи:

- Здрави контроли – **група Control**
- Пациенти с хроничен вирусен хепатит С – **група HCV**
- Пациенти с хроничен вирусен хепатит В – **група HBV**
- Пациенти с неалкохолна стеатозна болест – **група NAFLD**
- Пациенти с алкохолна чернодробна болест – **група ALD**
- Пациенти с автоимунни чернодробни заболявания – **група AILD**
- Пациенти със застойна сърдечна недостатъчност – **група HF**

Графично разпределението на групите по етиология се представя по следния начин *(Фиг. 2)*:



Фиг. 2. Разпределение на групите по етиология

Групата HCV включва и 6 пациенти с ко-инфекция HBV/HCV, т.е. са HBsAg (+) и anti-HCV (+), като при всички тях се провежда терапия с NUC.

Изключени са пациенти с екстрахепатална холестаза, със значително повишени аминотрансферази (≥ 5хГРГ) и пациенти с огнищни лезии, с изключение на хемангиоми.

Отделно е представено пилотно проучване на група пациенти, при които е проведена контрастно-усилена ехография (КУЕ) за оценка на наличието или липсата на цироза. В него са включени 12 пациенти, при които са измерени времето за достигане на контрастна до чернодробна вена - HVAT (Hepatic Vein Arrival Time), и тразитното време между чернодробната артерия и чернодробна вена – HA-HVTT = HVAT – HAAT (Hepatic Artery Arrival Time).

1. Група Control

Групата включва 43 души на средна възраст 36.24±16.03 г., 25 жени и 18 мъже. Подборът им като контроли е въз основа на анамнестични, клинико-лабораторни и ехографски данни за липса на чернодробна болест или системно заболяване.

Здравите доброволци са с: нормална абдоминална ехография; липса на придружаващи заболявания; негативни HBsAg, anti-HBc, anti-HCV; BMI<25 kg/m^2; нормални чернодробни ензими; нормален холестерол; триглицериди, пикочна киселина и глюкоза на гладно. Никой от тях не приема алкохол (повече от 20/30 g/дн) или наркотични вещества.

При всички контроли са изчислени APRI и FIB-4.

При 28 здрави доброволци (65.1%) е проведена TE (FibroScan), при толкова е проведена и 2D-SWE (GE) – 28 (65.1%), pSWE (ElastPQ) е осъществено при 14 от тях (30.2%), а Combi-Elasto – при 6 (14.0%). EchoLevels са измерени при 14 доброволци (32.6%), CAP – 28 (65.1%) и ATT 5 (14.0%). При всички здрави доброволци не е провеждана ЧБ.

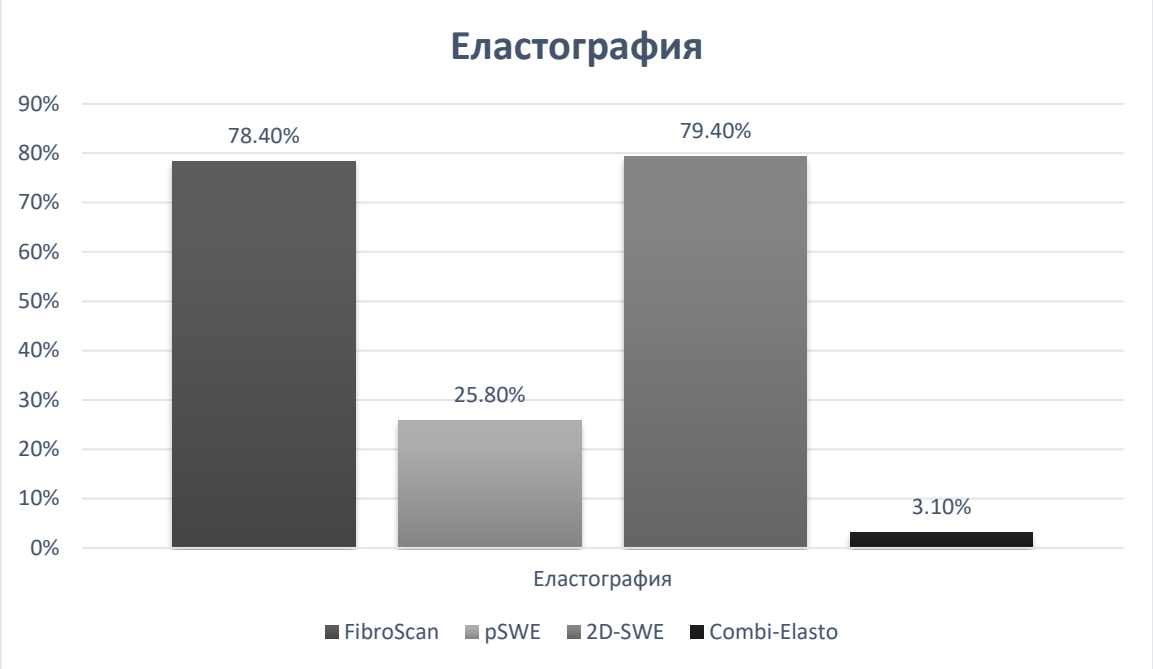
2. Група HCV

Изследвани са 97 пациенти. Средната възраст е 55.73 ± 15.68 г., 56 мъже и 41 жени.

Проведени са трите вида SWE – TE (FibroScan), 2D-SWE (GE) и pSWE (ElastPQ), както и комбиниран вид еластография, комбиниращ strain еластография с pSWE (Combi-Elasto). Оценена е и стеатозата с CAP, EchoLevel

и АТТ. Изчислени са два серумни биомаркери APRI и FIB-4 при 91.8% от пациентите.

На *фиг. 3* са представени честотите на изследване чрез всеки от четирите вида еластографии в група HCV. На *фиг. 4* са представени честотите на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група HCV.



Фиг. 3. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група HCV



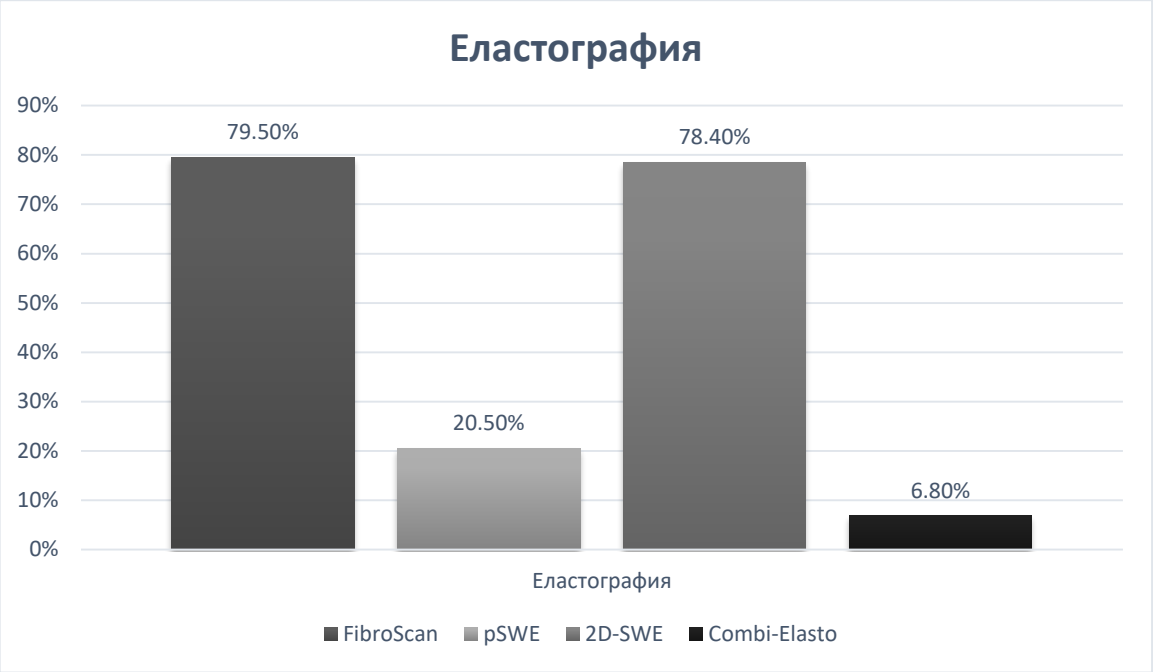
Фиг. 4. Честота на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група HCV

3. Група HBV

Групата включва 88 пациенти – 63 мъже, средната възраст е 52.67 ± 12.37 години. В тази група няма anti-HCV позитивни пациенти (ко-инфекциите с HCV са включени в група HCV).

Проведени са TE (FibroScan), 2D-SWE (GE) и pSWE (ElastPQ), както и Combi-Elasto. Оценката на стеатозата е с CAP, EchoLevel и ATT. Изчислени са два серумни биомаркери APRI и FIB-4 при 97.8% от пациентите.

На *фиг. 5* са представени честотите на изследване чрез всеки от четирите вида еластографии в група HBV. На *фиг. 6* са представени честотите на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група HBV.



Фиг. 5. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група HBV



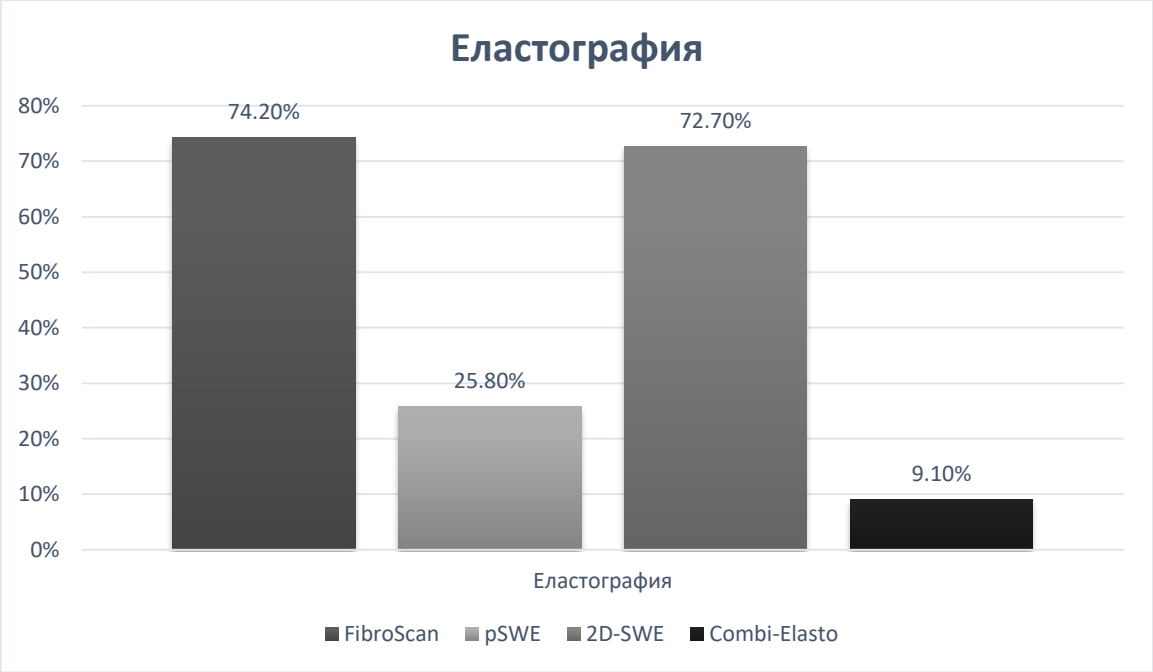
Фиг. 6. Честота на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група HBV

4. Група NAFLD

Изследвани са 66 пациенти с неалкохолна стеатозна болест (NAFLD). Групата включва 47 мъже и 19 жени на средна възраст 49.08 ± 13.35 години.

APRI и FIB-4 са изчислени при 52 пациенти – 78.8%.

На *фиг. 7* са представени честотите на изследване чрез всеки от четирите вида еластографии в група NAFLD. На *фиг. 8* са представени честотите на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група NAFLD.



Фиг. 7. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група NAFLD



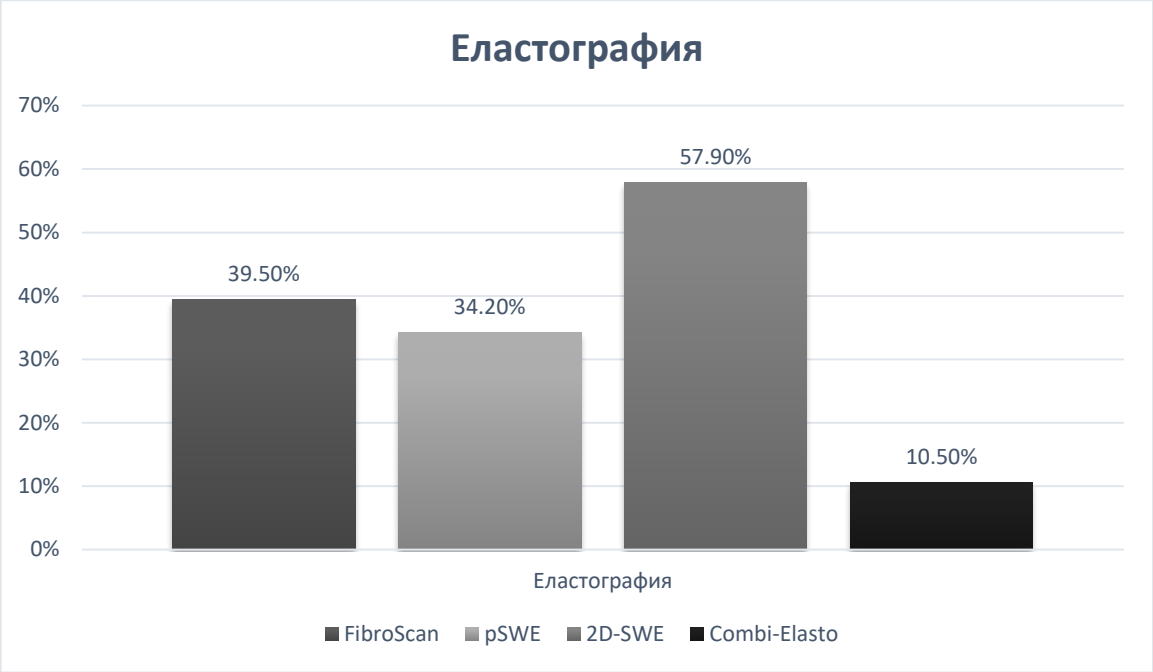
Фиг. 8. Честота на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група NAFLD

5. Група ALD

В група ALD са включени 38 пациенти с алкохолна етиология на чернодробната болест. Пациентите са на средна възраст 52.19 ± 11.68 години, 31 мъже (81.6%) и 7 жени (18.4%).

APRI и FIB-4 са изследвани при 37 пациенти – 97.37%.

На *фиг. 9* са представени честотите на изследване чрез всеки от четирите вида еластографии в група ALD. На *фиг. 10* са представени честотите на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група ALD.



Фиг. 9. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група ALD



Фиг. 10. Честота на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група ALD

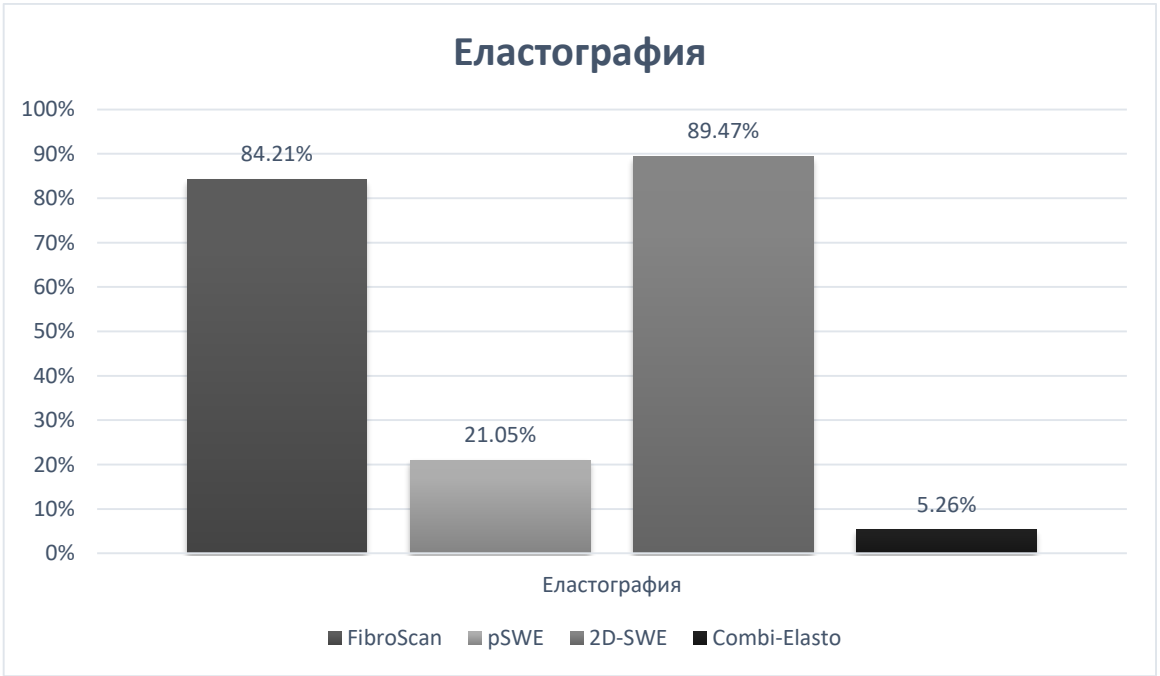
6. Група AILD

В група AILD са включени 19 пациенти с автоимунни чернодробни заболявания. Пациентите са на средна възраст 51.28 ± 14.86 години, превалиращата част са жени – 15 (78.9%). Диагнозата е поставена чрез клинични, биохимични, имунологични (автоантитела и имуноглобулини), образни (магнитно-резонансна холангиопанкреатография, УЗ) и хистологични данни за съответното заболяване.

Пациентите, включени в тази група са: 7 с AIH (автоимунен хепатит), 3 с PBC (първичен билиарен холангит) и с Overlap синдром – 8 с AIH/PBC и един пациент с AIH/PSC (първичен склерозиращ холангит, без доминантни стриктури). Поради малкия брой в отделните подгрупи, групата ще се разгледа общо.

APRI и FIB-4 са изследвани при 18 пациенти – 94.73%.

На *фиг. 11* са представени честотите на изследване чрез всеки от четирите вида еластографии в група AILD. На *фиг. 12* са представени честотите на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група AILD.



Фиг. 11. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група AILD



Фиг. 12. Честота на изследване чрез неинвазивните методи за количествена оценка на стеатозата в група AILD

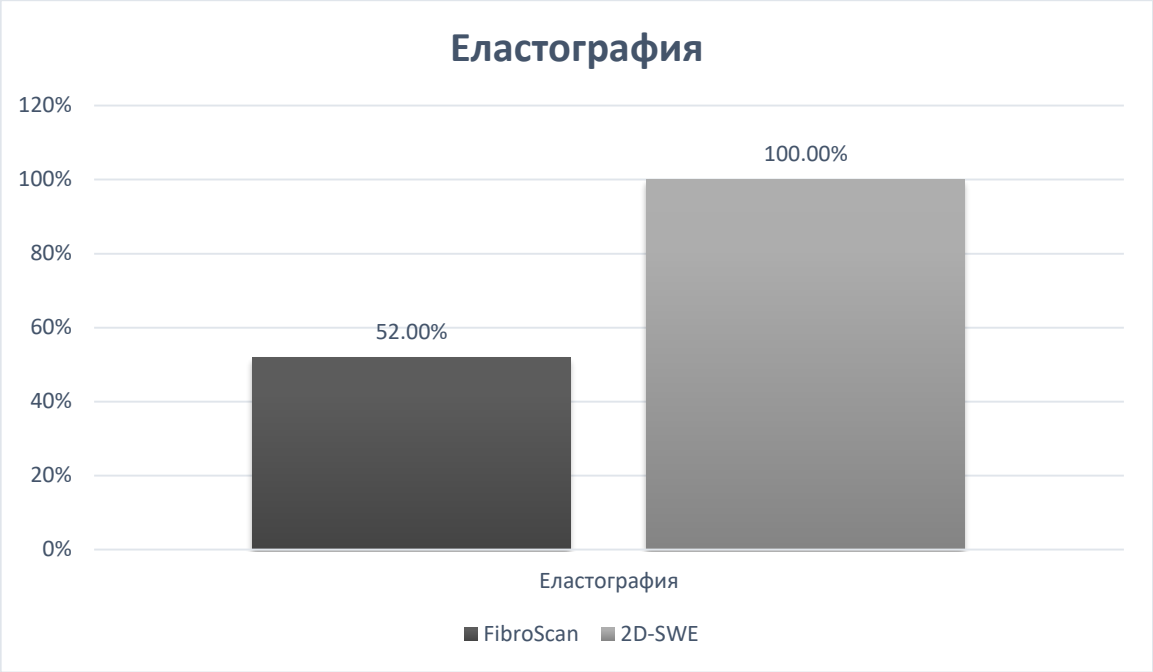
7. Група HF

В група HF са включени 25 пациенти със сърдечна недостатъчност. Пациентите са на средна възраст 73.16 ± 8.00 г., 15 мъже и 10 жени. Пациентите са насочени за неинвазивна оценка на чернодробната плътност от Клиника по Кардиология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“.

Тази група е включена с цел изследване на фактора „чернодробна конгестия“ и влиянието му върху ЧП. При тези пациенти не е провеждана чернодробна биопсия.

При всички пациенти са калкулирани APRI и FIB-4.

На *фиг.13* са представени честотите на изследване чрез еластографските методите в група HF – TE (FibroScan) и 2D-SWE.



Фиг. 13. Честота на изследване чрез съответния вид еластография в група HF

8. Пациенти, изследвани чрез КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT

В изследването на КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT са включени 12 пациенти – 4 жени и 8 мъже, от които седем са с цироза и пет – без цироза. Проучването е направено за период от 1 месец (октомври – ноември 2019 г.). Средната възраст за пациентите с цироза 54.00 ± 11.23 г., а на тези без цироза – 50.80 ± 18.59 г. При всички пациенти е проведена КУЕ и са изчислени HVAT (sec.) и HA-HVTT (sec.). Етиологията при пациентите е различна – хронични вирусни хепатити (HBV, HCV), алкохолна чернодробна болест (ALD), неалкохолна стеатозна болест на черния дроб (NAFLD), overlap AIH/PBC, както и смесена етиология. Един от пациентите без цироза е със Синдром на Gillbert.

При всички пациенти са изчислени HVAT, HA-HVTT, APRI и FIB-4.

МЕТОДИ

Всички изследвания чрез физичните методи, които са обект на дисертационния труд, са проведени в Катедра по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“, Медицински университет – София.

1. Лабораторни изследвания

Лабораторните изследвания са осъществени в Клинична лаборатория, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“, с началник д-р А. Бедран.

2. Вирусологични изследвания

Вирусологичните изследвания са проведени в Лаборатория по микробиология и вирусология към УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ”, с началник доц. Р. Вачева - Добревска, вирусолог Б. Асенова и биолог М. Четирска.

3. Абдоминална ехография

Осъществена е чрез: Philips IU 22, GE LOGIQ S8, GE LOGIQ E9, Hitachi Arietta 850. Абдоминалната ехография в B-mode е проведена на гладно (поне 4 часа) с описание на:

- черен дроб – контур, дялово съотношение, ехогенност, огнищност, предно-заден размер в ДМКЛ, размер на v. portae и жлъчни пътища
- жлъчен мехур – размер, стени, съдържимо в лумена
- панкреас – размери за глава, тяло, опашка; паренхим, панкреасни канали, огнищност
- слезка – размери, огнищност, v. lienalis, порто-венозни колатерали
- бъбреци – форма, размери, паренхим, дренаж, огнищност
- наличие на асцит

4. Езофагогастродуоденоскопия (ЕГДС)

Чрез ЕГДС (проф. Б. Владимиров, д-р С. Чурчев, д-р Н. Колев, д-р Н. Кашукеева) е направена ендоскопската оценка за белези на портална хипертония – наличие на езофагеални, гастроезофагеални и стомашни варици, както и портална хипертензивна гастропатия (ПХГ). Изследванията са проведени с ендоскопска система Olympus EVIS EXERA III с видеогастроскоп Olympus GIF-HQ190 и ендоскопска система Olympus EVIS EXERA II с видеогастроскоп Olympus GIF-H180J.

5. Перкутанна чернодробна биопсия

За стадиране на вирусните хепатити (чрез METAVIR) и неалкохолната стеатозна болест (чрез SAF), за стадиране на алкохолната чернодробна болест и автоимунните чернодробни заболявания е проведена перкутанна чернодробна биопсия под ехографски контрол (Philips IU 22, GE LOGIQ E9). Биопсиите са проведени от д-р Т. Комитова и от проф. Й. Генов чрез Tru-cut автоматично биопсично устройство с инструменти 16-18G. Хистологичното стадиране и градиране е извършено в Отделение по патологична анатомия, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“, с началник д-р Иван Терзиев.

Чернодробната биопсия е проведена при пациенти на гладно (поне 8 часа) при следните лабораторни параметри: Hb (хемоглобин) ≥ 100 g/l, Plts (тромбоцити) ≥ 50 G/l, ПИ (протромбинов индекс) ≥ 50 %. Всички биопсии са извършени максимум 1 година преди неинвазивната оценка (2 дни – 12 месеца). При пациентите с категорични клинични, лабораторни, ехографски и ендоскопски данни за чернодробна цироза не е провеждана биопсия.

6. Серумни биомаркери за фиброза – APRI и FIB-4

За неинвазивна оценка на фиброзата са използвани два серумни биомаркера – APRI и FIB-4. Първият се изчислява, използвайки AST и тромбоцити (Plts), а вторият – AST, ALT, Plts и възраст (age). Използвани са следните калкулатори и формули:

APRI: https://www.mdcalc.com/ast-platelet-ratio-index-apri

APRI = (AST in IU/L) / (AST Upper Limit of Normal in IU/L) / (Platelets in 10^9/L)

FIB-4: https://www.mdcalc.com/fibrosis-4-fib-4-index-liver-fibrosis

FIB-4 Score = (Age*AST) / (Platelets*√(ALT))

7. Чернодробна еластография

За оценка на чернодробната плътност в този дисертационен труд са използвани четири вида еластографии:

- Транзиентна еластография (TE) – FibroScan (EchoSens) – GE LOGIQ S8, FibroScan 530 Compact
- pSWE – ElastPQ (Philips IU 22)
- 2D-SWE – 2D-SWE.GE (LOGIQ S8 и LOGIQ E9, General Electric)

- Combi-Elasto – комбинира два вида еластографии: pSWE + strain хистограма, в ехографски апарат Hitachi Arietta 850

Всички видове еластографии са осъществени по *стандартизиран протокол*:

- Пациентът не е приемал храна за поне 4 часа, в покой за 10-20 мин.
- Позиция: легнал по гръб с отведена над главата дясна ръка, за подобряване на акустичния прозорец – леко лява латерална позиция.
- Измерванията се правят в десния чернодробен дял, интеркостално, при добър акустичен прозорец (без сенки от ребра).
- Трансдюсерът се разполага перпендикулярно на чернодробната капсула.
- ROI се позиционира на 1.5 – 2 cm под капсулата на черния дроб, като дълбочината на измерванията е не повече от 6.0 – 7.0 cm от трансдюсера.
- При позициониране на ROI се избягват големи съдове, жлъчни канали или фокални промени (за pSWE, 2D-SWE).
- Дишането се задържа в експириум.
- Резултатите се представят чрез Young's модул (kPa) при IQR ≤ 30% .
- При всички еластографии резултатът се представя като медиана (Median).

При TE (FibroScan) сондата (M или XL), с която се прави изследването, се определя според хабитуса на пациента. За получаване на точен резултат се осъществяват минимум 10 измервания.

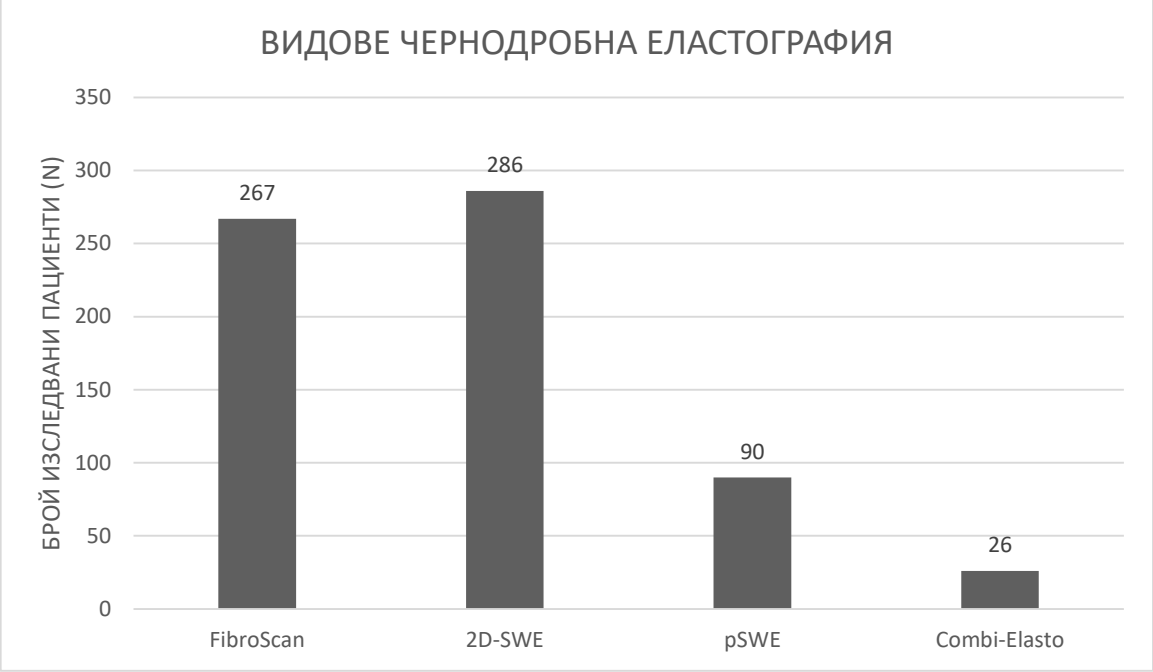
Останалите три вида еластографии се осъществяват с конвексни абдоминални сонди: ElastPQ – C5-1, 2D-SWE.GE – C1-6 и Combi-Elasto – C252. За pSWE и Combi-Elasto са направени по 10 измервания, за 2D-SWE – пет измервания.

При TE, използвайки CAP, симултанно с оценката на фиброзата, се измерва и ултразвуковата атенюация – неинвазивна оценка на стеатозата.

При Combi-Elasto се оценяват едновременно фиброза (LFI, Vs, E, F Index), стеатоза (ATT) и активност (A Index). Описаните индекси са: *LFI* (Liver fibrosis Index), изчислен от strain хистограмата (генерирана от сърдечна дейност); *Vs*: pSWE, измерена в скорост (m/s); *E:* pSWE, измерена в Young's модул (kPa); *F Index*: индекс, отразяващ степента на фиброза, изчислен от комбинацията strain хистограма и pSWE (Vs); *A Index:* индекс, отразяващ степента на възпалителна

активност, изчислен от комбинацията strain хистограма и pSWE (Vs) и *ATT:* атенюационен коефициент, отразяващ степента на атенюация на ултразвука.

На *фиг. 14* са представени проведените изследвания чрез отделните видове еластографии при цялата популация от 376 изследвани лица: 71% са изследвани с FibroScan, 76.1% - с 2D-SWE, 23.9% - с pSWE и 6.9% - с Combi-Elasto.



Фиг. 14. Видове чернодробни еластографии и изследвани лица

8. Ултразвук-базирани методи за оценка на стеатозата

Първи метод за оценка на чернодробната стеатоза е абдоминална B-mode ехография. Сравнително се оценява ехогенността на черния дроб с паренхима на десен бъбрек – хиперехогенен черен дроб. Други ехографски B-mode белези за стеатоза са – намалена видимост на съдове, жлъчни канали, лошо визуализиране на диафрагма и дорзални сегменти.

