

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

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

АВТОРЕФЕРАТ

Дисертационен труд

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Д-р Мария Димитрова Петкова –

Кунчева

Научна специалност - Гастроентерология

Научни ръководители:

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

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

Дисертационния труд е написан на 108 страници, онагледен с 22 фигури и 36 таблици. Библиографията съдържа 187 заглавия. Във връзка с дисертационния труд са реализирани 9 публикации, 8 участия в научни форуми. Дисертационния труд е обсъден на заседание на научния съвет към Катедрата по вътрешни болести – Медицински университет – София на 13.09.2022 и е насочен за официална защита пред научно жури в състав:

Официални рецензенти:

1. Проф. Росен Кирилов Николов, д.м. - вътрешен член за МУ – София, Катедра по Вътрешни болести на Медицински факултет при МУ-София
2. Проф. Деян Тонев Желев, дмн – вътрешен член за МУ – София, Катедра по Вътрешни болести на Медицински факултет при МУ-София
3. Проф. Крум Сотиров Кацаров, дмн – външен член за МУ – София , Военномедицинска академия – София
4. Проф. Захарий Александров Кръстев, дмн – външен член за МУ – София, пенсиониран преподавател повече от пет години от академичния състав на Медицински факултет при МУ-София
5. Доц. Владимир Андонов, д.м. – външен член за МУ – София, Медицински университет - Пловдив

Материалите по защитата са на разположение в деловодството на Катедра по вътрешни болести

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 11.01.2023 от 13.00ч в Аулата на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, ЕАД – гр. София, бул. Академик Иван Гешов 15.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	стр.4
ВЪВЕДЕНИЕ.....	стр.7
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	стр.8
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	стр. 9
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	стр.12
ДИСКУСИЯ.....	стр.53
ИЗВОДИ.....	стр.57
ПРИНОСИ.....	стр.58
ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	стр.59

I. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ХБЗ - хроничното бъбречно заболяване

eGFR - Скорост на гломерулна филтрация

HCV – hepatitis C virus

HBV - hepatitis B virus

HAV - hepatitis A virus

САЩ – Съединени Американски Щати

СЗО - Световната Здравна Организация

NANBH - non A, non B hepatitis

РНК (RNA) – рибонуклеинова киселина

CLDN1 - Клаудин-1

NK – natural killers

DC – dendritic cells

TLRs - tolllike receptors

RIG-I - ретиноева киселина - индуциран ген 1

PAMPs - патоген – асоцииран молекулярен патерн

IRF-3 - интерферон-регулаторен фактор 3

ISGs - интерферон стимулиращи гени

NS – неструктурен протеин

IFN- γ – интерферон гама

MHC - главен комплекс на тъканна съвместимост

CD – clusters of differentiation

ОБУ – остро бъбречно увреждане

БТ – бъбречна трансплантация; бъбречно-трансплантирани

RF – ревматоиден фактор

IgA – имуноглобулин А

IgM – имуноглобулин М

IgG – имуноглобулин G

ELISA – enzyme linked immunosorbent assay

АЛАТ - Аланинаминотрансфераза

АСАТ – Аспартат аминотрансфераза

EIA - ензимен имуноанализ

НСС – hepatocellular carcinoma

APRI - AST to Platelet Ratio Index

FIB – 4 - The Fibrosis-4 score

EASL – European association for the study of the liver

AASLD – American association for the study of the liver

ТВО – траен вирусологичен отговор

kPa – kilopascal

HIV – human immunodeficiency virus

МПГН – мембранопродлиферативен гломерулонефрит

МН - мембранозна нефропатия

ОСГС - огнищна сегментна гломерулосклероза

PAS – Periodic acid -Schiff

ЗД – захарен диабет

ДДАс - директно-действащите антивирусни средства

KDIGO - Kidney Disease Improving Global Outcomes

RBV – Ribavirin

G1 – genotype 1

G3b – genotype 3b

SOF – Sofosbuvir

G/P – Glecaprevir/Pibrentasvir

SOF/VEL/VOX – Sofosbuvir/ Velpatasvir/ Voxilaprevir

RAVs – resistance- associated variants

БДГЕ - Българско дружество по гастроентерология гастроинтестинална ендоскопия и абдоминална ехография

CYP3A - cytochrome P450, family 3, subfamily A
CYP1A2- cytochrome P450, family 1, subfamily A2
DDIs – drug-drug interactions
ПЧР – първичен чернодробен рак
mTOR – mammalian target of rapamycin
MMF - mycophenolate mofetil
NGAL - неутрофилен гелатиназа-асоцииран липокалин
MDRD – the modification of diet in renal disease
HRP - horse-radish peroxidase
ТМВ - тетраметилбензидин
PCR – Polymerase chain reaction
IU – international units
Ml – milliliter
Mcmol – micromole
Ng – nanogram
Alb – albumin
PT – prothrombin time
СРК – creatine Phosphokinase

II. Въведение

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

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

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

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

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

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

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата работа е да се установи ефекта и влиянието от ерадикацията на вируса на хепатит С в кохорта от български пациенти с хронично бъбречно заболяване и такива с бъбречна трансплантация върху бъбречната функция в края на провежданата противовирусна терапия и при едногодишно проследяване на бъбречната функция след излекуване на HCV – инфекцията.

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

За осъществяване на целта са поставени следните задачи:

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

бъбречната функция – стойности на серумния креатинин, гломерулна филтрация (изчислена по MDRD формула), протеинурия.

IV. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В настоящото изследване участват общо 103 лица, а именно:

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

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

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

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

Използваният кит е твърдофазов „сандвич“ ELISA за *in vitro* количествено определяне на NS0-експресиран рекомбинантен човешки липокалин-2 в биологични материали. При този метод гнездата на съответната микротитърна плака са натоварени с високоспецифични моноклонални антитела срещу Липокалин-2. След добавяне на изследваната проба се извършва свързване на разтворимия фактор към фиксираните върху гнездата на плаката антитела. След това се добавя биотинилирано анти тяло, което също се свързва специфично с антигена. От тук идва името на метода „сандвич“ ELISA, тъй като търсеният антиген попада между двете специфични за него антитела. Към така получените комплекси се добавя конюгат (horse-radish peroxidase (HRP)-стрептавидин), който се свързва с биотина и осъществява ензимна реакция след добавяне на тетраметилбензидин (ТМВ)-субстрат с образуване на цветен продукт.

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

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

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

Оценка на чернодробната фиброза чрез неинвазивни скорове за оценка :

APRI – aspartate aminotransferase to platelet ratio index.

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

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

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

FIB – 4

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

Разработена е с цел откриване на фиброза при пациенти с HIV/HCV инфекция^[17]. Впоследствие е валидирана при пациенти с хронична HCV – инфекция.

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

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

За статистическа обработка на данните бяха използвани следните статистически методи:

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

6. Корелационен анализ – за търсене на взаимовръзка между различни променливи (корелация на Пирсън, при покриване на всички критерии за правомерната му употреба и корелация на Spearman при останалите случаи);

