

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

Д-р Надежда Желева Димитрова

**ЛЕЧЕНИЕ НА ХРОНИЧНА ИНФЕКЦИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С HCV
ГЕНОТИП 1 ПРИ ЛИПСА НА ЕФЕКТ ОТ СТАНДАРТНО ЛЕЧЕНИЕ С
ИНТЕРФЕРОН И РИБАВИРИН**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд

за присъждане на образователна и научна степен

„ Доктор”

по научната специалност Гастроентерология

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

Научен консултант: Проф. Д-р Захарий Александров Кръстев, дмн

София, 2016

Дисертационният труд е написан на 174 печатни страници, онагледен с 48 фигури и 49 таблици. Библиографската справка съдържа 173 литературни източника, от които 9 на български и 164 чуждестранни.

Изследванията, свързани с дисертационния труд са проведени в Клиника по гастроентерология към УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрен съвет на Катедра по Вътрешни болести при Медицински Университет- София, съгласно чл. 76 и 77 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ- София на 24.01.2016г.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 20.05.2016г. от 13. 30 ч. в аудиторията на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София

Официални рецензенти:

1. Проф. Деян Тонев Желев, дмн- вътрешен член за МУ- София, Катедра по вътрешни болести на Медицински факултет при МУ- София, научен ръководител на докторанта
2. Проф. Диана Василева Петрова, дмн- вътрешен член за МФ, МУ- София
3. Доц. Иванка Пенчева Маринова, дм- външен член за МУ- София, МУ- Плевен
4. Доц. Диана Иванова Николовска, дм- външен член за МУ- София, МИ на МВР, София
5. Доц. Владимир Николов Андонов, дм- външен член за МУ- София, МУ- Пловдив

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ- София и са на разположение на интересуващите се.

СЪДЪРЖАНИЕ

| | |
|---|----------|
| Използвани съкращения..... | 4 стр. |
| Въведение..... | 7 стр. |
| Цел и задачи..... | 9 стр. |
| Материал и методи..... | 10 стр. |
| Резултати..... | 19 стр. |
| Странични ефекти в хода на лечението..... | 56 стр. |
| Обсъждане..... | 665 стр. |
| Изводи..... | 77 стр. |
| Приноси..... | 78 стр. |
| Публикации е научни съкращения, свързани с дисертационния труд | 79 стр. |

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

СЪКРАЩЕНИЯ НА КИРИЛИЦА

-

ГГТ – гамаглутамил трансфераза

ПЧР - първичен чернодробен рак

ИСГ- интерферон стимулирани гени

СЪКРАЩЕНИЯ НА ЛАТИНИЦА

EMA- European Medicines Agency

FDA- Food and drug Administration

HTAs- агенти, насочени срещу хазяина

PI- протеазен инхибитор

TACE- трансартериална хемоемболизация

FIBROMAX- неинвазивен тест за определяне на активността и фиброзата на чернодробното увреждане

LDL- липопротеини с ниска плътност

ALT – аланинаминотрансфераза

AST – аспаратаминотрансфераза

Anti-HCV - антитела срещу хепатит С вирус

HCV - хепатит С вирус

IFN - интерферон-алфа

PEG INF- пегелиран интерферон

RBV- рибавирин

PCR -

PT-

PSA-

CRP-

PEG IFN – -

IP 10- 10

IL 28 B- 28

SVR-

HCV RNA –

TBil - общ билирубин

DBil- директен билирубин

DAA- директно действащи агенти за лечението на хроничния хепатит С

ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничният хепатит С е болест със социална значимост.

Хроничната С инфекция засяга почти 300 милиона хора по света.

Тя е една от основните причини за хронична чернодробна болест и е често срещана индикация за чернодробна трансплантация.

Честотата на хепатит С в българската популация е около 1,5 % .

Всяка година приблизително 350 000 умират вследствие на усложнения от хроничната С вирусна инфекция. 0,4%- 1,6% от здравите донори са anti-HCV позитивни. Налице са географски различия в честотата на хепатит С. В някои страни, като Египет например, честотата достига до 22 % (WHO 2011). В Африка и Западния Пасифик тя е сигнификантно по-висока отколкото в Северна Америка и Европа. (RKI2004). Известно е ,че между 2-5 млн. в Европа са anti-HCV позитивни. В САЩ, както и в Европа хепатит С е най-често срещаното хронично чернодробно заболяване.

Оставена без лечение инфекцията с хроничен хепатит С води до чернодробна цироза в 15-30% в рамките на 20 г. и риск от развитието на първичен чернодробен рак / НСС/ от около 2-4 % годишно. Трудно е да се определи честотата на новите случаи с хроничен хепатит С, тъй като повечето остри случаи на не са проявени клинично и са трудни за разпознаване и

диагностициране. Благодарение на хроничния характер на инфекцията, обаче, изчисленията показват, че здравната тежест на заболяването ще се увеличи драстично .

Успешното лечение на хроничния вирусен хепатит С е истинско предизвикателство за съвременната гастроентерология и хепатология. Десетилетия наред основна цел при лечението на хроничния хепатит С е трайното елиминиране на вируса, което се счита за постигнато при оставаща негативна HCV RNA 24 седмици след спиране на терапията (SVR). Най-значимото предимство на успешното лечение на хроничната С инфекция е намаляването на честотата на HCV – свързания първичен чернодробен рак и общата смъртност).

Интерферон- рибавирин базираната терапия даваше шанс за излекуване на около 50% от пациентите. Въведената по- късно през 2011г. тройна терапия с протеазен инхибитор първа генерация/ Восепrevir или Telaprevir/ значително увеличи шанса за излекуване на до около 70%. Истинска революция в лечението на хроничната С инфекция беше въвеждането на безинтерферонови терапии с директно действащи агенти, което доведе до почти 100% излекуване на пациентите.

Изучаването на натрупването на данни за различни биомаркери с отношение към отговора от безинтерферонови и нтерферонови

режими, както и проявените странични ефекти в хода на лечението, са актуални и важни проблеми в съвременната хепатогастроентерология.

I. Цел и задачи

Цел:

Да се оценят възможностите за лечение на пациенти с хроничен хепатит С генотип 1 , включително с компенсирана чернодробна цирроза, които са имали поне един неуспешен курс интерферон/рибавирин

Задачи:

1. Анализ на ефекта от предшестващите опити за лечение
2. Търсене и корекция на негативни предиктори за ефект от ново лечение
3. Анализ на ефективността на тройната и безинтерферонова терапии
4. Анализ на биологични параметри в хода на ново лечение

5. Анализ на страничните ефекти от тройната и безинтерферонова терапии и корекцията им

6. Сравняване на двете схеми за лечение – тройна терапия с интерферон и протеазен инхибитор и безинтерфероново лечение у лекувани преди това пациенти с хепатит С генотип 1

IV. Материал и методи

Проучвани групи пациенти:

1. Проучвани бяха общо 45 пациенти (30 мъже и 15 жени), които според проведената терапия се разделят съгласно таблица 1.

Таблица 1- Групи проучвани пациенти

| Вид терапия | Брой лица | Мъже/Жени |
|------------------------------------|------------------|------------------|
| Тройна терапия с Боцепревир | 30 | 23/7 |
| Тройна терапия с Телапревир | 5 | 2/3 |
| Безинтерферонова терапия | 10 | 5/5 |

Подборът на лицата беше извършен в Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София. Преди изследванията всички лица бяха

информирани за естеството и целите на изпитването и бяха подписали информирано съгласия за участие в проучването.