Използваните количествени методи за оценка на чернодробната стеатоза са CAP (FibroScan), ATT (Hitachi Arietta 850) и EchoLevels (GE LOGIQ S8) с изчисляване на хепаторенални индекси – HRI-diff и HRI-ratio. Всичките методи са базирани на ултразвукова атенюация при стеатоза. CAP се измерва едновременно с измерванията на чернодробната плътност с FibroScan в dB/m. ATT се измерва едновременно с останалите показатели при Combi-Elasto, мерните единици са dB/cm/MHz. ATT има хоризонтален маркер (—) в ROI, който се поставя на 4-10 cm под капсулата на черния дроб, трябва да се избягват

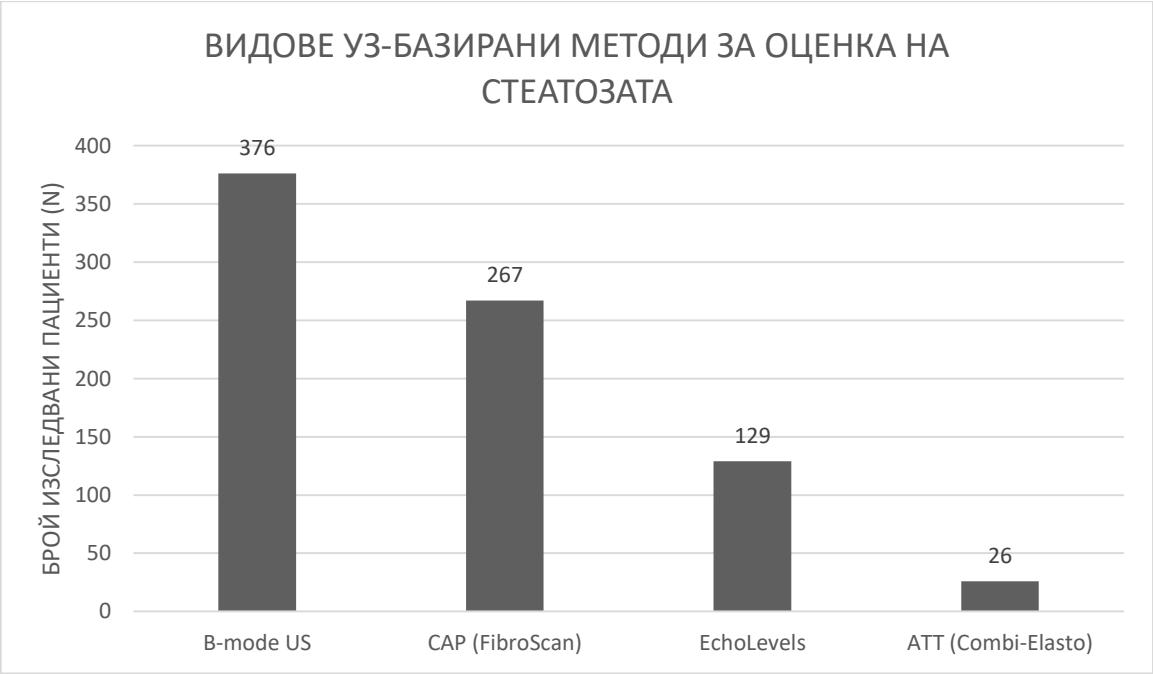
съдове. При тези два метода с повишаване на стеатозата се повишават и стойностите им. При EchoLevel измерването се осъществява самостоятелно, в мерни единици минус децибели (– dB), като колкото по-близо до 0 са стойностите, толкова по-висок е интензитетът и съответно повече стеатозата.

При ELs са направени две измервания – едно в паренхима на десен бъбрек и едно в черния дроб. Методът е осъществен по следния протокол: на гладно (поне 4 часа), позиция на пациента – по гръб с отведена дясна ръка, субкостално, без дишане по време на изследването, ROIs са 1 cm, позиционирани на една и съща дълбочина в паренхима на черен дроб и бъбрек, избягвани са съдове и артефакти. След получаване на резултатите, се изчислени двата индекса – *Hepato-Renal Index difference (HRI-diff) и Hepato-Renal Index ratio (HRI-ratio).* Формулите за изчисляване на индексите са:

$HRI\text{-}diff = EL_{liver} – EL_{kidney}$

$HRI\text{-}ratio = EL_{liver} / EL_{kidney}$

На *фиг. 15* са представени пациентите, изследвани с различните УЗ-базирани методи за оценка на стеатозата, при цялата популация от 376 изследвани лица – 100% са изследвани с B-mode ехография, 71% са изследвани с CAP (FibroScan), 34.3% - с EchoLevels и 6.9% - с ATT (Combi-Elasto).



Фиг. 15. Видове УЗ-базирани методи за оценка на стеатозата и изследвани лица

9. КУЕ-базирани методи HVAT и HA-HVTT

Методите са въведени в съавторство с д-р Р. Митова и изследванията са осъществени в сътрудничество с д-р Р. Митова (Катедра по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ“). КУЕ се провежда на гладно, при пациент, позициониран по гръб с отведена над главата дясна ръка. Изследването е осъществено чрез GE LOGIQ E9, при механичен индекс (MI) 0.08. Проведена е КУЕ с последващ TIC анализ и изчисляване на HVAT и транзитно време на контраста между чернодробната артерия (HA) и дясна или средна чернодробна вена (HV): HA-HVTT = HVAT-HAAT. Позиционират се ROIs в дясна или средна HV на 3-5 cm преди конфлуенса им с v. cava inferior и в HA. Стартира се часовникът на КУЕ, осъществява се т. нар. 10-second lead time – baseline, необходими за записване на базовата линия на TIC. Инжектира се интравенозно контраст 2.4 ml SonoVue (Bracco, Milan) и последващо 10 ml 0.9% NaCl в лява кубитална ямка, през 20G i.v. канюла. Направени са записи на TIC кривите от артерията и вената, като за точно позициониране на маркерите върху търсените съдове е използван dual caliper. Измерени са времената за достигане на контраста (сек.) в артерията (HAAT) и във вената (HVAT), и е изчислено транзитното време между двата съда HA-HVTT = HVAT-HAAT.

10. Ехокардиография

Осъществена е чрез ехографски апарат Philips EPIQ 7 от проф. Е. Кинова, Клиника по Кардиология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ“, по стандартизиран протокол – трансторакална ехокардиография с оценка на сърдечни кухини, левокамерна систолна и диастолна функция, клапен апарат, перикард, както и оценка на наличието или липсата на пулмонална хипертония.

11. Статистически методи

Всички данни са въведени и анализирани чрез статистически пакет *IBM SPSS Statistics 19.* В дисертацията са използвани следните статистически тестове:

Дескриптивен анализ – за класификация на данните и за получаване на обобщените им характеристики, представяне на честотното разпределение по групи (определяне на форма, средни стойности и разсейване). Данните са представени с честотни таблици и графики. Параметрите с нормално

разпределение са представени със средна аритметична стойност със стандартното отклонение (mean±SD), а тези с анормално – с медиана и обхват (median, min - max).

Непараметричен тест на Kolmogorov-Smirnov – за проверка на разпределението за нормалност.

Т-тест за независими извадки (independent-samples t-test) - за проверка на хипотези за различие между **две** независими извадки (1 независима с две нива) при нормално разпределение на зависимата. Зависимата е интервална променлива. Измерването е в средни стойности.

Еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA – Analysis of variance) – за проверка на хипотези за различие между средните аритметични на няколко независими извадки.

Непараметричен тест на Mann-Whitney – за проверка на хипотези за различие между **две** независими извадки (1 независима с две нива) при анормално разпределение на зависимата. Зависимата е ординална или интервална променлива. Измерването е в медиани.

Непараметричен тест на Kruskal-Wallis – за проверка на хипотези за различие между **няколко** независими извадки (1 независима с повече от две нива) при анормално разпределение на зависимата. Зависимата е ординална или интервална променлива. Измерването е в медиани.

Знаковият рангов тест на Wilcoxon – за сравняване на ординални и интервални променливи с анормално разпределение. Измерването е в медиани.

Friedman's test – за проверка на хипотеза за различие между две или няколко извадки (като 1 независима може да е с повече от две нива). Зависимата е ординална или интервална, без нормално разпределение. Измерването е в медиани.

Корелация на Pearson's rho - измерва силата на увеличението или намалението на връзката между две количествени променливи с нормално разпределение, сравняват се средните аритметични стойности.

Рангова корелация на Spearman's rho - измерва силата на увеличението или намалението на връзката между две променливи (ординални или количествени) с анормално разпределени, сравняват се средните рангове (медиани).

Интерпретацията на корелационните коефициенти е следната: 0 – 0.29 – много слаба, 0.30 – 0.49 – слаба, 0.50 – 0.69 – умерена, 0.70 – 0.89 – силна, 0.90 – 1.00 – много силна.

AUROC анализ – за определяне на прагови стойности (cut-offs) с техните чувствително (%) и специфичност (%). Изчислявайки и превалирането на заболяването (%) в изследваните групи, се изчислиха и позитивна (PPV), негативна предиктивна стойност (NPV), както и общата точност на метода (Acc). Използван е следният калкулатор за изчисляването им: https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php

Чрез AUROC анализа са изчислени:

- **Чувствителност (Sensitivity – Se)**: вероятността резултатът от теста да е позитивен, когато изследваният фактор наистина е наличен (истински позитивно ниво - true positive rate).
- **Специфичност (Specificity – Sp)**: вероятността резултатът от теста да е негативен, когато изследваният фактор наистина липсва (истински негативно ниво - true negative rate).
- **Превалиране на фактора (Prevalence – Prev)**: броят позитивни за фактора пациенти към общия брой изследвани пациенти. Превалирането е необходимо за изчисляване на позитивна и на негативна предиктивна стойност, както и на точност на метода.
- **Позитивна предиктивна стойност (Positive predictive value – PPV)**: вероятността изследваният фактор да е наличен, когато тестът е позитивен.

PPV = Sensitivity x Prevalence / Sensitivity x Prevalence + (1-Specificity) x (1 - Prevalence)

- **Негативна предиктивна стойност (Negative predictive value – NPV)**: вероятността изследваният фактор да липсва, когато тестът е негативен.

NPV = Specificity x (1 – Prevalence) / (1 – Sensitivity) x Prevalence + Specificity x (1 - Prevalence)

- **Точност (Accuracy – Acc)**: цялостната вероятност пациентът да е правилно класифициран.

Accuracy = Sensitivity × Prevalence + Specificity × (1 − Prevalence)

РЕЗУЛТАТИ

Клинични характеристики на групите

I. Група Control

В тази група са включени здравите доброволци. Тя ще бъде използвана за определяне на cut-offs на неинвазивните методи за липса на фиброза и стеатоза при здрави хора (F0, S0).

В *табл. 1* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група Control. В *табл. 2* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група Control. В *табл. 3* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група Control. В *табл. 4* са представени средните стойности на комбинирания метод Combi-Elasto в група Control.

Табл. 1. Средни стойности със стандартните отклонения на лабораторни и ехографски характеристики на група Control

Група Control					
	Plts (G/l)	Liver Size (cm)	Uric Acid (µmol/l)	BMI (kg/m^2)	Glu0 (mmol/l)
Mean	**222.22**	**12.78**	**203.60**	**21.31**	**5.08**
SD	63.81	1.69	45.67	3.62	0.27

Медианите на аминотрансферазите са: AST = 18.00 (11 - 29) IU/l и ALT = 16.00 (10 - 34) IU/l.

Табл. 2. Медиани с обхват при APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE

Група Control					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.20**	**0.81**	**3.55**	**4.54**	**3.04**
Min - Max	0.10 – 0.30	0.38 – 1.43	2.50 – 5.50	3.70 – 5.72	2.71 – 4.49

Табл. 3. Средни стойности със стандартното отклонение при CAP, HRI-diff и HRI-ratio

Група Control			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**190.11**	**-3.80**	**1.07**
SD	41.53	2.90	0.06

Табл. 4. Средни стойности със стандартното отклонение при Combi-Elasto

Група Control						
Combi-Elasto	Vs (m/s)	pSWE (kPa)	ATT (dB/cm/MHz)	LFindex	F index	A index
Mean	1.26	4.92	0.57	2.01	0.93	0.93
SD	0.24	1.90	0.06	0.85	0.43	0.21

II. Група HCV

От изследваните 97 пациенти, 7 (8.4%) са със спонтанен клирънс на вируса. 35 пациенти (52.2%) са anti-HBc позитивни и при 6 пациенти (6.6%) е установен позитивен HBsAg. При всички anti-HBc позитивни пациенти HBV-DNA е недетектируема в серума. Всички ко-инфектирани HBV/HCV провеждат терапия с NUC – трима с Tenofovir (TDF) и трима с Lamivudine (LAM), и са с негативна HBV-DNA. Един от пациентите е с маркери за тройна инфекция HCV/HBV/HDV – с негативни репликации за HBV и HDV, на терапия с TDF.

Най-честият генотип е 1b (79.4%), останалите установени генотипове са 3 (10.9%) и 1a (9.7%).

На *табл. 5* и *табл. 6* са представени лабораторните и ехографските характеристики на пациентите. Изчислени са средните стойности на Plts = 185.24 ± 81.50 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в дясна медио-клавикуларна линия (ДМКЛ) = 13.82 ± 1.99 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 36.00 IU/l (13 - 162), ALT = 39.00 IU/l (7 - 194).

Табл. 5. Лабораторни характеристики на група HCV

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	15 / 16.1%
повишена AST < 5хГРГ	38 / 41.8%
повишена ALT < 5хГРГ	37 / 40.7%
тромбоцити < 140 G/L	29 / 31.9%

Табл. 6. Ехографски характеристики на група HCV

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	63 / 67.0%
спленомегалия	39 / 40.6%
v. portae > 13 mm	31 / 32.3%
асцит	9 / 9.4%

Разпределението според фиброзния стадий е следното: F1 – 10.7%, F2 – 28.6%, F3 – 13.1% и F4 – 47.6%. Най-често активността на хепатита е умерена – A2 (44.0%). Сигнификантна фиброза има при 89.3%. Пациентите с чернодробна цироза са стадирани по Child-Pugh и MELD. Според Child-Pugh 84.6% са стадий A, 12.8% са стадий B и 1 пациент (2.6%) е стадий C. Средната стойност на MELD е 10.0 ± 3.37.

При пациентите с чернодробна цироза е проведена ЕГДС – при 71.1% са диагностицирани варици на хранопровода, като при 31.6% (12 пациенти) са установени високостепенни варици. ЕВЛ е осъществено при 7 пациенти. При един пациент има ГЕВ тип 1, при двама – ИСВ тип 1, и при 7 пациенти – ПХГ. Терапия с пропранолол е провеждана при 19 пациенти, като средната доза е 42.63 ± 22.32 mg/дн. Диуретици приемат 19 пациенти (20.4%), като средната доза на фуроземид е 37.5 ± 12.82 mg/дн и на спиронолактон – 71.2 ± 39.33 mg/дн.

При 11.3% от пациентите е диагностициран захарен диабет тип 2, а 23.1% са с повишен LDL и 40.0% - с хипертриглицеридемия. Девет пациенти (9.3%) съобщават за употреба на интравенозни наркотици, а алкохол над 20/30 g/дн употребяват 13.4%.

В *табл. 7* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група HCV. В *табл. 8.* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група HCV. В *табл. 9* са

представени средните стойности на комбинирания метод Combi-Elasto в група HCV.

Табл. 7. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE в група HCV

Група HCV					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D-SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.60**	**1.81**	**8.30**	**8.60**	**6.93**
Min - Max	0.10 - 15.00	0.48 - 29.68	1.60 - 75.00	3.37 - 47.10	2.58 - 23.42

Табл. 8. Средни стойности със стандартното отклонение за CAP, HRI-diff и HRI-ratio в група HCV

Група HCV			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**238.84**	**1.36**	**0.97**
SD	66.58	5.23	0.10

Табл. 9. Средни стойности със стандартното отклонение за Combi-Elasto в група HCV

Група HCV						
Combi-Elasto	Vs (m/s)	pSWE (kPa)	ATT (dB/cm/MHz)	LFindex	F index	A index
Mean	**1.86**	**10.46**	**0.60**	**4.16**	**2.21**	**1.45**
SD	0.21	2.30	0.10	0.45	0.54	0.29

Чрез Mann-Whitney test се установи, че няма статистически значима разлика ($p>0.05$) между стойности (ранговете) за TE, 2D-SWE, pSWE, APRI и FIB-4 по отношение на наличие или липса на ко-инфекция на HBsAg и/или anti-HBc. Чрез Spearman тест се установи, че няма корелация между нивото на HCV-RNA в серума и стойностите на TE, 2D-SWE, pSWE, APRI и FIB-4 ($p>0.05$).

III. Група HBV

Петдесет и двама пациенти (61.2%) провеждат терапия с NUC – 75.0 % с Tenofovir, 9.6% с Lamivudine, 9.6% с Entecavir и 5.8% с Telbivudine. Средната продължителност на прием на NUC е 8.6 ± 1.4 месеца. Няма пациенти на лечение с интерферон.

На *табл. 10* и *табл. 11* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група HBV. Изчислени са средните стойности на Plts = 191.41 ± 83.82 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в ДМКЛ = 13.91 ± 1.98 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 29.00 IU/l (13 - 148), ALT = 32.00 IU/l (11 - 165).

Табл. 10. Лабораторни характеристики на група HBV

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	1 / 1.1%
повишена AST < 5хГРГ	18 / 21.2%
повишена ALT < 5хГРГ	27 / 31.8%
тромбоцити < 140 G/L	19 / 22.1%

Табл. 11. Ехографски характеристики на група HBV

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	52 / 65.9%
спленомегалия	30 / 34.1%
v. portae > 13 mm	23 / 26.1%
асцит	4 / 4.6%

Разпределението според стадия на фиброзата е: F0 – 1.3%, F1 – 14.3%, F2 – 31.2%, F3 – 13.0% и F4 – 40.2%. Най-често активността на хепатита е умерена A2 (46.0%). Разпределението според Child-Pugh е стадий A – 81.3%, стадий B – 15.6% и стадий C – 1 пациент (3.1%). Средната стойност на MELD е 10.47 ± 4.22.

При пациентите с чернодробна цироза е проведена ЕГДС – при 70.0% от тях има варици на хранопровода, като при шест (18.8%) са установени високостепенни варици. ЕВЛ е осъществено при трима. Няма пациенти с ГЕВ или

ИСВ, четирима са с ПХГ. Терапия с пропранолол се провежда при 13 пациенти, като средната доза е 38.57 ± 17.03 mg/дн. Диуретична терапия провеждат 11 пациенти със средни дози на фуроземид 35.00 ± 9.26 mg/дн и спиронолактон 72.73 ± 26 mg/дн.

ЗД тип 2 има при 12.5% (9 пациенти), LDL е повишен при един пациент, един пациент е и с хипертриглицеридемия. Алкохол употребяват 8.3% от пациентите, няма анамнеза за наркотична зависимост при никого в групата.

В *табл. 12* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група HBV. В *табл. 13* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група HBV. В *табл. 14* са представени средните стойности на комбинирания метод Combi-Elasto в група HBV.

Табл. 12. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE в група HBV

Група HBV					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.40**	**1.50**	**6.55**	**7.60**	**5.65**
Min - Max	0.10 - 5.60	0.45 - 14.82	3.40 - 51.30	3.95 - 77.38	2.66 – 74.00

Табл. 13. Средни стойности със стандартното отклонение за CAP, HRI-diff и HRI-ratio в група HBV

Група HBV			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**242.21**	**0.75**	**0.99**
SD	65.01	5.66	0.11

Табл. 14. Средни стойности със стандартното отклонение за Combi-Elasto в група HBV

Група HBV						
Combi-Elasto	Vs (m/s)	pSWE (kPa)	ATT (dB/cm/MHz)	LFindex	F index	A index
Mean	**1.95**	**11.95**	**0.53**	**3.74**	**2.32**	**1.44**
SD	0.59	7.64	0.05	1.18	1.183807	0.36

Чрез Spearman тест се установи, че няма корелация между нивото на HBV-DNA в серума и стойностите на TE, 2D-SWE, pSWE, APRI и FIB-4 при пациентите, които не провеждат терапия с NUC ($p>0.05$).

IV. Група NAFLD

Средният BMI в групата е 34.81±8.37 kg/m^2, 89.6% от пациентите са с обезитет, а 3.4% са с наднормено тегло. Обиколката на талията е над 80/90 cm при 45.5%. ЗД тип 2 имат 30.5%, а от тези без ЗД, инсулинова резистентност с HOMA > 2.5 има при 89.5% (среден HOMA index = 4.99 ± 3.79). Терапията при пациентите със ЗД тип 2 е перорална при 62.5%, инсулинолечение – при 18.8%, и 12.5% от пациентите са на комбинирана терапия. Средната стойност на HbA1c = 6.60 ± 1.95%. При пациентите без ЗД средната стойност на Glu0 (глюкоза на гладно) = 5.65 ± 0.82 mmol/l. АХ имат 68%. При 41.2% от пациентите се наблюдава понижен HDL < 1.0/ 1.3 и 34.3% са с повишени триглицериди. Антилипемични медикаменти (статин, фибрат, монаколин К-фитостатин) приемат 45% от пациентите. Пикочната киселина е увеличена при 75.5% и средната й стойност е 363.68 ± 86.31 μmol/l. Фамилна анамнеза за метаболитен синдром има при 33.4% от пациентите и 4.8% са обременени за чернодробна болест.

В групата има десет пациенти, които са anti-HBc позитивни, с негативна HBV-DNA в серума.

На *табл. 15* и *табл. 16* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група NAFLD. Изчислени са средните стойности на Plts = 239.95 ± 70.69 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в ДМКЛ = 15.09 ± 1.76 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 27.00 IU/l (16 - 98), ALT = 41.00 IU/l (13 - 98).

Табл. 15. Лабораторни характеристики на група NAFLD

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	5 / 8.5%
повишена AST < 5хГРГ	5 / 7.5%
повишена ALT < 5хГРГ	24 / 45.3%
тромбоцити < 140 G/L	6 / 3.8%

Табл. 16. Ехографски характеристики на група NAFLD

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	46 / 86.4%
спленомегалия	11 / 16.7%
v. portae > 13 mm	2 / 3.1%
асцит	0 / 0%

При четирима пациенти има категорични клинични, лабораторни, ехографски и ендоскопски данни за цироза – понижени тромбоцити, албумин; дилатирана v. portae, v. lienalis, спленомегалия и асцит; варици или ПХГ. Разпределението според фиброзния стадий е: F0 – 58.6%, F1 – 6.9%, F2 – 6.9%, F3 – 6.9% и F4 – 20.7%. Стадият при всичките пациенти с цироза е Child-Pugh A. Средният MELD е 8.83 ± 1.72. Стеатозата е разделена на три степени: S1 (≤ 33% стеатоза) – 38.1%, S2 (34 – 66% стеатоза) – 28.6% и S3 (≥ 66% стеатоза) при 33.3%.

При 5 пациенти има варици: ВХ ст. I – трима, ВХ ст. II – един, ВХ ст. III – един, при когото е проведено ЕВЛ и приема пропранолол.

При никого няма анамнеза за наркозависимост или употреба на алкохол над 20/30 g/дн.

В *табл. 17* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група NAFLD. В *табл. 18* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група NAFLD. В *табл. 19* са представени средните стойности на комбинирания метод Combi-Elasto в група NAFLD.

Табл. 17. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE в група NAFLD

Група NAFLD					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.30**	**0.87**	**5.10**	**5.56**	**4.22**
Min - Max	0.10 – 1.70	0.35 – 6.25	2.50 – 59.60	3.79 – 62.50	3.29 – 43.60

Табл. 18. Средни стойности със стандартното отклонение за CAP, HRI-diff и HRI-ratio в група NAFLD

Група NAFLD			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**299.18**	**3.34**	**0.93**
SD	59.59	4.10	0.07

Табл. 19. Средни стойности със стандартното отклонение за Combi-Elasto в група NAFLD

Група NAFLD						
Combi-Elasto	Vs (m/s)	pSWE (kPa)	ATT (dB/cm/MHz)	LFindex	F index	A index
Mean	**1.38**	**6.00**	**0.63**	**3.00**	**1.35**	**1.06**
SD	0.33	2.87	0.10	0.89	0.85	0.29

Чрез Mann-Whitney test се установи, че няма статистически значима разлика ($p>0.05$) между стойности (ранговете) за TE, 2D-SWE, pSWE, APRI и FIB-4 между групите, които са anti-HBc позитивни и anti-HBc негативни.

При анализ на стойностите на CAP, HRI-diff и HRI-ratio между отделните три степени на стеатоза (S1, S2, S3) чрез еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA, се установи, че не се достига сигнификантна разлика в стойностите за трите метода според степента на стеатоза ($p>0.05$), въпреки тенденцията за повишаването им с увеличаване на стеатозата в черния дроб (*Табл. 20*).

Табл. 20. ANOVA анализ за сравняване на стойностите на CAP, HRI-diff и HRI-ratio спрямо степента на стеатоза (S)

ANOVA		
	F	p-value
CAP (dB/m)	1.026	*0.381*
HRI-diff	0.500	*0.623*
HRI-ratio	0.428	*0.664*

V. Група ALD

В тази група 8 от пациентите са позитивни за anti-HBc, като HBV-DNA е негативна в серума и титърът на anti-HBs е между 10-99 IU/ml при четирима, и > 99 IU/ml – при двама.

На *табл. 21* и *табл. 22* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група ALD. Изчислени са средните стойности на Plts = 172 ± 110.21 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в ДМКЛ = 14.92 ± 2.58 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 38.00 IU/l (15 - 166), ALT = 31.00 IU/l (4 - 64).

Табл. 21. Лабораторни характеристики на група ALD

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	11 / 28.9%
повишена AST < 5хГРГ	17 / 45.9%
повишена ALT < 5хГРГ	10 / 27.0%
тромбоцити < 140 G/L	14 / 37.8%

Табл. 22. Ехографски характеристики на група ALD

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	28 / 80%
спленомегалия	18 / 47.4%
v. portae > 13 mm	14 / 36.8%
асцит	8 / 21.6%

По отношения на фиброзния стадий: 25 пациенти (65.7%) са с цироза, а двама от биопсираните мъже са без фиброза – F0. Разпределението по Child-Pugh при пациентите с цироза е: стадий А – 12 (48.0%), стадий В – 6 (24.0%) и стадий С – 7 (28.0%). Средният MELD е 14.68 ± 6.59.

Варици на хранопровода се откриват при 19 пациенти (79.2%), при 8 (42.1%) са установени високостепенни варици и е проведено ЕВЛ. При един пациент са открити ИСВ тип 1, при двама – ИСВ тип 2, и при 3-ма ПХГ. Средната доза пропранолол е 35.71 ± 18.28 mg/дн. Диуретична терапия приемат 13

пациенти (35.1%). Средните дози на фуроземид и спиронолактон са съответно 37.50 ± 12.82 mg/дн и 81.25 ± 35.56 mg/дн.

При 6 пациенти има повишени триглицериди, при пет – повишен LDL, и при пет – ЗД. Всички пациенти употребяват алкохол над 20/30 g/дн, при никого няма анамнеза за наркозависимост.

В *табл. 23* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група ALD. В *табл. 24* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група ALD. В *табл. 25* са представени средните стойности на комбинирания метод Combi-Elasto в група ALD.

Табл. 23. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE в група ALD

Група ALD					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.70**	**2.58**	**16.60**	**12.59**	**7.88**
Min - Max	0.10 – 3.90	0.41 – 14.12	2.80 – 75.00	5.08 – 52.30	2.70 – 36.20

Табл. 24. Средни стойности със стандартното отклонение за CAP, HRI-diff и HRI-ratio в група ALD

Група ALD			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**228.20**	**-1.78**	**1.05**
SD	84.95	7.44	0.19

Табл. 25. Средни стойности със стандартното отклонение за Combi-Elasto в група ALD

Група ALD						
Combi-Elasto	Vs (m/s)	pSWE (kPa)	ATT (dB/cm/MHz)	LFindex	F index	A index
Mean	**2.11**	**14.83**	**0.54**	**3.57**	**2.22**	**1.52**
SD	0.83	11.23	0.10	0.58	1.21	0.41

Чрез Mann-Whitney test се установи, че няма статистически значима разлика (p>0.05) между стойности (ранговете) за TE, 2D-SWE, pSWE, APRI и FIB-4 между групите, които са anti-HBc позитивни и anti-HBc негативни.

VI. Група AILD

Пациентите, включени в тази група са: 7 с AIH (автоимунен хепатит), 3 с PBC (първичен билиарен холангит) и пациенти с Overlap синдром – 8 с AIH/PBC и 1 с AIH/PSC (първичен склерозиращ холангит). Поради малкия брой в отделните подгрупи, групата ще се разгледа общо.

Всички пациенти са HBsAg и anti-HCV негативни. Двама от пациентите в групата AIH/PBC са anti-HBc позитивни с негативна HBV-DNA в серума и са с позитивни anti-HBs.

На *табл. 26* и *табл. 27* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група AILD. Изчислени са средните стойности на Plts = 189.61 ± 87.40 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в ДМКЛ = 14.29 ± 1.91 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 40.00 IU/l (23 - 101), ALT = 35.00 IU/l (19 - 165).

Табл. 26. Лабораторни характеристики на група AILD

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	7 / 38.9%
повишена AST < 5хГРГ	9 / 50.0%
повишена ALT < 5хГРГ	8 / 44.4%
тромбоцити < 140 G/L	5 / 27.8%

Табл. 27. Ехографски характеристики на група AILD

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	13 / 68.7%
спленомегалия	10 / 52.6%
v. portae > 13 mm	4 / 21.1%
асцит	2 / 10.5%

Според стадия на фиброза пациентите са разпределени, както следва: 68.7% са с цироза, 6.3% - F1 и 25% - F0. Разпределението според Child-Pugh при пациентите с цироза е: стадий А – 80%, стадий В – 10% и стадий С – 10%. Средният MELD е 9.8 ± 4.1.

При 10 пациенти се откриват варици на хранопровода, като при половината те са високостепенни. ЕВЛ е проведено при двама. Двама имат и ПХГ. Средната доза пропранолол е 28.57 ± 10.69 mg/дн. Диуретична терапия приема един пациент - фуроземид 40 mg/дн и спиронолактон 100 mg/дн.

Към момента на неинвазивната оценка 73.3% от пациентите провеждат терапия: кортикостероид (КС) + азатиоприн (АЗА) при АІН, урзодезоксихолева киселина (УДХК) при РВС, КС + АЗА + УДХК при overlap АІН/РВС, пациентът с overlap АІН/PSC е изследван преди стартирането на КС и е на терапия само с УДХК.

При 6 пациенти е повишен LDL, а при един има хипертриглицеридемия, един пациент е с ЗД тип 2. При никого няма анамнеза за наркозависимост или употреба на алкохол над 20/30 g/дн.

В *табл. 28* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на фиброзата в група AILD. В *табл. 29* са представени средните стойности от неинвазивните методи за оценка на стеатозата в група AILD.

Табл. 28. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и pSWE в група AILD

Група AILD					
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Median	**0.60**	**1.73**	**7.45**	**9.77**	**5.33**
Min – Max	0.20 – 1.80	0.54 – 9.29	3.00 – 47.80	2.70 – 20.24	3.27 – 8.36

Табл. 29. Средни стойности със стандартното отклонение за CAP, HRI-diff и HRI-ratio в група AILD

Група AILD			
	CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Mean	**226.33**	**2.42**	**0.96**
SD	57.20	7.28	0.13

Чрез Mann-Whitney test се установи, че няма статистически значима разлика (p>0.05) между стойности (ранговете) за TE, 2D-SWE, APRI и FIB-4 между групите, които са anti-HBc позитивни или anti-HBc негативни. Няма изследвани пациенти с pSWE в тази група, които да са anti-HBc позитивни.

VII. Група HF

Всички пациенти в тази група са HBsAg и anti-HCV негативни.

На *табл. 30* и *табл. 31* са представени лабораторните и ехографските характеристики на група HF. От абдоминална ехография пациентите са с дилатирана v. cava inferior и дилатирани чернодробни вени, проследяващи се до периферията на органа. Изчислени са средните стойности на Plts = 235.32 ± 78.01 G/l и на предно-задния размер на черния дроб в ДМКЛ = 14.07 ± 1.66 cm. Аминотрансферазите в групата са със следните медиани: AST = 27.00 IU/l (11 - 92), ALT = 27.00 IU/l (5 - 158).

Табл. 30. Лабораторни характеристики на група HF

Лабораторен показател	**(брой пациенти / %)**
повишен билирубин < 2хГРГ	7 / 35.0%
повишена AST < 5хГРГ	5 / 20.0%
повишена ALT < 5хГРГ	5 / 20.0%
тромбоцити < 140 G/L	1 / 4.0%

Табл. 31. Ехографски характеристики на група HF

Ехографски показател	**(брой пациенти / %)**
хепатомегалия	23 / 92.0%
v. portae > 13 mm	2 / 8.0%
асцит	4 / 16.0%

Всички пациенти са със сърдечна недостатъчност, която е класифицирана по NYHA (New York Heart Association): 8 пациенти (32.0%) – NYHA клас II, 14 пациенти (56.0%) – NYHA клас III, и трима пациенти (12.0%) – NYHA клас IV.