8. Коефициент на рангова корелация на Spearman

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

V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

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

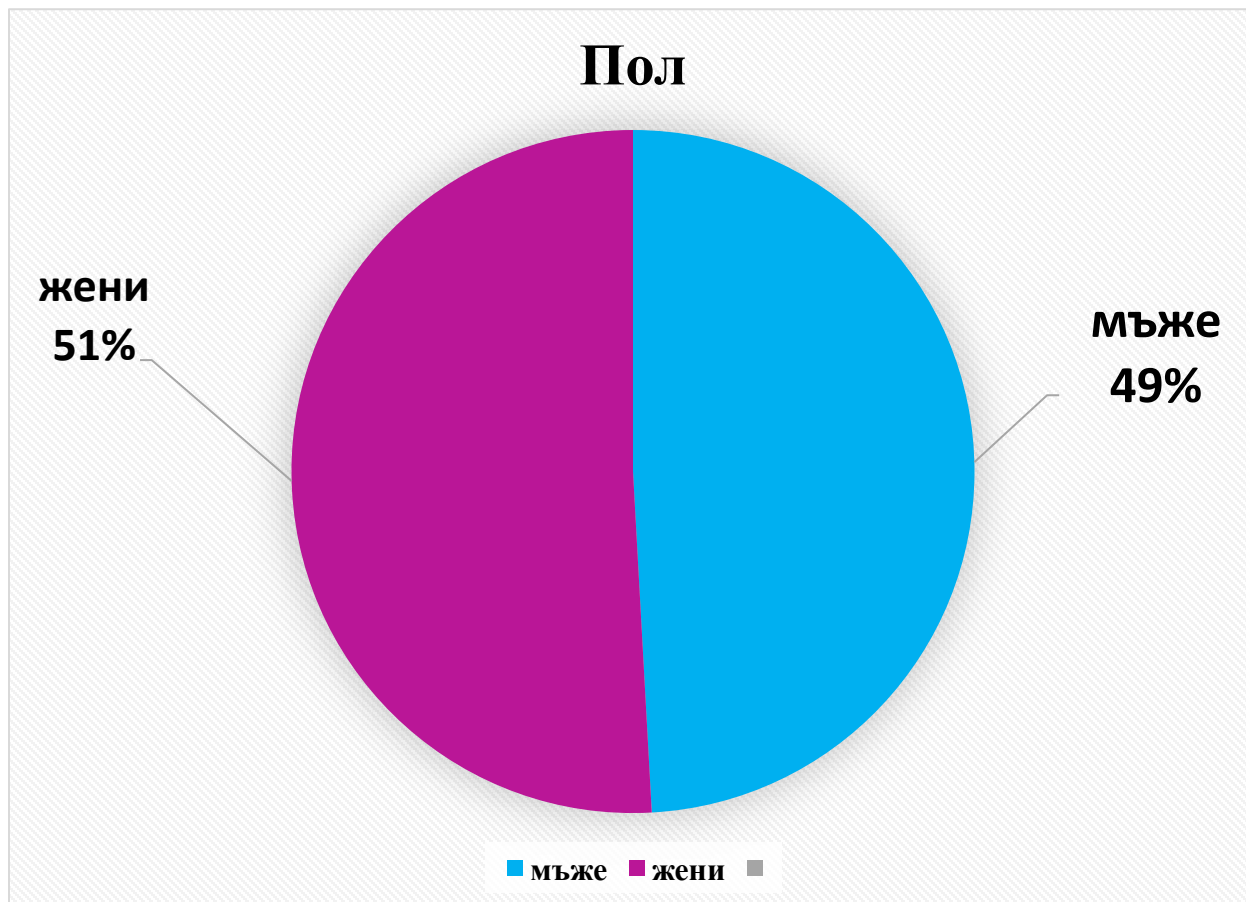
5.1.1 Демографски характеристики

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

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

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

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

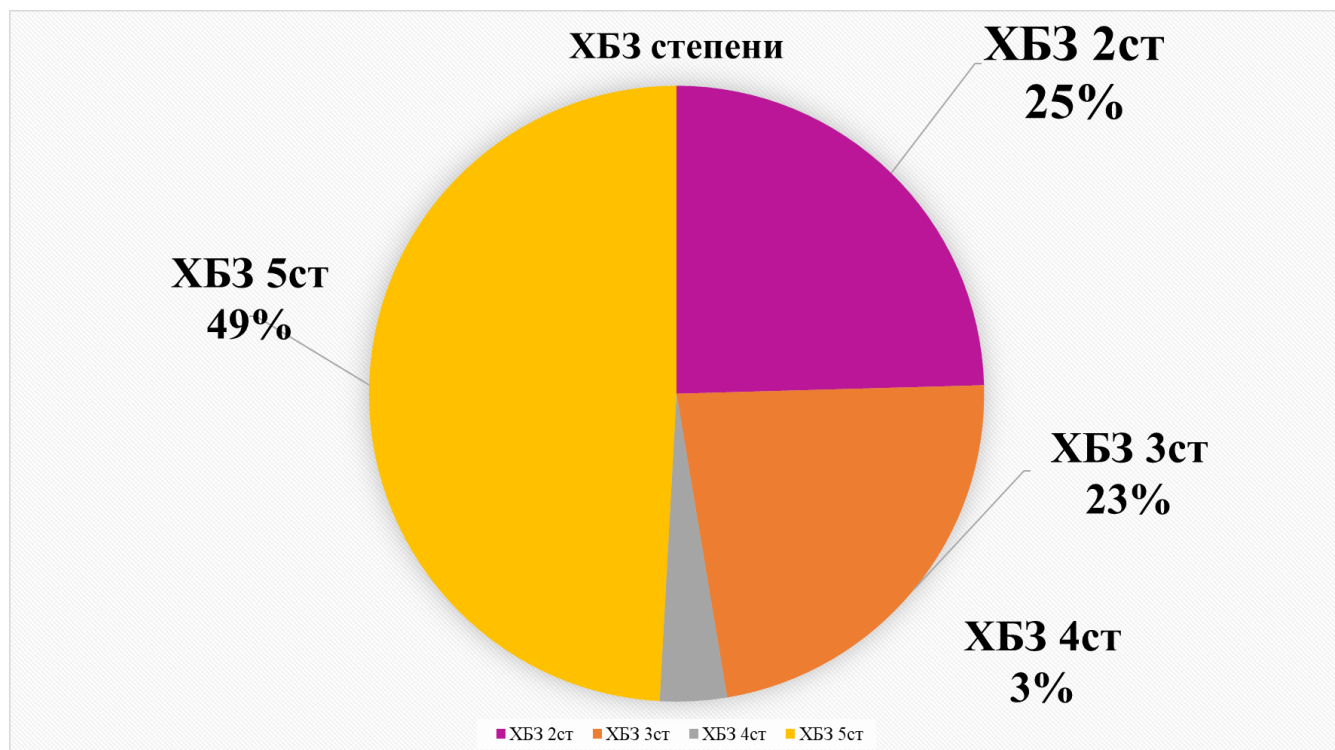


В тази група от общо 57 пациента – 28 са мъже (49%) и 29 (51%) са жени. 27 пациента в групата са пациенти с трансплантиран бъбрек, съответно 30 от пациентите са такива, провеждащи диализно лечение.

5.1.2 Разпределение на пациентите в изследваната група според стадия на ХБЗ

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

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



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

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

N	Valid	57
	Missing	0
Mean		27.49
Median		24.00
Std. Deviation		20.096
Minimum		5

Maximum		77
Percentiles	25	9.00
	50	24.00
	75	44.50

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

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

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

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

Табл. 4 Разпределение на пациентите спрямо нивата на протеинурия.

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

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

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

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

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

5.1.3 Разпределение на пациентите по стадий на чернодробна фиброза:

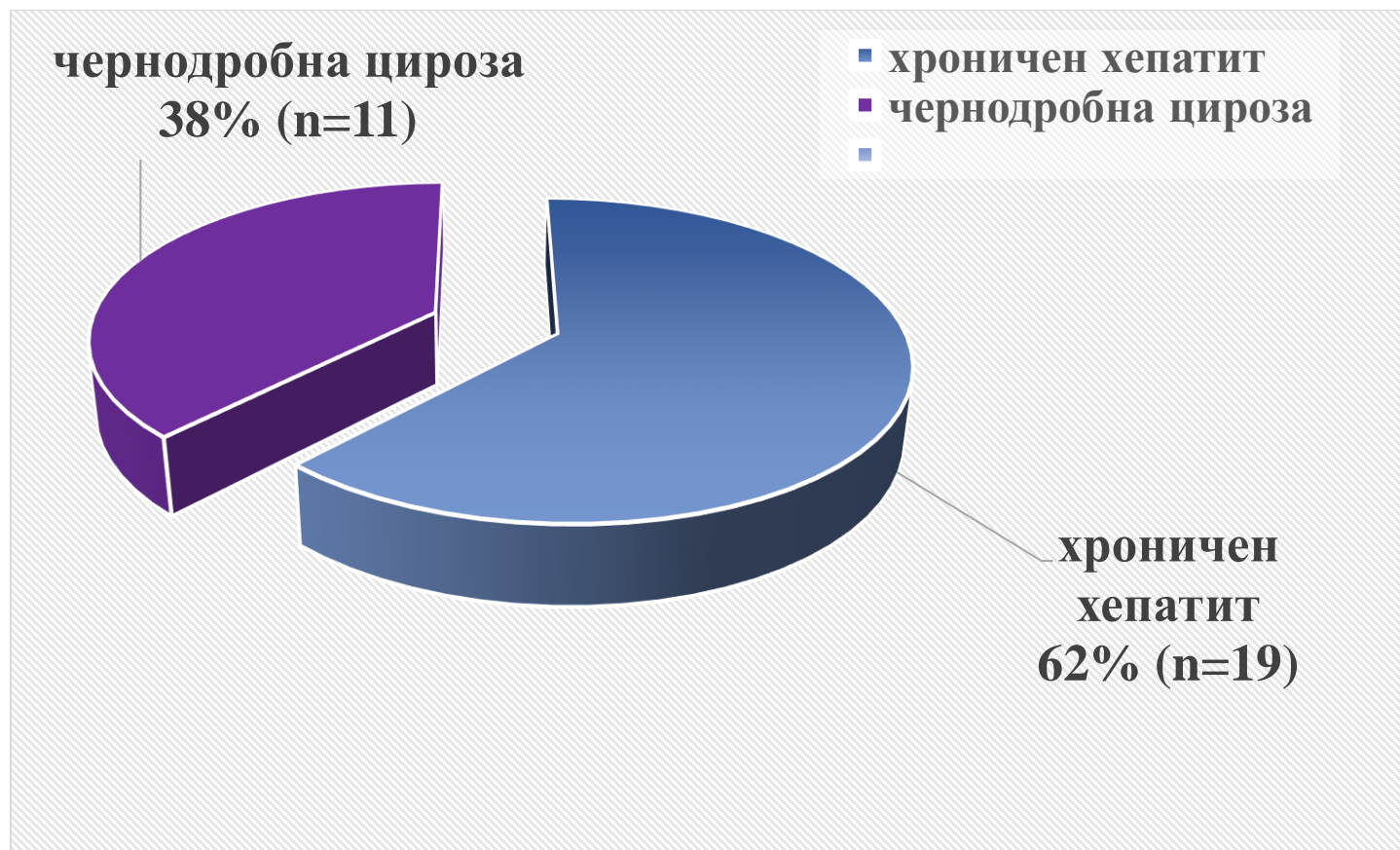
По отношение на степента на чернодробна фиброза, кохортата с бъбречна трансплантация имаше следното разпределение (фигура 3) – 93% (n=25) от тази група имаха данни за хроничен хепатит и нямаше данни за напреднала фиброза при тези пациенти, докато 7% (n=2) бяха с циротично преустройство на черния дроб,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

Фигура 3 Степен на чернодробна фиброза при пациентите с БТ.



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

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



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

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

	Хроничен хепатит (n)	Чернодробна цирроза (n)
Пациенти на диализно лечение	19	11
Бъбречно трансплантирани	25	2
Общо за групата	44 (77.2%)	13 (22.8%)

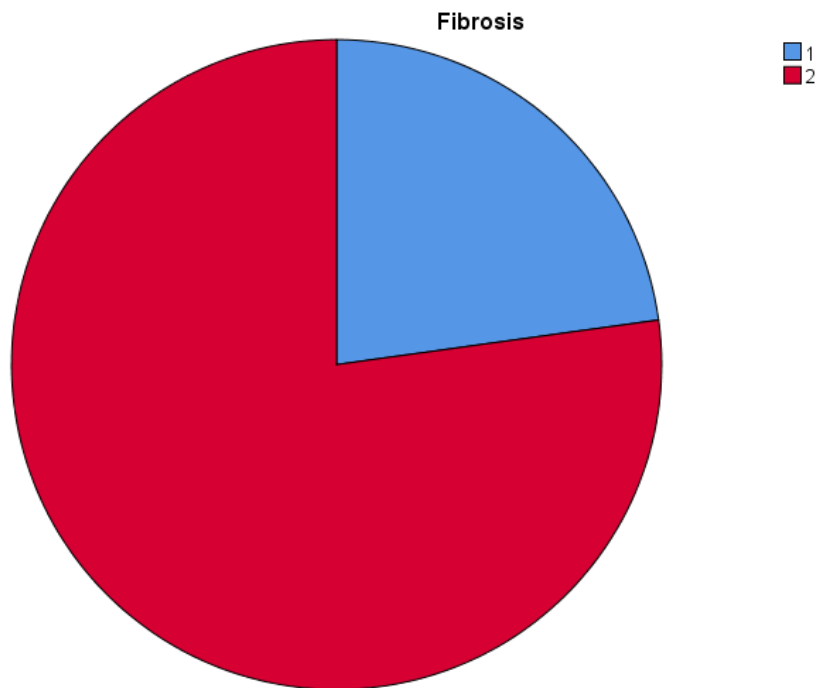
Оценката на степента на фиброза беше проведена с неинвазивни скорове за оценка при всички изследвани в групата. Според резултатите от скоровите оценки бяха разпределени в горепосочените групи.