Всички пациенти, включени в проучването бяха с носителство на anti-HCV, ниво на HCV RNA > 1 000 IU/mL, генотип 1 и поне един провеждан курс на лечение с Peg IFN и ribavirin. Характеристиката на групата относно броя на курсовете предходно лечение с Peg IFN и ribavirin и отговора към него е според таблица 2 и таблица 3.

Таблица 2- Характеристика на лекуваните пациенти с тройна терапия

| Предходно лечение | С частичен отговор | С нулев отговор | Реактивирани | Общо |
|-------------------|--------------------|-----------------|--------------|------|
| Едно лечение | 5 | 4 | 10 | 19 |
| Две лечения | 2 | 4 | 5 | 11 |
| Три лечения | 0 | 3 | 2 | 5 |
| Общо | 7 | 11 | 17 | 35 |

Таблица 3- Характеристика на лекуваните пациенти с безинтерференова терапия

| Предходно лечение | С нулев отговор | Релактивирали | Общо |
|--------------------------|------------------------|----------------------|-------------|
| Едно лечение | 6 | 2 | 8 |
| Две лечения | 2 | 0 | 2 |
| Общо | 8 | 2 | 10 |

Характеристиката на групата според активността и фиброзата на чернодробната болест са според таблица 4 и таблица 5.

Таблица 4- Характеристика на лекуваните пациенти с тройна терапия

| Параметър | Лекувани с Боцепревир | Лекувани с Телапревир |
|------------------|------------------------------|------------------------------|
| Мъже | 23 | 2 |
| Жени | 7 | 3 |
| A 0-2* | 25 | 5 |
| A 3-4* | 5 | 0 |
| Ф 0-2* | 16 | 4 |
| Ф 3-4* | 14 | 1 |

*МЕТАВИР

Таблица 5- Характеристика на лекуваните пациенти с безинтерферонова терапия

| Параметър | Лекувани с 3D терапия |
|------------------|------------------------------|
| Мъже | 5 |
| Жени | 5 |
| A 0-2* | 1 |
| A 3-4* | 3 |

| | |
|-------------|---|
| Ф 0-2* | 1 |
| Ф 3-4* | 3 |
| Без биопсия | 6 |

***МЕТАВИР**

При 6 пациенти чернодробната болест не е верифицирана хистологично чрез чернодробна биопсия. Двама от тях са мъже и четири са жени. Чернодробна биопсия при тези болни не е проведена поради наличните клинични, лабораторни и ултразвукови данни за чернодробна цироза и наличните коагулационни нарушения.

Таблица 6- Характеристика на лекуваните пациенти с тройна терапия според пола и наличието на стеатоза

| Параметър | Наличие на стеатоза* | Липса на стеатоза* | Общо |
|-----------|----------------------|--------------------|------|
| Мъже | 9 | 16 | 25 |
| Жени | 4 | 6 | 10 |
| Общо | 13 | 22 | 35 |

) Оценката на наличието или липсата на стеатоза е направена въз основа на данните от чернодробната биопсия/ МЕТАВИР/ и ултразвуковото изследване

При всички пациенти в проучването се извърши пълен клиничен преглед. Всички пациенти, които бяха с чернодробна цироза тя се оцени като компенсирана болест въз основа на липсата на асцит, енцефалопатия,

иктер и кървене от варици. По скалата на Child-Pugh всички пациенти с **цироза бяха в клас А.**

Изследвахме IL 28 В генотипа при 26/35 пациенти, лекувани с тройна терапия . 4/26 са със С/С IL 28 В генотип, 16/26 са със С/Т и 9/26 са с Т/Т IL 28 В генотип.

Пациентите от проучването участваха с два вида приложено лечение. Едната група пациенти / общо 35/ беше лекувана с тройна терапия с PegINF, RBV и протеазен инхибитор първо поколение. При 30/35 пациенти тройната терапия беше с протеазен инхибитор Боцепревир и при 5/35 беше с протеазен инхибитор Телапревир. Продължителността на лечението при пациентите от тази група беше 48 седмици. При всички 35 пациенти от тази група лечението с тройна терапия започна с въвеждаща фаза с PegINF и RBV, която продължи 4 седмици. По време на нея пациентите приемаха и Sylimarin(Carsil ТМ, Sopharma). След приключването на въвеждащата фаза при 30 пациенти се прибави протеазния инхибитор- Боцепревир, като лечението с него продължи 44 седмици при всички пациенти, а при останалите 5- Телапревир, като лечението с него продължи 12 седмици. След спиране на приложението на Телапревир от седмица 16 до седмица 48 лечението продължи с PegINF и RBV.

Другата група пациенти / общо 10/ бяха лекувани с безинтерферонова терапия с директно действащи медикаменти.

Пациентите от тази група бяха лекувани с комбинация от Ombitasvir/ Paritaprevir/ Ritonavir и Dasabuvir и RBV. Продължителността на лечение беше 12 седмици. Всички 10 пациенти от групата имаха към терапията RBV.

Проследяването на пациентите по време на тройната терапия и след края на лечението беше според табл.7.

Таблица 7- Схема на провежданите изследвания по време на 48-седмичната терапия с PegINF/Ribavirin/протеазен инхибитор и 24 седмици след приключването и

| | 0 | 4 | 6 | 8 | 12 | 24 | 36 | 48 | 72 |
|---------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| IP-10 | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | |
| APRI | | | | | | | | | |
| HCV RNA | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

Проследяване на пациентите по време на безинтерферонова терапия и след приключването и бяха според таблица 8

Таблица 8- Схема на провежданите изследвания по време на 12-седмичната терапия с безинтерферонова терапия и 12 седмици след приключването и

| | 0 | 3- 5 ден | 2 седм. | 4 седм. | 6 седм. | 8 седм. | 12 седм. | 24 седм. |
|------------------|---|----------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|
| | X | X | X | X | X | X | X | X |
| | X | X | X | X | X | X | X | X |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Anti-HBcor total | X | | | | | | | |
| APRI | | | | | | | | |
| Fibrotest | | | | | | | | |
| HCV RNA | X | | X | X | X | X | X | X |

МЕТОДИ НА ЛАБОРАТОРНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Рутинните изследвания на кръвна картина и биохимичните показатели бяха извършвани главно в клиничната лаборатория н УМБАЛ „Св. Иван

Рилски”. Голяма част от тези изследвания бяха провеждани и в районни лечебни заведения по местоживеене. Вирусологичните изследвания бяха извършени в Лабораторията по молекулярна диагностика на Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”, София

1. Изследване на HCV RNA- използва се real-time PCR. Методът е високо-чувствителен за определяне на HCV RNA в широк линеен диапазон от много ниски концентрации на HCV RNA до екстремна вирусемия от милиони IU/mL. Използван е акредитиран метод, Сертификат за акредитация №1 от 25.11.2013 г., валиден до 25.11.2017 г. издаден от ИА БАС, съгласно изискванията на стандарт БДС ENISO/IEC 15189:2007.