При пациентите няма наркозависимост или употреба на алкохол над 20/30 g/дн.

На *табл. 32* са представени средните стойности (медиани, обхват) на неинвазивните методи за фиброза, в групата HF стеатозата е оценена само чрез CAP – средната стойност е 247.31 ± 58.236 dB/m.

Табл. 32. Медиани с обхват за APRI, FIB-4, FibroScan и 2D-SWE в група HF

Група HF				
	APRI Score	FIB-4 Score	FibroScan (kPa)	2D SWE (kPa)
Median	0.34	1.82	14.40	10.40
Min - Max	0.11 – 0.90	0.57 – 6.21	3.90 – 53.30	4.70 – 72.00

VIII. Пациенти, изследвани чрез КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT

Групата в това проучване се състои от: четирима пациенти с HBV, един с HBV/HCV/ALD, един с HBV/ALD; един с ALD; трима с NAFLD, един с overlap AIH/PBC, един със синдром на Gillbert. Седем от пациентите са с цироза и пет – без цироза.

При пациентите с цироза разпределението по Child-Pugh е: пет пациенти – стадий А, и двама пациенти – стадий В. Пет от седемте пациенти с цироза са с варици: ВХ ст. II – 4 пациенти и ВХ ст. III при един пациент. При двама от пациентите е проведено ЕВЛ. Един пациент е с ИСВ тип 1 и трима – с ПХГ. Средният MELD = 13.00 ± 4.97.Средната доза на пропранолола е 42.5 ± 17.08 mg/дн.

При седемте пациенти с цироза има спленомегалия, а при трима има асцит. Пациентите с асцит са на диуретична терапия със средни дози: фуроземид 46.67 ± 30.55 mg/дн и спиронолактон 116.67 ± 76.38 mg/дн.

В *табл. 33* са представени средните стойности на възраст и лабораторни показатели при пациентите без цироза. В *табл. 34* са представени средните стойности на възраст и лабораторни показатели при пациентите с цироза. В *табл. 35* са представени средните стойности на неинвазивните методи за оценка на фиброза (HVAT, HA-HVTT, APRI, FIB-4) при пациентите без цироза. В *табл. 36* са представени средните стойности на неинвазивните методи за оценка на фиброза (HVAT, HA-HVTT, APRI, FIB-4) при пациентите с цироза.

Табл. 33. Средни стойности със стандартното отклонение за възраст, AST, ALT и тромбоцити при пациентите без цироза

Пациенти без цироза				
	age (years)	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	PLT (G/l)
Mean	**50.80**	**29.80**	**33.00**	**212.86**
SD	18.59	10.18	12.75	47.53

Табл. 34. Средни стойности със стандартното отклонение за възраст, AST, ALT и тромбоцити при пациентите с цироза

Пациенти с цироза				
	age (years)	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	PLT (G/l)
Mean	**54.00**	**29.86**	**18.43**	**113.47**
SD	11.23	5.27	7.04	64.39

Табл. 35. Средни стойности със стандартното отклонение за HVAT, HA-HVTT, APRI и FIB-4 при пациентите без цироза

	HVAT (sec.)	HA-HVTT (sec)	APRI Score	FIB-4 Score
Mean	**30.02**	**11.92**	**0.34**	**1.28**
SD	4.16	0.73	0.09	0.62

Табл. 36. Средни стойности със стандартното отклонение за HVAT, HA-HVTT, APRI и FIB-4 при пациентите с цироза

	HVAT (sec.)	HA-HVTT (sec)	APRI Score	FIB-4 Score
Mean	**19.00**	**5.14**	**0.81**	**3.64**
SD	3.06	1.77	0.39	2.38

Чрез Independent Samples t-test се откриха сигнификантни разлики в стойностите на HVAT, HA-HVTT, ALT, Plts, APRI и FIB-4 между пациентите без и с цироза (*Табл. 37*)

Табл. 37. Independent Samples t-test сравнение между пациентите без и с цироза

	Fibrosis	Mean ± SD	p-value
HVAT (sec)	F<4	30.02 ± 4.16	<0.0001
	F4	19.00 ± 3.06	
HA-HVTT (sec)	F<4	11.92 ± 0.73	<0.0001
	F4	5.14 ± 1.77	
ALAT (IU/l)	F<4	33.00 ± 12.75	0.029
	F4	18.43 ± 7.04	
PLTS (G/l)	F<4	212.86 ± 47.53	0.015
	F4	113.47 ± 64.39	
APRI SCORE	F<4	0.34 ± 0.09	0.025
	F4	0.81 ± 0.39	
FIB-4 SCORE	F<4	1.28 ± 0.62	0.040
	F4	3.64 ± 2.38	

Фактори, влияещи върху точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

В тази глава са разгледани факторите, от които зависят резултатите от изследванията чрез неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата. Следва да се отбележи, че използваните в дисертацията статистически методи за анализ при неинвазивните методи за оценка на фиброзата са непараметрични, а тези за оценка на стеатозата – параметрични. Това е така, тъй като стойностите на променливите в първия случай имат анормално разпределение ($p<0.05$), а на тези за оценка на стеатозата – нормално ($p>0.05$). Разпределението на променливите е определено чрез Kolmogorov-Smirnov тест.

I. Основни фактори, от който зависи точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

1. Основен фактор, от който зависи точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Използвайки Spearman's rho – корелация, се доказа, че стойностите на еластографските изследвания и двата серумни маркера (APRI, FIB-4) зависят от степента на фиброза, като корелацията за еластографиите е силна (≥0.7), а за серумните биомаркери – умерена. Корелациите са положителни, т.е. с повишаване на фиброзата се повишават и техните стойности. *Табл. 38* показва, че еластографиите са с по-висок корелационен коефициент от серумните маркери. След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните методи се формират от фиброзата в: 40% за APRI, 48% за FIB-4, 63% за TE, 76% за 2D-SWE и 66% за pSWE.

Табл. 38. Корелация между степента на фиброза и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations						
Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Fibrosis METAVIR	Corr. Coefficient	**.631****	**.690****	**.791****	**.872****	**.814****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	**.000**	**.000**	**.000**	**.000**

2. Основен фактор, от който зависи точността на неинвазивните методи за оценка на стеатозата

Използвайки Pearson корелацията, се установи силно позитивна корелация между CAP и стеатозата; умерено позитивна – между HRI-diff и стеатозата, и умерено негативна – между HRI-ratio и стеатозата, т.е. с повишаване на стеатозата CAP и HRI-diff се увеличават, а HRI-ratio – намалява (*Табл. 39*). След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните методи се формират от стеатозата в: 51% за CAP, 45% за HRI-diff и 44% за HRI-ratio.

Табл. 39. Корелация между стеатозата и неинвазивните методи за оценка на ултразвуковата атенюация

Correlations				
Pearson Correlation		CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Steatosis (S %)	Pearson Correlation	**.711****	**.672****	**-.662****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	**.000**	**.000**
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).				

II. Допълнителни фактори с потенциално влияние върху точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата

1. Възраст

Използвайки Spearman' rho – корелация, се доказа, че два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и двата серумни маркера (APRI, FIB-4) зависят и от

възрастта, като корелацията е положителна, т.е. с повишаване на възрастта се повишават и техните стойности. FIB-4 е с най-висок корелационен коефициент, но скорът съдържа възрастта като променлива (*Табл. 40*). pSWE не корелира с възрастта. Корелациите за еластографиите с възрастта са слаби. След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че неинвазивните методи зависят от възрастта в: 2% за APRI, 33% за FIB-4, 14% за TE и 22% за 2D-SWE.

Табл. 40 Корелация между възрастта и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations						
Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	2D SWE (kPa)	pSWE (kPa)
Age (years)	Corr. Coefficient	**.138****	**.571****	**.379****	**.469****	.174
	Sig. (2-tailed)	**.013**	**.000**	**.000**	**.000**	.126
	N	319	319	264	284	79

2. Пол

Чрез теста на Mann-Whitney не се откри сигнификантна разлика в стойностите при мъже и жени за всички използвани неинвазивни методи за оценка на фиброзата ($p>0.05$).

3. Хистологична активност по METAVIR (A)

Използвайки Spearman's rho – корелацията, се доказа, че два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и двата серумни маркера (APRI, FIB-4) зависят и от активността на хроничното чернодробно заболяване, като корелацията е положителна, т.е. с повишаване на активността се повишават и техните стойности. Корелациите са слаби (*Табл. 41*). pSWE не достига сигнификантност при корелацията с активността. След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните методи се формират от активността в: 9% за APRI, 13% за FIB-4, 20% за TE и 21% за 2D-SWE.

Табл 41. Корелация между активността и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations						
Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	pSWE (kPa)	2D SWE (kPa)
Activity METAVIR	Corr. Coefficient	**.307****	**.365****	**.450****	.357	**.456****
	Sig. (2-tailed)	**.002**	**.000**	**.000**	.112	**.000**
	N	102	102	86	21	87

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4. Аминотрансферази (AST, ALT)

Използвайки Spearman's rho – корелация, се доказа, че стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата зависят и от стойностите на аминотрансферазите – всички зависят от AST, а APRI и pSWE – от ALT. Корелациите са положителни, т.е. с повишаване на аминотрансферазите се повишават и стойностите на неинвазивните методи. Корелациите на еластографиите с аминотрансферазите са слаби (*Табл. 42*). След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните методи се влияят от AST, както следва: 62% за APRI, 19% за FIB-4, 19% за TE, 21% за pSWE и 16% за 2D-SWE, а от ALT в 23% за APRI и 6% за pSWE.

Табл. 42. Корелации между аминотрансферазите и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations						
Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	pSWE (kPa)	2D-SWE (kPa)
AST	Corr. Coefficient	**.785****	**.435****	**.441****	**.462****	**.403****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	**.000**	**.000**	**.000**	**.000**
	N	311	311	220	73	240
ALT	Corr. Coefficient	**.428****	-.012	.111	**.243***	.059
	Sig. (2-tailed)	**.000**	.834	.101	**.039**	.362
	N	311	311	220	73	240

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

5. Стеатоза (S score - SAF)

Използвайки Spearman's rho – корелация, се доказа, че стойностите на еластографските изследвания и APRI се влияят от стеатозата, като корелацията е положителна, т.е. с повишаване на стеатозата се повишават и техните стойности. pSWE има умерена корелация със стеатозата, а TE и 2D-SWE – слаби (*Табл. 43*). FIB-4 не корелира със стеатозата. След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните методи зависят от стеатозата в: 31% за APRI, 26% за TE, 44% за pSWE и 19% за 2D-SWE.

Табл. 43 Корелация между стеатозата и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations

Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	pSWE (kPa)	2D-SWE (kPa)
S score (%)	Corr. Coefficient	**.561****	.023	**.505****	**.665****	**.432****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	.895	**.000**	**.002**	**.002**
	N	36	36	51	19	50

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

6. Чернодробна конгестия

За оценка на чернодробната конгестия като допълнителен фактор, който може да влияе на точността на неинвазивните методи, са използвани ехографски маркери – дилатация на v. cava inferior (VCI), дилатация на чернодробните вени (HV) и проследяването им до периферията на черния дроб. Използвайки Spearman's rho – корелация, се доказа, че два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и FIB-4 зависят и от чернодробната конгестия, като корелацията е положителна, т.е. при чернодробна конгестия се повишават стойностите на тези методи. На *табл 44.* е показана корелацията между чернодробната конгестия и неинвазивните методи за оценка на фиброзата. Корелацията на TE и 2D-SWE с чернодробната конгестия е слаба (*Табл. 44*). Корелация за pSWE не може да се изчисли, тъй като няма изследвани пациенти с чернодробна конгестия, а APRI не зависи от нея (p=0.462). След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на неинвазивните

методи зависят от чернодробната конгестия в: 5.4% за FIB-4, 13.5% за TE и 18.9% за 2D-SWE.

Табл. 44. Корелация между чернодробна конгестия (дилатирането на VCI и чернодробните вени) и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

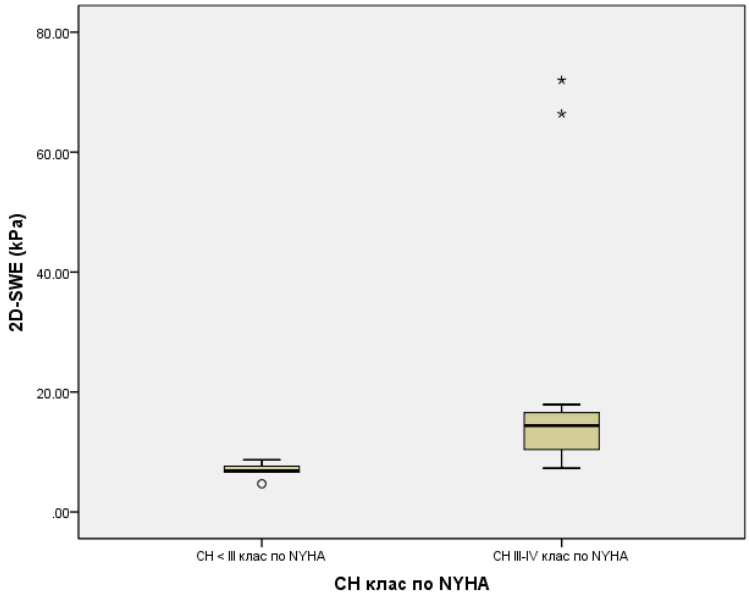
Correlations

Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	2D-SWE (kPa)	pSWE (kPa)
VCI, HV (cm)	Corr. Coefficient	-0.074	**.232***	**.368****	**.435****	.
	Sig. (2-tailed)	.462	**.020**	**.000**	**.000**	.
	N	100	100	106	121	26

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Чрез Mann-Whitney тест се установи, че стойностите на 2D-SWE имат статистически значима разлика между пациентите със СН III-IV клас по NYHA и тези с СН под III клас по NYHA – U=3.000, p<0.0001, r=0.75. Медианата на 2D-SWE СН III-IV клас по NYHA е статистически по-висока от тази при СН под III клас по NYHA (14.40 kPa vs. 6.87 kPa – *фиг. 16*).



Фиг. 16. Стойности на 2D-SWE при пациентите със СН III-IV клас по NYHA и тези под III клас по NYHA

7. Прием на алкохол и наркотици

Използвайки Spearman's rho, се установи, че корелациите между стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и приема на алкохол са положителни, но много слаби или слаби за всички методи (*Табл. 45*). След изчисляване на дисперсиите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че неинвазивните методи зависят от приема на алкохол в: 4.2% за APRI, 3.2% за FIB-4, 3.2% за TE, 9.1% за pSWE и 6.5% за 2D-SWE. Няма корелации между стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и приема на наркотици (p>0.05).

Табл. 45. Корелации между приема на алкохол и неинвазивните методи за оценка на фиброзата

Correlations

Spearman's rho		APRI	FIB-4	TE (kPa)	2D-SWE (kPa)	pSWE (kPa)
alcohol intake	Corrл Coefficient	**.207****	**.180****	**.179***	**.255****	**.302****
	Sig. (2-tailed)	**.001**	**.004**	**.013**	**.000**	**.005**
	N	250	250	193	201	83

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

III. Допълнителни фактори, от които зависи точността на неинвазивните методи за оценка на стеатозата

Изследвани бяха и други фактори освен стеатозата, които водят до ултразвукова атенюация. Такива са разстоянието кожа-чернодробна капсула (cm) и обиколка на талията (cm).

1. Разстояние кожа-чернодробна капсула (SCD)

Използвайки Pearson корелация, се доказа, че атенюацията на ултразвука, измерена с CAP (dB/m), зависи освен от степента на стеатозата, и от подкожната мастна тъкан. Последната е измерена чрез разстоянието кожа-чернодробна капсула интеркостално. Корелацията е силна и положителна, т.е. с повишаване на SCD се повишават и стойността на CAP (*Табл. 46*). Двата HRI не достигат

сигнификантност за корелация с SCD, но се наблюдава тенденция за зависимост (p=0.065, p=0.091). След изчисляване на дисперсията на CAP чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че стойностите на метода зависят от SCD в 52%.

Табл. 46. Корелация между разстоянието кожа-чернодробна капсула и неинвазивните методи за оценка на стеатозата

Correlations				
		CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Skin-Capsule distance (cm)	**Pearson Correlation**	**.723****	.311	-.286
	Sig. (2-tailed)	**.000**	.065	.091
	N	67	36	36
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).				

2. Обиколка на талията (WC)

Използвайки Pearson корелацията, се доказа, че методите за измерване на ултразвуковата атенюация зависят и от обиколката на талията (cm). Корелацията е силна и положителна за CAP, умерена и положителна за HRI-diff, умерена и отрицателна – за HRI-ratio, т.е. при повишаване на WC се повишават CAP и HRI-diff, а HRI-ratio намалява (*Табл*. 47). След изчисляване на дисперсиите на методите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че методът зависи от WC в 72% за CAP, и в 46% за HRI-diff и HRI-ratio.

Табл. 47. Корелация между обиколка на талията и неинвазивните методи за оценка на стеатозата

Correlations				
		CAP (dB/m)	HRI-diff	HRI-ratio
Waist Circumference (cm)	**Pearson Correlation**	**.846****	**.683****	**-.683****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	**.000**	**.000**
	N	54	28	28
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).				

Изследваха се и факторите възраст, пол, стадий на фиброза и активност на заболяването, за да се определи дали дисперсиите на неинвазивните методи

за стеатоза зависят от тях. За нито един от факторите не се установи корелация с CAP, HRI-diff или HRI-ratio (p>0.05).

IV. Фактори, от които зависи точността на показателите в Combi-Elasto

Kolmogorov-Smirnov тест показа, че всички показатели в Combi-Elasto (Vs, pSWE, LFI, F index, ATT, A index) са с нормално разпределение (p>0.05). Използвайки Pearson корелацията, се доказа, че стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата (Vs, pSWE, LFI, F index) корелират със стадия на фиброза и с AST. Корелациите са положителни, т.е. при повишаване на фиброзния стадий и AST, се повишават и техните стойности. Корелациите между неинвазивните методи за оценка на ЧП в Combi-Elasto и хистологичния стадий на фиброзата са силни, а между методите и AST - умерени (*Табл. 48*). След изчисляване на дисперсиите на методите чрез r^2, където r е корелационният коефициент, се установи, че методът зависи от:

- фиброзата в: 62% за Vs, 54% за pSWE, 58% за LFI и 59% за F index
- AST в: 39% за Vs, 34% за pSWE, 28% за LFI и 46% за F index

Зависимостта на показателите за неинвазивна оценка на фиброзата в Combi-Elasto от AST е ограничение на метода, като корелацията между F index и AST е умерена към силна (r=0.678).

От възрастта зависи само LFI – корелацията е положителна и слаба, като 19% от дисперсията на показателя зависи от възрастта на пациента. Проведе се корелационен анализ между неинвазивните тестове за оценка на фиброзата и хистологичната активност (METAVIR A), ALT, пола, стеатозата, приема на алкохол – не се установиха корелации (p>0.05).

Табл. 48 Корелация между фиброзата, възрастта, AST и неинвазивните методи за оценка на фиброзата при Combi-Elasto

Correlations					
		Vs	pSWE	LFI	F index
Fibrosis METAVIR	Pearson Correlation	**.788****	**.733****	**.763****	**.766****
	Sig. (2-tailed)	**.000**	**.000**	**.000**	**.000**
	N	22	22	21	21
age (years)	Pearson Correlation	.110	.085	**.439***	.244
	Sig. (2-tailed)	.600	.686	**.036**	.263
	N	25	25	23	23
AST (IU/l)	Pearson Correlation	**.623****	**.581****	**.533***	**.678****
	Sig. (2-tailed)	**.003**	**.006**	**.019**	**.001**
	N	21	21	19	19

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Не се установява корелация за ATT със стеатозата, а A index зависи само от фиброзата (r=0.786, p<0.0001), анализът не установи корелация с хистологичната активност (METAVIR A) или аминотрансферазите (p>0.05). Липсата на корелация между A index и активността в изследваните от нас пациенти не потвърждава предназначението на този индекс.

V. Фактори, от които зависят стойностите на показателите HVAT и HA-HVTT

Доказа се силна отрицателна корелация между двата показателя и фиброзния стадий, т.е. колкото по-напреднала е фиброзата, толкова по-ниски са стойностите на показателите. Корелационният коефициент между фиброзата и HVAT е r=-0.667, p=0.035, а между фиброзата и HA-HVTT – r=-0.771, p=0.009. Не са установени корелации между двата показателя и пол, възраст, AST или ALT (p>0.05).

Определяне на праговите стойности (cut-offs) за неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

I. Група Control

Определяне на cut-offs за изключване на фиброза (F0)

В този AUROC анализ са включени всичките изследвани пациенти и контроли, за да се определят праговите стойности за F0. На *табл. 49* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва наличието на фиброза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 49. Cut-offs стойности за изключване на фиброза (F0), определени чрез неинвазивните методи

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤5.45	0.902	<0.0001	91.8	78.3	56.96	96.85	81.55
pSWE (kPa)	≤4.81	0.903	<0.0001	95.0	79.1	67.86	97.14	84.13
2D-SWE* (kPa)	≤5.51	0.936	<0.0001	91.7	82.6	59.46	97.26	**84.55**
APRI	≤0.35	0.797	<0.0001	79.4	70.4	30.68	95.39	71.67
FIB-4	≤0.87	0.798	<0.0001	55.9	84.5	37.25	92.06	80.42

**Методът с най-висока точност (Acc)*

II. Група HCV

1. Определяне на cut-offs за чернодробна цироза (F4)

На *табл. 50* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 50. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HCV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥11.05	0.980	<0.0001	83.9	97.2	96.30	87.50	91.04
pSWE (kPa)	≥9.01	0.885	0.004	75.0	75.0	81.82	66.67	75.00
2D-SWE* (kPa)	≥10.09	0.980	<0.0001	90.9	94.9	93.75	92.50	**93.06**
APRI	≥1.45	0.839	<0.0001	43.59	97.62	94.44	65.08	71.60
FIB-4	≥1.87	0.847	<0.0001	71.8	73.8	71.79	73.81	72.84

**Методът с най-висока точност (Acc)*

Чрез AUROC анализ се установи, че никой от неинвазивните методи за оценка на фиброзата при HCV не може да определи поотделно фиброзните стадии от F1-F3. При всички тях AUROC < 0.500 и няма статистическа значимост на AUROC анализа (p>0.05) .

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 51* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 51. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HCV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤9.85	0.980	<0.0001	91.7	93.5	94.29	90.63	92.54
pSWE (kPa)	≤7.91	0.885	0.004	75.0	83.3	75.00	83.33	80.00
2D-SWE* (kPa)	≤9.25	0.980	<0.0001	92.3	97.0	97.30	91.43	**94.44**
APRI	≤0.95	0.839	<0.0001	72.8	41.0	62.90	84.21	67.90
FIB-4	≤1.81	0.847	<0.0001	73.8	74.4	75.61	72.50	74.07

**Методът с най-висока точност (Acc)*

3. Определяне на cut-offs за сигнификантна фиброза (F≥2)

На *табл. 52* са представени определените cut-offs стойности за сигнификантна фиброза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 52. Cut-offs стойности за сигнификантна фиброза (F≥2), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HCV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥6.60	0.883	0.001	75.0	85.7	97.83	28.58	76.12
pSWE (kPa)	≥6.03	0.922	0.023	76.5	100.0	100.0	42.86	80.00
2D-SWE* (kPa)	≥6.20	0.941	<0.0001	81.3	100.0	100.0	40.00	**83.33**
APRI	≥0.55	0.733	0.023	56.9	88.9	97.62	20.51	60.49
FIB-4	≥1.22	0.771	0.008	70.8	77.8	96.23	25.00	71.60

**Методът с най-висока точност (Acc)*

4. Определяне на cut-offs за изключване на сигнификантна фиброза (F<2)

На *табл. 53* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва сигнификантна фиброза. Представени са техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография и за двата серумни биомаркера.

Табл. 53. Cut-offs стойности за изключване на сигнификантна фиброза (F<2), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HCV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤5.60	0.883	0.001	71.4	81.7	31.26	96.08	80.60
pSWE (kPa)	≤4.68	0.922	0.023	66.7	88.2	50.00	93.75	85.00
2D-SWE* (kPa)	≤5.45	0.941	<0.0001	75.0	89.1	46.15	96.61	**87.50**
APRI	≤0.35	0.733	0.023	44.4	70.8	16.00	91.07	67.90
FIB-4	≤1.03	0.771	0.008	66.7	79.2	28.57	95.00	77.78

**Методът с най-висока точност (Acc)*

III. Група HBV

1. Определяне на cut-offs за чернодробна цироза (F4)

На *табл. 54* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 54. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HBV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥9.10	0.793	<0.0001	59.1	87.18	72.22	79.07	77.05
pSWE (kPa)	≥10.50	0.850	0.048	50.0	90.0	66.67	81.82	78.57
2D-SWE* (kPa)	≥10.29	0.903	<0.0001	64.0	97.3	94.12	80.00	**83.87**
APRI	≥0.65	0.820	<0.0001	51.6	87.0	72.73	72.73	72.73
FIB-4	≥2.14	0.885	<0.0001	61.3	93.5	86.36	78.18	80.52

**Методът с най-висока точност (Acc)*

Чрез AUROC анализ се установи, че никой от неинвазивните методи за оценка на фиброзата при HBV не може да определи поотделно фиброзните стадии от F1-F3. При всички тях AUROC <0.500 и няма статистическа значимост (p >0.05).

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 55* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 55. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HBV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤7.85	0.793	<0.0001	79.4	72.7	83.78	66.67	77.05
pSWE (kPa)	≤6.72	0.850	0.048	80.0	75.0	88.89	60.00	78.57
2D-SWE* (kPa)	≤9.14	0.903	<0.0001	86.5	76.1	84.21	79.17	**82.26**
APRI	≤0.45	0.820	<0.0001	73.9	74.2	80.95	65.71	74.03
FIB-4	≤1.69	0.885	<0.0001	80.4	80.6	86.05	73.53	80.52

**Методът с най-висока точност (Acc)*

3. Определяне на cut-offs за сигнификантна фиброза (F≥2)

На *табл. 56* са представени определените cut-offs стойности за сигнификантна фиброза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за FIB-4.

Табл. 56. Cut-offs стойности за сигнификантна фиброза (F≥2), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HBV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥6.20	0.713	0.043	63.5	66.7	91.67	24.00	63.93
2D-SWE* (kPa)	≥7.09	0.758	0.019	66.7	75.0	94.74	25.00	**67.74**
FIB-4	≥1.22	0.760	0.004	66.2	75.0	93.48	29.03	67.53

**Методът с най-висока точност (Acc)*

4. Определяне на cut-offs за изключване на сигнификантна фиброза (F<2)

На *табл. 57* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва сигнификантна фиброза. Представени са техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за FIB-4.

Табл. 57. Cut-offs стойности за изключване на сигнификантна фиброза (F<2), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с HBV

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤5.85	0.713	0.043	66.7	71.2	28.57	92.50	70.49
2D-SWE* (kPa)	≤5.94	0.758	0.019	62.5	81.5	33.33	93.62	**79.03**
FIB-4	≤0.93	0.760	0.004	66.7	78.5	36.36	92.73	76.62

**Методът с най-висока точност (Acc)*

ElastPQ в група HBV не може да установи сигнификантна фиброза (p=0.312), което се дължи на малкия брой изследвани с метода пациенти с F<2 - трима. APRI при изследваните от нас пациенти с HBV не е в състояние да установи или изключи сигнификантна фиброза (p=0.100).

IV. Група NAFLD

1. Определяне на cut-offs за чернодробна цироза (F4)

На *табл. 58* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 58. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥9.20	0.900	0.013	50.0	90.0	50.0	90.0	83.33
2D-SWE* (kPa)	≥9.64	1.000	0.001	80.0	100.0	100.0	95.00	**95.83**
APRI	≥0.95	0.891	0.004	33.3	95.7	66.67	84.62	82.76
FIB-4	≥1.45	0.964	0.001	83.3	91.3	71.43	95.45	89.66

**Методът с най-висока точност (Acc)*

Чрез AUROC анализ се установи, че никой от неинвазивните методи за оценка на фиброзата при NAFLD не може да определи поотделно фиброзните стадии от F1-F3. При всички тях AUROC <0.500 и няма статистическа значимост (p >0.05).

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 59* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 59. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤8.35	0.900	0.013	90.0	75.0	94.74	60.0	87.50
2D-SWE* (kPa)	≤7.90	1.000	0.001	100.0	100.0	100.0	100.0	**100.0**
APRI	≤0.45	0.891	0.004	87.0	83.3	95.24	62.50	86.21
FIB-4	≤1.23	0.964	0.001	87.0	100.0	100	66.67	89.66

**Методът с най-висока точност (Acc)*

ElastPQ в изследваните от нас пациенти в група NAFLD не може да установи цироза (p=0.312), което се дължи на малкия брой изследвани с метода пациенти с F4 – двама.

3. Определяне на cut-offs за сигнификантна фиброза (F≥2)

На *табл. 60* са представени определените cut-offs стойности за сигнификантна фиброза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за 2D-SWE и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 60. Cut-offs стойности за сигнификантна фиброза (F≥2), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
2D-SWE* (kPa)	≥6.50	0.852	0.006	75.0	100.0	100.0	88.89	**91.67**
APRI	≥0.35	0.747	0.031	60.0	73.7	54.55	77.78	68.97
FIB-4	≥0.95	0.868	0.001	90.0	73.7	64.29	93.33	79.31

**Методът с най-висока точност (Acc)*

4. Определяне на cut-offs за изключване на сигнификантна фиброза (F<2)

На *табл. 61* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва сигнификантна фиброза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за 2D-SWE и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 61. Cut-offs стойности за изключване на сигнификантна фиброза (F<2, определени) чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
2D-SWE* (kPa)	≤5.26	0.852	0.006	75.0	87.5	92.31	63.64	**79.17**
APRI	≤0.25	0.747	0.031	31.6	90.0	85.71	40.91	51.72
FIB-4	≤0.93	0.868	0.001	68.4	90.0	92.86	60.00	75.86

**Методът с най-висока точност (Acc)*

ElastPQ в изследваната от нас група пациенти с NAFLD не може да установи сигнификантна фиброза (p=0.053), което се дължи на липсата на изследвани пациенти с F2-3. FibroScan не достига сигнификантност за дефиниране на F≥2 в група NAFLD (p=0.092).

5. Определяне на cut-offs за наличие на стеатоза (S≥5%)

На *табл. 62* са представени определените cut-offs стойности за стеатоза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за неинвазивните методи за оценка на стеатозата (CAP, HRI-diff, HRI-ratio). В анализа на тези методи са включени пациенти с NAFLD и здрави контроли – група Control.

Табл. 62. Cut-offs стойности за стеатоза (S≥5%), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
CAP*(dB/m)	≥240.5	0.928	<0.0001	79.6	89.3	92.86	71.43	**83.12**
HRI-diff	≥1.12	0.913	<0.0001	71.4	92.9	95.24	61.90	78.57
HRI-ratio	≤0.98	0.921	<0.0001	75.0	92.9	95.45	65.00	80.95

**Методът с най-висока точност (Acc)*

6. Определяне на cut-offs за изключване на стеатоза (S<5%)

На *табл. 63* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва стеатоза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за неинвазивните методи за оценка на стеатозата (CAP, HRI-diff, HRI-ratio).

Табл. 63. Cut-offs стойности за изключване на стеатоза (S<5%), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с NAFLD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
CAP*(dB/m)	≤213.5	0.928	<0.0001	75.0	93.9	87.50	86.79	**87.01**
HRI-diff	≤-1.11	0.913	<0.0001	78.6	85.7	73.33	88.89	83.33
HRI-ratio	≥1.01	0.921	<0.0001	85.7	85.7	75.00	92.31	85.71

**Методът с най-висока точност (Acc)*

V. Група ALD

Тази група се състои само от пациенти с разпределение по фиброзен стадий F0 или F4, поради което не може да си изчислят cut-off стойности за сигнификантна фиброза.