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

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

		APRI	FIB4
N	Valid	57	57
	Missing	0	0
Mean		1.12280701754 3860	2.38807017543 8597
Median		.620000000000 000	1.890000000000 0000
Std. Deviation		1.36616349469 4390	1.87660639624 1908
Skewness		2.380	2.248
Std. Error of Skewness		.316	.316
Kurtosis		5.028	5.670
Std. Error of Kurtosis		.623	.623
Minimum		.110000000000 000	.520000000000 000
Maximum		6.00000000000 0000	9.80000000000 0000
Percentiles	25	.400000000000 000	1.205000000000 0000
	50	.620000000000 000	1.890000000000 0000
	75	.920000000000 000	2.945000000000 0000

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



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

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

	Резултати от ФГС, при налягане в порталната вена >10mmHg
Варици на хранопровода I ст	6
Варици на хранопровода II ст	2
Варици на хранопровода III ст	0
Варици на хранопровода IV ст	0
Портална гастропатия	7
Без варици на хранопровода	5

В тази група 6 пациента имаха варици на хранопровода I степен (Baveno), 2-ма имаха варици на хранопровода II ст, нямаше пациенти с високостепенни варици на

хранопровода (III или IV степен), седем души имаха портална хипертензивна гастропатия и петима пациенти с чернодробна цироза нямаха данни за варици на хранопровода.

5.1.4 Оценка на чернодробната функция на пациентите в изследваната група.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Табл. 11 Трансаминазна активност преди начало на лечението с ДДАс

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

5.1.5 Характеристика на HCV- вирусологичния профил на изследваната група.

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

Фиг. 6 Генотипно разпределение на пациентите в групата



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

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

Табл. 12 Разпределение на вирусния товар в изследваната група

HCV RNA (IU/ml)	
N	Valid
57	

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

5.1.6 Съпътстващи заболявания и съпътстващи медикаменти

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

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

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

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

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

Табл. 14 Желани нива на имуносупресорните медикаменти

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

5.2 Контролна група

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

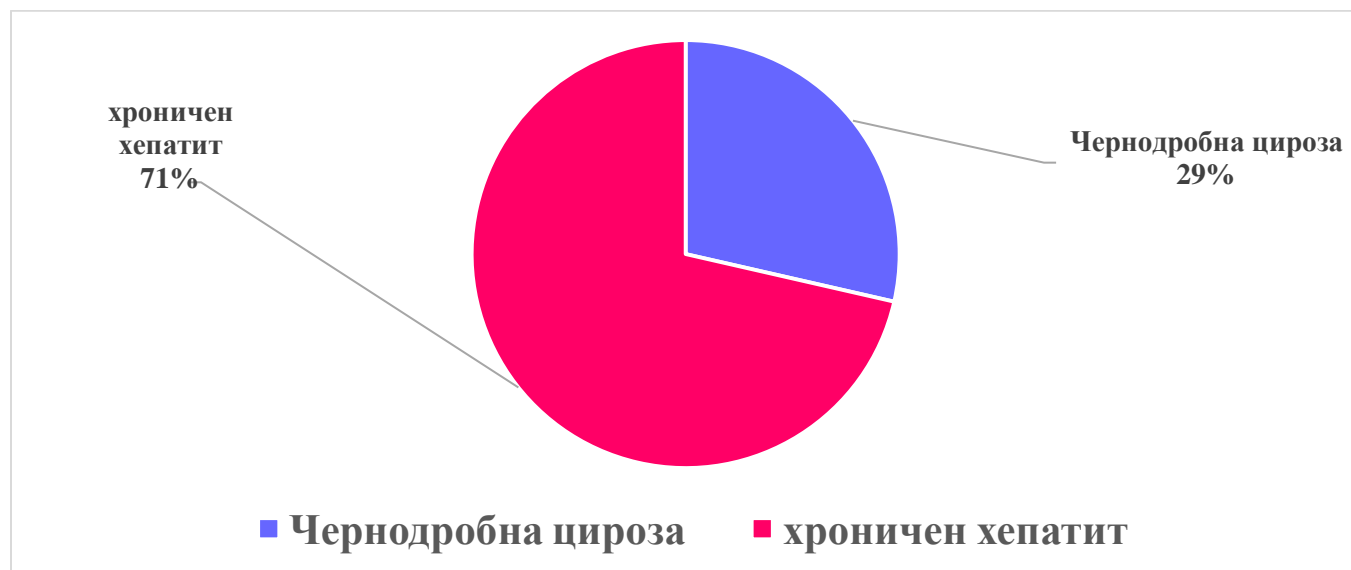
5.2.1 Демографски характеристики на контролната група

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

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

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

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



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

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

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

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

В тази група 5 пациента имаха варици на хранопровода I степен (Baveno), 1 пациент имаше варици на хранопровода II ст, нямаше пациенти с високостепенни варици на хранопровода (III-та или IV-та степен), 4-ма души имаха портална хипертензивна

гастропатия и четирима души с чернодробна цироза нямаха данни за варици на хранопровода. Всички пациенти с чернодробна цироза бяха в компенсирани стадии на чернодробната функция, нямат история на декомпенсация в миналото и тяхната чернодробна функция беше оценена като Child-Pugh клас А. 1 пациент от тези с чернодробна цироза имаше Child-Pugh клас А= бт, за сметка на завишен серумен билирубин.

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

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

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

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

N	Valid	46
	Missing	0
Mean		455871.82
Median		52130.00
Std. Deviation		303988.117
Minimum		3400
Maximum		2534600

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

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

N	Valid	46
	Missing	0

Mean	5.14598
Median	9.60000
Std. Deviation	3.104513
Minimum	1.600
Maximum	11.420

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

Табл. 19 Характеристика на най-честите придружаващи заболявания на пациентите в контролната група:

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

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

Табл. 20 Режими на лечение на HCV – инфекцията при пациентите в контролната група.

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

5.3 Избор на противовирусна терапия при пациентите в изследваната група.

5.3.1 Избор на лечение при бъбречно - трансплантираните пациенти.

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

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

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

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

5.3.2 Избор на терапия при пациентите, провеждащи диализно лечение.

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

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

Схемата на лечение в тази група е представена на таблица 21.

Табл.21 Режими на лечение на HCV – инфекцията при пациентите на диализно лечение.

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

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

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

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

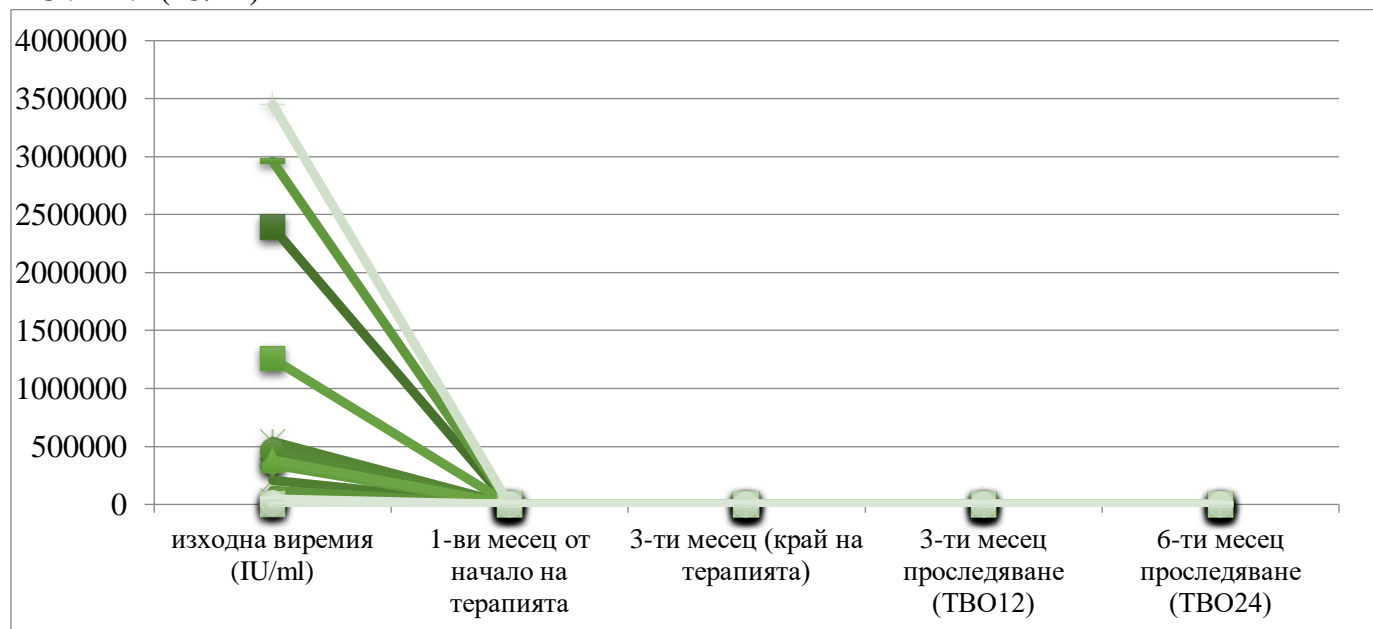
5.4 Анализ ефективността и безопасността на лечението в трите групи.

5.4.1 Оценка на трайния вирусологичен отговор.