2.Изследване на HCV генотип- използвахме достоверен тест за обратна хибридизация (The VERSANT[®] HCV Genotype 2.0 Assay* Line Probe Assay (LiPA)), който открива генотипове 1-6 и 15 подвида, включително 1a и 1b подтипове.

3. ELISA - IP10 –Кит: Human CXCL10/IP10 на R&D Systems, Inc. USA Kanada. Количествен тест, използващ специфично моноклонолно антитяло за IP10 с граница на откриване 7,8pg/ml. Тестът е калибриран с рекомбинантен човешки IP10, произведен от R&DSystems.

4. Алфа 2-Макроглобулин- Кит DAKO Human Serum Alfa-2-Macroglobulin-Cobas Mira Plus- използва се метод на дурбидиметрично определяне на концентрацията на Алфа 2-Макроглобулин в серум и EDTA- плазма в диапазона приблизително от 0,4 G/l до 8,8 G/l като стриктно се спазваха изискванията в инструкциите за работа.

4.За изследване на жлъчни киселини използвахме фотометричен метод.

5.За изследване на IgG използвахме ECLIA (електрохемиилумисцентен метод).

Серологични изследвания

Вирусните агенти (HBsAg, anti-HCV), както и anti-HIV бяха изследвани чрез ELISA метод, като се използваха стандартни търговски китове.

Чернодробна биопсия –осъществи се по метода на Менгини. За хистологична оценка на активността и фиброзата на чернодробната болест се използва МЕТАВИР скорвата система.

Статистическа обработка на данните

Статистическата обработка на данните беше извършена със статистическия пакет SPSS 16.0 for Windows. Определяни са средна стойност, медиана, стандартно отклонение. За оценка на статистическата значимост на получените резултати бяха използвани възможностите на ttest за

параметричен анализ и непараметричният анализ на Mann-Whitney. За статистическо изследване на зависимости и проверка на хипотези се приложиха хи квадрат метода и корелационен анализ с определяне на единични и множествени корелации.

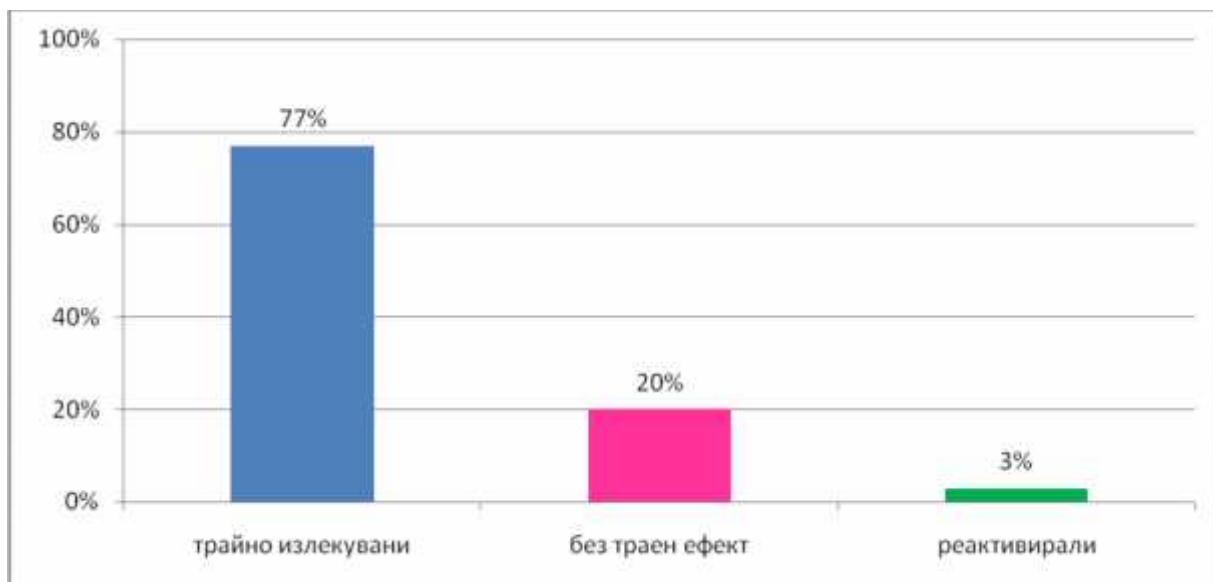
V. Резултати

Ефективност на тройната терапия

Голямото мнозинство от лекуваните пациенти с тройна терапия с протеазен инхибитор бяха реактивирали и частично отговорили на Peg-IFN и ribavirin 25/35 (71%), като само делът на реактивиралите беше 18/35 (51%). Само 10/35 (29%) от пациентите бяха с пълна липса на отговор към предходната двойна терапия.

Трайният ефект отчетен след тройната терапия в обсъжданите три групи пациенти е представен на фигура 1.

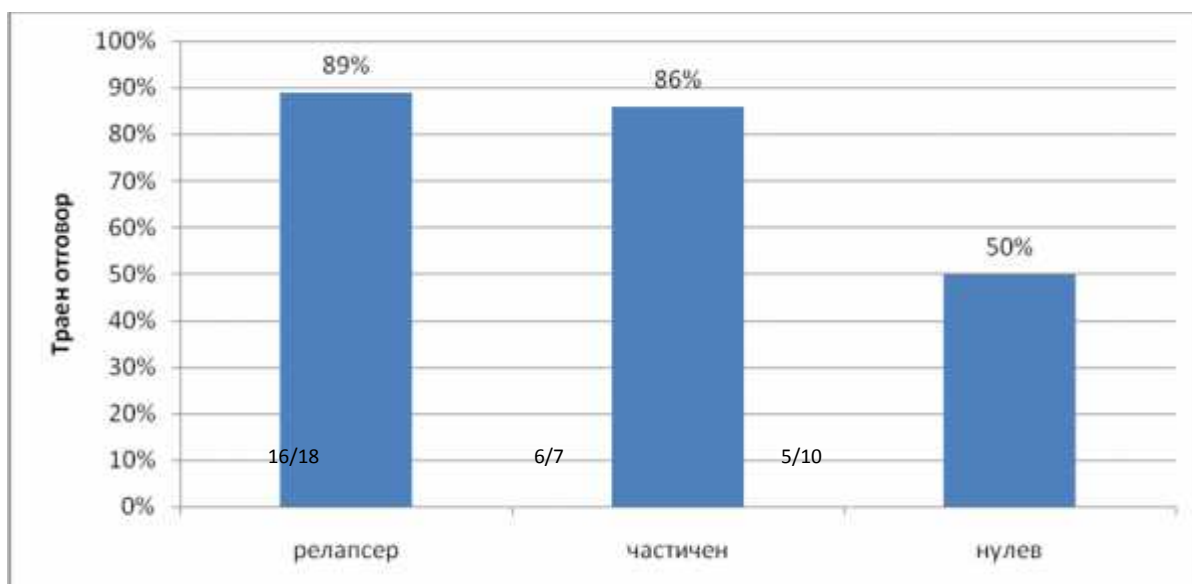
Фигура 1- Ефективност на тройната терапия:



Ефективност на тройната терапия в зависимост от отговора към PegIFN и RBV

При 16/18 (89%) болни с реактивация на болестта при предходно лечение с PegIFN и RBV се постигна траен вирусологичен отговор при лечение с тройна терапия, при 6/7 (86%) от частично отговорилите пациенти и при 5/10 (50%) от неотговорилите пациенти- Фигура 2.