1. Определяне на cut-offs за чернодробна цироза (F4)

На *табл. 64* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 64. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с ALD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥12.55	1.000	0.032	90.0	100.0	100.0	66.67	91.67
pSWE (kPa)	≥12.90	1.000	0.003	83.3	100.0	100.0	87.50	92.31
2D-SWE* (kPa)	≥10.20	1.000	0.024	94.1	100.0	100.0	66.67	**94.74**
APRI	≥0.60	0.980	0.026	80.0	100.0	100.0	28.57	81.48
FIB-4	≥2.52	0.950	0.037	76.0	100.0	100.0	25.00	77.78

**Методът с най-висока точност (Acc)*

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 65* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE) и за двата серумни биомаркера (APRI, FIB-4).

Табл. 65. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с ALD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE* (kPa)	≤7.50	1.000	0.032	100.0	100.0	100.0	100.0	**100.0**
pSWE* (kPa)	≤8.69	1.000	0.003	100.0	100.0	100.0	100.0	**100.0**
2D-SWE* (kPa)	≤7.51	1.000	0.024	100.0	100.0	100.0	100.0	**100.0**
APRI	≤0.30	0.980	0.026	100.0	96.0	66.67	100.0	96.30
FIB-4	≤1.36	0.950	0.037	100.0	88.0	40.00	100.0	88.89

**Методът с най-висока точност (Acc)*

VI. Група AILD

В тази група няма пациенти с фиброзен стадий F2 и F3, поради което не може да се изчислят cut-off стойности за сигнификантна фиброза.

1. Определяне на cut-offs за наличие на чернодробна цироза (F4)

На *табл. 66* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за FIB-4.

Табл. 66. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с AILD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≥9.75	1.000	0.003	66.7	100.0	100.0	62.5	78.57
2D-SWE* (kPa)	≥10.29	1.000	0.002	80.0	100.0	100.0	71.43	**86.67**
FIB-4	≥2.08	0.864	0.037	63.6	100.0	100.0	50.00	73.33

**Методът с най-висока точност (Acc)*

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 67* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за два от видовете еластографии (TE, 2D-SWE) и за FIB-4.

Табл. 67. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез неинвазивните методи при пациенти с AILD

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤7.95	1.000	0.003	100.0	77.8	71.43	100.0	85.71
2D-SWE* (kPa)	≤9.35	1.000	0.002	100.0	90.0	83.33	100.0	**93.33**
FIB-4	≤1.88	0.864	0.037	100.0	72.7	57.14	100.0	80.00

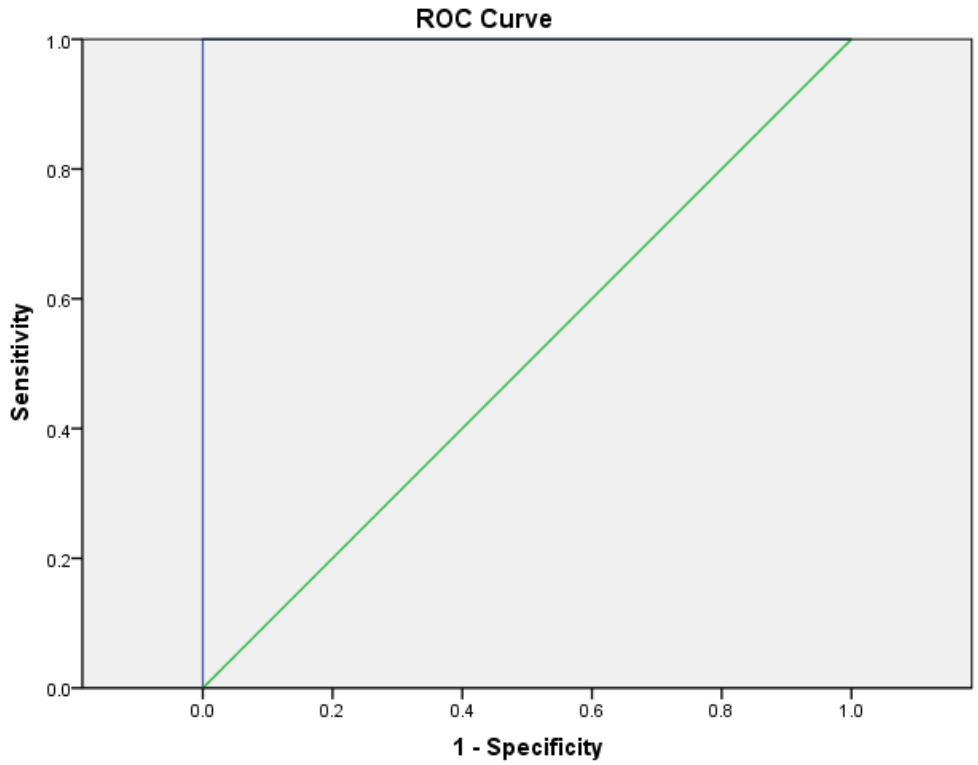
**Методът с най-висока точност (Acc)*

ElastPQ в изследваната група AILD е проведена само при един пациент с цироза. APRI при изследваните от нас пациенти с AILD не е във състояние да установи или изключи цироза (p=0.078).

VII. Проучване на КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT

Определяне на cut-offs за наличие на цироза (F4)

Чрез AUROC анализа се постига статистическа значимост за дефиниране на cut-off стойностите за наличие на цироза. При HVAT ≤ 24.5 сек. и HA-HVTT ≤ 9.5 сек. F4 се диагностицира с 100% чувствителност, специфичност, PPV, NPV и точност (*фиг. 17*).



Фиг. 17. AUROC (1.000, p =0.004) за откриване на цироза с HVAT и HA-HVTT

VIII. Combi-Elasto

Combi-Elasto е разработен като метод за комплексна неинвазивна оценка на фиброзата (Vs, pSWE, LFI, F index), стеатозата (ATT) и активността (A index) при дифузни чернодробни заболявания. Поради липсата на пациенти с F1-F2, cut-offs за сигнификантна фиброза не могат да се определят. AUROC анализът не можа да определи cut-offs стойности на ATT за наличие на стеатоза и A index за наличие на активност (p>0.05).

1. Определяне на cut-offs за чернодробна цироза (F4)

На *табл. 68* са представени определените cut-offs стойности за цироза с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за показателите от Combi-Elasto (Vs, pSWE, LFI, F index).

Табл. 68. Cut-offs стойности за цироза (F4), определени чрез Combi-Elasto

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
Vs (m/s)	≥1.87	0.964	<0.0001	80.0	100.0	100.0	84.62	90.48
pSWE (kPa)	≥10.53	0.964	<0.0001	80.0	100.0	100.0	84.62	90.48
LFI	≥3.66	0.973	<0.0001	80.0	100.0	100.0	84.62	90.48
F index	≥1.47	0.991	<0.0001	90.0	90.9	90.0	90.91	90.48

2. Определяне на cut-offs за изключване на чернодробна цироза (F<4)

На *табл. 69* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва цироза. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за показателите от Combi-Elasto (Vs, pSWE, LFI, F index).

Табл. 69. Cut-offs стойности за изключване на цироза (F<4), определени чрез Combi-Elasto

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
Vs (m/s)	≤1.75	0.964	<0.0001	100.0	90.0	91.67	100.0	95.24
pSWE (kPa)	≤9.26	0.964	<0.0001	100.0	90.0	91.67	100.0	95.24
LFI	≤3.53	0.973	<0.0001	100.0	90.0	91.67	100.0	95.24
F index	≤1.40	0.991	<0.0001	90.9	100.0	100.0	90.91	95.24

IX. Изключване на варици на хранопровода

1. Определяне на cut-offs за изключване на варици на хранопровода (ВХ) чрез еластография

На *табл. 70* са представени определените cut-offs стойности на еластографските методи, под които се изключва наличието на ВХ. Представени са техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за трите вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE)

Табл. 70. Cut-offs стойности за изключване на варици на хранопровода (ВХ), определени чрез еластография

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤13.75	0.852	<0.0001	78.8	67.8	57.78	85.11	71.74
pSWE (kPa)	≤10.15	0.829	0.043	75.0	63.2	30.00	92.31	65.22
2D-SWE* (kPa)	≤10.93	0.882	<0.0001	82.4	70.8	57.14	89.47	**74.53**

**Методът с най-висока точност (Acc)*

2. **Определяне на cut-offs за изключване на варици на хранопровода чрез еластография и нормални стойности на тромбоцити**

При този AUROC анализ, освен еластография, за изключване на ВХ се използват и нормални стойности на тромбоцитите (Plts ≥140 G/l). На *табл. 71* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва наличието на ВХ. Представени са техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за TE и за 2D-SWE.

Табл. 71. Cut-offs стойности за изключване на варици на хранопровода (ВХ), определени чрез еластография и нормални стойности на тромбоцитите

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤10.20	0.830	<0.0001	79.3	73.7	82.14	70.00	77.08
2D-SWE* (kPa)	≤10.44	0.846	<0.0001	86.2	73.9	80.65	80.95	**80.77**

**Методът с най-висока точност (Acc)*

3. **Определяне на cut-offs за изключване на варици на хранопровода чрез еластография, нормални стойности на тромбоцити и нормален напречен размер на слезка**

При този AUROC анализ, освен еластография и нормални тромбоцити, за изключване на ВХ се използват и нормален напречен размер на слезка (< 5 cm). На *табл. 72* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва наличието на ВХ. Представени са техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за TE и за 2D-SWE.

Табл. 72. Cut-offs стойности за изключване на варици на хранопровода (ВХ), определени чрез еластография, нормални стойности на тромбоцитите и нормален напречен размер на слезка

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤9.20	0.856	0.009	86.4	66.7	90.48	57.14	82.14
2D-SWE* (kPa)	≤10.41	0.896	0.002	90.9	71.4	90.91	71.43	**86.21**

**Методът с най-висока точност (Acc)*

От представените данни ElastPQ (p=0.064, p=0.221) не може да определи cut-off стойности за изключване на наличието на варици при нормални тромбоцити и/или слезка, поради малкия брой на пациенти с варици на хранопровода и нормални тромбоцити, и/или нормален напречен срез на слезката, съответно двама и един пациенти.

4. Определяне на cut-offs за изключване на високостепенни варици на хранопровода (ВХ ст. III-IV) чрез еластография

На *табл. 73* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва наличието на ВХ ст. III-IV. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за TE и за 2D-SWE.

Табл. 73. Cut-offs стойности за изключване на високостепенни варици на хранопровода (ВХ ст. III-IV), определени чрез еластография

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
TE (kPa)	≤24.00	0.793	<0.0001	78.1	63.2	87.72	46.15	74.70
2D-SWE* (kPa)	≤13.75	0.799	<0.0001	78.6	65.4	85.94	53.12	**75.00**

**Методът с най-висока точност (Acc)*

От представените данни ElastPQ (p=0.539) не може да определи cut-off стойности за изключване на наличието на високостепенни варици поради малкия брой изследвани пациенти с ВХ ст. III-IV – седем.

5. Определяне на cut-offs за изключване на високостепенни варици на хранопровода чрез еластография и нормални стойности на тромбоцити

При този AUROC анализ, освен еластография, за изключване на ВХ ст. III-IV се използват и нормални стойности на тромбоцитите (Plts ≥140 G/l). На *табл. 74* са представени определените cut-offs стойности, под които се изключва наличието на ВХ ст. III-IV. Представени са и техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за ТЕ и за 2D-SWE.

Табл. 74. Cut-offs стойности за изключване на високостепенни варици на хранопровода (ВХ ст. III-IV), определени чрез еластография и нормални стойности на тромбоцитите

Метод	Cut-off	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
ТЕ* (kPa)	≤19.20	0.942	0.037	89.7	100.0	100.0	33.3	**90.24**
2D-SWE (kPa)	≤12.63	0.884	0.012	85.4	100.0	100.0	40.00	86.67

**Методът с най-висока точност (Acc)*

Няма изследвани пациенти с ElastPQ, които да са с нормални тромбоцити и ВХ ст. III-IV.

6. Определяне на cut-offs за изключване на високостепенни варици на хранопровода чрез еластография, нормални стойности на тромбоцити и нормален напречен размер на слезка

При този AUROC анализ се установи, че в изследваната група пациенти чрез трите вида SWE няма такива с високостепенни варици и нормални размери на слезка, т.е. независимо от стойностите на еластографията и тромбоцитите, при нормален напречен размер на слезката се изключват ВХ ст. III-IV.

X. Определяне на cut-offs за декомпенсация с асцит при чернодробна цироза

В тази точка ще представим резултатите от приложението на 2D-SWE при пациенти с цироза и ехографски данни за асцит. В изследваната популация няма пациенти с асцит, при които да е проведена pSWE, а асцитът е изключващ фактор за провеждането на ТЕ. На *табл. 75* са представени cut-offs стойности

на 2D-SWE с техните AUROC, p-value, Se, Sp, PPV, NPV и Acc за наличието и липса на асцит при пациенти с цироза.

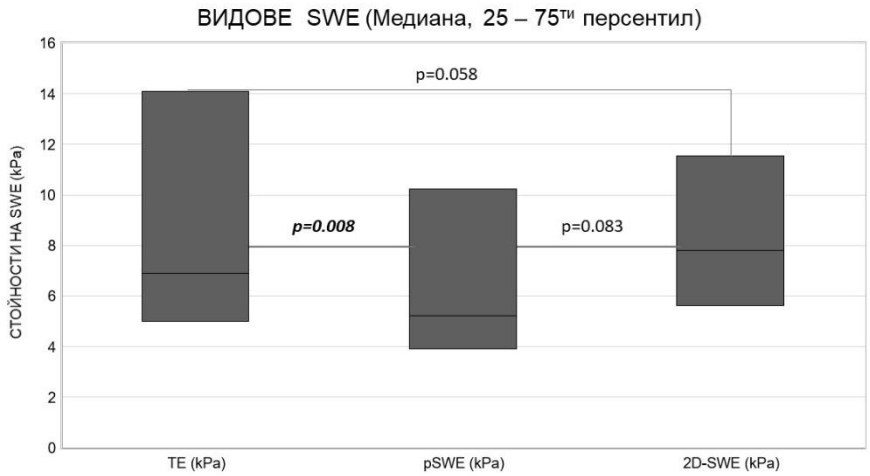
Табл. 75. Cut-offs за наличие и липса на асцит при пациенти с цироза

2D-SWE	Cut-off (kPa)	AUROC	p-value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Acc (%)
наличие на асцит	≥12.69	0.883	<0.0001	79.2	86.6	37.43	97.62	85.91
липса на асцит	≤10.92	0.883	<0.0001	79.3	87.5	98.57	28.00	80.00

Междугрупов сравнителен анализ на стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

I. Сравнителен анализ между трите вида SWE

В тази точка са разгледани трите вида еластографии и са сравнени медианите им с цел да се открие има или не статистически значима разлика в стойностите им. Използван е непараметричен тест на Friedman за три и повече корелирани извадки, при постигане на статистическа значимост на теста ($p<0.05$), е изчислена коригираната стойност на Bonferroni (корекция на Bonferroni = 0.05/ (броя групи x (броя групи - 1)/ 2)). За да се открие между кои еластографии има статистически значима разлика, е проведен Wilcoxon тест за свързани извадки при всяка от трите двойки еластографии (три групи) и е отчетена статистическа значимост спрямо корекцията на Bonferroni ($p<0.0167$). Използвайки Friedman теста, се установи, че има статистически значима разлика в стойностите на трите вида еластография при оценка на чернодробната плътност ($\chi^2(2)=8.818$, $p=0.012$). Wilcoxon тестът установява статистически значима разлика в стойностите между TE и pSWE ($Z=-2.643$, $p=0.008$) и гранична сигнификантност между останалите двойки еластографии TE/2D-SWE ($p=0.058$) и 2D-SWE/pSWE ($p=0.083$) – *Фиг. 18.*



Фиг. 18. Сравнителен анализ на стойностите (kPa) между трите вида SWE

Проведе се сравнителен анализ между стойностите на трите вида SWE спрямо цироза, сигнификантна фиброза и F<2. Чрез Friedman тест се установи, че има статистически сигнификантна разлика в стойностите на трите вида еластографии за F4 ($\chi^2(2)=6.545$, p=0.038) и сигнификантна фиброза ($\chi^2(2)=9.733$, p=0.008), но не и за F<2 (p=0.565). Корекцията на Bonferroni за сравняваните групи с цироза и сигнификантна фиброза е 0.0167. Wilcoxon тест демонстрира сигнификантна разлика в резултатите за TE и 2D-SWE при пациентите с цироза (*Табл. 76*). При останалите две двойки TE/pSWE и pSWE/2D-SWE също се наблюдава разлика в медианите при пациентите с цироза, въпреки че няма сигнификантност.

Табл. 76. Wilcoxon анализ на медиани на трите вида SWE при пациентите с цироза

Двойки SWE	(median - kPa)	(median - kPa)	p-value
TE/2D-SWE	17.40	12.63	**<0.0001**
TE/pSWE	17.40	13.48	0.206
pSWE/2D-SWE	13.48	12.63	0.530

Wilcoxon тест демонстрира сигнификантна разлика в резултатите за TE и 2D-SWE при пациентите със сигнификантна фиброза (*Табл. 77*). При останалите две двойки TE/pSWE и pSWE/2D-SWE също се наблюдава разлика в медианите при пациентите със сигнификантна фиброза, въпреки че няма сигнификантност.

Табл. 77. Wilcoxon анализ на медиани на трите вида SWE при пациентите със сигнификантна фиброза (F≥2)

Сравняване на двойка тестове	(median - kPa)	(median - kPa)	p-value
TE/2D-SWE	9.3	10.47	**<0.0001**
TE/pSWE	9.3	10.20	0.177
pSWE/2D-SWE	10.20	10.47	0.255

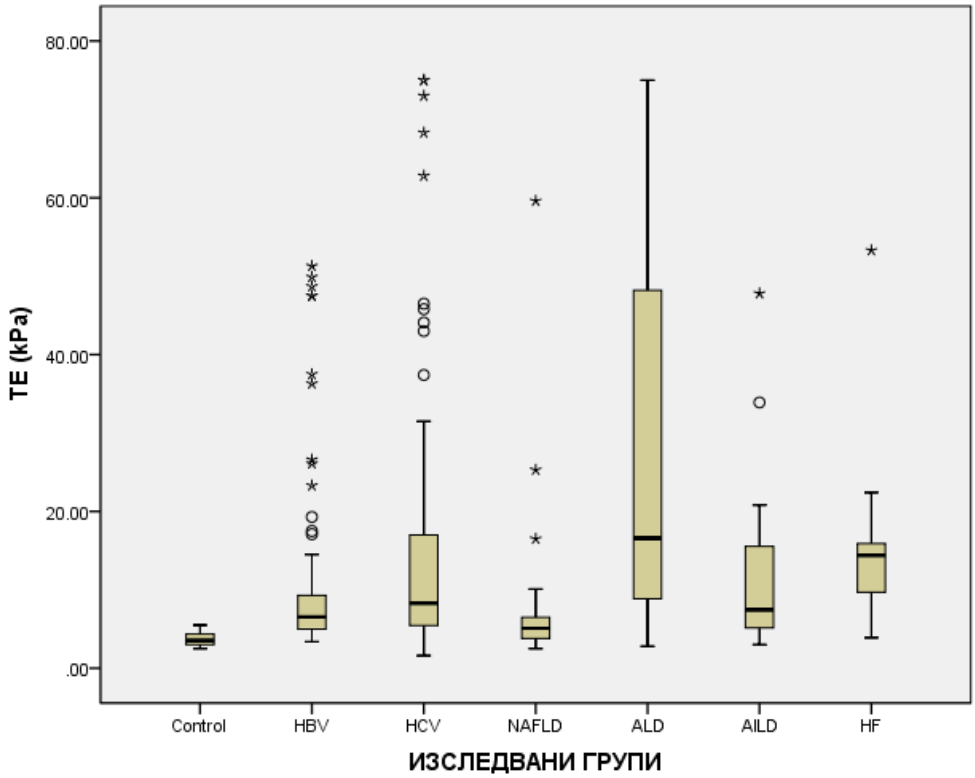
Наличието на сигнификантни разлики при сравнителния анализ между трите вида SWE доказва, че cut-offs стойностите на различните методи не са взаимнозаменяеми.

II. Сравнителен анализ между изследваните групи при неинвазивните методи за оценка на фиброзата

При тези анализи е използван Kruskal-Wallis (за повече от две независими извадки), при статистическа значимост на теста е изчислена корекцията на Bonfferoni и е проведен Mann-Whitney тест (за две независими извадки). Изследваните групи са основните седем в дисертационния труд – Control, HCV, HBV, NAFLD, ALD, AILD, HF. При сравняване на неинвазивните методи за оценка на фиброзата, за всички групи коригираната стойност на Bonferroni = 0.002 и методите са статистически значими при $p<0.002$, само за pSWE, тъй като групите са шест (без HF), корекцията на Bonferroni е 0.003.

1. TE

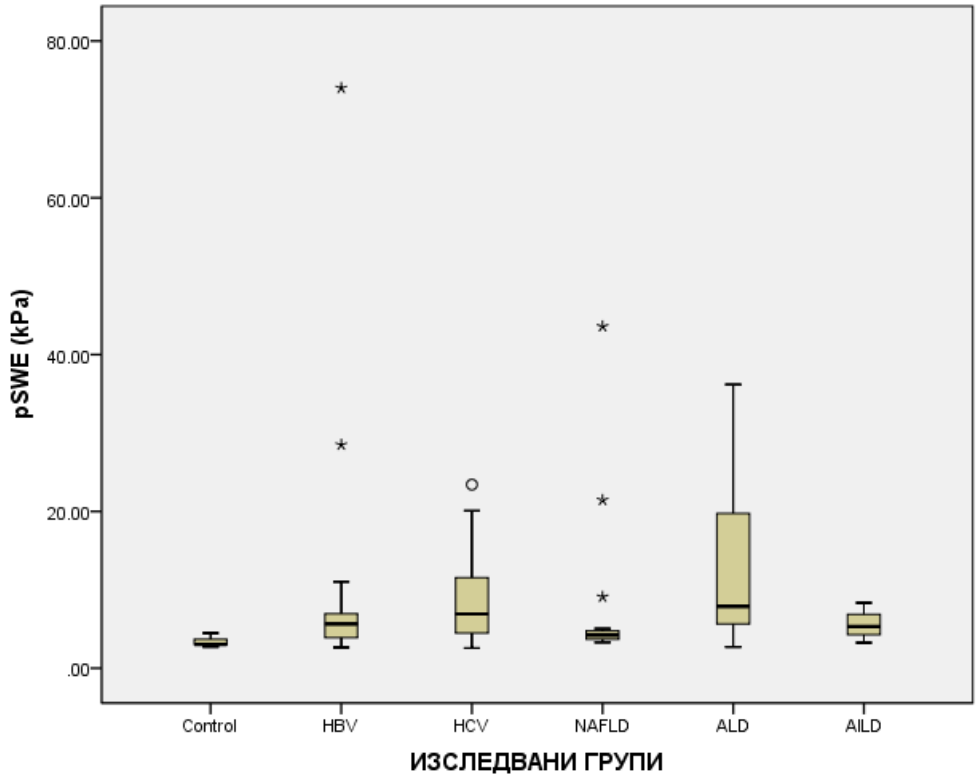
При сравняване на отделните групи с Kruskal-Wallis се установи статистически сигнификантна разлика за медианите им при TE ($\chi^2(6)=76.821$, $p<0.0001$). При провеждане на отделните тестове на Mann-Whitney и след сравняване с корекцията на Bonferroni се откриха статистически значими разлики между контролите и всички останали групи ($p<0.0001$), а също и между NAFLD с HBV, HCV, ALD, HF ($p<0.0001$). При анализа между останалите групи не се установи сигнификантна разлика в kPa ($p>0.002$). На *фиг.19* са представени медианите, персентилите, минималните и максималните, както и анормалните (°), и екстремалните (*) стойности за TE при отделните групи.



Фиг. 19. Стойности на TE по групи

2. pSWE

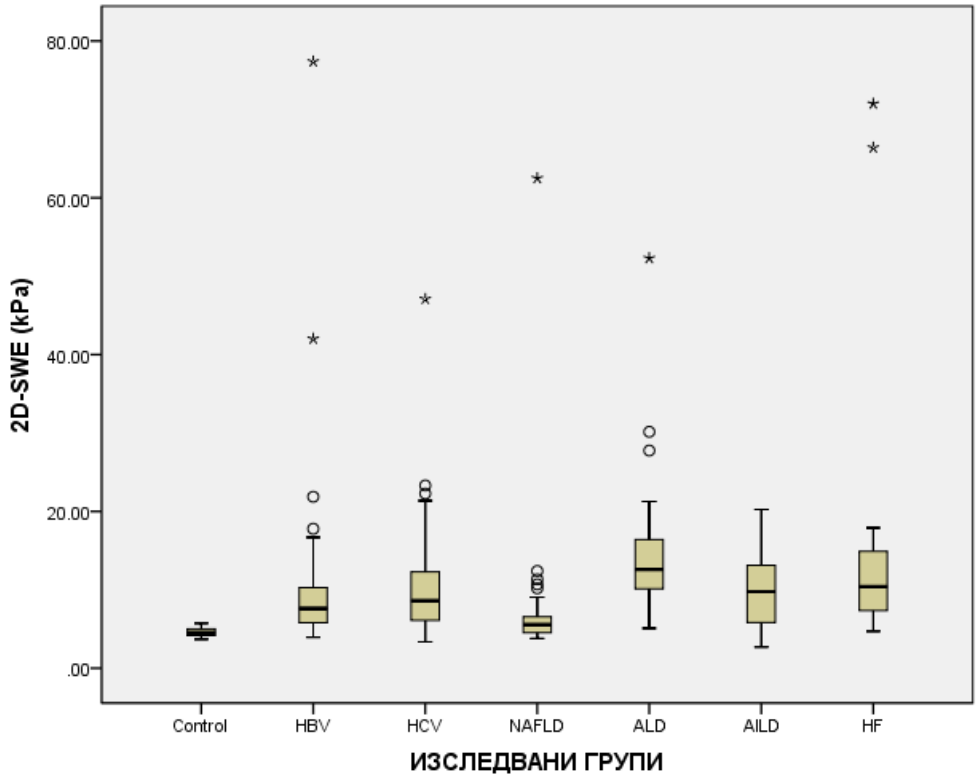
При сравняване на отделните групи с Kruskal-Wallis се установи статистически сигнификантна разлика за медианите им при pSWE ($\chi^2(5)=26.663$, $p<0.0001$). При провеждане на отделните тестове на Mann-Whitney и след сравняване с корекцията на Bonferroni (0.003) се откриха статистически значими разлики между контролите и всички останали групи ($p=0.001$ или $p<0.0001$). При анализа между останалите групи не се установи сигнификантна разлика в kPa ($p>0.003$). На *фиг. 20* са представени медианите, персентилите, минималните и максималните, както и анормалните (°), и екстремалните (*) стойности за pSWE при отделните групи.



Фиг. 20. Стойности на pSWE по групи

3. 2D-SWE

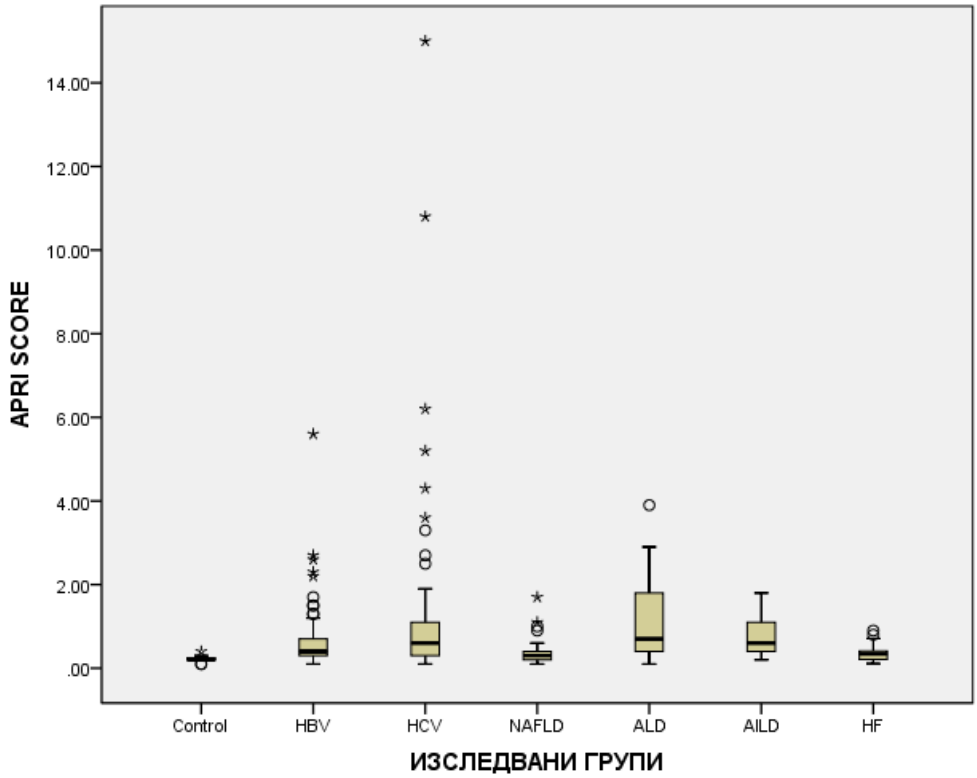
При сравняване на отделните групи с Kruskal-Wallis се установи статистически сигнификантна разлика за медианите им при 2D-SWE ($\chi^2(6)=75.426$, $p<0.0001$). При провеждане на отделните тестове на Mann-Whitney и след сравняване с корекцията на Bonferroni се откриха статистически значими разлики между контролите и всички останали групи ($p<0.0001$), а също, и между NAFLD и HBV, HCV, ALD, AILD, HF ($p<0.0001$), и между HBV и ALD ($p<0.0001$). При анализа между останалите групи не се установи сигнификантна разлика в kPa ($p>0.002$). На *фиг. 21* са представени медианите, персентилите, минималните и максималните, както и анормалните (°), и екстремалните (*) стойности за 2D-SWE при отделните групи.



Фиг. 21. Стойности на 2D-SWE по групи

4. APRI

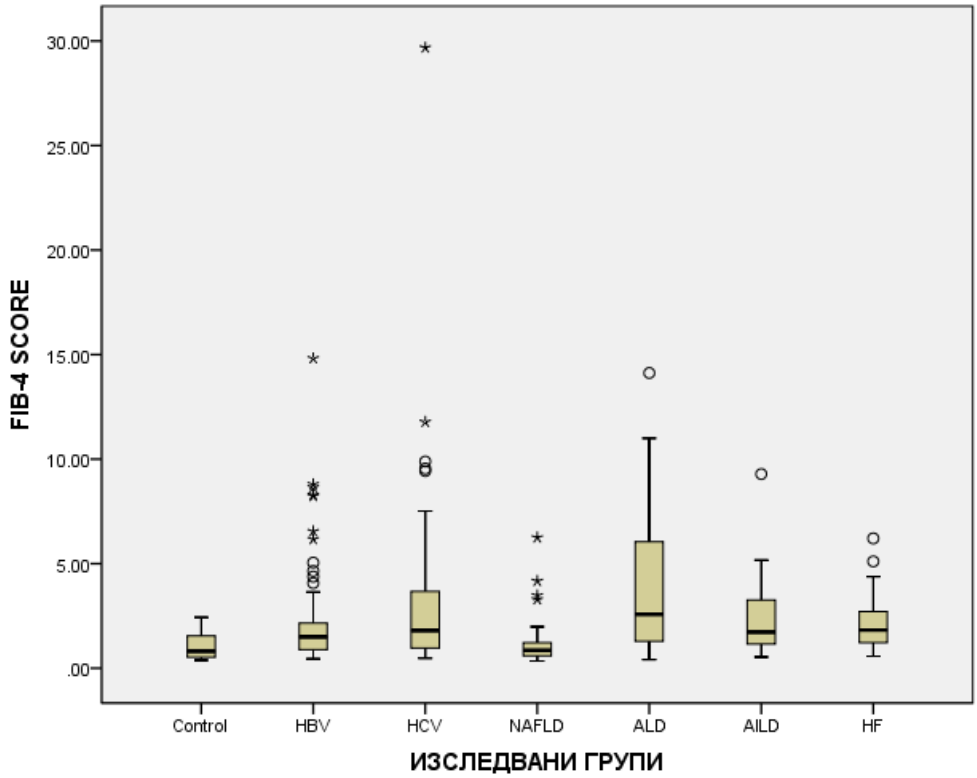
При сравняване на отделните групи с Kruskal-Wallis се установи статистически сигнификантна разлика за медианите им при APRI ($\chi^2(6)=55.756$, $p<0.0001$). При провеждане на отделните тестове на Mann-Whitney и след сравняване с корекцията на Bonferroni се откриха статистически значими разлики: между контролите и HBV, HCV, ALD, AILD ($p<0.0001$), между NAFLD и HBV, HCV, ALD, AILD ($p<0.0001$), между HCV и HF ($p=0.001$), и между ALD и HF ($p=0.001$) . При анализа между останалите групи не се установи сигнификантна разлика в стойностите за APRI ($p>0.002$). На *фиг. 22* са представени медианите, персентилите, минималните и максималните, както и анормалните (°), и екстремалните (*) стойности за APRI при отделните групи.