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

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

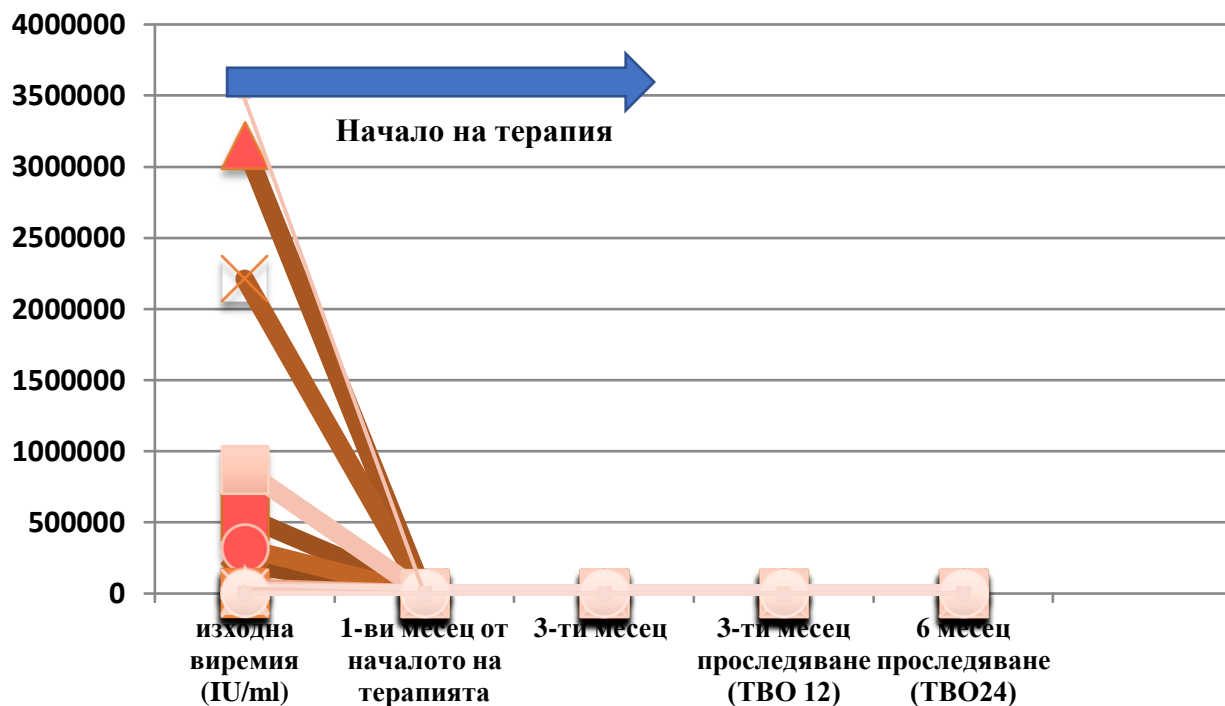
HCV RNA(IU/ml)



Проследяване на вирусологичния отговор

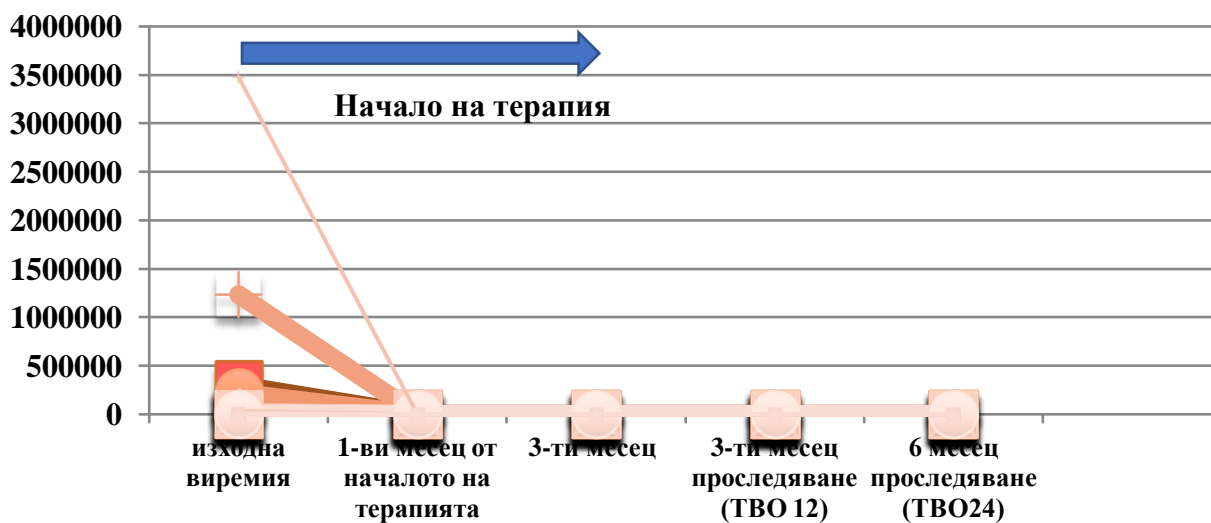
Фиг. 9 Оценка на вирусологичния отговор при пациентите на диализно лечение

HCV RNA(IU/ml)



Фиг. 10 Оценка на вирусологичния отговор при пациентите в контролната група

HCV RNA(IU/ml)

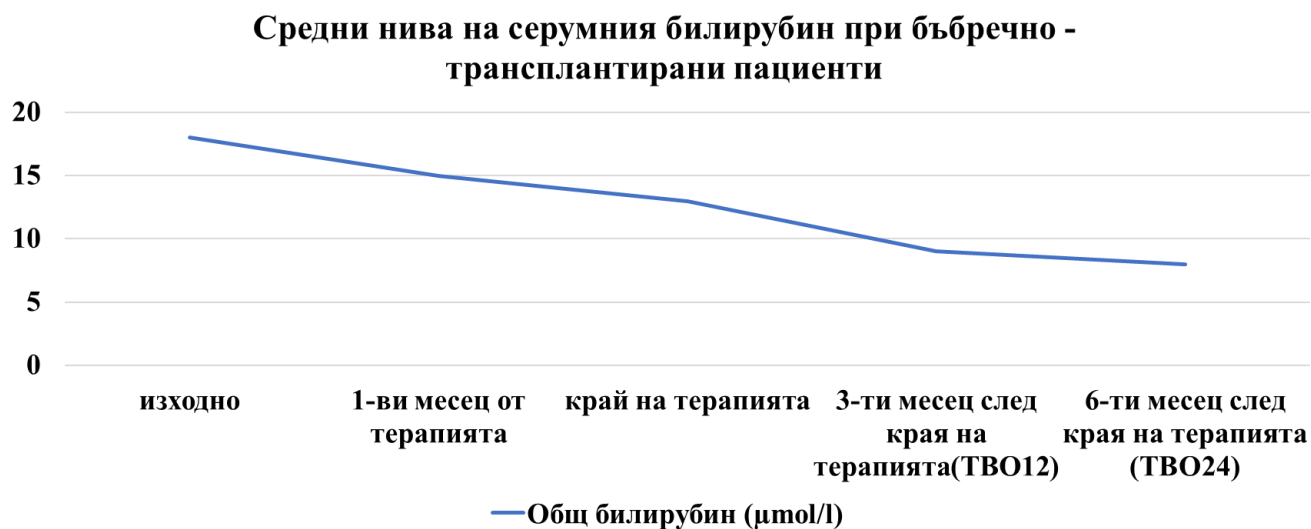


5.4.2 Оценка на биохимичния отговор към терапията.

5.4.2.1 Динамика в стойностите на серумния билирубин

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

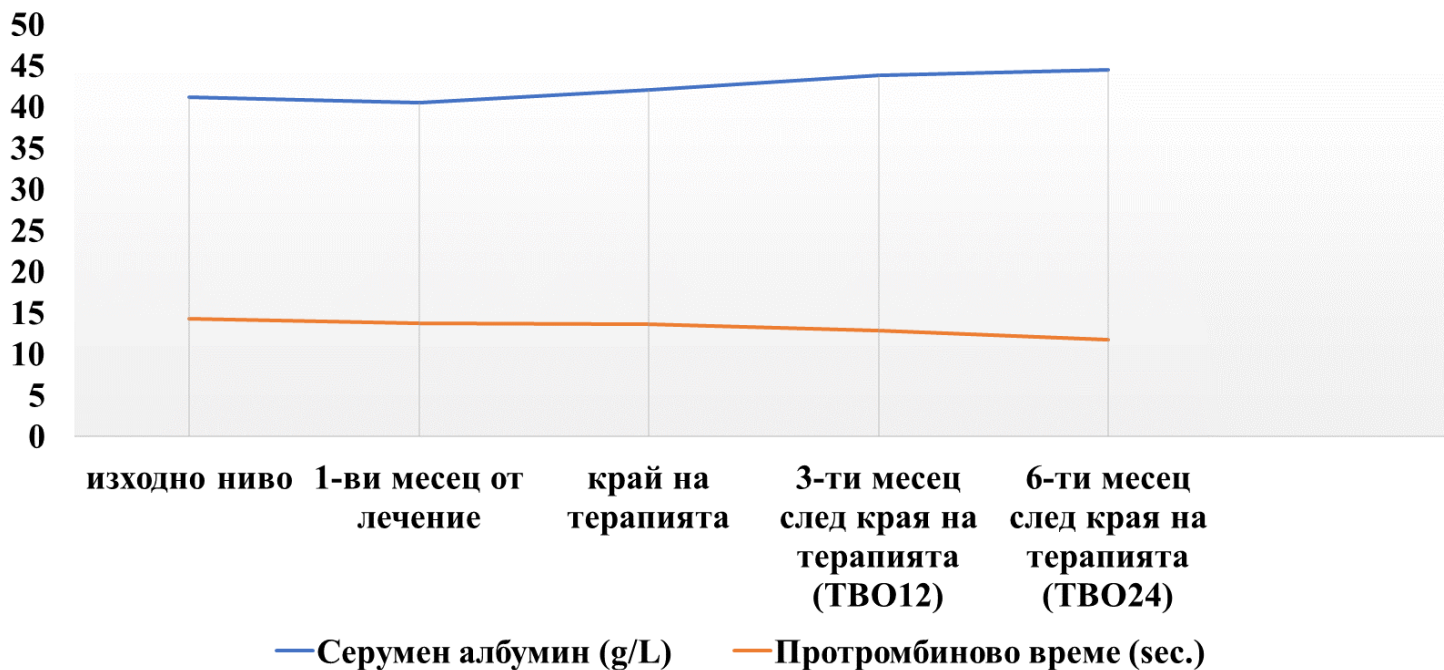
Фиг. 11 Динамика в средните стойности на серумния билирубин при бъбречно-трансплантираните болни и пациентите на хроничен диализ



5.4.2.2 Динамика в протосинтетичната чернодробна функция в изследваната група

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

Фиг. 12 Динамика в протосинтетичната чернодробна функция



Наблюдава се подобряване в нивата на серумния албумин в хода на терапията и след края на лечението при оценка на ТВО 12 и ТВО 24 (фиг.12), като разликата в нивата на серумния албумин показва статистическа значимост при $p < 0.005$ (табл.22), доказано с t-test за чифтни разлики.