Фигура 2- Отговор на тройната терапия според отговора към предходно лечение с Peg-IFN и RBV



Ефект на въвеждащото лечение

След 4 седмично въвеждащо лечение с PegIFN и RBV се отчете спад на HCV RNA от 768 458 { 1 545 949 IU/mL на 75 980 { 125242 IU/mL ($p = 0.006$; t-test за чифтни данни).

При 25/35 (71%) от болните в края на въвеждащото четириседмично лечение се установи спад на HCV RNA $\geq 1 \log$ IU/mL и 22/25 (88%) от тях показаха траен вирусологичен отговор след тройната терапия. Последният бе наблюдаван само в 5/10 (50%) от пациентите без отчетен спад на HCV RNA в края на въвеждащото четириседмично лечение.

Пет от 35 (14%) болни загубиха HCV RNA още в края на въвеждащото лечение и останаха с недоловима вирусемия по време на целия последвал курс на тройна терапия и на седмица 24 след спиране на лечението. Всички те бяха с добър отговор в края на предходния курс с PegIFN и RBV, но с реактивация на HCV инфекцията след спиране на двойната терапия. Трима от 5 (60%) бяха с един предходен курс на лечение с PegIFN и RBV, един от 5 (20%) беше с два предходни курса и един от 5 (20%) беше с три предходни курса. Двама от 5 (40%) бяха с чернодробна цироза.

При сравняване на изходните им показатели с останалите 13 релапсера на двойна терапия, се установи, че обсъжданите 5 пациента са с близо два пъти по-висока медиана на ГГТ. Не се установи разлика по отношение на разпределението по пол, възраст, изходна вирусемия, АЛТ и наличие на напреднала фиброза и чернодробна цироза (F_{≥3}) – Таблица 9.

Таблица 9- Изходни показатели при пациентите

| | V RNA(-) n = 5 | V RNA(+) n = 13 | |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------|
| , / | 4/1 | 8/5 | |
| [], (min-max) | 55 (28-63) | 46 (22-56) | P > 0,05 |
| HCV [IU/mL], (min-max) | 385 000 (102000 – 2270000) | 275 000 (48700-900000) | P > 0,05 |

| | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------|
| A T [U/L], (min-max) | 49 (24-60) | 52 (29-150) | P > 0,05 |
| [U/L], (min-max) | 39 (17-59) | 73 (26-125) | P < 0,05 |
| *, F _{≥3} / F _{≤2} | 2/5 | 3/10 | |

*METAVIR

Преди тройната терапия при 8 от 18 релапсера на предходна двойна терапия бе измерено нивото на IP 10 – четири от тях бяха с негативна виремия след въвеждащото лечение и всички те имаха стартов IP 10 \leq 300 pg/ml. За разлика от тях 3/4 от болните които са с налична виремия в края на въвеждащото лечение бяха с изходни нива на IP 10 \geq 500 pg/ ml.

Траен отговор- корелации

Трайният вирусологичен отговор към тройната терапия корелира с възрастта, фиброзата и стойностите на АЛАТ.- таблица 10.

Таблица 10- Корелации на трайния вирусологичен отговор на тройна терапия

| Параметър | r |
|------------|----------|
| Възраст | 0,361847 |
| Пол | 0,258199 |
| Фиброза* | 0,411803 |
| Активност* | 0,205768 |
| АЛАТ | 0,627359 |

| | |
|---------|----------|
| HCV RNA | -0,06759 |
|---------|----------|

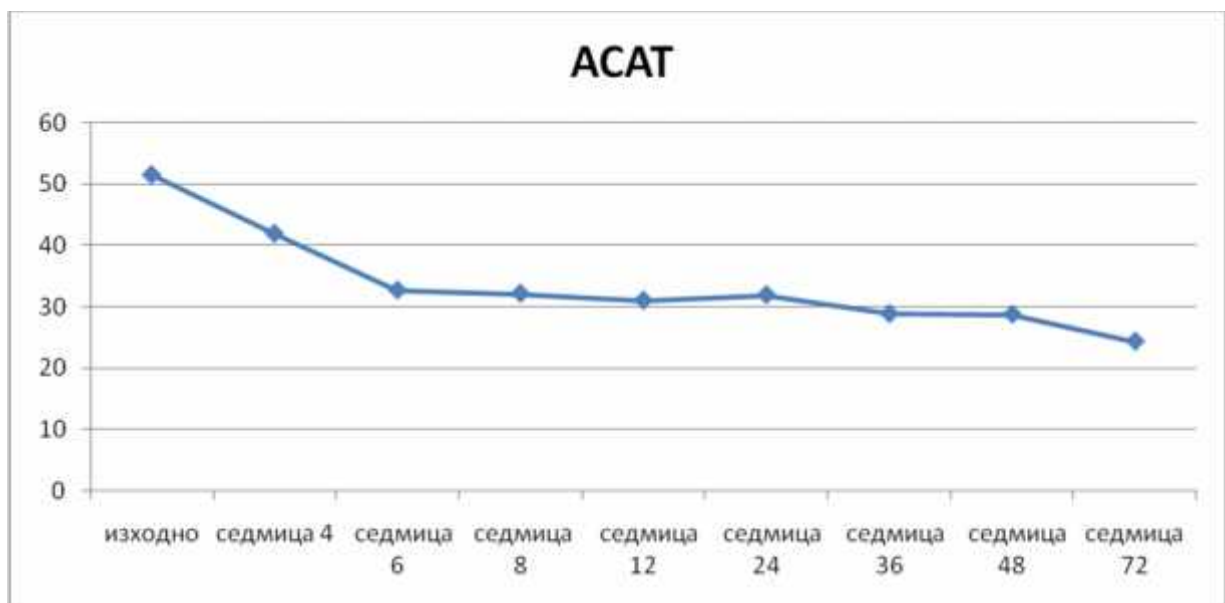
В най-голяма степен трайният вирусологичен отговор зависи от:

- Наличието на спад на HCV RNA \geq от 1 log10 в края на въвеждащото лечение
- Наличието на спад на HCV RNA \geq от 3 log10 на седмица 4 след включване на протеазния инхибитор – липсва траен отговор при всички болни неизпълнили това условие
- Добър отговор от предшестващата двойна терапия (липса на вирус в края на лечението)
- От активността на чернодробната болест $p= 0,001281$
- **Таблица 11-** Средна стойност и стандартното отклонение на АСАТ изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната терапия

| | изходно | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 | седмица 36 | седмица 48 | седмица 72 |
|------|---------|--------------|--------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|--------------|
| x | 52 | 42 | 33 | 32 | 31 | 32 | 29 | 29 | 24 |
| Sd ± | 44.8 | 36.7 | 26.4 | 28.09 | 27.6 | 28.3 | 24.1 | 23.9 | 17.1 |
| *p = | | 0.011 | 0.002 | 0.321 | 0.390 | 0.384 | 0.242 | 0.039 | 0.019 |

Спадът в стойностите на АСАТ има прогресивен ход по време на лечението с тройна терапия като от седмица 8 до седмица 36 има хоризонтален ход, последван от нов спад на седмица 48 и 72 – фигура 3

Фигура 3- Промени на АСАТ по време на едногодишно лечение с IFN, RBV и протеазен инхибитор