Фиг. 22. Стойности на APRI по групи

5. FIB-4

При сравняване на отделните групи с Kruskal-Wallis се установи статистически сигнификантна разлика за медианите им при FIB-4 ($\chi^2(6)=54.122$, $p<0.0001$). При провеждане на отделните тестове на Mann-Whitney и след сравняване с корекцията на Bonferroni се откриха статистически значими разлики: между контролите и ALD ($p=0.001$), между NAFLD и HBV, HCV, ALD, AILD, HF ($p<0.0001$ или $p=0.001$), и между HBV и ALD ($p=0.001$). При анализа между останалите групи не се установи сигнификантна разлика в стойностите за FIB-4 ($p>0.002$). На *фиг. 23* са представени медианите, персентилите, минималните и максималните, както и анормалните (°), и екстремалните (*) стойности за FIB-4 при отделните групи.



Фиг. 23. Стойности на FIB-4 по групи

Сравнителният анализ на стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата между различните изследвани групи доказва, че cut-off стойностите при едно заболяване не могат да се използват при друго.

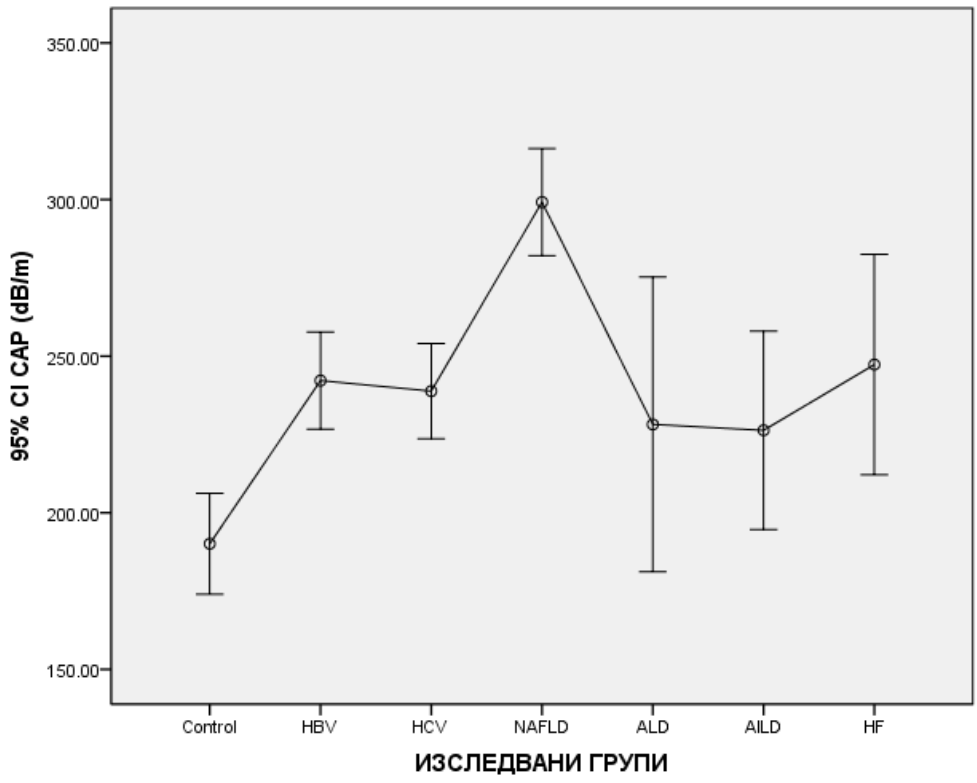
III. Сравнителен анализ между изследваните групи при неинвазивните методи за оценка на стеатозата

Поради нормално разпределение на стойностите на неинвазивните методи за оценка на стеатозата, за анализ на различието в средноаритметичните стойности при отделните групи е използвана ANOVA. Проверката за хомогенност на дисперсията е осъществена чрез тест Levene, като хомогенността между отделните дисперсии на групите не е нарушена при $p>0.05$, т.е. когато тестът не е статистически значим. В случай, че тестът на Levene е статистически значим ($p<0.05$), т.е. е нарушена хомогенността на дисперсиите, се анализират два допълнителни теста - Brown-Forsythe и Welch. Тези два теста трябва да са статистически значими ($p<0.05$), за да се анализира F-статистиката на ANOVA. За определяне къде точно е различието между групите са използвани два post hoc анализа - Tukey HDS при хомогенни дисперсии и Games-Howell при

нарушена хомогенност на дисперсиите, но статистически значими Brown-Forsythe и Welch.

1. **CAP**

При сравняване на отделните групи с ANOVA се установи статистически сигнификантна разлика за средноаритметичните им стойности при CAP, $F(6,259)=10.122$, $p<0.0001$. За определяне между кои групи е разликата, се използва post hoc теста Tukey (тестът на Levene не е статистически значим, $p=0.072$). Установиха се статистически сигнификантни разлики за CAP между NAFLD и Control, HBV, HCV, ALD, AILD ($p<0.05$), между HBV и Control ($p=0.005$), между HCV и Control ($p=0.01$), и HF и Control ($p=0.001$). На *фиг. 24* са представени за всяка група средноаритметичните стойности и 95% доверителен интервал (95% CI) за CAP.

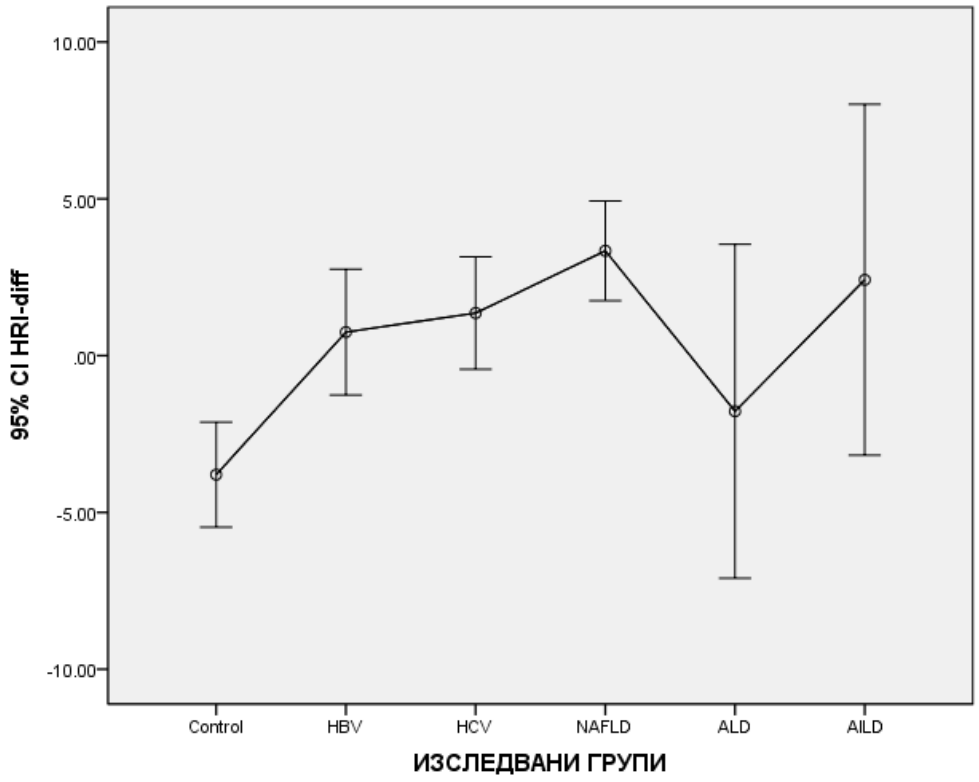


Фиг. 24. Стойности на CAP по групи

2. **HRI-diff**

При сравняване на отделните групи с ANOVA се установи статистически сигнификантна разлика за средноаритметичните им стойности за HRI-diff, $F(5,123)=4.119$, $p=0.002$. За определяне между кои групи е разликата, се използва post hoc теста Tukey (тестът на Levene не е статистически значим, $p=0.100$).

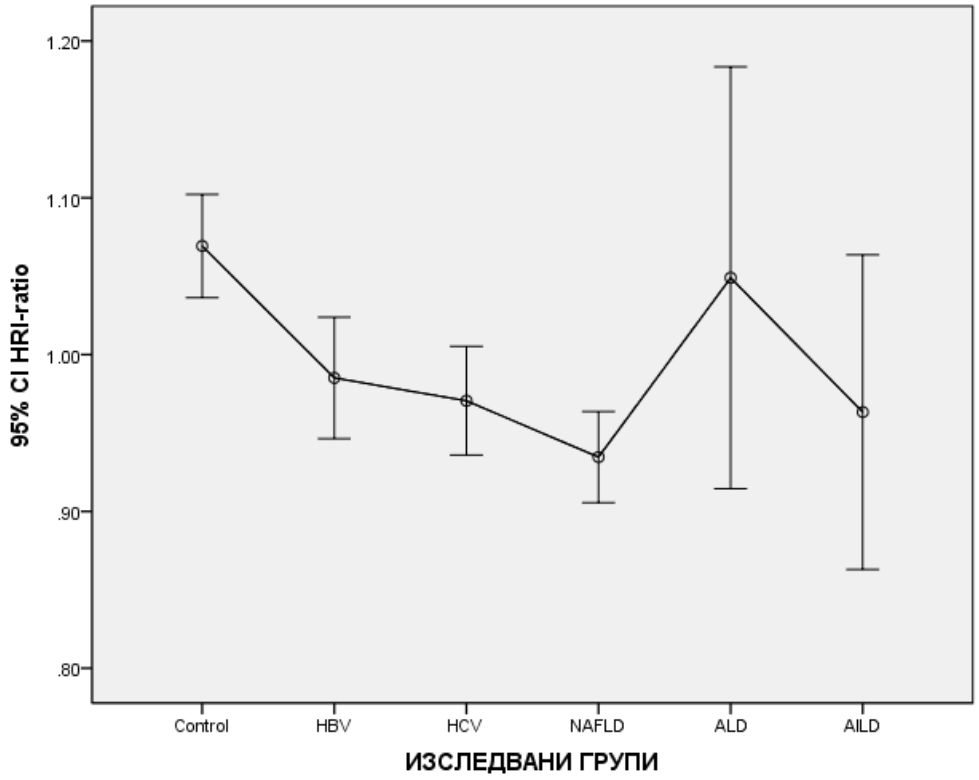
Установиха се статистически сигнификантни разлики за HRI-diff между NAFLD и Control (p=0.001), и между HCV и Control (p=0.03). За останалите сравнявани групи няма сигнификантна разлика в стойностите на HRI-diff (p>0.05). На *фиг. 25* са представени за всяка група средноаритметичните стойности и 95% доверителен интервал (95% CI) за HRI-diff.



Фиг. 25. Стойности на HRI-diff по групи

3. HRI-ratio

При сравняване на отделните групи с ANOVA се установи статистически сигнификантна разлика за средноаритметичните им стойности при HRI-ratio, F(5,123)=3.975, p=0.002. За определяне между кои групи е разликата, се използва post hoc теста Tukey (тестът на Levene не е статистически значим, p=0.068). Установиха се статистически сигнификантни разлики за HRI-ratio между NAFLD и Control (p=0.002), между HCV и Control (p=0.043), и между NAFLD и ALD (p=0.045). За останалите сравнявани групи няма сигнификантна разлика в стойностите на HRI-ratio (p>0.05). На *фиг. 26* са представени за всяка група средноаритметичните стойности и 95% доверителен интервал (95% CI) за HRI-ratio.



Фиг. 26. Стойности на HRI-ratio по групи

IV. Сравнителен анализ при пациентите с варици на хранопровода

Чрез Mann-Whitney тест се установи статистически сигнификантна разлика в стойностите на APRI (U=636.00, r=0.27, p=0.010), FIB-4 (U=472.00, r=0.41, p<0.0001), TE (U=203.00, r=0.38, p=0.003) и 2D-SWE (U=299.00, r=0.42, p<0.0001) между пациенти с нискостепенни (ВХ ст. I-II) и високостепенни варици (ВХ ст. III-IV) (*табл. 78*). Ефектът на статистическата значимост е умерен за FIB-4, FibroScan, 2D-SWE и малък за APRI. Има разлика и в медианите на измерванията чрез pSWE между пациенти с ВХ ст. I-II и ВХ ст. III-IV – 10.8 kPa срещу 19.37 kPa, но те не достигат сигнификантност поради малкия брой изследвани пациенти с ВХ ст. III-IV (седем) чрез този метод (p=0.322).

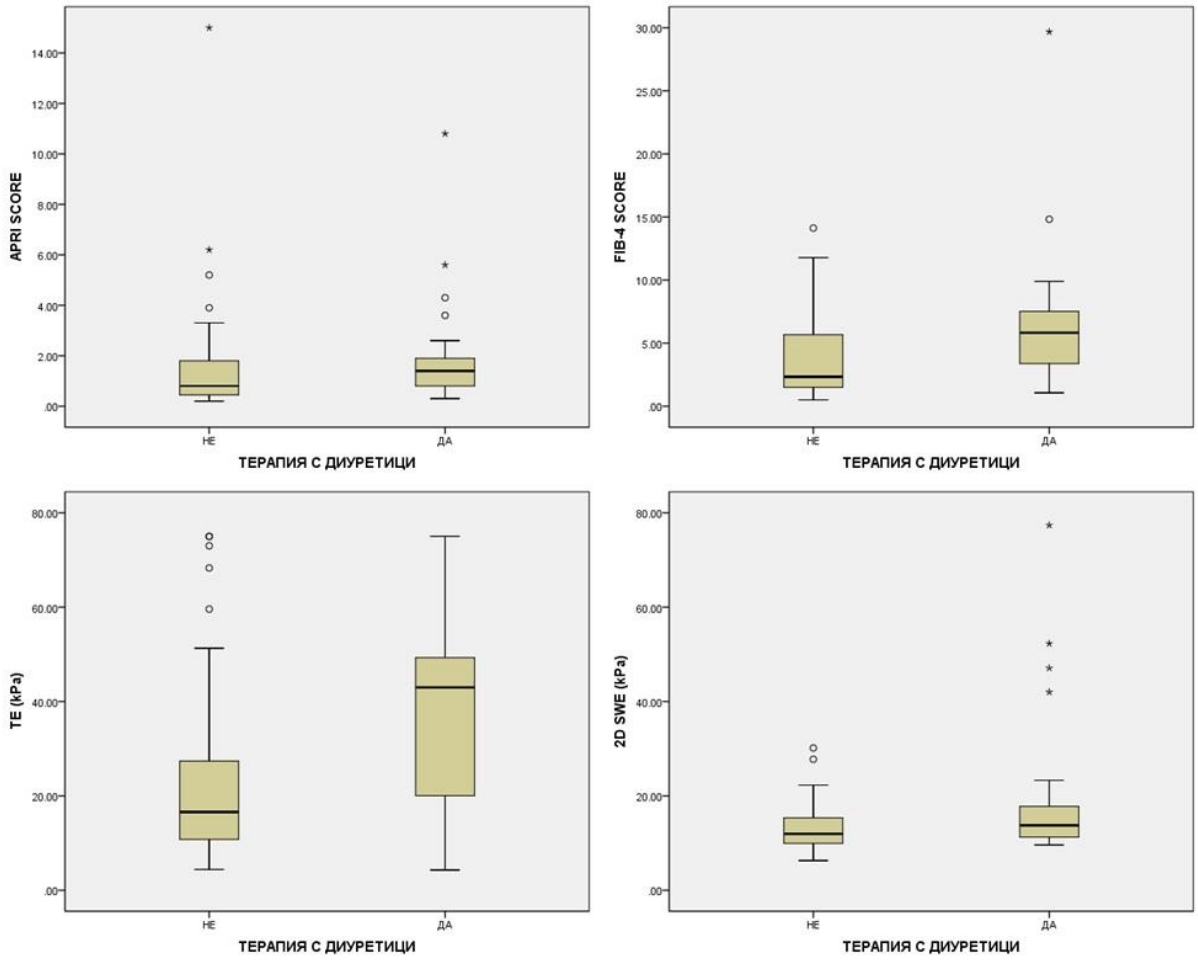
Табл. 78. Медианите на APRI, FIB-4, TE, 2D-SWE при ВХ ст. I-II и ВХ ст. III-IV

	ВХ ст. I-II (median)	ВХ ст. III-IV (median)	p-value
APRI	0.80	1.50	0.010
FIB-4	2.89	5.17	<0.0001
TE (kPa)	15.95	40.20	0.003
2D-SWE (kPa)	11.52	16.04	<0.0001

V. Сравнителен анализ при пациентите с и без асцит

AUROC анализът доказа, че 2D-SWE може да отдиференцира пациентите с цироза, декомпенсирали с асцит, от тези без асцит. Чрез Mann-Whitney тест се установи значимата разлика в стойностите на 2D-SWE при пациенти без и с асцит (11.69 kPa vs. 15.36 kPa, p=0.004).

Проведен е допълнителен анализ по отношение на приема на диуретици. В този анализ са включени не само пациенти, които към момента на провеждане на неинвазивните изследвания са с асцит, който е индикация за диуретична терапия, но също и пациенти, които приемат диуретици поради епизоди на асцит в миналото. Към момента на изследването част от пациентите са компенсирали асцитния синдром на фона на диуретична терапия, поради което при тях е проведена и ТЕ. Чрез Mann-Whitney тест се установи сигнификантна разлика в стойностите на APRI (1.40 vs. 0.80, p=0.027), FIB-4 (5.82 vs. 2.33, p=0.001), ТЕ (43.00 kPa vs. 16.60 kPa, p=0.007) и 2D-SWE (13.77 kPa vs. 11.95 kPa, p=0.021) между пациентите, които приемат или не терапия с диуретици (спиронолактон и фуроземид) – *фиг. 27.* Има разлика и в стойностите на pSWE при пациентите с цироза без и на диуретична терапия – 11.56 kPa vs. 17.48 kPa, но тази разлика не достига сигнификантност поради изследвани с метода само шест пациенти, провеждащи терапия с диуретици (p=0.392).



Фиг. 27. Сравнителен анализ на стойностите на ARPI, FIB-4, TE и 2D-SWE при пациенти, които приемат и не приемат диуретична терапия

ОБСЪЖДАНЕ

В дисертационния труд са представени резултатите от неинвазивното стадиране на хроничните чернодробни заболявания с пет физични ултразвуково-базирани методи за оценка на фиброзата – четири вида еластография (TE, pSWE, 2D-SWE, Combi-Elasto) и контрастно-усилена ехография с изчисляване на два времеви показателя (HVAT, HA-HVTT). За сравнителен анализ са използвани и два серумни биомаркера (APRI, FIB-4). Неинвазивната оценка на стеатозата е осъществена чрез три вида ултразвуково-базирани методи за количествено измерване на атенюацията на ултразвука (CAP, ELs, ATT). Като референтен метод за всички неинвазивни методи е използвана хистологията.

Дисертационният труд включва седем групи пациенти – шест с дифузни чернодробни промени (HBV, HCV, NAFLD, ALD, AILD, HF) и една контролна група от здрави доброволци.

Включването на всички тези групи и неинвазивни методи има за цел да изследва, чрез статистически анализ, точността на всеки един метод и да дефинира клинично му приложение.

I. Фактори, влияещи върху точността на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

За да кажем, че неинвазивните методи могат да бъдат прилагани за оценка на съответните показатели, трябваше да докажем в каква степен те отразяват фиброза и стеатоза.

Еластографските изследвания имат силна корелация с хистологичния стадий на фиброза. Всички ултразвуково-базирани методи за оценка на фиброзата (TE, pSWE, 2D-SWE, Combi-Elasto, HA-HVTT – $r>0.7$) имат по-висока корелация със степента на фиброзата в сравнение със серумните биомаркери (APRI, FIB-4). От всички видове еластографии 2D-SWE отразява в най-голяма степен стадия на фиброза – 76%, следвана от pSWE (66%), TE (63%) и Combi-Elasto с четирите показателя за фиброза (54-62%).

CAP има силна ($r=0.771$), а HRI-diff и HRI-ratio – умерени корелации ($r=0.672$, $r=-0.662$) със стеатозата. CAP отразява в 51% чернодробната стеатоза, а HRI-diff и HRI-ratio – в 45% и 44%. Това е така, тъй като тези методи се влияят от атенюацията на ултразвука в подкожната мастна тъкан, представена

индиректно чрез измерване на интеркосталното разстояние кожа-капсула на черен дроб и обиколката на талията. Корелациите на неинвазивните методи за оценка на стеатозата с последните два показателя са по-силни, отколкото със самата стеатоза. CAP отразява в 72% атенюацията на ултразвука в подкожната мастна тъкан, а HRI-diff и HRI-ratio – в 46%. Това показва неотменимостта (на този етап) на хистологичното изследване за оценка на NAFLD. За ATT не се установи корелация със стеатозата, вероятно поради малкия брой изследвани чрез ATT пациенти с NAFLD (шест).

Анализирани са и допълнителни фактори, независимо от фиброзата и стеатозата, от които зависи точността на неинвазивните методи. Полът не оказва влияние върху стойностите на чернодробната плътност. Корелация с възрастта показват само методите за оценка на фиброзата – в най-голяма степен –FIB-4 (33%, но маркерът съдържа възрастта като променлива), следват 2D-SWE (22%), LFI (19%), TE (14%), APRI (2%). Корелациите между SWE и възрастта са слаби и клинично незначими. Стойностите на HVAT и HA-HVTT не зависят от възрастта при изследваните пациенти ($p>0.05$).

2D-SWE и TE показват слаба зависимост от хистологичната активност (METAVIR), като стойностите им зависят от активността ≤ 21%. CAP, HRI-diff и HRI-ratio не зависят от хистологичната активност.

Методът за оценка на фиброзата с най-слаба зависимост от стойностите на аминотрансферазите е 2D-SWE (16%), а с най-силна зависимост е APRI в 62%, но маркерът съдържа AST като променлива.

Точността на методите за неинвазивна оценка на стеатозата не се влияе от стойностите на аминотрансферазите.

A index от Combi-Elasto (за който производителят претендира, че отразява активността) при изследваните от нас пациенти показва зависимост само от фиброзата ($p<0.0001$), но не и от хистологичната активност (METAVIR) или нивото на аминотрансферазите ($p>0.05$). Методът не е валидиран засега в клинични проучвания и не фигурира в препоръките на EFSUMB за неинвазивна оценка на ХЧЗ.

Чернодробната конгестия е друг фактор, който повлиява ЧП, независимо от фиброзата. Установеното от нас влияние на класа на СН по NYHA върху ЧП ограничава приложимостта на еластографията при пациенти с чернодробна конгестия с цел оценка на фиброзата.

Стеатозата влияе върху стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата – най-слабо при 2D-SWE (19%), следват TE (26%) и APRI (31%).

Представените фактори трябва да се имат предвид при интерпретацията на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата. EASL-ALEH, EFSUMB, WFUMB стриктно препоръчват резултатите от изследването на ЧП да се интерпретират в клинико-лабораторен контекст [1,2,41].

II. Определяне на праговите стойности (cut-offs) за неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

В група HCV неинвазивните физични методи имат по-висока точност (Acc) за изключване на цироза (F4) и на сигнификантна фиброза (F≥2), отколкото за потвърждаването им. Освен това, методите са по-точни в установяването на цироза, отколкото на сигнификантна фиброза. 2D-SWE (93.06%, 94.44%) и TE (91.04%, 92.54%) са с най-висока точност за установяване и за изключване на цироза, докато 2D-SWE (83.33%, 87.50%) и pSWE (80.00%, 85.00%) са най-точните неинвазивни методи за дефиниране и за изключване на сигнификантна фиброза. Серумните биомаркери (APRI, FIB-4) са с по-ниска точност от трите вида еластографии, както за диагноза на цироза и на сигнификантна фиброза, така и за изключването им. От двата маркера, FIB-4 (Acc: 71.60% – 77.78%) показва по-висока точност за установяването и за изключването на цироза, и на сигнификантна фиброза от APRI (Acc: 60.49% - 71.60%).

Cut-off стойностите за ЧП при нашите пациенти с HCV са близки до тези, съобщавани от други автори. EFSUMB и EASL-ALEH представят прагови стойности за сигнификантна фиброза и за цироза при TE с обхват 6.8 – 7.6 kPa и 11 – 15 kPa [1,2]. Представените от нас стойности за TE са съответно - 6.60 kPa (F≥2) и 11.05 kPa (F4). Подобни прагови стойности за сигнификантна фиброза и за цироза съобщават в страната и колективи на К. Антонов и съавт., и И. Иванова и съавт [VII-IX]. Р. Цонев представя по-високи cut-off стойности – 10 kPa (F≥2) и 16 kPa (F4) [VI]. Нашите резултати при pSWE (ElastPQ) и при 2D-SWE (GE) за сигнификантна фиброза са 6.03 kPa и 6.20 kPa, а за цироза – 10.04 kPa и 10.09 kPa. G. Ferraioli et al. определят cut-offs за ElastPQ – 6.43 kPa за F≥2 и 11.34 kPa за F4 [89]. I. Sporea et al. при изследване с 2D-SWE (GE) установяват стойности

за сигнификантна фиброза и за цироза – 7.0 kPa и 10.7 kPa, като методът е с по-висока AUROC за цироза (0.96), отколкото за F≥2 (0.95) [92].

В група HBV физичният метод с най-висока точност за диагностициране на цироза е 2D-SWE (83.87%), следван от ElastPQ и FibroScan. Точността на установяване на сигнификантна фиброза за 2D-SWE е 67.74%, а за TE – 63.93%. Неинвазивните методи диагностицират с по-голяма точност цироза, отколкото сигнификантна фиброза.

Праговите стойности, получени за сигнификантна фиброза и за цироза при нашите пациенти с HBV, са сходни с тези, представени от други автори. К. Антонов и съавт. съобщават за F4 cut-off 11.0 kPa, а за F≥2 – 7.2 kPa при изследване с TE [VII]. J. Ma et al. изследват пациенти с HBV чрез ElastPQ и определят цироза при прагова стойност 9.0 kPa, а сигнификантна фиброза – при 6.99 kPa [105]. F. Bende et al. представят cut-offs за F4 и F≥2 – 9.3 kPa и 6.7 kPa [107]. Получените от нас стойности за диагностициране на цироза при HBV чрез TE (FibroScan), pSWE (ElastPQ) и 2D-SWE (GE) са съответно 9.10 kPa, 10.50 kPa и 10.29 kPa. Сигнификантна фиброза при изследваните от нас пациенти в група HBV се установява чрез TE при 6.20 kPa и чрез 2D-SWE при 7.09 kPa.

В група NAFLD методът с най-висока точност за диагностициране на цироза и на сигнификантна фиброза е 2D-SWE – съотвено 95.83% и 91.67%. Неинвазивните методи с по-голяма точност диагностицират наличието на цироза, отколкото на сигнификантна фиброза. Малкият брой изследвани пациенти (седем) възпрепятства установяването на cut-offs за ElastPQ. Изследването чрез TE (FibroScan) не е дискриминативно по отношение на сигнификантна фиброза ($p>0.05$). За неинвазивно диагностициране на стеатоза най-голяма точност има CAP (83.12%), двата индекса, изчислени от ELs са с подобна точност: HRI-ratio (80.95%) и HRI-diff (78.57%). Трите метода имат по-висока точност за изключване на стеатоза, отколкото за диагностицирането й - CAP (87.01%), HRI-ratio (85.71%) и HRI-diff (83.33%).

Някои автори представят данни за по-слабата приложимост на еластографиите за стадиране на фиброзата при пациенти с NAFLD [1,2,41]. Ние установяваме, че SWE са приложими за стадиране на фиброзата с представената точност. Точността на TE за дефиниране на цироза при NAFLD е по-ниска, отколкото при HCV – AUROC 0.900 vs. 0.980. 2D-SWE има отлична точност в диагностициране на цироза при NAFLD – AUROC 1.000. Праговите

стойности на TE и 2D-SWE за дефиниране на цироза (9.20 kPa и 9.64 kPa) и на 2D-SWE за определяне на сигнификантна фиброза (6.50 kPa) са близки до тези, съобщавани от други автори – TE: 9.50 kPa (F4) и 6.2 kPa (F≥2); 2D-SWE.SSI: 10.50 kPa (F4) и 6.3 kPa (F≥2) [114].

При определянето на cut-offs за изключване и за наличие на стеатоза, CAP е с много висока площ под кривата – AUROC 0.928, като стойности над 240.5 dB/m диагностицират стеатоза (S ≥ 5%), а тези под 213.5 dB/m я изключват. K. Shi et al. представят стойност за диагностициране на стеатоза ≥ 232.5 dB/m [142]. Стеатоза се диагностицира чрез HRI-diff ≥ 1.12 и HRI-ratio ≤ 0.98, и се изключва с HRI-diff ≤ -1.11 и HRI-ratio ≥ 1.01. HRI като иновативен метод е малко проучен. H. von Volkmann et al. не представят данни за прагови стойности, но съобщават, че пациентите с NAFLD имат сигнификантно по-високи стойности на HRI-diff и по-ниски на HRI-ratio спрямо контролите (без стеатоза) [144].

В изследваната от нас група ALD трите вида еластография имат сходна точност за диагностициране на цироза: 2D-SWE (94.74%), ElastPQ (92.31%), FibroScan (91.67%), и могат да изключат цироза със 100% точност при установените cut-offs. Двата серумни маркера са с по-ниска диагностична стойност за цироза – APRI (81.48%) и FIB-4 (77.78%). Поради липса на пациенти с F1-F3 в тази група, не са определени стойности за сигнификантна фиброза. Cut-off стойностите за цироза при нашите пациенти с ALD са: TE (FibroScan) 12.55 kPa, pSWE (ElastPQ) 12.90 kPa и 2D-SWE (GE) 10.20 kPa. M. Lupsor-Platon et al. в своята обзорна статия за приложението на TE при ALD съобщават, че най-често използваният cut-off за установяване на цироза е 12.5 kPa [165].

При пациентите в група AILD също с по-голяма точност се отхвърля, отколкото установява цироза, като най-точна е 2D-SWE (93.33%), следвана от TE (85.71%) и FIB-4 (80.00%). Чрез APRI не се определят прагови стойности за F4 при изследваните пациенти ($p>0.05$). Стойностите на TE (9.75 kPa) и 2D-SWE (10.29 kPa) за диагноза на цироза са по-ниски от тези, представени в други проучвания – TE 16 kPa (Hartl et al.) и 2D-SWE 16.3 kPa (Zeng et al.) [122,166]. По-ниските стойности вероятно се дължат на компенсираната чернодробна болест при повечето пациенти в тази група – средните стойности на аминотрансферазите в групата са нормални, 80% от пациентите с цироза са Child-Pugh A и средният MELD е 9.8 ± 4.1. Съобщените стойности при нашите

пациенти следва да се приемат с условност, тъй като групата е хетерогенна, с различни заболявания.

При никоя етиологична група еластографските изследвания не могат да определят прагови стойности за отделните, по-ниски от цироза, фиброзни стадии (F1-F3).

HVAT и HA-HVTT, изчислени чрез КУЕ, демонстрират подобно на малкото съобщени такива изследвания, скъсените времена и за двата параметъра при пациентите с цироза, като са определени и cut-offs (HVAT ≤ 24.5 сек., HA-HVTT ≤ 9.5 сек). Това дава възможност за сигурно неинвазивно установяване на чернодробна цироза. Провеждането на КУЕ, TIC анализът и изчисляване на двата времеви показатели (HVAT и HA-HVTT) изискват опит в областта на КУЕ и повече време за осъществяване на изследването в сравнение със SWE, което ограничава приложението му в ежедневната клинична практика. Тъй като HVAT и HA-HVTT са показатели, които отразяват промяната в чернодробната хемодинамика при пациенти с цироза, интересна тема за бъдещи проучвания би била влиянието на спланхникусови вазоконстриктори върху двата показателя.