Табл. 22 Paired Samples Test за динамиката на серумния албумин преди началото на противовирусната терапия и 6 месеца след края на лечението

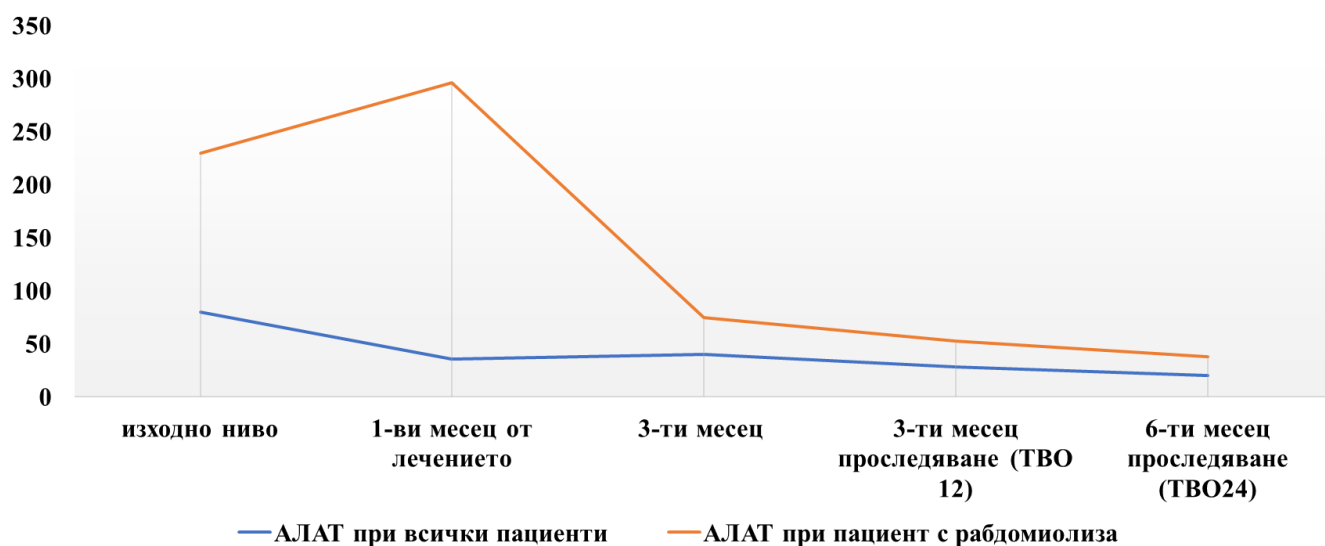
		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower
Pair 1	Alb при начало на терапията - Alb при оценка на ТВО 24	-3.737	3.446	.456	-4.651

Paired Samples Test			
Paired Differences	t	df	Sig. (2-tailed)

		95% Confidence Interval of the Difference			
		Upper			
Pair 1	Alb при начало на терапията - Alb при оценка на ТВО 24	-2.822	-8.187	56	.000

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

Фиг.13 Динамика в трансаминазната активност



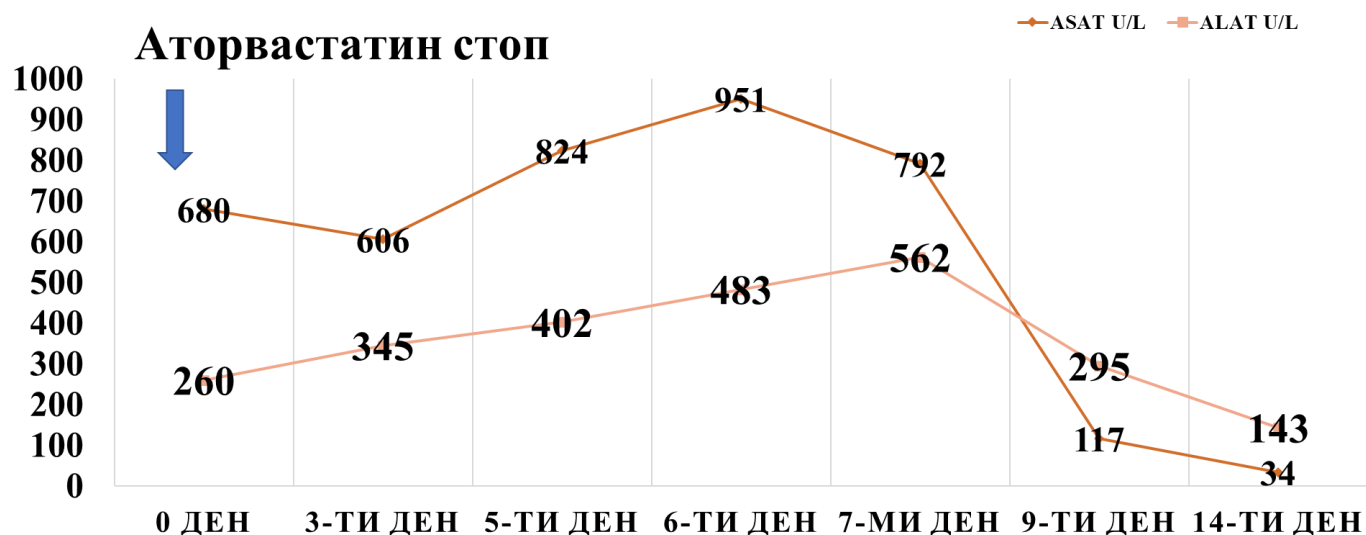
От графиката става ясно, че цитолитичната активност в изследваната група постепенно, но сигурно изчезва и стойностите на АЛТ се нормализират и остават нормални при проследяване след края на лечението.

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

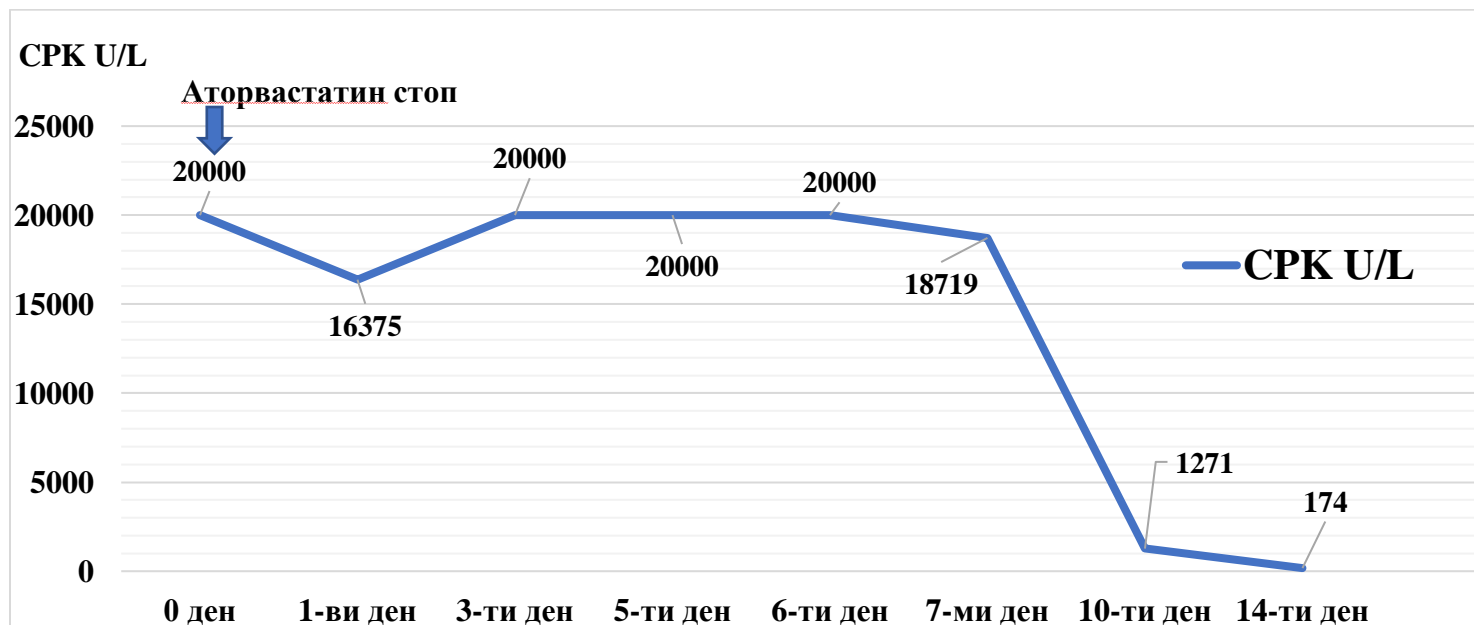
Незабавно прекратихме приемът на Аторвастатин, започна се инфузионно и антиоксидантно лечение и се продължи противовирусната терапия с Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir/+Dasabuvir. В хода на лечението, за период от 14 дни постигна нормализиране на АСАТ и креатинфосфокиназата, както и редукция в

стойностите на АЛАТ (фиг.14. и фиг.15). По време на токсичния момент се наблюдаваше влошаване на бъбречната функция, като наблюдавахме постепенно възстановяване до изходни нива на серумния креатинин и гломерулната филтрация за период от 2 месеца (фиг.16)