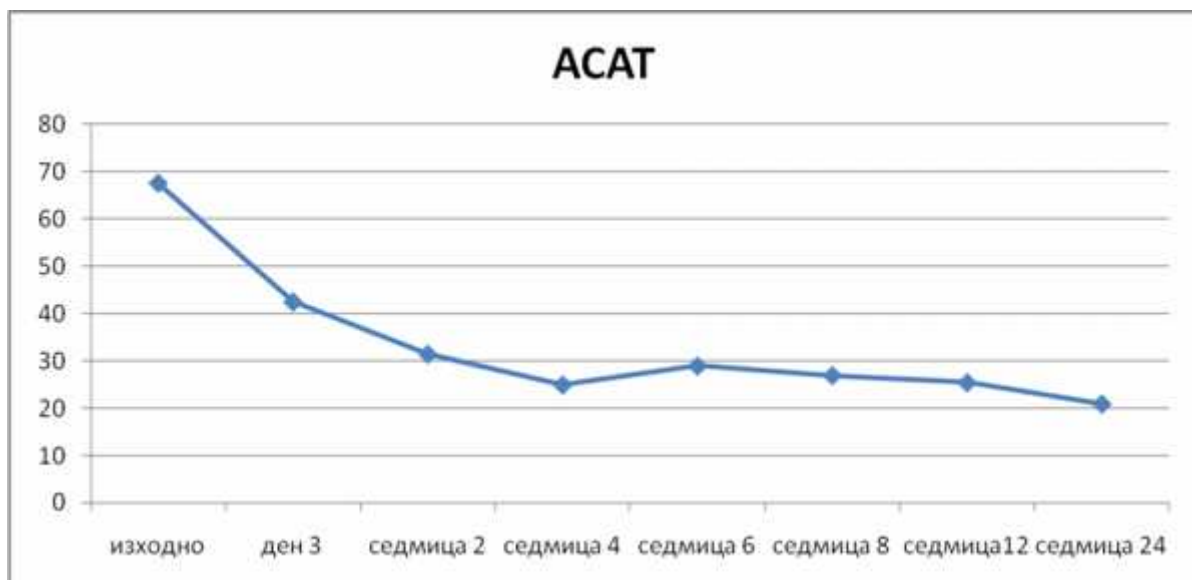


При лекуваните с безинтерферонова терапия се наблюдава спад в стойностите на АСАТ предимно до седмица 6, след което стойностите на АСАТ на другите проследявани етапи запазват тази тенденция-таблица 12.

Таблица 12- Медиана на АСАТ изходно и на проследяваните етапи в хода на безинтерфероновата терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
|---------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Медиана | 67,5 | 42,5 | 31,5 | 25 | 29 | 27 | 25,5 | 21 |
| T test | | 0,019195 | 0,308706 | 0,343065 | 0,078268 | 0,119774 | 0,275164 | 0,083849 |

Фигура 4- Промени на АСАТ при дванадесетседмично лечение с безинтерференова терапия

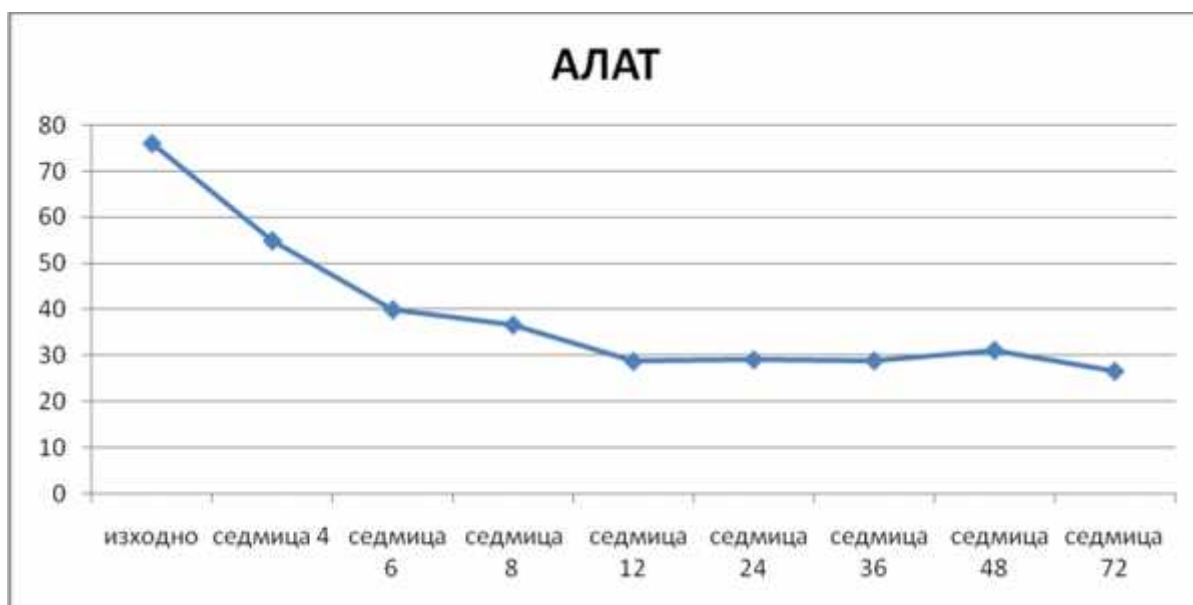


Стойностите на АЛАТ, аналогично на стойностите на АСАТ спадат предимно до седмица 6 в хода на тройната терапия-таблица 13.

Таблица 13- Средна стойност и стандартно отклонение на АЛАТ изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната терапия

| | изходно | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 | седмица 36 | седмица 48 | седмица 72 |
|--------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| x | 76.14286 | 55 | 40 | 36.67647 | 28.75758 | 29.125 | 28.90323 | 31.16667 | 26.62069 |
| Sd± | 60.39496 | 54.67149 | 43.32504 | 46.61715 | 27.96213 | 27.86995 | 29.68909 | 39.91665 | 25.70578 |
| T-test | | 7.49E-05 | 0.000104 | 0.123772 | 0.078716 | 0.483249 | 0.431895 | 0.111614 | 0.278091 |