Чрез Combi-Elasto се установиха прагови стойности за чернодробна цироза, като методът е по-точен при изключването ѝ, отколкото за установяването ѝ (95.24% vs. 90.48%). AUROC анализът показва, че и четирите показателя за фиброза (Vs, pSWE, LFI, F index) имат идентична точност за цироза, като вероятна причина за резултатите може да е малкият брой изследвани пациенти при почти еднакви AUROC криви (Vs/pSWE - 0.964, LFI – 0.973, F index – 0.991). Получената при анализа прагова стойност за диагноза на цироза за LFI е 3.66. K. Fujimoto et al. съобщават подобен cut-off – 3.83. Със стойности над 1.47 за F index се диагностицира цироза с точност 90.48% [167]. N. Yada et al. изследват чернодробната фиброза с комбинирания метод - strain и SW Imaging, като установяват, че F index е най-точният метод за диагноза на всички фиброзни стадии (F1-F4) [168]. Броят на изследваните от нас пациенти с Combi-Elasto е по-малък, отколкото чрез другите методи за SWE, поради което оставаме с критичен поглед върху получените прагови стойности и считаме, че са необходими още изследвания за потвърждаване на диагностичната им точност. Тъй като EFSUMB и EASL-ALEH не препоръчват използването на strain еластография като метод за стадиране на чернодробната фиброза, са необходими още изследвания за установяване на клиничната стойност на Combi-

Elasto като метод, който комбинира strain и SWE еластография за оценка на ЧП [1,2].

Неинвазивните методи, освен за диагностициране на фиброзата при различни дифузни чернодробни заболявания, могат и да изключат наличието й (F0). SW еластографиите са с по-висока точност от серумните биомаркери при изключване на фиброза – 2D-SWE (84.55%), ElastPQ (84.13%), FibroScan (81.55%), FIB-4 (80.42%), APRI (71.67%).

Изхождайки от данните, представени от EFSUMB и Baveno VI, в дисертационния труд се направи анализ на стойностите на ЧП, измерени чрез SWE, чрез които може да се изключи наличието на варици на хранопровода и на високостепенни варици. AUROC анализът доказа, че стойностите на ЧП, определени чрез ултразвукова еластография, могат да изключат наличието на варици с точност 74.53% за 2D-SWE, 71.74% за FibroScan и 65.22% за ElastPQ. При добавяне на нормални стойности на тромбоцитите и на нормален напречен размер на слезката, точността на методите се повишава съответно: за 2D-SWE – 80.77% и 86.21%, а за FibroScan – 77.08% и 82.14%. Точността на 2D-SWE за изключване на високостепенни варици е 75.00%, а на FibroScan – 74.70%. При добавяне на втори критерий - нормални стойности на тромбоцитите, точността на 2D-SWE за изключване на високостепенни варици е 86.67%, а на FibroScan – 90.24%. Сред изследваните от нас пациенти няма такива, които да са с високостепенни варици и нормални размери на слезката, т.е. нормалният напречен размер на слезката изключва високостепенни варици. Представените резултати показват, че изключването на наличие на варици чрез еластография, брой на тромбоцити и напречен размер на слезка е с максимална точност 86.21% (2D-SWE), т.е. близо 14% от пациентите, които имат варици, могат бъдат пропуснати. Според нас този риск е клинично неприемлив, което е и причината да препоръчваме ендоскопска оценка на вариците.

Чрез 2D-SWE установихме cut-off стойност за декомпенсация с появата на асцит при пациенти с цироза - 12.69 kPa, като методът е с 85.91% точност. Във връзка с това, информацията в световната литературата е много оскъдна. C. Li et al. изследват пациенти след чернодробна резекция по повод на хепатоцелуларен карцином с HBV етиология и установяват, че при стойности на FibroScan над 15.6 kPa се наблюдава поява на асцит с чувствителност 76.9% и специфичност 98.4% на метода [169]. Представените резултати показват, че ЧП

може да се използва като предиктор за декомпенсация с поява на асцит при чернодробна цироза, включително и за индициране на лечение с бета-блокер с цел предотвратяване на декомпенсация с асцит. C. Villanueva et al. публикуват мултицентрично клинично изпитване от осем центъра в Испания – PREDESCI, което демонстрира, че декомпенсация на цироза с поява на асцит, кървене от варици или чернодробна енцефалопатия се наблюдават сигнификантно по-рядко при пациенти, които приемат терапия с пропранолол или карведилол в сравнение с плацебо – 16% срещу 27%. Ползата от лечението с неселективен бета-блокер за намаляване на риска от декомпенсация е по-изразена при пациенти с малки варици, отколкото при пациенти без варици, което допълнително показва необходимостта от сигурното им доказване [170].

III. Междугрупов сравнителен анализ на стойностите на неинвазивните методи за оценка на фиброзата и стеатозата

Междугруповите сравнителни анализи на стойностите на трите вида SWE в отделните етиологични групи имат за цел да представят различието в стойностите между еластографиите и при отделните чернодробни заболявания. Сравнителните и AUROC анализи показват, че cut-offs за един вид еластография или за дадена етиологична група, не може да се използват за друга, тъй като те имат различни стойности с различна точност. Получените резултати при сравняване на групите са валидни за изследваните пациенти в конкретната дисертация и обосновават становището, че екстраполирането на данни и стойности от един вид еластография или етиология за друг е погрешно и неточно. Това съвпада с препоръките на EFSUMB, показващи разлика в резултатите между различните видове еластографии, а дори и в един и същи вид еластография, но разработен от различни производители. Различията между отделните еластографии се формират от технологично различните честоти на shear waves, като по-високите честоти генерират вълни, които се движат по-бързо в тъканите [2].

Дисертационният труд представи анализи на различни видове неинвазивни физични методи за стадиране на хроничните чернодробни заболявания. Бяха изследвани клиничните възможности на физичните методи,

основани на ултразвук, за оценка на фиброзата и стеатозата при хроничен вирусен хепатит В, хроничен вирусен хепатит С, неалкохолна стеатозна болест на черния дроб, алкохолна чернодробна болест и автоимунни чернодробни заболявания.

Основна цел при изследването на ХЧЗ е постигането на максимално точна и комплексна оценка на чернодробната болест. В този контекст, ТЕ с CAP, интегрирани в едно устройство – FibroScan, дава едновременно оценка на фиброзата и стеатозата в черния дроб. Недостатък на метода е липсата на B-mode изследване, без което нито една неинвазивна оценка, на която и да е чернодробна патология, не би била пълноценна. Интегрирането на еластографиите и методите за ултразвукова атенюация към ехографските машини позволява най-точна комплексна неинвазивна оценка на ХЧЗ, пример за което е инкорпорирането на 2D-SWE и EchoLevels в ехографски апарат. Така се удовлетворява и задължителното според нас провеждане на B-mode и Doppler ехография преди всеки вид еластография.

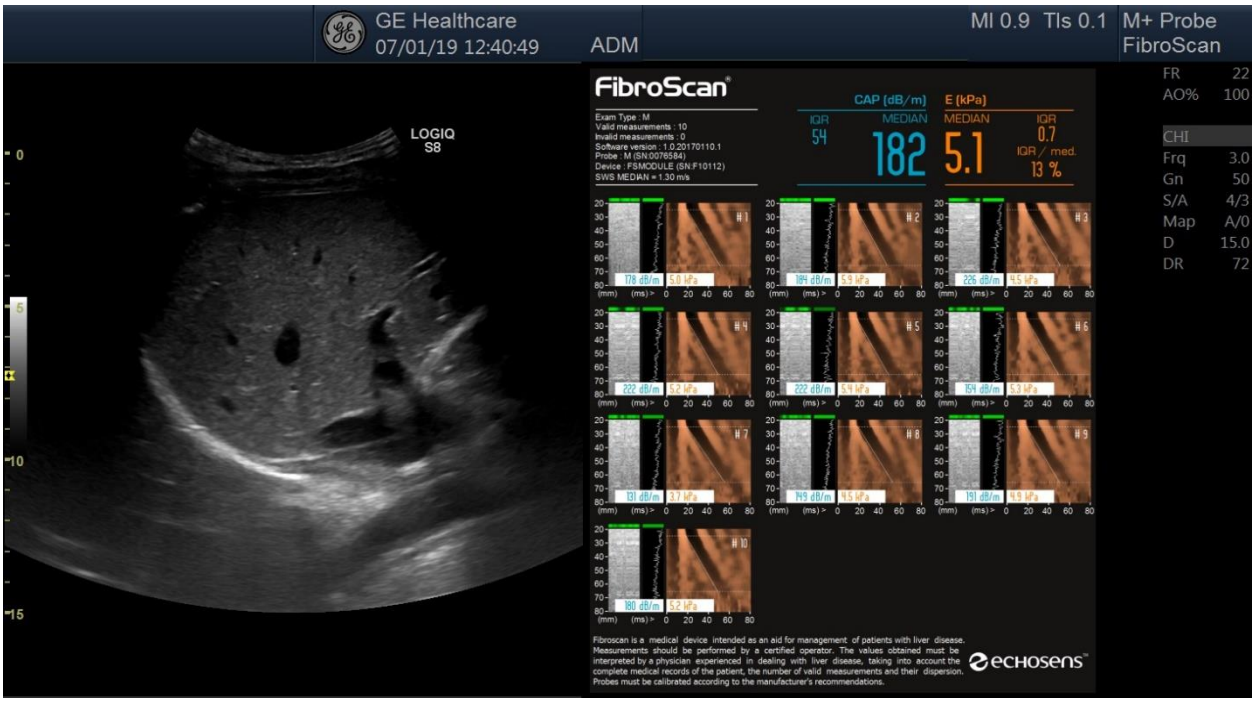
ИЗВОДИ

1. Стойностите на ЧП, измерени чрез методите за shear wave еластография, корелират силно със стадия на фиброзата.
2. 2D-SWE е с най-голяма точност за стадиране на фиброзата.
3. SW еластографиите диагностицират с по-висока точност цироза, отколкото сигнификантна фиброза.
4. SW еластографиите имат по-висока точност за изключване на цироза и на сигнификантна фиброза, отколкото за установяването им.
5. Физичните методи за стадиране на ХЧЗ корелират по-добре със стадия на фиброзата и изключват по-точно наличието й от серумните биомаркери (APRI, FIB-4).
6. Стойностите на ЧП, измерени чрез ултразвукова SW еластография, корелират с наличието на варици и асцит.
7. Cut-offs за един вид еластография не могат да се използват за друг вид еластография или за друга етиология.
8. CAP, HRI-diff и HRI-ratio корелират със стеатозата и могат да се използват за установяването й.
9. КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT диагностицират цироза с голяма точност.

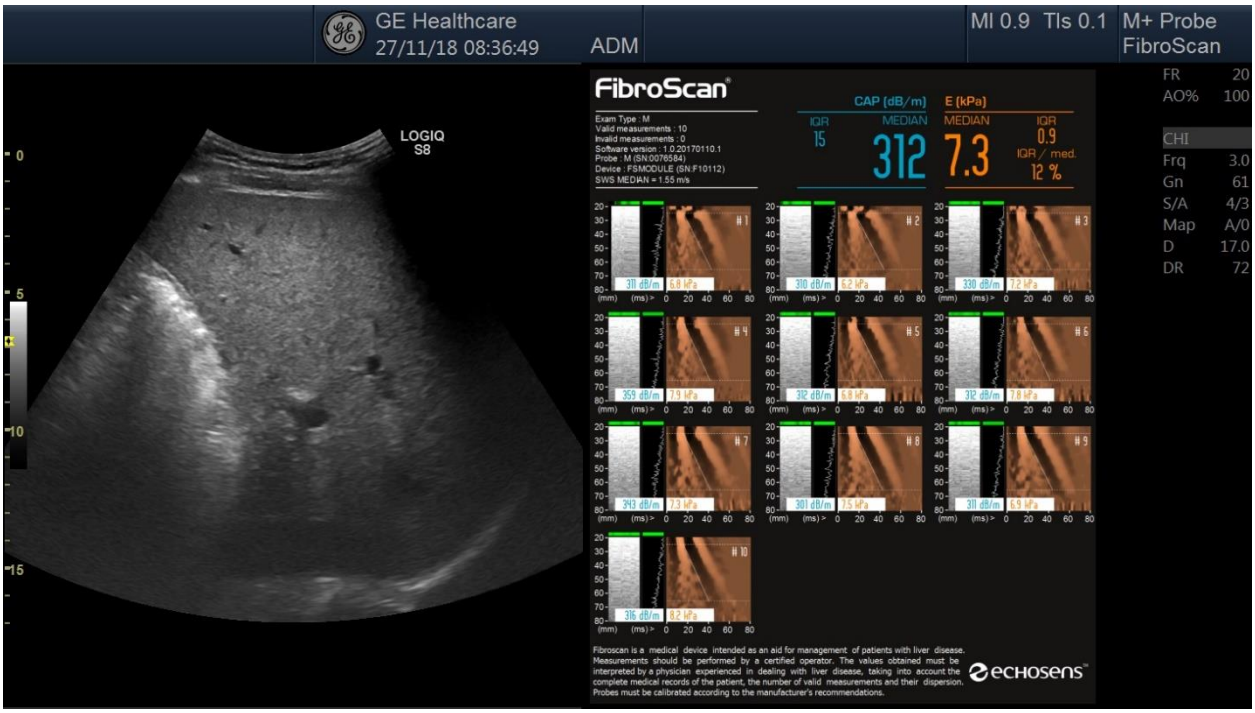
ПРИНОСИ

1. Установена е силна корелация между стойностите на ЧП, измерена чрез SW еластография и стадия на чернодробната фиброза, което валидира приложението на SWE за неинвазивна оценка на стадия на ХЧЗ.
2. Въведен е методът 2D-SWE (GE) за неинвазивна оценка на фиброзата и са определени cut-off стойности при пациенти над 18-годишна възраст.
3. Въведен е методът pSWE (ElastPQ) за неинвазивна оценка на фиброзата и са определени cut-off стойности при пациенти над 18-годишна възраст.
4. Въведен е методът Combi-Elasto за неинвазивна оценка на ХЧЗ.
5. Въведен е методът EchoLevels (HRI-diff, HRI-ratio) за оценка на стеатозата чрез количествено измерване на ултразвуковата атенюация и са определени cut-off стойности за наличие на стеатоза.
6. Въведени са КУЕ-базираните методи HVAT и HA-HVTT, и са определени cut-off стойности за диагностициране на цироза.
7. Директно са сравнени трите основни вида SWE (TE, pSWE, 2D-SWE) и са определени cut-offs за цироза и за сигнификантна фиброза при най-важните социално-значими хронични чернодробни заболявания.

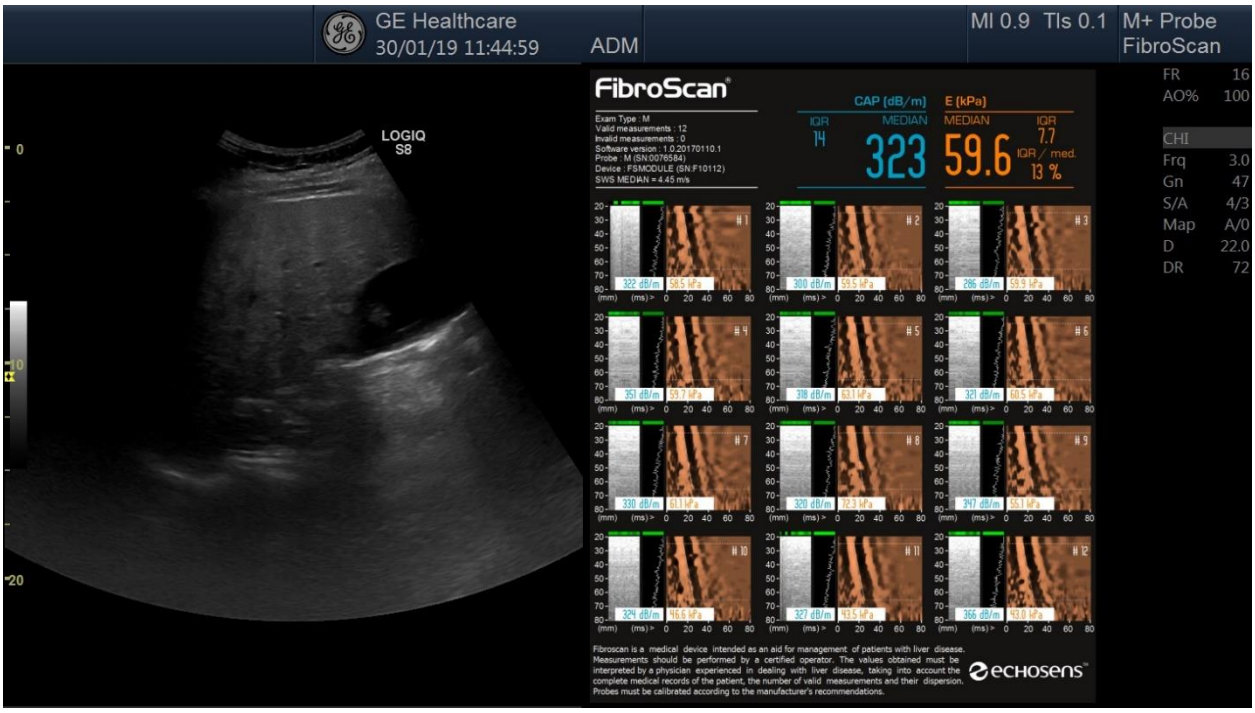
ПРИЛОЖЕНИЕ



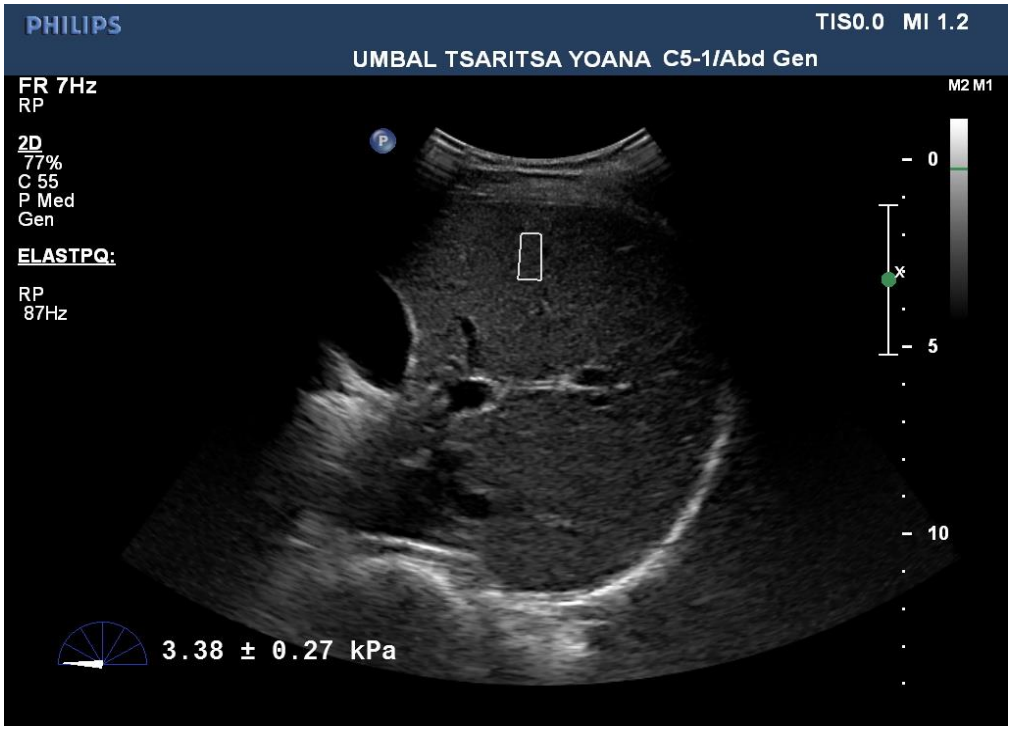
Измерване на чернодробна плътност и на ултразвукова атенюация при здрава контрола чрез FibroScan (Logiq S8, GE) – LSM 5.1 kPa и CAP 182 dB/m



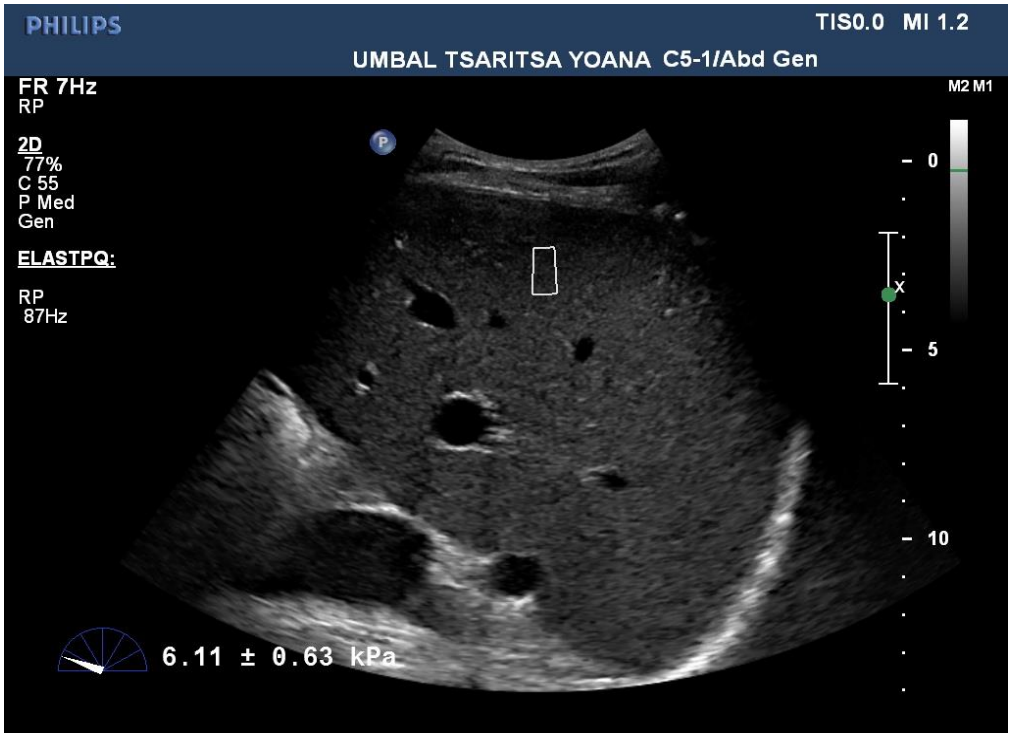
Измерване на чернодробна плътност и на ултразвукова атенюация при пациент с HBV METAVIR F2 чрез FibroScan (Logiq S8, GE) – LSM 7.3 kPa и CAP 312 dB/m



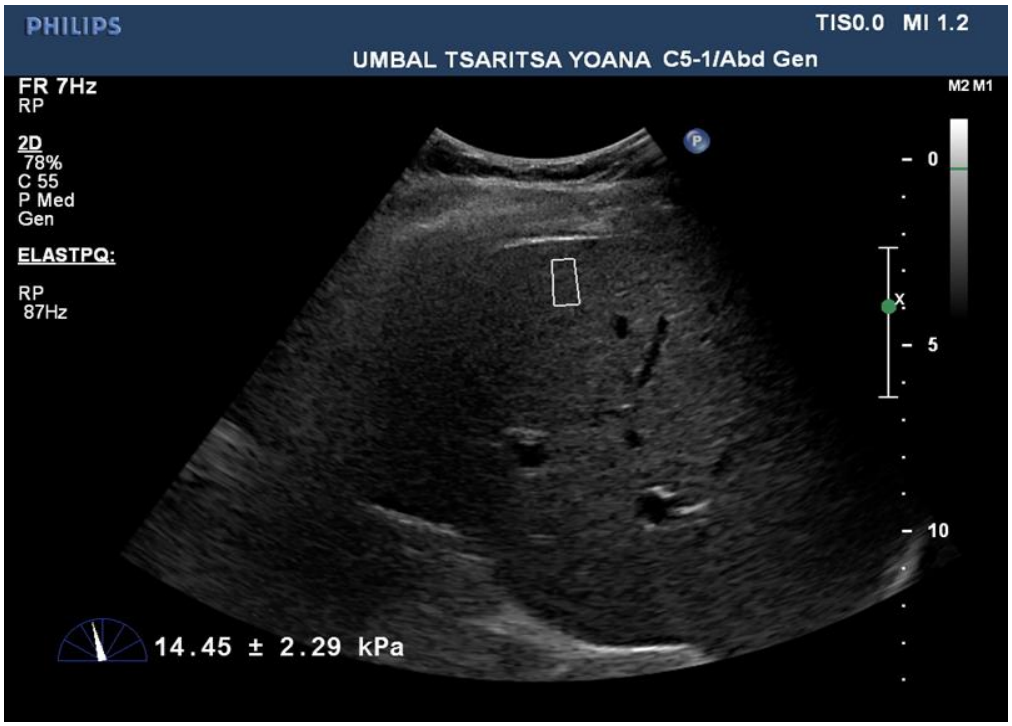
Измерване на чернодробна плътност и на ултразвукова атенюация при пациент с NAFLD F4 (BX ст. I) чрез FibroScan (Logiq S8, GE) – LSM 59.6 kPa и CAP 323 dB/m



Измерване на чернодробна плътност при здрава контрола чрез ElastPQ (Philips IU 22) – LSM 3.38 kPa



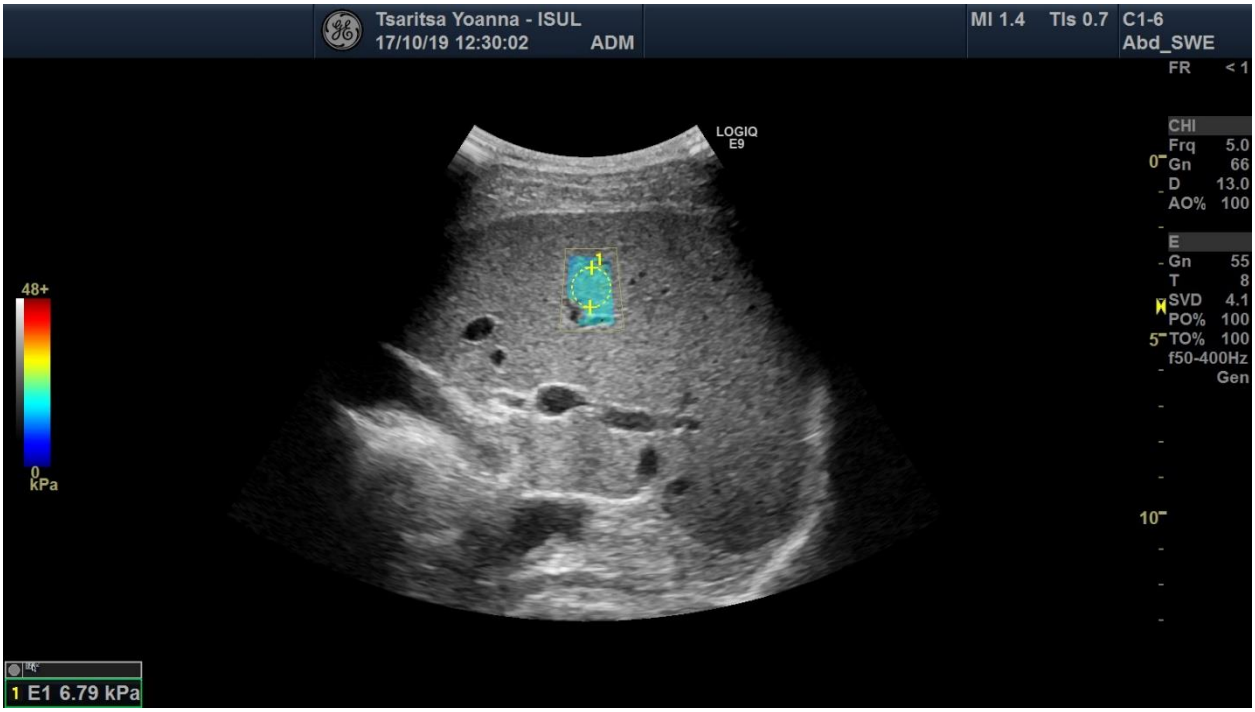
Измерване на чернодробна плътност при пациент с HBV METAVIR F2 чрез ElastPQ (Philips IU 22) – LSM 6.11 kPa



Измерване на чернодробна плътност при пациент с HCV F4 чрез ElastPQ (Philips IU 22) – LSM 14.45 kPa



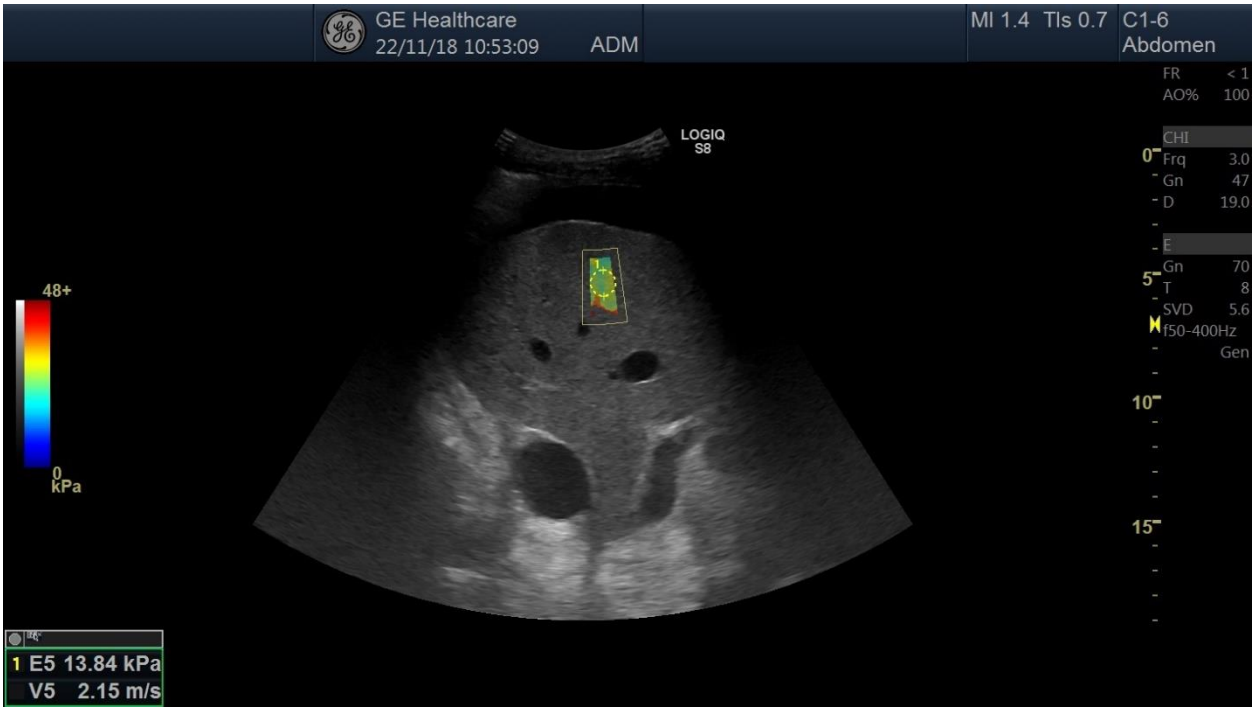
Измерване на чернодробна плътност при здрава контрола чрез 2D-SWE (Logiq S8, GE) – LSM 4.79 kPa (вдясно – рапорт от изследването)