Фиг.14 Трансаминазна активност при пациент с рабдомиолиза

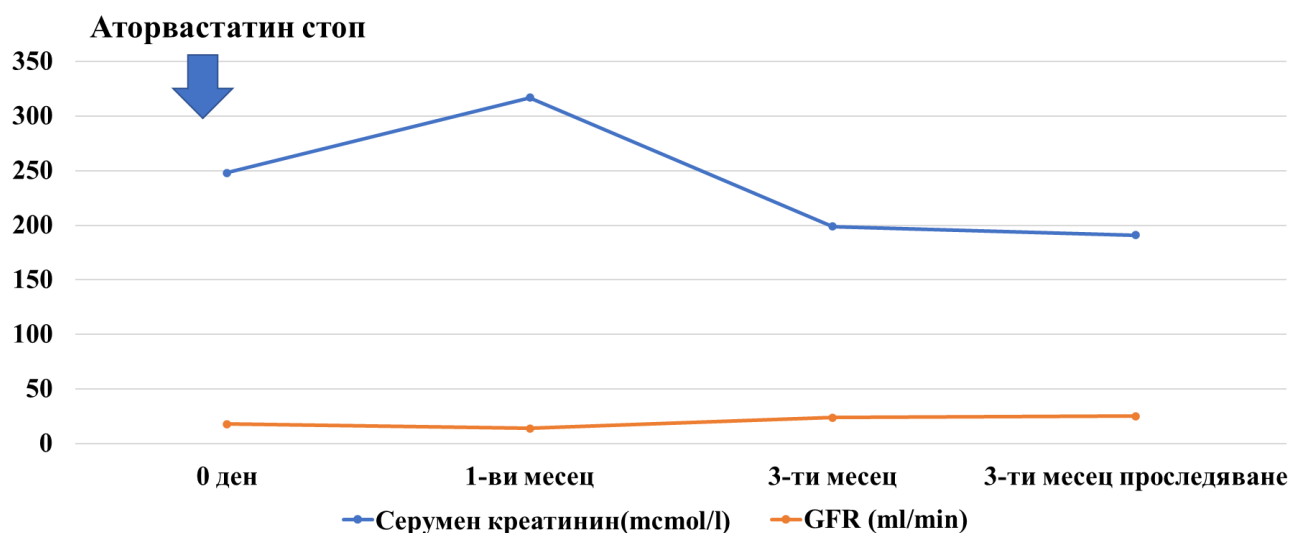


Фиг. 15 Динамика в стойностите на креатинфосфокиназата при пациент с рабдомиолиза.



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

Фиг. 16 Динамика в бъбречната функция при пациент с рабдомиолиза



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

5.4.2.3.1 Проследяване на бъбречната функция при пациентите с бъбречна трансплантация.

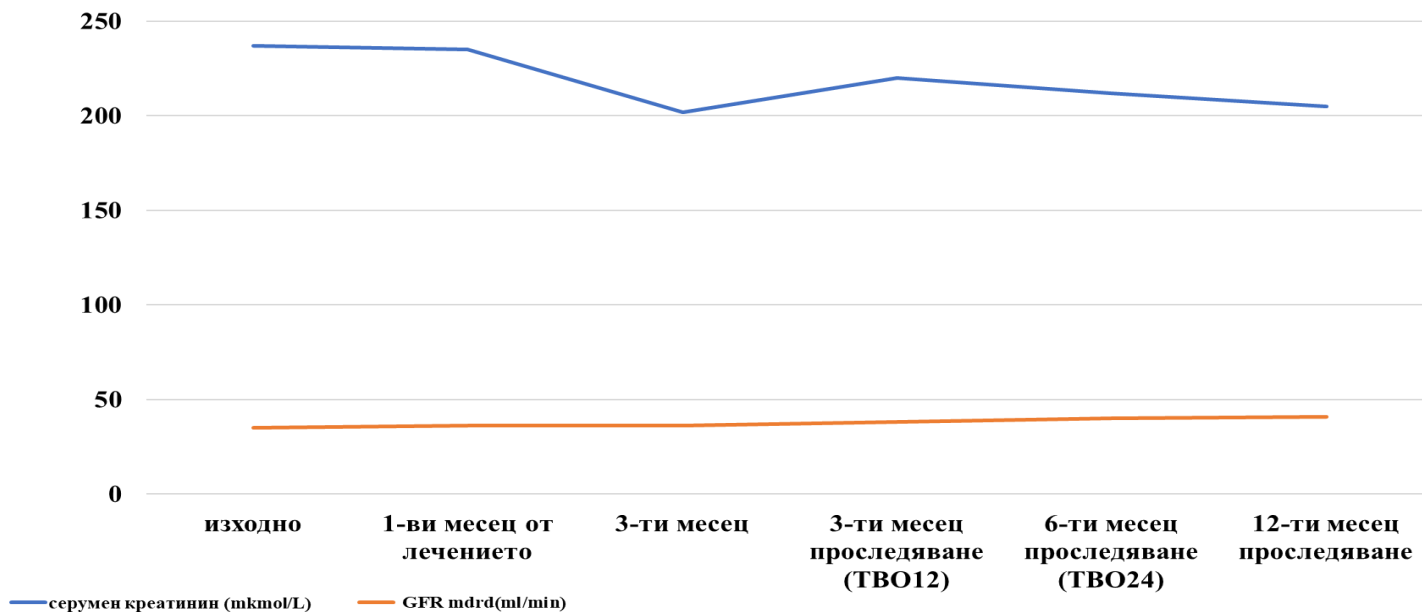
В тази група пациенти при първоначалният анализ се установи, че попадат индивиди в стадий на ХБЗ (според гломерулната филтрация) от 1 до 3, без да има такива в краен стадий на ХБЗ, съответно нямаше пациенти на диализно лечение.

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

В хода на работа установихме, че съществува положителна динамика в изследваната група пациенти по отношение на бъбречната функция, подобряване на гломерулната филтрация

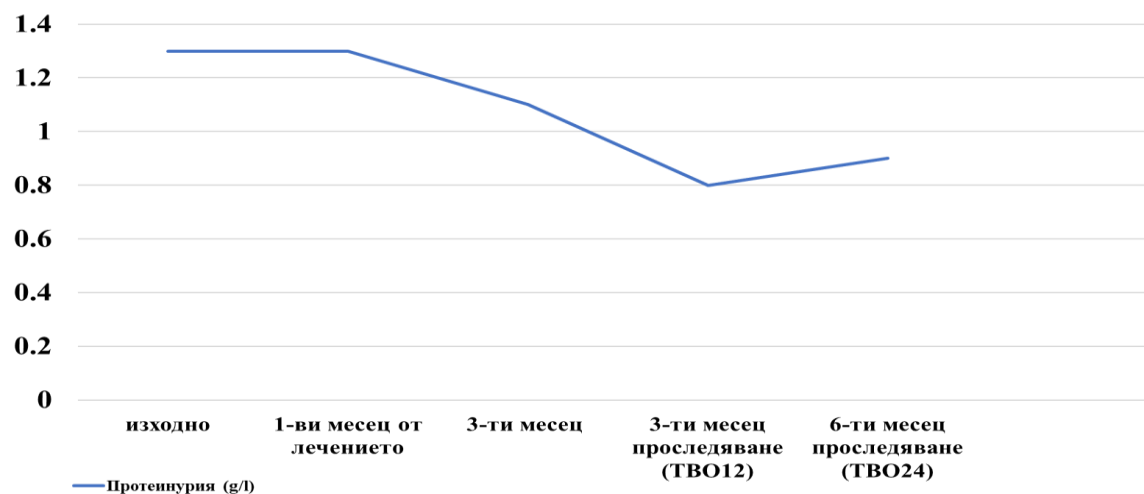
и спад на серумния креатинин в групата при дългосрочно проследяване (фиг. 17). Някои пациенти преминаха в по-нисък стадий на ХБЗ при проследяване.

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



За изграждане на комплексна оценка на бъбречната функция, проследихме също нивата на протеинурия при пациентите в тази група (БТ). Установихме, че общо за групата нивата на протеинурия са по-ниски спрямо изходните (фиг.18). Поради малкият брой пациенти (n=27), статистическата значимост на този извод трудно би могла да се дефицира на този етап, но тенденцията за намаление на протеинурията е налична т.е. има клинична значимост.

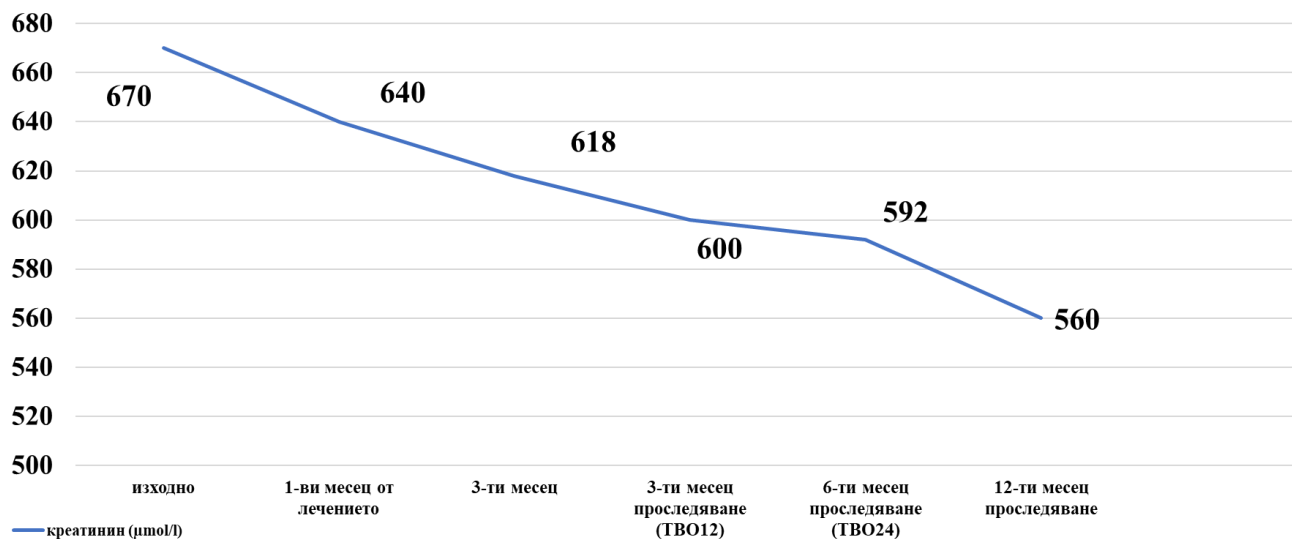
Фиг. 18. Динамика в 24-часова протеинурия при бъбречно -трансплантирани пациенти – по време на терапия и при проследяване