Фигура 5- Промени на АЛАТ по време на едногодишното лечение с тройна терапия

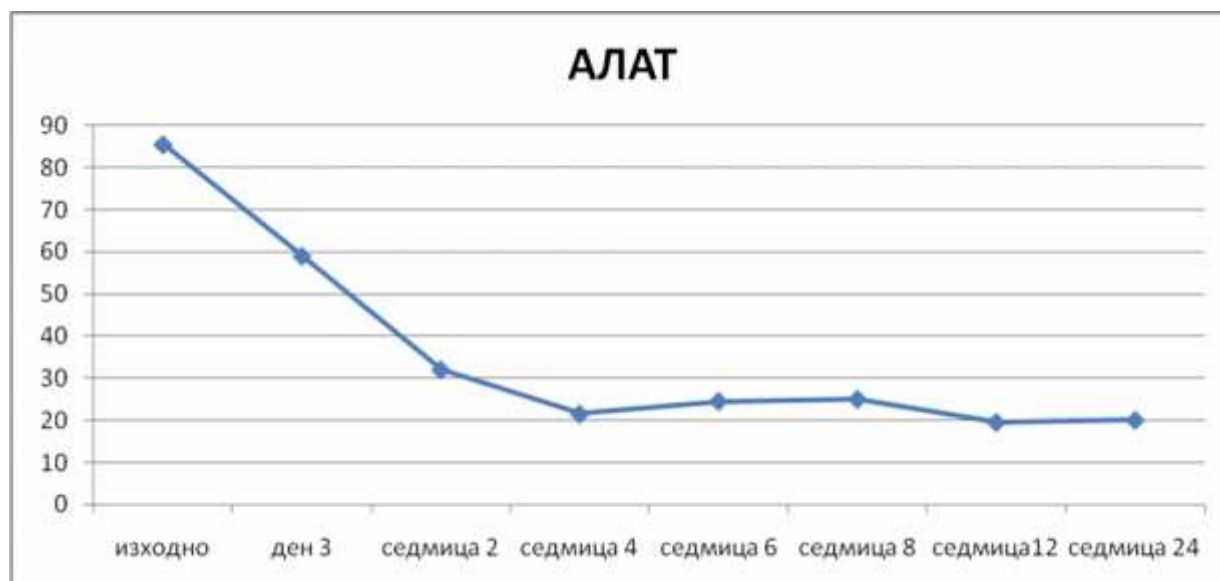


По време на безинтерфероновата терапия се наблюдава значим спад на АЛАТ предимно до седмица 4- таблица 14.

Таблица 14- Медиана на АЛАТ изходно и на проследяваните етапи в хода на безинтерфероновата терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
|---------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Медиана | 85,5 | 59 | 32 | 21,5 | 24,5 | 25 | 19,5 | 20 |
| T test | | 0,005359 | 0,022515 | 0,355449 | 0,12872 | 0,183153 | 0,145955 | 0,095332 |

Фигура 6- Промени на АЛАТ при дванадесетседмично лечение с безинтерференова терапия

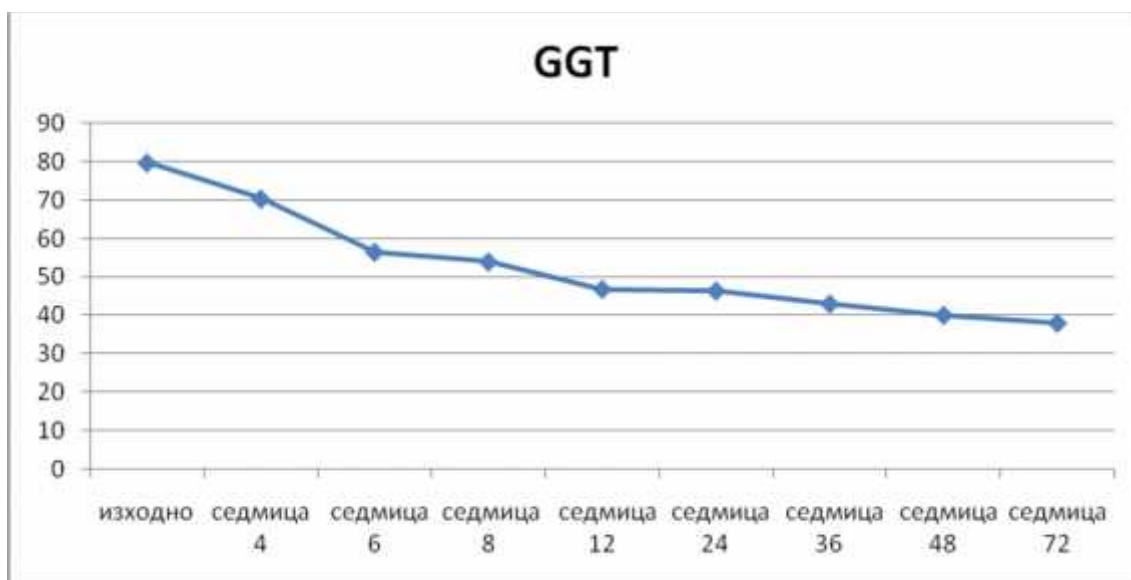


Серумните нива на ГГТП намаляват значимо и са по-ниски от изходните през цялото време на тройната терапия и спадат по-постепенно от цитолитичните ензими- таблица 15.

Таблица 15- Средна стойност и стандартно отклонение на АЛАТ изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната терапия

| | изходно | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 | седмица 36 | седмица 48 | седмица 72 |
|--------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| x | 79.71429 | 70.34286 | 56.51515 | 53.97059 | 46.87879 | 46.40625 | 43.06452 | 40.1 | 38.06667 |
| Sd | 61.82536 | 49.27935 | 37.30961 | 41.66779 | 32.95705 | 34.96141 | 36.00353 | 26.59868 | 39.92988 |
| T-test | | 0.042509 | 0.002827 | 0.319318 | 0.123098 | 0.377131 | 0.17912 | 0.233179 | 0.342421 |

Фигура 7- Промени на ГГТ при едногодишното лечение с тройна терапия

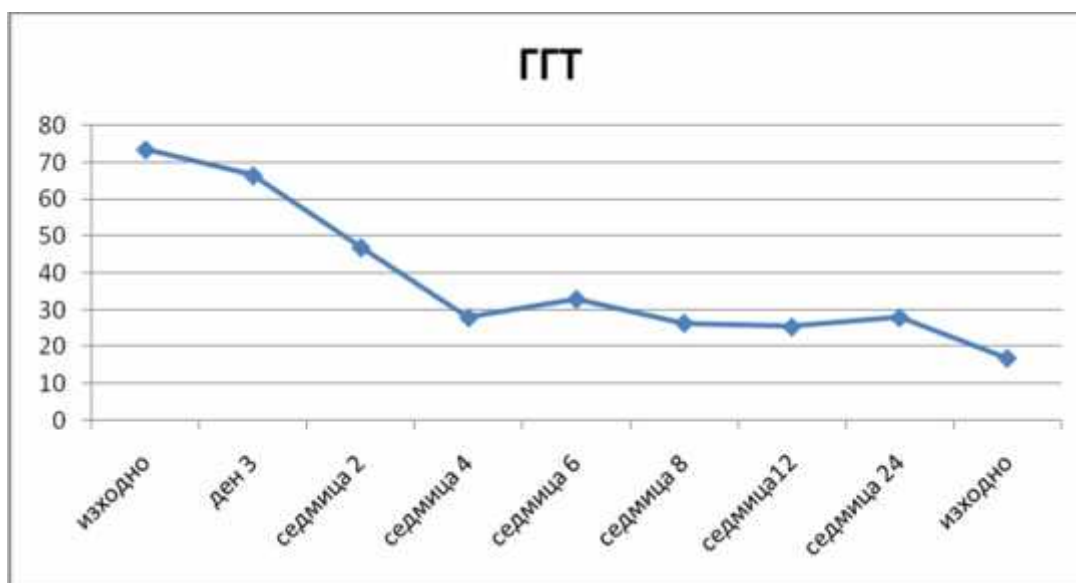


По време на безитерфероновата терапия се наблюдава най-значим спад на ГГТ на седмица 4- таблица 16.