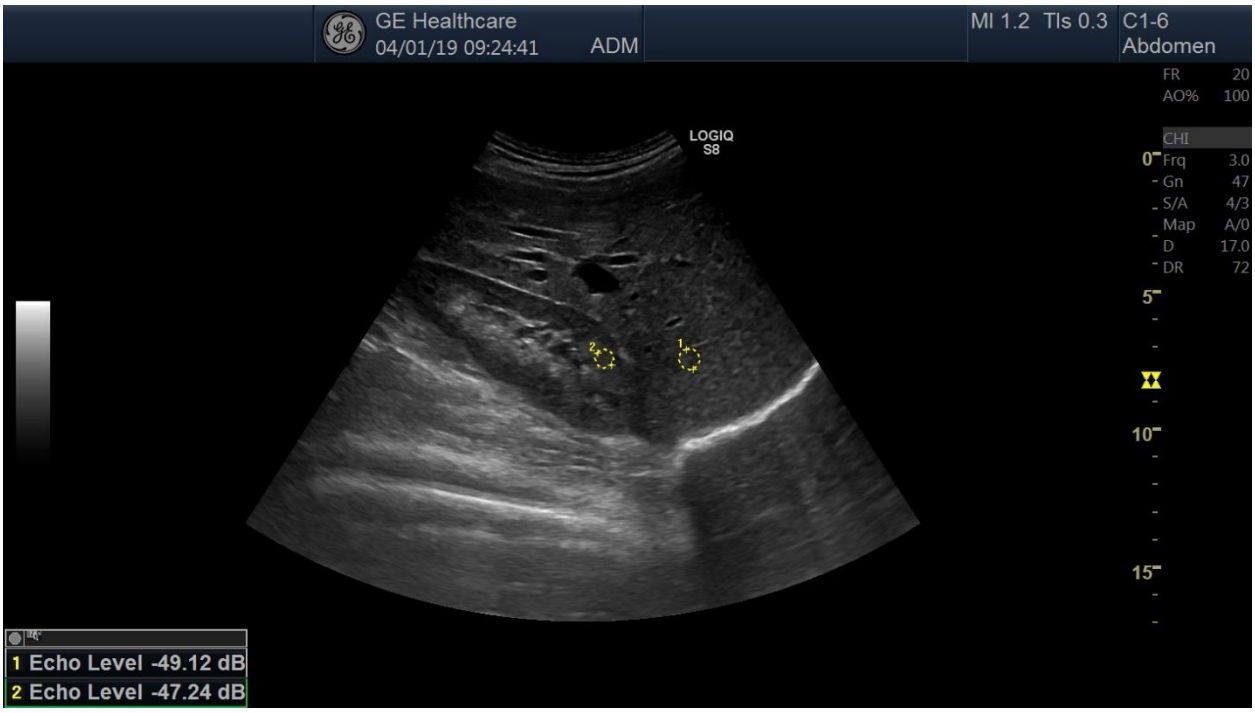
Измерване на чернодробна плътност при пациент с HCV METAVIR F2 чрез 2D-SWE (Logiq E9, GE) – LSM 6.79 kPa



Измерване на чернодробна плътност при пациент с ALD F4 чрез 2D-SWE (Logiq S8, GE) – LSM 13.46 kPa (вдясно – рапорт от изследването)



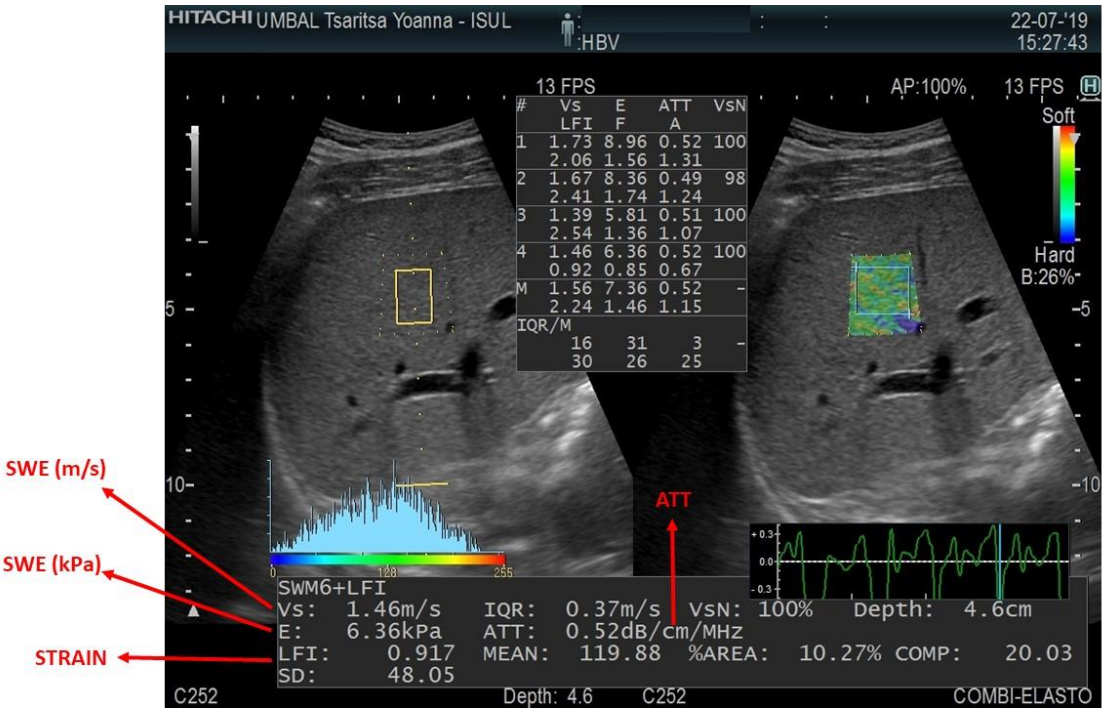
Измерване на чернодробна плътност при пациент с цироза и асцит чрез 2D-SWE (Logiq S8, GE) – LSM 13.84 kPa



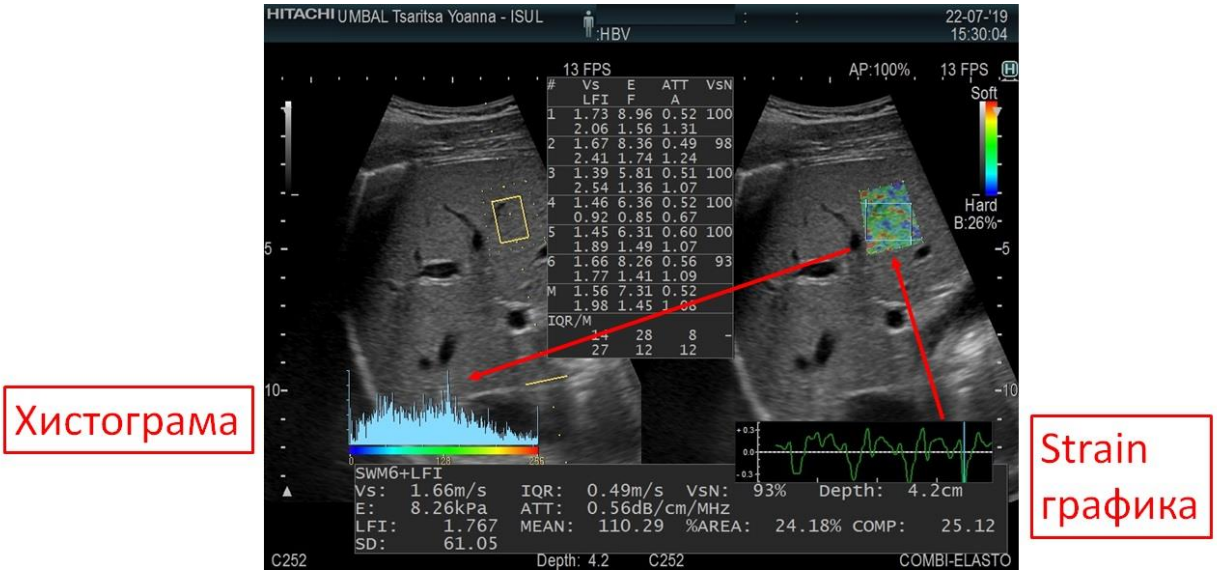
Измерване на ултразвуковата атенюация при здрава контрола чрез EchoLevels (Logiq S8, GE) – EL_{liver} - 49.12 dB и EL_{kidney} - 47.24 dB;
HRI-diff = - 1.88 и HRI-ratio = 1.04



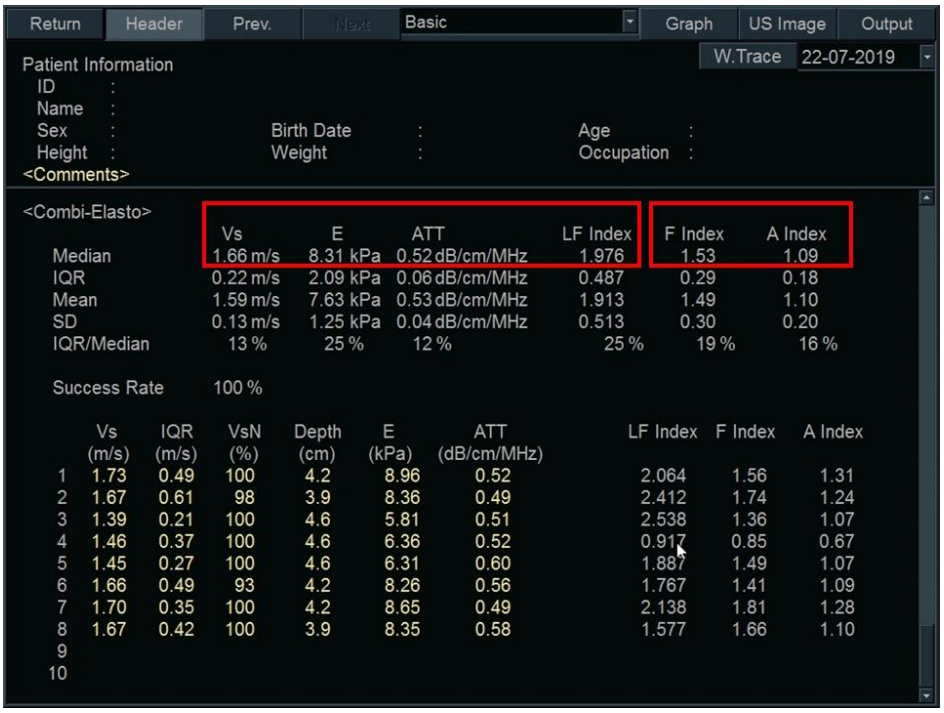
Измерване на ултразвуковата атенюация при пациент с NAFLD чрез EchoLevels (Logiq S8, GE) – EL_{liver} - 44.71 dB и EL_{kidney} - 50.86 dB,
HRI-diff = 6.15 и HRI-ratio = 0.88



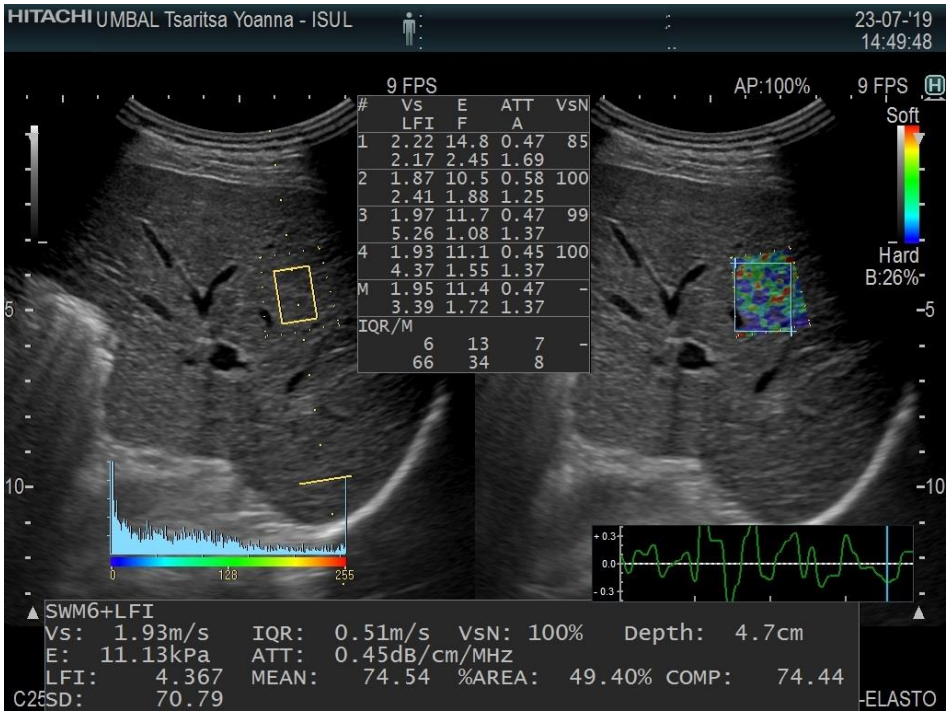
Combi-Elasto (Hitachi Arietta 850) – комбиниран метод за неинвазивна ултразвукова оценка на фиброза, стеатоза и активност



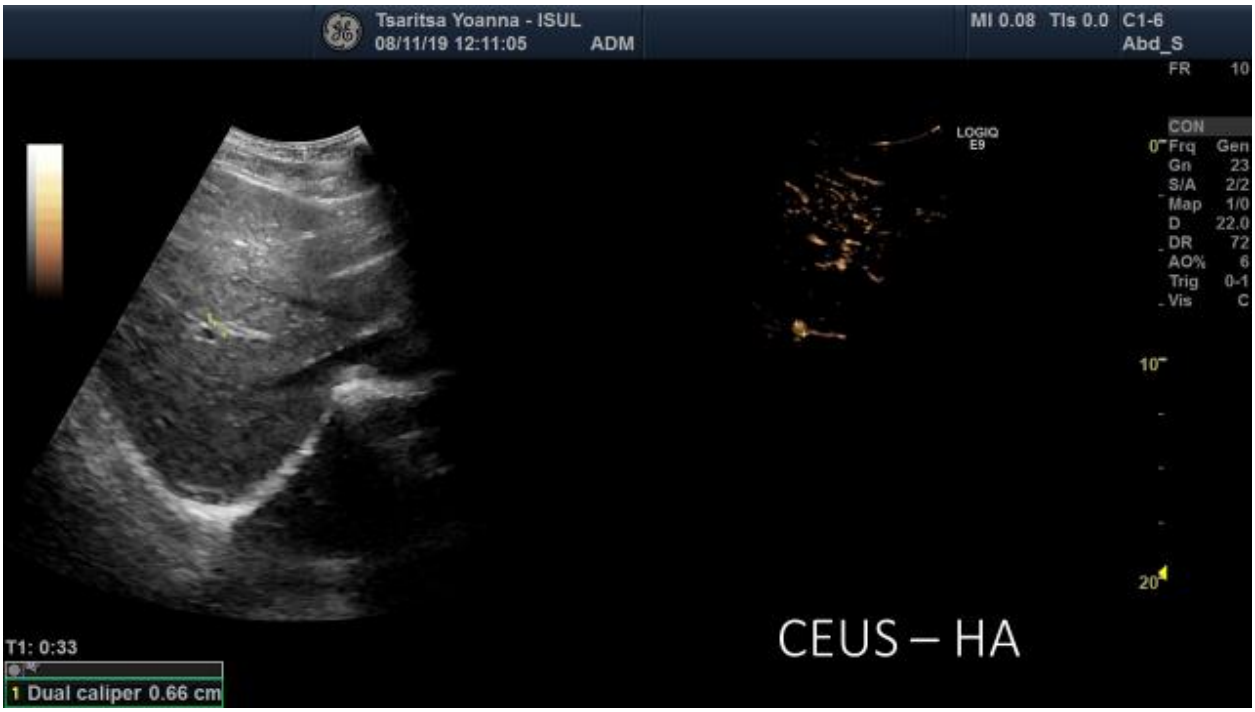
Combi-Elasto (Hitachi Arietta 850) – генериране на хистограма от strain графика



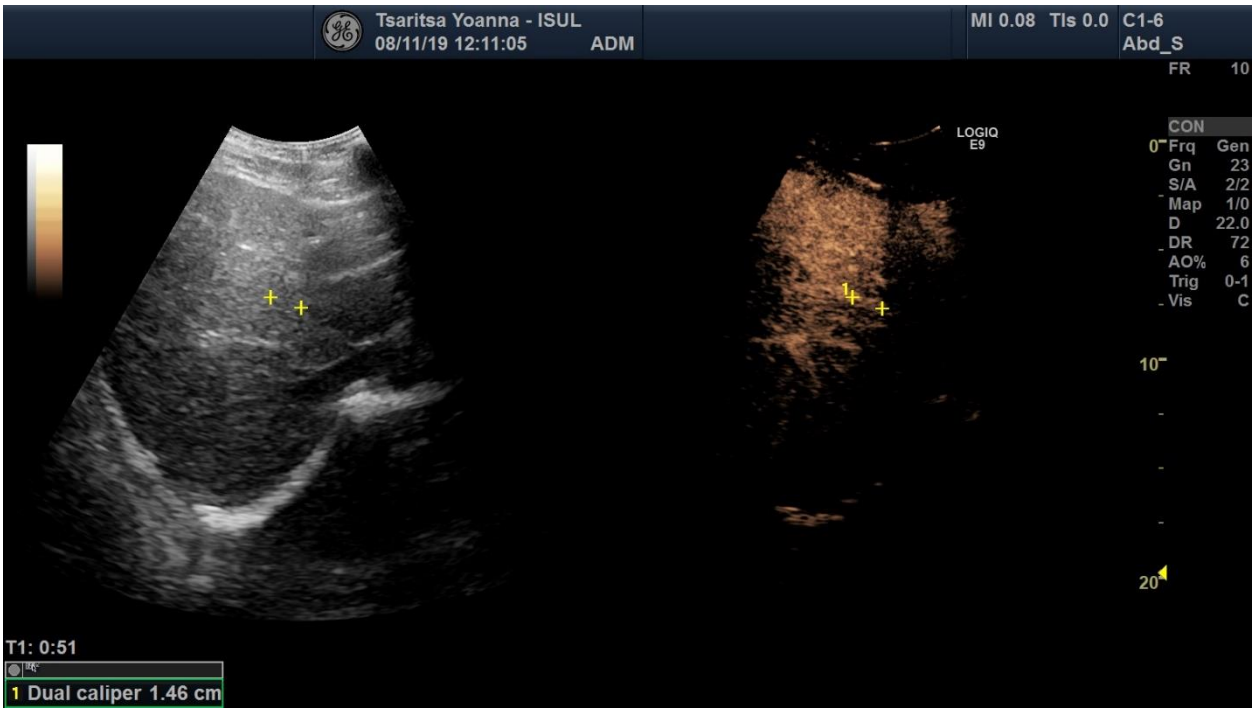
Combi-Elasto (Hitachi Arietta 850) – рапорт с медианите на pSWE (Vs в m/s, E в kPa), ултразвуковата атенюция ATT (dB/cm/MHz), strain хистограмата чрез LFI, F index и A index



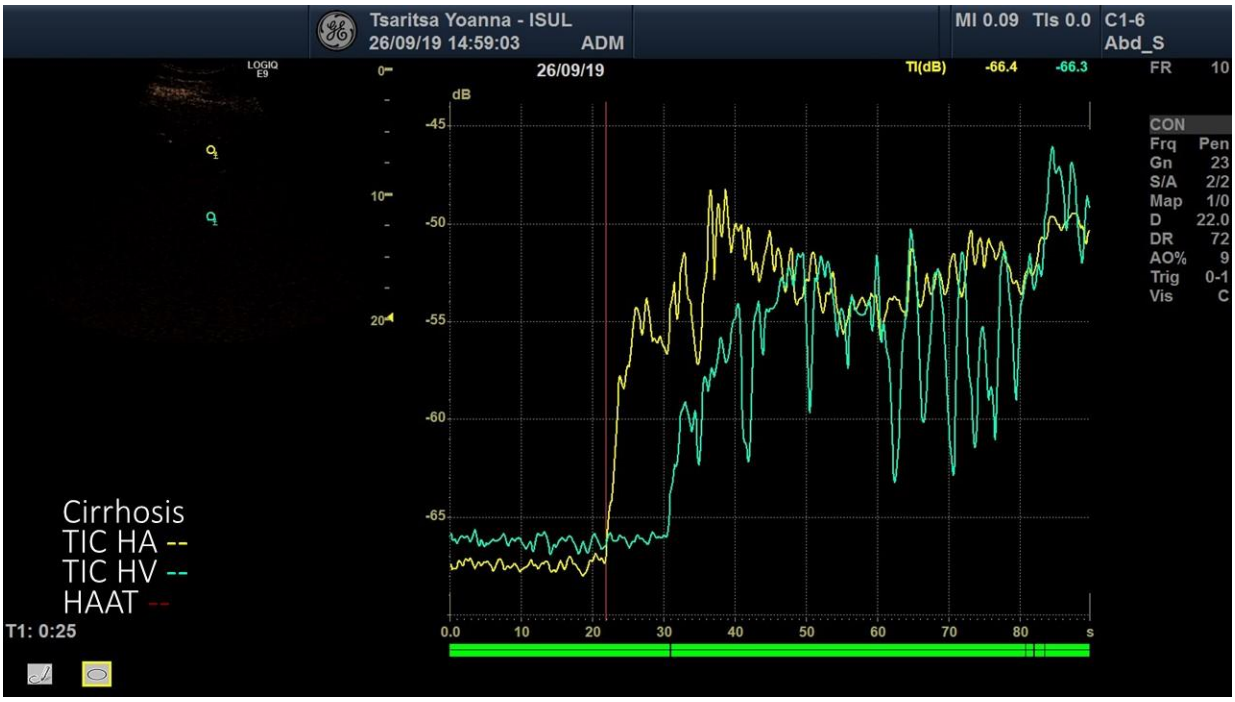
Изследване на пациент с HBV-цироза чрез Combi-Elasto (Hitachi Arietta 850): Vs 1.93 m/s, pSWE (E) 11.13kPa, LFI 4.37, ATT 0.45 dB/cm/MHz



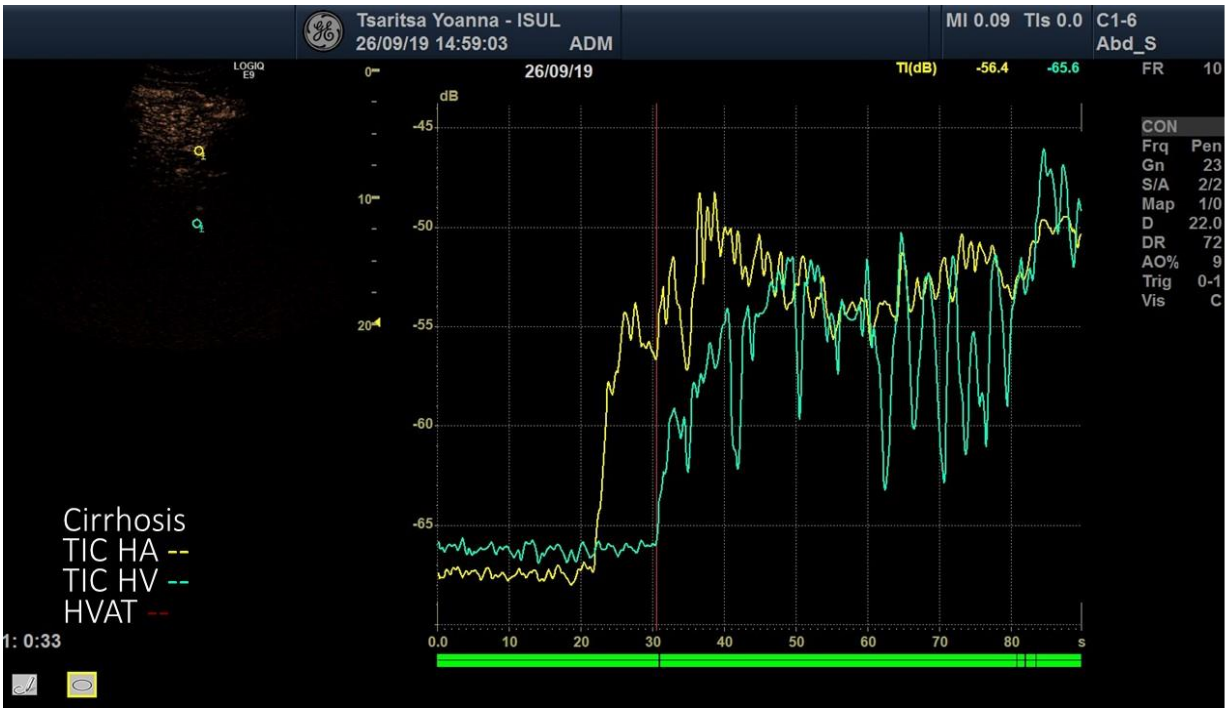
КУЕ (Logiq E9, GE) - използване на dual caliper за маркиране на a. hepatica propria преди TIC анализ



КУЕ (Logiq E9, GE) - използване на dual caliper за маркиране на v. hepatica media преди TIC анализ



КУЕ (Logiq E9, GE) - TIC анализ при цироза: TIC на a. hepatica propria (жълта крива), TIC на v. hepatica media (зелена крива), времето за достигане на контраст до a. hepatica propria (HAAT – hepatic artery arrival time; вертикална червена линия)



КУЕ (Logiq E9, GE) - TIC анализ при цироза: TIC на a. hepatica propria (жълта крива), TIC на v. hepatica media (зелена крива), времето за достигане на контраст до v. hepatica media (HVAT – hepatic vein arrival time; вертикална червена линия)

Публикации

1. Комитова Т., Й. Генов, Р. Митова, Б. Владимиров, К. Герджикова, И. Терзиев. Двуизмерна Shear Wave еластография (2D-SWE) за оценка на фиброзата при пациенти с хроничен С-вирусен хепатит. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 2020; 28(1), стр. 51-58
2. Комитова Т., Р. Митова, Й. Генов, Н. Григоров, А. Алексиев, Д. Попов, С. Ханджиев, Р. Цонев, Р. Балабанска, И. Иванова. Национални правила и препоръки за провеждане на ултразвукова еластография на черен дроб. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 2020; 28(1), стр. 3-11
3. Комитова Т., Й. Генов, Р. Митова, Б. Владимиров, К. Павлов, К. Герджикова, Г. Танева, И. Терзиев. Оценка на чернодробната фиброза – ТЕ срещу чернодробна биопсия. Диагностичен и терапевтичен ултразвук 2018; 26(2):57-64
4. Павлов К., Р. Митова, Й. Генов, Б. Владимиров, Т. Комитова, К. Герджикова, Д. Сотиров, П. Гецов, И. Терзиев, Н. Григоров. Primum non nocere - моноцентрично изпитване на безопасността на перкутанната MWA в лечението на пациенти с малигнени чернодробни тумори. Диагностичен и терапевтичен ултразвук 2018;26(2):49-56
5. Герджикова К., Й. Генов, Р. Митова, Т. Комитова, К. Павлов, Б. Владимиров, П. Гецов, И. Терзиев, М. Колева, Д. Сотиров. Екстрахепатални първични тумори при пациенти с HCV/HBV-асоцииран хепатоцелуларен карцином. Диагностичен и терапевтичен ултразвук 2018;26(2):65-72
6. Pavlov K., J. Genov, R. Mitova, B. Vladimirov, D. Sotirov, G. Taneva, I. Boeva, R. Hristova, T. Komitova, K. Gerdzhikova, Pl. Getsov, I. Terziev, N. Grigorov. Microwave ablation: monocentric results in treatment of liver malignancy. Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences. C. R. Acad. Bulg. Sci.2020, 73 (2):271-281

Научни доклади (устни презентации)

1. Оценка на чернодробната фиброза – TE vs. чернодробна биопсия? Т. Комитова[1], Й. Генов[1], Р. Митова[1], Б. Владимиров[1], К. Павлов[1], К. Герджикова[1], Г. Танева[1], И. Терзиев[2] 1. Клиника по Гастроентерология 2. Отделението по патологична анатомия, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ", МУ – София – IV Национален конгрес за млади гастроентеролози, Анатомична аудитория на МУ-София, 23-24 март 2018

2. Препоръки на EFSUMB за клиничното приложение на ултразвуковата еластография на черен дроб - Т. Комитова, Й. Генов, Р. Митова, Б. Владимиров, К. Павлов, К. Герджикова, Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ", Медицински Университет – София – XXI Национален конгрес по ултразвук в медицината, Конгресен център на клуб Ривиера, к.к. Златни пясъци, 13-16 септември 2018

3. Проект: Физични методи за стадиране на фиброзата при хроничните чернодробни заболявания – Т. Комитова, Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ" – IV Национална конференция по хепатология, Национален дворец на културата, гр. София, 07-08 декември 2018

4. 2D-SWE при сърдечна недостатъчност – Т. Комитова[1], Е. Кинова[2], Б. Владимиров[1], К. Павлов[1], К. Герджикова[1], Л. Иванов[1], Р. Митова[1], Й. Генов[1] 1. Клиника по Гастроентерология 2. Клиника по Кардиология УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ", Медицински Университет – София – IV Национална конференция по хепатология, Национален дворец на културата, гр. София, 07-08 декември 2018

5. NAFLD – количествена неинвазивна оценка на стеатозата и чернодробната фиброза, Т. Комитова[1], Й. Генов[1], Р. Митова[1], Б. Владимиров[1], К. Герджикова[1], Л. Иванов[1] , И. Терзиев[2] 1.Катедра по Гастроентерология 2. Отделение по патологична анатомия, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ", Медицински Университет – София – V Национален конгрес за млади гастроентеролози, Аула на СБАЛАГ "Майчин дом", гр. София, 29-31 март 2019

6. Национални правила и препоръки за провеждане на ултразвукова еластография на черен дроб - Т. Комитова, Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ”, Медицински Университет – София – XXII Национален конгрес по ултразвук в медицината, Конгресен център на клуб Ривиера, к.к. Златни пясъци, 12-15 септември 2019
7. Неинвазивна оценка на вирусен хепатит С – настояще и бъдеще. Т. Комитова[1], К. Герджикова[1], Р. Митова[1], И. Терзиев[2], Б. Владимиров[1], Й. Генов[1] 1.Катедра по Гастроентерология 2. Отделение по патологична анатомия, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ”, Медицински Университет – София – XXII Национален конгрес по ултразвук в медицината, Конгресен център на клуб Ривиера, к.к. Златни пясъци, 12-15 септември 2019
8. Комби-еластография в клиничната практика. Лектори: Т. Комитова[1], H. van Elst[2], 1. Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ”, Медицински Университет – София 2. Product Manager Ultrasound Export, Hitachi Medical Systems Europe Holding – XXII Национален конгрес по ултразвук в медицината, Конгресен център на клуб Ривиера, к.к. Златни пясъци, 12-15 септември 2019
9. Контрастно-усилена ехография и портална хипертония – Т. Комитова, Р. Митова, Б. Владимиров, Й. Генов и съавт., Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ”, Медицински Университет – София – V Национална конференция по хепатология „Портална хипертония”, Национален дворец на културата, гр. София, 29-30 ноември 2019
10. Портосинусоидална болест – Т. Комитова и сътр, Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ”, Медицински Университет – София – V Национална конференция по хепатология „Портална хипертония”, Национален дворец на културата, гр. София, 29-30 ноември 2019

Библиография

от български източници

I. **Григоров Н., Ст. Николова, Р. Джераси.** Глава трета: Черен дроб. В: Абдоминална ехография, Повърхностни структури. Лидер Прес, София, 1995, ISBN 954-8869-01-2, стр. 30-67

II. **НЗОК, България.** „ИЗИСКВАНИЯ НА НЗОК ПРИ ЛЕЧЕНИЕ НА ХРОНИЧЕН ВИРУСЕН С ХЕПАТИТ НАД 18 ГОДИШНА ВЪЗРАСТ В ИЗВЪНБОЛНИЧНАТА ПОМОЩ“, 1 януари 2020 г.