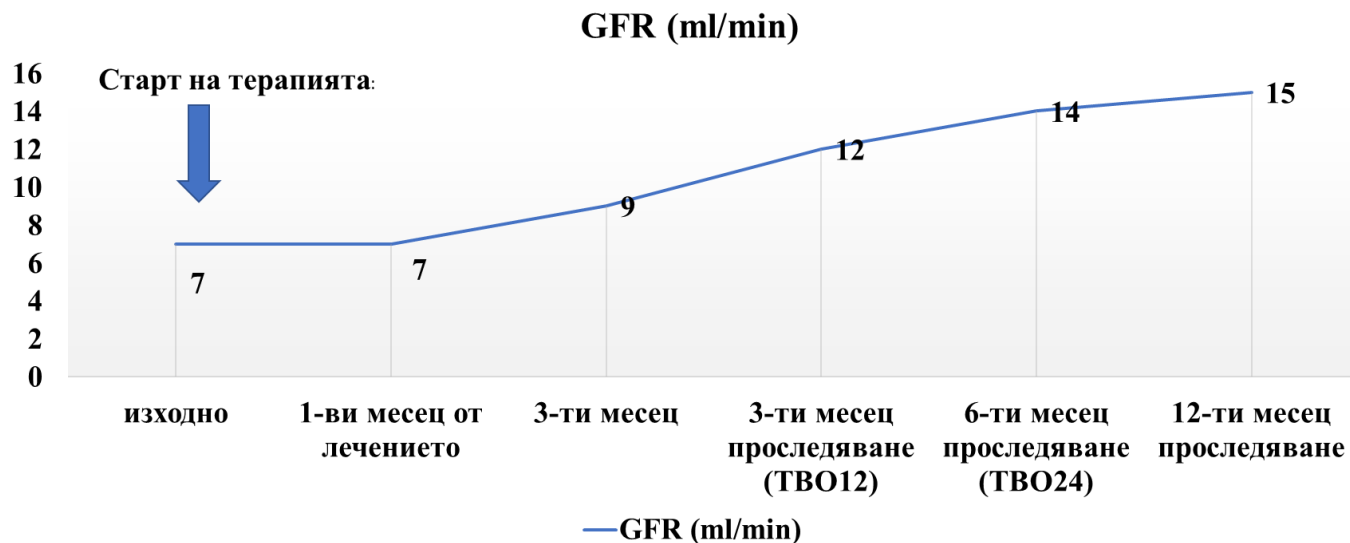
5.4.2.3.2 Проследяване на бъбречните показатели при пациентите на диализно лечение.

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

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



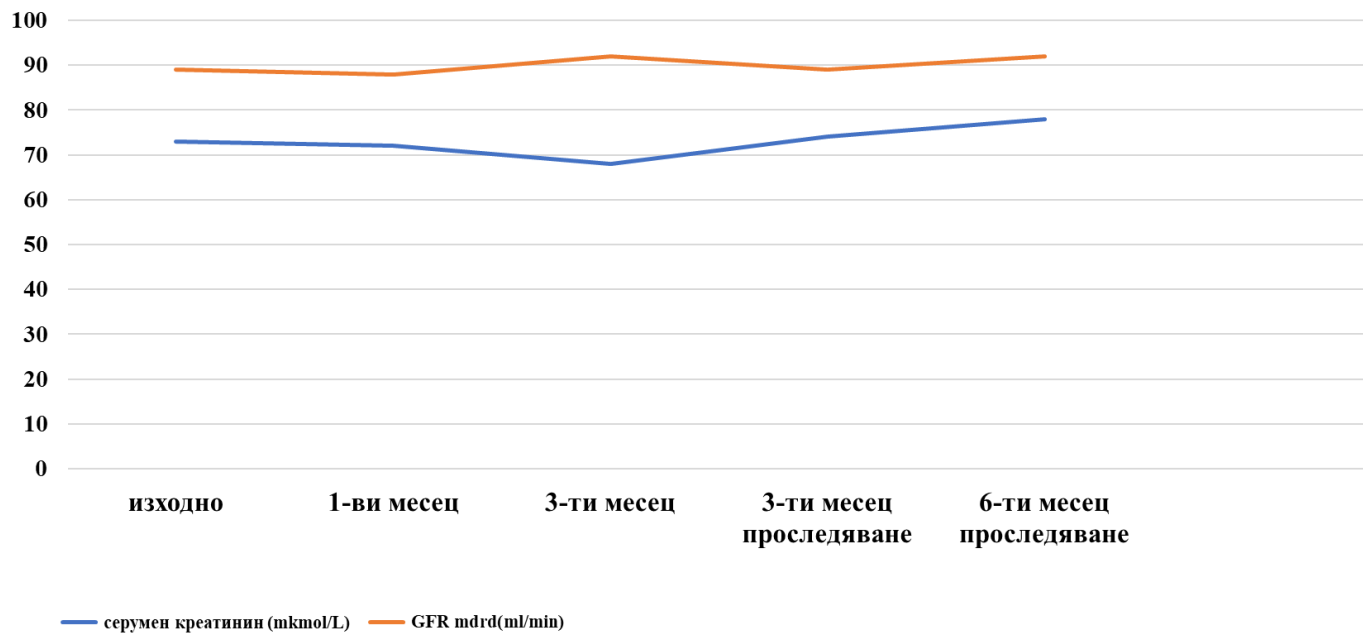
Фиг.20 Динамика в гломерулната филтрация при пациентите на диализно лечение.



5.4.2.3.3 Проследяване на бъбречните показатели при пациентите от контролната група.

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

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



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

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

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

Динамиката в стойностите на тези показатели за изследваната група от бъбречно-трансплантирани и пациенти на диализно лечение имаше следният вид (табл.23)

Табл.23 Paired Samples Statistics (descriptive) разпределение на серумния креатинин и гломерулната филтрация преди терапия и при проследяване

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

Двата показателя показаха статистически значима разлика в нивата ($p < 0.005$) (табл. 24) при проследяване техните стойности преди и след края на противовирусната терапия, както и при едногодишно проследяване след края на терапията.

Табл.24 Корелация в нивата на серумния креатинин и гломерулната филтрация – Paired samples t-test за чифтни разлики

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

За подкрепа на нулевата ни хипотеза – че има статистически значима разлика и подобрене в бъбречната функция при тази група болни, проведохме сравнителен анализ с тест за чифтни разлики (Paired samples t-test). Установихме, че действително в изследваната група съществува статистически значима разлика в динамиката на бъбречните показатели – ниво на серумен креатинин и скорост на гломерулна филтрация (табл. 25), при висок доверителен интервал (>95%).

Табл. 25 Paired Samples Test тест за чифтни разлики между серумния креатинин и скоростта на гломерулна филтрация преди лечение с ДДАс и при едногодишно проследяване след края на терапията.

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

Paired Samples Test – тест за чифтни разлики

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

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

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

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

Табл. 26 Paired Samples Test тест за чифтни разлики между серумния креатинин и скоростта на гломерулна филтрация преди лечение с ДДАс и при едногодишно проследяване след края на терапия при пациентите в контролната група

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

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

По отношение на NGAL при пациентите в контролната група не се наблюдаваше статистически значима разлика в серумната концентрация на NGAL преди началото на терапията с директно-действащи противовирусни средства и на 6-ти месец след края на противовирусната терапия (табл.27)

Табл. 27 Paired Samples Test – сравнителен анализ в серумните концентрации на NGAL в контролната група

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

5.4.2.4.3 Сравнителен и корелационен анализ на динамиката в бъбречната функция и нивата на NGAL по време на лечението с ДДАс и при проследяване до 1 година след края на лечението при бъбречно-трансплантираните пациенти и тези на диализно лечение.

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

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

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

Табл. 28. Процентно разпределение на пациентите в изследваната група според стадия на ХБЗ.

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

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

Намерихме **съответствие** между стадия на ХБЗ (27 болни в група 1 са в стадий на ХБЗ 2 и 3 , съответно със стойности на GFR между 89-30 ml/min и 30 болни в група 2 са в стадий на ХБЗ 4 или 5, съответно с GFR <29ml/min, групите са оформени за целта на анализа и са отразени в таблица 29) и по-високите стойности на изследвания показател (Табл 30, Табл.31), при $p < 0.05$.

Табл. 29 Разпределение на пациентите в ниско- (ст.2,3) и високостепенна ХБЗ (ст.4,5)

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

Групата пациенти с ХБЗ 4 и 5 имаха измерени отчетливо по-високи нива на NGAL (средна стойност 36.41 ng/ml), в сравнение с пациентите в по-нисък стадий на ХБЗ (средна стойност на NGAL 14.86 ng/ml) – табл.29

Табл.30 Mann-Whitney test

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

Grouping Variable: CKD stage

При проследяване стойностите на NGAL в хода на противовирусната терапия и след негативиране на вирусното размножаване наблюдавахме статистически значима разлика ($p < 0.005$ и доверителен интервал $> 95\%$) и съответно статистически значим спад в стойностите на изследвания показател, доказан чрез paired samples t-тест за чифтни разлики (табл.32) на седмица 24 след края на терапията, като тази тенденция се запази и на 1 година след края на противовирусната терапия.

Табл. 32 Paired Samples T-Test NGAL

Upper	df	Sig. (2-tailed)

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

От проведените изследвания и анализ направихме следните изводи:

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

Табл. 33 Корелационен анализ между нивото на вирусното размножаване и нивото на NGAL преди старта на терапията.