Таблица 16- Медиана на ГГТ изходно и на проследяваните етапи в хода на безинтерфероновата терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица12 | седмица 24 |
|---------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | GGT-BL | GGT-3DAY | GGT-W2 | GGT-W4 | GGT-W6 | GGT-W8 | GGT-W12 | GGT-W24 |
| Медиана | 73,5 | 66,5 | 47 | 28 | 33 | 26,5 | 25,5 | 28 |
| ttest | | 0,024236 | 0,006035 | 0,001686 | 0,414951 | 0,04817 | 0,052303 | 0,077241 |

8- Промени на ГГТ при дванадесетседмично лечение с безинтерферонова терапия



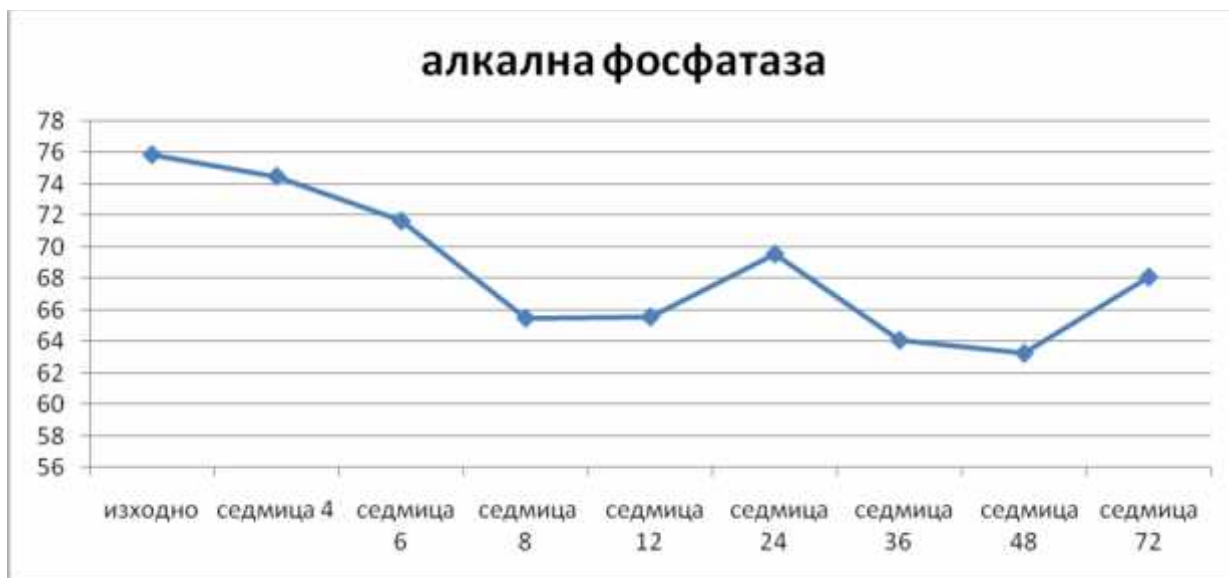
В хода на тройната терапия движението на АФ е по-мудно от това на ГТТ – таблица 17.

Таблица 17- Средна стойност и стандартно отклонение на ГТТ изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната

| | | | | | | | | | |
|--------|----------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 33.03287 | 24.22908 | 21.68342 | 22.9555 | 18.51795 | 37.03291 | 15.39781 | 15.44168 | 16.77628 |
| | изходно | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 | седмица 36 | седмица 48 | седмица 72 |
| x | 75.82857 | 74.45714 | 71.63636 | 65.47059 | 65.54545 | 69.53125 | 64.06452 | 63.23333 | 68.06897 |
| Sd | 33.03287 | 24.22908 | 21.68342 | 22.9555 | 18.51795 | 37.03291 | 15.39781 | 15.44168 | 16.77628 |
| T-test | | 0.388853 | 0.044938 | 0.00291 | 0.230427 | 0.24416 | 0.188823 | 0.307158 | 0.019026 |

Двата ензима нямат еднопосочно движение защото промените не са в билиарния полюс а вероятно са свързани с инфилтрати в порталните пространства и пролиферация на жлъчни каналчета.

Фигура 9- Промени на АФ при едногодишното лечение с тройна терапия



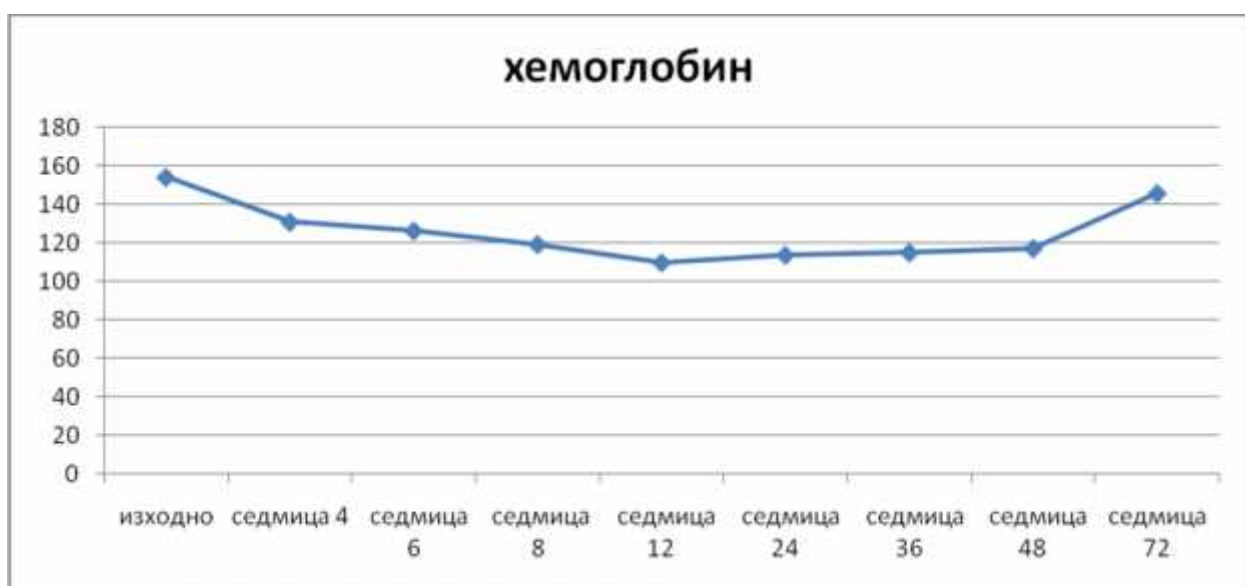
Анализирахме динамиката на кръвните показатели в хода на тройната и на безинтерфероновата терапия.

Спадът на хемоглобина при тройната терапия започва още по време на въвеждащата фаза, но най-значим спад се наблюдава на седмица 12 от началото на терапията. На следващите проследявани етапи хемоглобинът остава с трайно ниски нива. Наблюдава се значимо покачване на стойностите му след спиране на тройната терапия- седмица 72, но хемоглобинът остава по-нисък сравнение с изходните стойности- таблица 18.