III. **Генов Й., Е. Попхристова.** Чернодробна биопсия за хистологично изследване – индикации и изисквания към метода, Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2/ 2004, стр. 67-70

IV. **Григоров Н.** Соноеластография, Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2/ 2007, стр. 21

V. **Григоров Н.** Конвенционална, Доплер-ехография и еластография при различните етиологични форми на цирозиране. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2-3/ 2014, стр. 16

VI. **Цонев Р.** Оценка на чернодробната фиброза и на качеството на живот при пациенти с хроничен вирусен С-хепатит и цироза. Дисертация. 2019, София

VII. **Антонов К ., И. Вълков, Д. Попов и съавт.** FibroScan за оценка на чернодробната фиброза при пациенти с хронични HBV и HCV инфекции**.** Българска хепатогастроентерология, Кн. 2/ 2014, стр. 28-32

VIII. **Иванова И., Д. Ганчева, А. Атанасова и съавт.** Измерване на чернодробното фиброзиране с пропагираща ултразвукова еластография: клиничен опит при 85 пациенти с хронични вирусни хепатити. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2-3/ 2014, стр. 25

IX. **Иванова И., Д. Дукова, П. Бойкова и съавт.** Роля на транзиетната еластография в комплексната оценка на пациентите с хронични вирусни хепатити. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2/ 2019, стр. 27

X. **Кофинова Д., П. Хаджийска, Д. Кьосева-Шишкова и съавт.** 2D Shear Wave еластография при деца с чернодробни заболявания. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, № 2/ 2019, стр. 28

XI. **Русева А.** Серумни маркери за неинвазивна оценка на чернодробна фиброза. Мединфо, Брой 11/2016, Година XVI, стр. 36-39

XII. **Косева О.** Серумни маркери за чернодробна фиброза и фиброгенеза (клинично приложение). Дисертация. 2007, София, стр. 149-150

Библиография

от чужди източници

1. **Castera L, H Chan, M Arrese et al.** EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. J Hepatol 2015 Jul;63(1):237-64.
2. **Dietrich C, J Bamber, A Berzigotti et al.** EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). Ultraschall Med 2017 Aug;38(4):e16-e47.
3. **Sporea I, M Friedrich-Rust, O Gilja et al.** Chapter: Liver elastography. In: EFSUMB Course Book, 2nd Edition. Department of Gastroenterology and Hepatology "Victor Babes", University of Medicine and Pharmacy Timișoara, Romania. 2018, 1-34 https://doi.org/10.37713/ECB03
4. **Grünhage F, F Lammert.** Chapter 19: Assesment of hepatic fibrosis and steatosis. In: Hepatology - A clinical textbook. ISBN 978-3-941727-22-9, Medizin Fokus Verlag, 2017, 429-448
5. **Ferraioli G, C Filice, L Castera et al.** WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 3: liver. Ultrasound Med Biol 2015; 41: 1161–1179
6. **Chung R, M Ghany, A Kim et al.** Hepatitis C Guidance 2018 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. Clin Infect Dis. 2018 Oct 30;67(10):1477-1492.
7. **Pawlotsky JM, F Negro, A Aghemo et al.** EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. J Hepatol. 2018 Aug;69(2):461-511.
8. **Patch D, A Dhillon.** Chapter 3: Biopsy of the Liver. In: Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary system. ISBN 978-1-4051-3489-7, A John Wiley & Sons, 2011, 36-47
9. **Rockey DC, SH Caldwell, ZD Goodman et al.** American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. Hepatology. 2009 Mar. 49 (3):1017-44.
10. **Neuberger J, J Patel, H Caldwell et al.** Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice from the British Society of Gastroenterology, the Royal College of Radiologists and the Royal College of Pathology. Gut 2020; 0:1–22.
11. **Lorentzen T, CP Nolsøe, C Ewertsen et al.** EFSUMB Guidelines on Interventional Ultrasound (INVUS), Part I. General Aspects (Long Version) Ultraschall Med. 2015 Oct;36(5): E1-14.
12. **Sidhu PS, K Brabrand, V Cantisani et al.** EFSUMB Guidelines on Interventional Ultrasound (INVUS), Part II. Diagnostic Ultrasound-Guided Interventional Procedures (Long Version) Ultraschall Med. 2015 Dec;36(6):E15-35.
13. **Weiss H, U Duntsch.** Complications of fine needle puncture. DEGUM survey II. Ultraschall in Med 1996; 17: 118–130.
14. **Colombo M, E Del Ninno, R de Franchis et al.** Ultrasound-assisted percutaneous liver biopsy: superiority of the Tru-Cut over the Menghini needle for diagnosis of cirrhosis. Gastroenterology 1988;95:487-489.
15. **Seeff LB, GT Everson, TR Morgan, et al.** Complication rate of percutaneous liver biopsies among persons with advanced chronic liver disease in the HALT-C trial. Clin Gastroenterol Hepatol 2010;8:877–83
16. **Pinelo E, J Presa.** Outpatient percutaneous liver biopsy: still a good option. Eur J Intern Med. 2009 Sep. 20(5):487-9.

17. **Riley TR.** How often does ultrasound marking change the liver biopsy site? Am J Gastroenterol 1999;94:3320–2.
18. **Patel IJ, JC Davidson, B Nikolic et al.** Consensus guidelines for periprocedural management of coagulation status and hemostasis risk in percutaneous image-guided interventions. J Vasc Interv Radiol 2012; 23:727–736
19. **Froehlich F, O Lamy, M Fried et al.** Practice and complications of liver biopsy. Results of a nationwide survey in Switzerland. Dig Dis Sci 1993; 38: 1480–1484
20. **Cadranel JF, P Rufat, F Degos.** Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEF). Hepatology 2000; 32: 477–481
21. **Poynard T, V Ratziu, P Bedossa.** Appropriateness of liver biopsy. Can J Gastroenterol 2000; 14: 543–548
22. **West J, TR Card.** Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. Gastroenterology 2010; 139: 1230–1237
23. **Sporea I, D Gherhardt, A Popescu et al.** Does the size of the needle influence the number of portal tracts obtained through percutaneous liver biopsy? Ann Hepatol 2012; 11: 691–695
24. **Cholongitas E, M Senzolo, R Standish et al.** A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. Am J Clin Pathol 2006; 125: 710–721
25. **Colloredo G, M Guido, A Sonzogni et al.** Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. J Hepatol 2003;39:239-244.
26. **Wells P, HD Liang.** Medical ultrasound: imaging of soft tissue strain and elasticity. J R Soc Interface. 2011 Nov 7; 8(64): 1521–1549.
27. **Sigrist R, J Liau, AE Kaffas et al.** Ultrasound Elastography: Review of Techniques and Clinical Applications. Theranostics. 2017 Mar 7;7(5):1303-1329
28. **Gennisson JL, T Deffieux, M Fink et al.** Ultrasound elastography:principles and techniques. Diagn Interv Imaging. 2013 May;94(5):487-95..
29. **Shiina T, KR Nightingale, ML Palmeri et al.** WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 1: basic principles and terminology. Ultrasound in medicine & biology. 2015; 41: 1126-47
30. **Lie I.** Chapter 1: Physics and Technical Information. In: Hepatic Elastography Using Ultrasound waves. Timișoara, Romania. Bentham Science Publishers, ISBN: 978-1-60805-557-9; 2012; 3-24
31. **Bamber J, D Cosgrove, CF Dietrich et al.** EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. Ultraschall Med. 2013; 34: 169-84**.**
32. **Tang A, G Cloutier, NM Szeverenyi et al.** Ultrasound Elastography and MR Elastography for Assessing Liver Fibrosis: Part 1, Principles and Techniques. American journal of roentgenology. 2015; 205: 22-32.
33. **Barr RG, G Ferraioli, ML Palmeri et al.** Elastography Assessment of Liver Fibrosis: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement. Radiology 2015; 276: 845–861
34. **Ophir J, I Cespedes, H Ponnekanti et al.** Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. Ultrasonic imaging. 1991; 13: 111-34.
35. **Morikawa H, K Fukuda, S Kobayashi et al.** Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2011; 46: 350-8.

36. **Itoh A, E Ueno, E Tohno et al.** Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. Radiology. 2006; 239: 341-50.
37. **Bhatia KS, YY Lee, EH Yuen et al.** Ultrasound elastography in the head and neck. Part I. Basic principles and practical aspects. Cancer imaging. 2013; 13: 253-9.
38. **Choi YJ, JH Lee, JH Baek.** Ultrasound elastography for evaluation of cervical lymph nodes. Ultrasonography. 2015; 34: 157-64.
39. **Nightingale K.** Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging: a Review. Curr Med Imaging Rev. 2011 Nov 1; 7(4): 328–339.
40. **Mulazzani L, V Cantisani, F Piscaglia.** Hepatology Snapshot: Different techniques for ultrasound liver elastography, J Hepatol. 2019 vol. 70, 545–547
41. **Ferraioli G, VW Wong, L Castera et al.** Liver Ultrasound Elastography: An Update to the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology Guidelines and Recommendations. Ultrasound Med Biol. 2018 Dec;44(12):2419-2440
42. **Garra BS.** Elastography: history, principles, and technique comparison. Abdom imaging. 2015; 40: 680-97.
43. **Dhyani M, A Anvari, AE Samir.** Ultrasound elastography: liver. Abdom imaging. 2015; 40: 698-708.
44. **Castera L, X Forns, A Alberti.** Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. J Hepatol. 2008; 48: 835-47.
45. **Castera L, J Foucher, PH Bernard et al.** Pitfalls of Liver Stiffness Measurement: A 5-Year Prospective Study of 13,369 Examinations. Hepatology 2010; 51: 828-835.
46. **Berzigotti A, G Ferraioli, S Bota et al.** Novel ultrasound-based methods to assess liver disease:The game has just begun. Dig Liver Dis 2018; 50:107–112.
47. **Kim S, Y Kang, MJ Lee et al.** Points to be considered when applying FibroScan S probe in children with biliary atresia. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2014;59:551
48. **Guzman-Aroca F, M Reus, JD Berna-Serna et al.** Reproducibility of shear wave velocity measurements by acoustic radiation force impulse imaging of the liver: a study in healthy volunteers. J Ultrasound Med 2011; 30: 975–979
49. **Ferraioli G, C Tinelli, R Lissandrin et al.** Point shear wave elastography method for assessing liver stiffness. World J Gastroenterol 2014; 20: 4787–4796
50. **Muller M, JL Gennisson, T Deffieux et al.** Quantitative viscoelasticity mapping of human liver using supersonic shear imaging: Preliminary in vivo feasibility study. Ultrasound Med Biol 2009; 35: 219–229.
51. **Bavu E, JL Gennisson, V Mallet et al.** Supersonic Shear Imaging is a new potent morphlogical noninvasive technique to assess liver fibrosis. Part II: Comparison with FibroScan J Hepatol. 2010; 52: S166
52. **Sporea I, O Grădinaru-Taşcău, S Bota et al.** How many measurements are needed for liver stiffness assessment by 2D-Shear Wave Elastography (2D-SWE) and which value should be used: the mean or median? Med Ultrason. 2013 Dec;15(4):268-72.
53. **Bende F, R Sirli, A Popescu et al.** Optimal number of valid measurements for the assessment of liver stiffness using 2D-SWE.GE. . Ultraschall Med 2016;37 (Suppl 1):S41
54. **Woo H, JY Lee, JH Yoon et al.** Comparison of the Reliability of Acoustic Radiation Force Impulse Imaging and Supersonic Shear Imaging in Measurement of Liver Stiffness. Radiology 2015; 277: 881–886

55. **Poynard T, M Munteanu, E Luckina et al.** Liver fibrosis evaluation using real-time shear wave elastography: applicability and diagnostic performance using methods without a gold standard. J Hepatol 2013;58:928-935.
56. **Sirli R, S Bota, I Sporea et al.** Liver Stiffness Measurements by Means of Supersonic Shear Imaging in Patients Without Known Liver Pathology. Ultrasound Med Biol. 2013 Aug;39(8):1362-7
57. **Mederacke I, K Wursthorn, J Kirschner et al.** Food intake increases liver stiffness in patients with chronic or resolved hepatitis C virus infection. Liver Int 2009; 29: 1500–1506
58. **Arena U, ML Platon, C Stasi et al.** Liver stiffness is influenced by a standardized meal in patients with chronic hepatitis C virus at different stages of fibrotic evolution. Hepatology 2013; 58: 65–72
59. **Berzigotti A, A De Gottardi, R Vukotic et al.** Effect of meal ingestion on liver stiffness in patients with cirrhosis and portal hypertension. PLoS One 2013; 8: e58742
60. **Samir AE, M Dhyani, A Vij et al.** Shear-wave elastography for the estimation of liver fibrosis in chronic liver disease: determining accuracy and ideal site for measurement. Radiology. 2015; 274: 888-96.
61. **Toshima T, K Shirabe, K Takeishi et al.** New method for assessing liver fibrosis based on acoustic radiation force impulse: a special reference to the difference between right and left liver. J Gastroenterol. 2011; 46: 705-11.
62. **Potthoff A, D Attia, S Pischke et al.** Influence of different frequencies and insertion depths on the diagnostic accuracy of liver elastography by acoustic radiation force impulse imaging (ARFI). Eur J Radiol 2013; 82: 1207–1212
63. **Wang CZ, J Zheng, YZP Huang et al.** Influence of measurement depth on the stiffness assessment of healthy liver with real-time shear wave elastography, Ultrasound In Med. & Biol., 2014, Vol. 40, No. 3, Pp. 461–469
64. **Loustaud-Ratti VR, A Cypierre, A Rousseau et al.** Non-invasive detection of hepatic amyloidosis: FibroScan, a new tool. Amyloid. 2011 Mar;18(1):19-24.
65. **Ichikawa K, Y Narita, Y Ota et al.** Transient elastography-derived liver stiffness measurements were found to be useful for predicting liver infiltration in a case of mature T-cell neoplasm involving liver dysfunction. Int J Clin Exp Pathol. 2015 Apr 1;8(4):4220-6
66. **Millonig G, FM Reimann, S Friedrich et al.** Extrahepatic cholestasis increases liver stiffness (FibroScan) irrespective of fibrosis. Hepatology 2008; 48: 1718–1723
67. **İçen YK, AO Demirtaş , AS Koç et al.** Liver stiffness value obtained with ElastPQ ultrasound increases with NYHA class in chronic heart failure patients and reduced ejection fraction. Turk Kardiyol Dern Ars. 2019 Jun;47(4):281-293
68. **Millonig G, S Friedrich, S Adolf et al.** Liver stiffness is directly influenced by central venous pressure. J Hepatol 2010;52:206–210.
69. **Petta S, M Maida, FS Macaluso et al.** The severity of steatosis influences liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2015 Oct;62(4):1101-10
70. **Colombo S, L Belloli, M Zaccanelli et al.** Normal liver stiffness and its determinants in healthy blood donors. Dig Liver Dis 2011; 43: 231–236
71. **Roulot D, JL Costes, JF Buyck et al.** Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. Gut 2011; 60: 977–984
72. **Sirli R, I Sporea, A Tudora et al.** Transient elastographic evaluation of subjects without known hepatic pathology: does age change the liver stiffness? J Gastrointestin Liver Dis 2009; 18: 57–60

73. **Popescu A, I Sporea, R Sirli et al.** The mean values of liver stiffness assessed by Acoustic Radiation Force Impulse elastography in normal subjects. Med Ultrason 2011;13:33-37.
74. **Son CY, SU Kim, WK Han et al**. Normal liver elasticity values using acoustic radiation force impulse imaging: a prospective study in healthy living liver and kidney donors. J Gastroenterol Hepatol 2012;27:130-136.
75. **Goertz RS, K Amann, R Heide et al.** An abdominal and thyroid status with Acoustic Radiation Force Impulse Elastometry--a feasibility study: Acoustic Radiation Force Impulse Elastometry of human organs. Eur J Radiol 2011;80:e226-230.
76. **Madhok R, C Tapasvi, U Prasad et al.** Acoustic radiation force impulse imaging of the liver: measurement of the normal mean values of the shearing wave velocity in a healthy liver. J Clin Diagn Res 2013;7:39-42**.**
77. **Sirli R, S Bota, I Sporea et al.** Liver stiffness measurements by means of supersonic shear imaging in patients without known liver pathology. Ultrasound Med Biol 2013;39:1362-1367.
78. **Bende F, A Mulabecirovic, I Sporea et al.** Assessing Liver Stiffness by 2-D Shear Wave Elastography in a Healthy Cohort. Ultrasound Med Biol 2018;44:332-341.
79. **Udompap P, D Kim, WR Kim.** Current and Future Burden of Chronic Nonmalignant Liver DiseaseClin Gastroenterol Hepatol. 2015 Nov;13(12):2031-41.
80. **Pimpin L, H Cortez-Pinto, F Negro.** Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. J. Hepatol. 2018, 69, 718–735
81. **Younossi ZM, AB Koenig, D Abdelatif et al.** Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. Hepatology 2016;64:73–84.
82. **Eslam M, PN Newsome, SK Sarin et al.** A new definition for metabolic associated fatty liver disease: an international expert consensus statement J Hepatol. 2020 Jul;73(1):202-209.
83. **Razavi-Shearer D, I Gamkrelidze, MH Nguyen et al.** Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study.Lancet Gastroenterol Hepatol 2018;3:383–403.
84. **Blach S, S Zeuzem, M Manns et al.** Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. Lancet Gastroenterol Hepatol 2017;2:161–176.
85. **Petruzziello A, S Marigliano, G Loquercio et al.** Global epidemiology of hepatitis C virus infection: an up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. World J Gastroenterol 2016;22:7824.
86. **Lim JK, SL Flamm, S Singh et al.** American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Role of Elastography in the Evaluation of Liver Fibrosis Gastroenterology 2017; 152:1536–1543
87. **Șirli R, I Sporea, D Nicoliță et al.** Are there different values of liver stiffness evaluated by means of transient elastography in patients with HBV or HCV chronic hepatitis? Gastroenterology 2011:140 (Suppl 1); S-978
88. **Sporea I, S Bota, M Peck-Radosavljevic et al.** Acoustic Radiation Force Impulse elastography for fibrosis evaluation in patients with chronic hepatitis C: an international multicenter study. Eur J Radiol 2012;81:4112-4118**.**
89. **Ferraioli G, L Maiocchi, R Lissandrin et al.** Liver Fibrosis Study G. Accuracy of the ElastPQ Technique for the Assessment of Liver Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C: a "Real Life" Single Center Study. J Gastrointestin Liver Dis 2016;25:331-335.

90. **Rizzo L, V Calvaruso, B Cacopardo et al.** Comparison of Transient Elastography and Acoustic Radiation Force Impulse for Non-Invasive Staging of Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C. Am J Gastroenterol 2011; 106: 2112-2120.
91. **Ferraioli G, C Tinelli, B Dal Bello et al.** Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. Hepatology 2012; 56: 2125–2133
92. **Sporea I, F Bende, A Popescu et al.** The Value of 2D-SWE.GE for the Evaluation of Liver Fibrosis in Patients with HCV Compensated Chronic Hepatopathies, Umbjournal 2017, Volume 43, Supplement 1, Pages S102–S103
93. **D'Ambrosio R, A Aghemo, M Fraquelli et al.** The diagnostic accuracy of Fibroscan for cirrhosis is influenced by liver morphometry in HCV patients with a sustained virological response. J Hepatol 2013; 59: 251–256
94. **Lee HW, YE Chon, SU Kim et al.** Predicting Liver-Related Events Using Transient Elastography in Chronic Hepatitis C Patients with Sustained Virological Response. Gut Liver 2016; 10: 429–436
95. **Klibansky DA, SH Mehta, M Curry et al.** Transient elastography for predicting clinical outcomes in patients with chronic liver disease. J Viral Hepat 2012;19:e184–e193.
96. **Meng F, Y Zheng, Q Zhang et al.** Noninvasive evaluation of liver fibrosis using real-time tissue elastography and transient elastography (FibroScan). J Ultrasound Med 2015; 34: 403–410
97. **Liu Y, CF Dong, G Yang et al.** Optimal linear combination of ARFI, transient elastography and APRI for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis B. Liver Int 2015; 35: 816–825
98. **Dong DR, MN Hao, C Li et al.** Acoustic radiation force impulse elastography, FibroScan(R), Forns' index and their combination in the assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B, and the impact of inflammatory activity and steatosis on these diagnostic methods. Mol Med Rep 2015; 11: 4174–4182
99. **Chan HL, GL Wong, PC Choi et al.** Alanine aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. J Viral Hepat 2009; 16: 36–44
100. **Fraquelli M, C Rigamonti, G Casazza et al.** Etiology-related determinants of liver stiffness values in chronic viral hepatitis B or C. J Hepatol 2011; 54: 621–628
101. **Cardoso AC, RJ Carvalho-Filho, C Stern et al.** Direct comparison of diagnostic performance of transient elastography in patients withchronic hepatitis B and chronic hepatitis C. Liver Int 2012; 32: 612 –621
102. **Invernizzi F, M Vigano, G Grossi et al.** The prognosis and management of inactive HBV carriers. Liver Int 2016; 36 (Suppl. 1): 100–104
103. **Castera L, PH Bernard, B Le Bail et al.** Transient elastography and biomarkers for liver fibrosis assessment and follow-up of inactive hepatitis B carriers. Aliment Pharmacol Ther 2011; 33: 455–465
104. **Friedrich-Rust M, P Buggisch, RJ de Knegt et al.** Acoustic radiation force impulse imaging for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. J Viral Hepat 2013;20:240-247.
105. **Ma JJ, H Ding, F Mao et al**. Assessment of liver fibrosis with elastography point quantification technique in chronic hepatitis B virus patients: a comparison with liver pathological results. J Gastroenterol Hepatol 2014;29:814-819.
106. **Leung VY, J Shen, VW Wong et al**. Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave

elastography and transient elastography with liver biopsy correlation. Radiology 2013;269:910-918.
107. **Bende F, I Sporea, R Sirli et al.** Performance of 2D-SWE.GE for predicting different stages of liver fibrosis, using Transient Elastography as the reference method. Med Ultrason. 2017 Apr 22;19(2):143-149
108. **Kwok R, YK Tse, GL Wong et al.** Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease--the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. Aliment Pharmacol Ther 2014;39:254-269.
109. **Wong VW, J Vergniol, GL Wong et al.** Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 2010; 51: 454-462.
110. **Wong VW, J Vergnio, GL Wong et al.** Liver stiffness measurement using XL probe in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Am J Gastroenterol 2012; 107:1862–1871
111. **CF Braticevici, I Sporea, E Panaitescu et al**. Value of acoustic radiation force impulse imaging elastography for non-invasive evaluation of patients with nonalcoholic fatty liver disease. Ultrasound Med Biol 2013;39:1942-1950.
112. **Liu H, J Fu, R Hong et al.** Acoustic Radiation Force Impulse Elastography for the Non-Invasive Evaluation of Hepatic Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients: A Systematic Review & Meta-Analysis. PLoS One 2015;10:e0127782.
113. **Roccarina D, LI Prat, M Guerrero et al.** Comparison of ElastPQ Shear-wave Elastography (ElastPQ-SWE) and FibroScan Transient Elastography (F-TE) for liver fibrosis staging in patients with NAFLD. J Hepatol. April 2018 Vol. 68, Supplement 1, Page S554
114. **Cassinotto C, J Boursier, V De Ledinghen et al.** Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of Supersonic Shear Imaging, FibroScan and ARFI with liver biopsy. Hepatology 2016; 63: 1817–1827
115. **Pavlov CS, G Casazza, D Nikolova et al.** Transient elastography for diagnosis of stages of hepatic fibrosis and cirrhosis in people with alcoholic liver disease. Cochrane Database Syst Rev. 2015; 1: CD010542
116. **Gelsi E, R Dainese, R Truchi et al.** Effect of detoxification on liver stiffness assessed by Fibroscan(R) in alcoholic patients. Alcohol Clin Exp Res 2011; 35: 566–570
117. **Mueller S, G Millonig, L Sarovska et al.** Increased liver stiffness in alcoholic liver disease: differentiating fibrosis from steatohepatitis. World J Gastroenterol 2010; 16: 966–972
118. **Trabut JB, V Thepot, B Nalpas et al.** Rapid decline of liver stiffness following alcohol withdrawal in heavy drinkers. Alcohol Clin Exp Res 2012;36: 1407–1411
119. **Mueller S, S Englert, HK Seitz et al.** Inflammation-adapted liver stiffness values for improved fibrosis staging in patients with hepatitis C virus and alcoholic liver disease. Liver International 2015; 35: 2514– 2521
120. **Liu F, L Wei, X Tang et al.** Clinical value of virtual touch tissue quantification and PGA index in evaluation of alcoholic liver fibrosis. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2015; 40: 1246–1252
121. **Thiele M, S Detlefsen, S Møller et al.** Transient and 2-Dimensional Shear-Wave Elastography Provide Comparable Assessment of Alcoholic Liver Fibrosis and Cirrhosis. Gastroenterology. 2016 Jan;150(1):123-33

122. **Hartl J, U Denzer, H Ehlken et al.** Transient elastography in autoimmune hepatitis: Timing determines the impact of inflammation and fibrosis. J Hepatol. 2016 Oct;65(4):769-775
123. **Corpechot C, F Gaouar, A El Naggar et al.** Baseline values and changes in liver stiffness measured by transient elastography are associated with severity of fibrosis and outcomes of patients with primary sclerosing cholangitis. Gastroenterology 2014;146:970-979
124. **Goertz RS, L GaBmann , D Strobel et al.** Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Elastography in Autoimmune and Cholestatic Liver Diseases. Ann Hepatol. 2019 Jan - Feb;18(1):23-29
125. **Park DW, YJ Lee, W Chang et al.** (2019) Diagnostic performance of a point shear wave elastography (pSWE) for hepatic fibrosis in patients with autoimmune liver disease. PLoS ONE 14(3): e0212771. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212771
126. **Takuma Y, K Nouso, Y Morimoto et al.** Portal Hypertension in Patients with Liver Cirrhosis: Diagnostic Accuracy of Spleen Stiffness. Radiology. Radiology. 2016 May;279(2):609-19.
127. **Cabrera L, P Tandon, JG Abraldes.** An update on the management of acute esophageal variceal bleeding. Gastroenterol Hepatol. 2017 Jan;40(1):34-40
128. **Berzigotti A.** Non-invasive evaluation of portal hypertension using ultrasound elastography. J Hepatol 2017;67:399–411.
129. **You MW, KW Kim, J Pyo et al.** A meta-analysis for the diagnostic performance of transient elastography for clinically significant portal hypertension. Ultrasound Med Biol 2017;43:59–68.
130. **Lens S, E Alvarado, Z Marino et al.** Effects of all-oral anti-viral therapy on HVPG and systemic hemodynamics in patients with hepatitis C virus-associated cirrhosis. Gastroenterology 2017;153:1273–1283.
131. **Abraldes JG, C Bureau, H Stefanescu et al.** Forthe Anticipate investigators. Noninvasive tools and risk of clinically significant portal hypertension and varices in compensated cirrhosis: The “Anticipate” study. Hepatology 2016;64:2173–2183.
132. **Maurice JB, E Brodkin , F Arnold et al.** Validation of the Baveno VI criteria to identify low risk cirrhotic patients not requiring endoscopic surveillance for varices. J Hepatol. 2016 Nov;65(5):899-905
133. **de Franchis R, JG Abraldes, J Bajaj et al.** Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. J Hepatol. 2015 Sep;63(3):743-52
134. **Colecchia A, F Ravaioli , G Marasco et al.** A combined model based on spleen stiffness measurement and Baveno VI criteria to rule out high-risk varices in advanced chronic liver disease. J Hepatol. 2018 Aug;69(2):308-317
135. **AlShaalan R, M Aljiffry, S Al-Busafi et al.** Nonalcoholic fatty liver disease: Noninvasive methods of diagnosing hepatic steatosis. Saudi J Gastroenterol 2015;21:64-70
136. **Saadeh S, ZM Younossi, EM Remer et al.** The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2002;123:745-50
137. **Palmentieri B, I de Sio, V La Mura et al.** The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. Dig Liver Dis 2006;38:485-9.
138. **Ryan CK, LA Johnson, BI Germin et al**. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. Liver Transpl 2002;8:1114-22.

139. **Mehta SR, EL Thomas, JD Bell et al.** Non-invasive means of measuring hepatic fat content. World J Gastroenterol 2008;14:3476-83.
140. **Wong VW, S Petta, JB Hiriart et al.** Validity criteria for the diagnosis of fatty liver by M probe-based controlled attenuation parameter. J Hepatol 2017;67:577–584.
141. **Sasso M, M Beaugrand, V de Ledinghen et al.** Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. Ultrasound Med Biol 2010;36:1825-1835.
142. **Shi KQ, JZ Tang, XL Zhu et al.** Controlled attenuation parameter for the detection of steatosis severity in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. J Gastroenterol Hepatol 2014;29:1149-1158.
143. **Petta S, VW Wong, C Cammà et al.** Improved noninvasive prediction of liver fibrosis by liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease accounting for controlled attenuation parameter values. Hepatology. 2017 Apr;65(4):1145-1155.
144. **von Volkmann HL, RF Havre, EM Løberg et al.** Quantitative measurement of ultrasound attenuation and Hepato-Renal Index in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Med Ultrason. 2013 Mar;15(1):16-22.
145. **Shiralkar K, S Johnson, E Bluth et al.** Improved Method for Calculating Hepatic Steatosis Using the Hepatorenal Index. J Ultrasound Med 2015; 34:1051–1059
146. **Tamaki N, Y Koizumi, M Hirooka et al.** Novel quantitative assessment system of liver steatosis using a newly developed attenuation measurement method. Hepatol Res. 2018 Sep;48(10):821-828
147. **Koizumi Y, M Hirooka, N Tamaki et al.** New diagnostic technique to evaluate hepatic steatosis using the attenuation coefficient on ultrasound B mode. PLoS ONE 2019; 14(8): e0221548
148. **Baik SK.** Haemodynamic evaluation by Doppler ultrasonography in patients with portal hypertension: a review. Liver Int 2010;30: 1403-1413.
149. **Grier S, AK Lim, N Patel et al.** Role of microbubble ultrasound contrast agents in the non-invasive assessment of chronic hepatitis C-related liver disease. World J Gastroenterol 2006;12:3461-3465
150. **Kim MY, KT Suk, SK Baik et al.** Hepatic vein arrival time as assessed by contrast-enhanced ultrasonography is useful for the assessment of portal hypertension in compensated cirrhosis Hepatology 2012 Sep;56(3):1053-62
151. **Abbattista T, F Ridolfi, GT Consalvo et al.** Hepatic Vein Arrival Time for Diagnosis of Liver Cirrhosis: A 10-Year Single-Center Experience With Contrast-Enhanced Sonography. J Ultrasound Med. 2016 Oct;35(10):2121-8
152. **Shi Y, XH Wang, GC Xia et al.**Quantitative Diagnosis of Early-Stage Liver Cirrhosis with Contrast-Enhanced Ultrasound – A Clinical Study, Adv Clin Exp Med 2012, 21, 3, 385–390
153. **Goto Y, K Okuda, G Akasu et al.** Noninvasive diagnosis of ompensated cirrhosis using an analysis of the time–intensity curve portal vein slope gradient on contrast- enhanced ultrasonography, Surg Today (2014) 44:1496–1505
154. **Poynard T, M Munteanu, O Deckmyn et al**. Applicability and precautions of use of liver injury biomarker FibroTest. A reappraisal at 7 years of age. BMC Gastroenterol 2011;11:39.

155. **Imbert-Bismut F, D Messous, V Thibaut et al.** Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (Fibrotest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. Clin Chem Lab Med 2004;42:323–333.
156. **Cales P, P Veillon, A Konate et al.** Reproducibility of blood tests of liver fibrosis in clinical practice. Clin Biochem 2008;41:10–18.
157. **Baranova A, P Lal, A Birerdinc et al.** Non-invasive markers for hepatic fibrosis. BMC Gastroenterol. 2011; 11:91. doi: 10.1186/1471-230X-11-91.
158. **Motola D, P Caravan, R Chung et al.** Noninvasive Biomarkers of Liver Fibrosis: Clinical Applications and Future Directions Curr Pathobiol Rep. 2014 Dec 1; 2(4): 245–256.
159. **Fraser JR, PR Gibson.** Mechanisms by which food intake elevates circulating levels of hyaluronan in humans. J Intern Med 2005;258:460–466.
160. **Volpi N, J Schiller, R Stern et al.** Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. Curr Med Chem 2009;16:1718–1745.
161. **Lin ZH, YN Xin, QJ Dong et al.** Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis**.** Hepatology. 2011 Mar;53(3):726-36
162. **Kim BK, DY Kim, JY Park et. al.** Validation of FIB-4 and comparison with other simple noninvasive indices for predicting liver fibrosis and cirrhosis in hepatitis B virus-infected patients. Liver Int. 2010 Apr;30(4):546-53
163. **Pencheva B, R Mihajlov, A Ruseva et al.** Reference Values of Certain Serum Indicators of Liver Fibrosis. Clin Lab. 2017 Nov 1;63(11):1793-1800
164. **Tada T, T Kumada, H Toyoda et al.** Utility of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection without cirrhosis: Comparison of liver fibrosis indices. Hepatol Res 2015; 45: 122–129
165. **Lupsor-Platon M, R. Badea.** Noninvasive assessment of alcoholic liver disease using unidimensional transient elastography (Fibroscan®). World J Gastroenterol 2015 November 14; 21(42): 11914-11923
166. **Zeng J, ZP Huang, J Zheng et al.** Non-invasive assessment of liver fibrosis using two-dimensional shear wave elastography in patients with autoimmune liver diseases. World J Gastroenterol 2017; 23: 4839-4846
167. **Fujimoto K, M Kato, A Tonomura et al.** Non-invasive evaluation method of the liver fibrosis using Real-time Tissue Elastography – usefulness of judgment liver fibrosis stage by Liver Fibrosis Index (LF index). Kanzo 2010; 51(9): 539-541
168. **Yada N, N Tamaki, Y Koizumi et al.** Diagnosis of Fibrosis and Activity by a Combined Use of Strain and Shear Wave Imaging in Patients with Liver Disease. Digestive Diseases 2017; 35(6): 515-520.
169. **Li C, JY Zhang, XY Zhang et al.** FibroScan predicts ascites after liver resection for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: A prospective cohort study. Int J Surg. 2015 Aug;20:21-5
170. **Villanueva C, A Albillos, J Genescà et al.** β Blockers to Prevent Decompensation of Cirrhosis in Patients With Clinically Significant Portal Hypertension (PREDESCI): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicentre Trial. Lancet. 2019 Apr 20;393(10181):1597-1608.