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

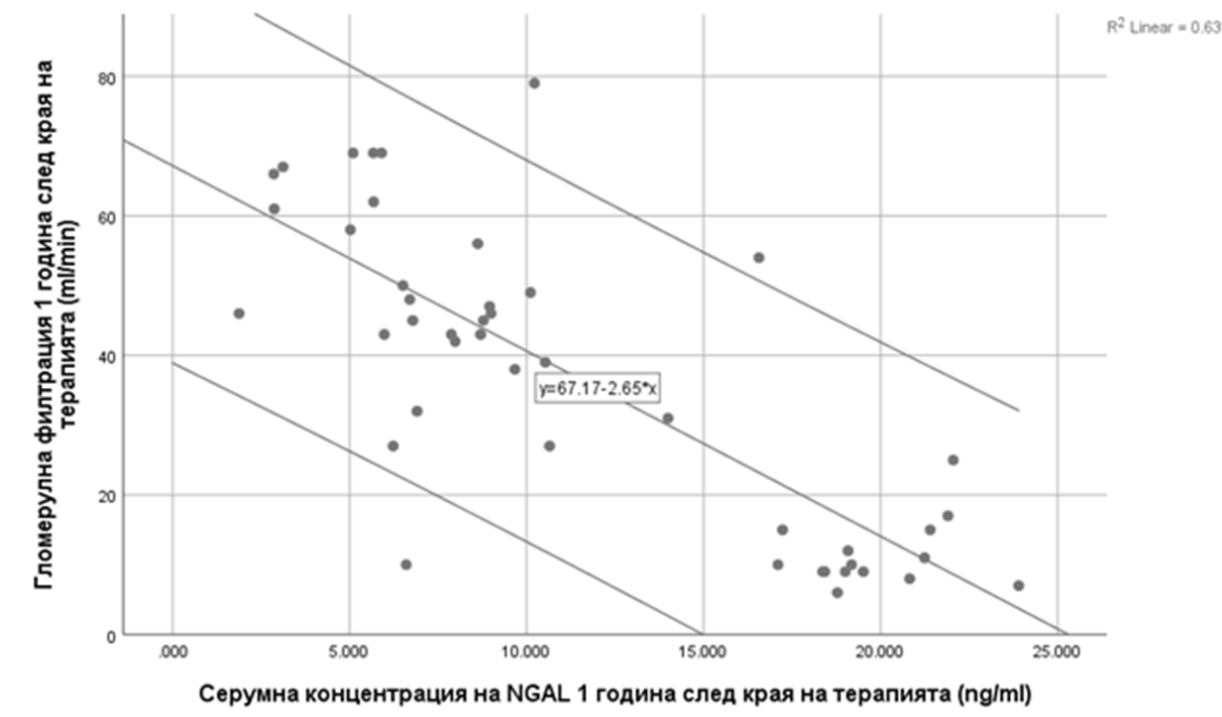
2. След края на противовирусната терапия част от пациентите преминаха в по-лек стадий на ХБЗ, като подобрението в бъбречната функция общо за групата е статистически достоверно ($p = 0.05$, Paired samples t-test табл.34).

Табл. 34 Paired Samples Test – сравнителен анализ в етапите на ХБЗ преди терапията и 12 месеца след края на терапията.

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

3. За да се оцени връзката между моментните стойности на серумната концентрация на NGAL и гломерулната филтрация се изчисли коефициента на рангова корелация на Spearman. В анализа бяха включени всички 57 болни. Предварителният анализ чрез преглед на корелационна матрица показва монотонна асоциация между двата показателя. (фигура 22)

Фиг. 22 Коефициент на рангова корелация на Spearman между гломерулната филтрация и серумната концентрация на NGAL 1 година след края на лечението с ДДас



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

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

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

Табл.35 Корелация по Pearson между серумният албумин и гломерулната филтрация при проследяване.

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

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

Табл. 36 Корелация по Pearson между серумният билирубин и гломерулната филтрация при проследяване.

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

- Установява се статистически значимо подобрение в чернодробната функция при всички пациенти по отношение на следните показатели – серумен албумин,

серумен билирубин, протромбиново време, АЛАТ, АСАТ, при висока достоверност : $p < 0.001$, и висок $r_s > .571$. – таблица 31

Табл.37 Параметри, проследени в началото и 1 година след края на противовирусното лечение

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

5.4.4 Оценка на безопасността на противовирусното лечение в изследваната група.

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

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

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

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

Втората по честота странична реакция, докладвана от пациентите, беше астено-адинамия. Наблюдаваше се в около 25% от пациентите (n=14). При четирима души това оплакване се запази до края на противовирусното лечение, след което премина спонтанно. Регистрира се една средна по тежест нежелана реакция. Наблюдавахме рабдомиолиза при пациент на терапия с 3D – режимът (на 10-ти ден след началото на прием на противовирусните медикаменти), който беше приемал Atorvastatin, въпреки инструкциите на екипа. Наблюдавахме висока цитолитична активност с нива на АСАТ до 951 U/l (референтна стойност 35 U/l), АЛАТ до 562 U/l (референтна стойност 38 U/l) и екстремно завишени нива на креатинфосфокиназата до 20 000 U/l. Приемът на Atorvastatin беше прекратен незабавно, като противовирусната терапия не беше прекратена и пациентката завърши курса на лечение успешно. След 14 дневен срок реакцията се овладя, постепенно трансаминазите се нормализираха и креатинфосфокиназата след 14 дни спадна до нива около 174 U/l. В хода на това събитие наблюдавахме влошаване на бъбречната функция на пациента, който беше бъбречно-трансплантиран и провеждаше съответна имunosупресивна терапия. При изходен серумен креатинин 248 $\mu\text{mol/l}$, наблюдавахме покачване в стойността му синхронно с всички други биохимични отклонения. След спад в стойностите на аминотрансферазите и креатинфосфокиназата, наблюдавахме и постепенен спад на серумния креатинин до 191 $\mu\text{mol/l}$. Реакцията беше овладяна успешно и нарушенията бяха напълни реверзibilни.

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

VII. Дискусия

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

Високият процент скрита заболяемост, липсата на скринингови програми във всички населени места по света, липсата на достатъчна информираност сред населението за потенциалните тежки социални и здравосложни последици, които биха могли да възникнат вследствие на HCV – инфекцията, както и все още липсата на достъп до терапия навсякъде по света, са само част от препятствията, които трябва да бъдат

преодолени за постигане на целта 2030 - а именно елиминация на вирусът на хепатит С от планетата.

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

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

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

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

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

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

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

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

След излекуване на HCV – инфекцията наблюдавахме подобряване на бъбречната функция в групата на бъбречно – трансплантираните пациенти и подобряване на серумният креатинин и гломерулната филтрация при пациентите на хроничен диализа. Във

втората група предвид напредналите промени в бъбречният паренхим и наличието на бъбречна недостатъчност, не бихме могли да говорим за подобрена бъбречна функция.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

VIII. ИЗВОДИ

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

IX. Приноси

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

Х. Публикации свързани с дисертационния труд:

I. Публикации в списания с ISI импакт фактор (след всяка публикация се посочва импакт фактор на списанието в годината на публикуване)

Christo Pentchev, Mariya Petkova , Victor Alargkof, Yana Boyanova, Donika Todovichin, Aneta Ivanova, Assen Aleksiev, Krasimir Antonov, Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C virus infection among Bulgarian patients: A single center experience, прието за печат в Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences.

II. Публикации в чуждестранни списания без ISI импакт фактор

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

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

III. Публикации в национални списания

1. **М. Петкова**, Р. Томова, И. Вълков, К. Антонов, Л. Матева. Българска хепатогастроентерология, Бр 1, 2015г, 33-36. Клиничен случай на болест на Уилсън – рядко заболяване с добра прогноза при адекватна диагноза и лечение.
2. **М.Петкова, К.Антонов**, Е.Паскалев. Нови подходи на оценка на бъбречната функция при пациенти с хронични вирусни хепатити и различна степен на хронично заболяване. MedInfo 2019; 11:28-30.
3. **Петкова, М.**, Д. Кръстева, Х. Пенчев, Е. Атанасова, Ц. Маринова, К. Антонов, Д. Желев. Лечение на хронична HCV-инфекция с комбинация Софосбувир/Велпатасвир: клиничен опит. Българска хепатогастроентерология, 2020, 13-17;
4. **М.Петкова**^{1,2}, Х.Пенчев^{1,2}, Е.Атанасова^{1,2}, Ц.Маринова^{1,2}, Д.Желев^{1,2}, К.Антонов^{1,2} :¹УМБАЛ „Св.Иван Рилски“, гр. София, ²Медицински университет София, Първи клинични резултати от приложението на SOF/VEL/VOX (VOSEVI) при пациенти с хронична HCV – инфекция, неотговорили на предишна терапия с ДДАс, Българска хепатогастроентерология, 2020 , 13-17
5. Пенчев, Х., **М. Петкова**, Д. Кръстева, Р. Томова, С. Драгнева, Цв. Маринова, Я. Боянова, Н. Желева, А. Иванова, Р. Иванова, А. Алексиев, Д. Попов, Д. Желев, К. Антонов. Ледипасвир/Софосбувир при пациенти с хроничен вирусен хепатит С – опит на един клиничен център. Българска хепатогастроентерология, 2020, 9-12;

6. Д.Кръстева, Х.Пенчев, **М.Петкова**, А.Иванова, А.Алексиев, Д.Попов, Р.Иванова, Д.Желев, К.Антонов. Съвременно лечение на хроничен вирусен хепатит С в реалната клинична практика. PRO MEDIC. 2019/бр.1, стр. 54-60.
7. Пенчев, Х., **М. Петкова**, Е. Атанасова, Ц. Маринова, А. Иванова, Р. Николов, К. Антонов. Наличие на антитела срещу SARS-CoV-2 при пациенти с хронична HCV инфекция и значението им за тежестта на чернодробното увреждане. Българска хепатогастроентерология. 2020, 2:25-27
8. ^{1,2}М.Петкова, ^{2,3}А.Балканска, ^{1,2}К.Антонов. Български клиничен опит върху лекарствено - индуцираната чернодробна токсичност - приета за печат в списание Българска хепатогастроентерология, 2022, брой 1.

Благодаря Ви!

На майка ми и баща ми !

На проф. Антонов за идеите, съветите и търпението!

На проф. Паскалев за доверието, отношението, конструктивните съвети и най-вече дзен-а!

На Тодор, ти си знаеш:)