Таблица 18- Средна стойност и стандартно отклонение на хемоглобина изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната терапия

| | Нв изх . | Нв 4 седм. | Нв 6 седм. | Нв 8 седм. | Нв 12 седм. | Нв 24 седм. | Нв 36 седм. | Нв 48 седм. | Нв 72 седм. |
|--|----------------|---------------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| x | 154 | 130 | 126 | 119 | 109 | 113 | 114 | 117 | 145 |
| Sd | 15, 2 | 17,1 | 15,4 | 16,5 | 25,0 | 15,5 | 18,6 | 17,7 | 18,5 |
| T-Test Спрямо предния резултат | | 2,8469 4 E-11 | 0,001 | 0,0001 | 0,012 | 0,054 | 0,289 | 0,137 | 1,46E- 09 |
| T-Test Спрямо изходни я резултат | | | 2,0387 6 E-102 | 5,844E -08 | 1,24201 E-10 | 1,16295 E-16 | 2,33287 E-15 | 2,09287 E-13 | 0,00026 1 |

Фигура 10- Промени на хемоглобина при едногодишното лечение с тройна терапия



По време на безинтерфероновата терапия се наблюдава най-значим спад на хемоглобина на седмица 4, след което стойностите се покачват постепенно до края на дванадесетмесечната терапия, а на седмица 12 след края на терапията хемоглобинът показва по-високи стойности от изходните - таблица 19.

Таблица 19- Медиана на хемоглобина по време на безинтерфероновата терапия

| | Hb-BL | Hb-DAY3 | Hb-W2 | Hb-w4 | Hb-w6 | Hb-w8 | Hb-w12 | Hb-w24 |
|---------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
| Медиана | 137,5 | 131 | 127 | 118 | 119 | 119,5 | 122,5 | 139 |
| ttest | | 0,004184 | 0,067841 | 0,000165 | 0,273692 | 0,441722 | 0,390176 | 0,000151 |

Фигура 11- Промени на хемоглобина при дванадесетседмичното лечение с безинтерферонова терапия

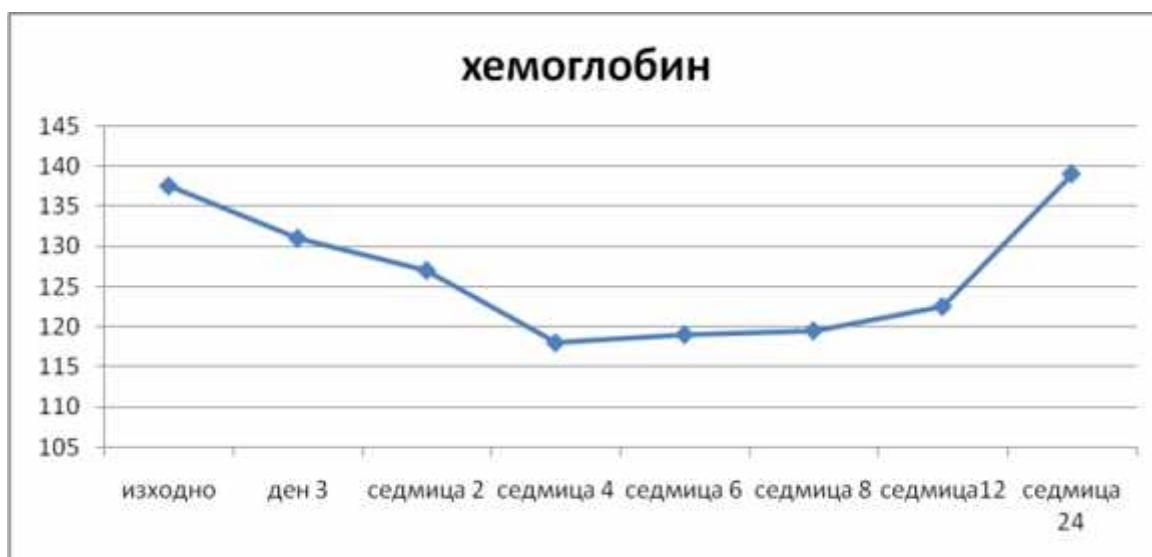


Таблица 20- Средна стойност и стандартно отклонение на левкоцитите изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната

| | изходно | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 | седмица 36 | седмица 48 | седмица 72 |
|--|---------|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|------------|
| x | 7,069 | 3,897 | 3,679 | 3,310 | 3,103 | 2,966 | 3,034 | 4,483 | 5,786 |
| Sd | 1,948 | 0,907 | 1,061 | 0,878 | 0,808 | 0,808 | 0,675 | 6,594 | 2,123 |
| T-Test Спрямо предния резултат | | 1,779 | 0,141 | 0,072 | 0,092 | 0,212 | 0,331 | 0,114 | 7,91E-07 |
| T-Test Спрямо изходния резултат | | | 1,1945 6E-10 | 7,4121 4E-11 | 6,3601 8E-11 | 3,6051 2E-12 | 1,7941 2E-11 | 0,018 | 0,001 |

Наблюдава се спад и в стойностите на левкоцитите от седмица 6 до седмица 8 от лечението, след което стойностите им остават значимо по-ниски. На седмица 72 / седмица 24 след спиране на тройната терапия / стойностите на левкоцитите са значимо по-високи от тези на седмица 48, но не достигат изходните нива.

Фигура 12- Промени на левкоцитите при едногодишното лечение с тройна терапия

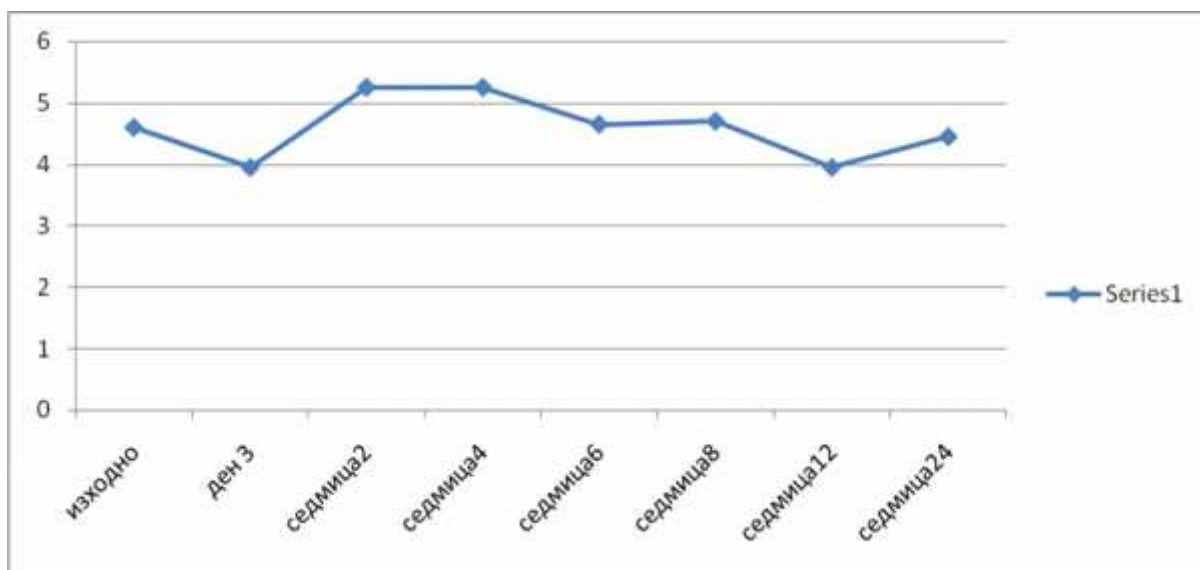


Таблица 21- Медиана на левкоцитите по време на безинтерфероновата терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
|----------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Медиан а | 4,6 | 3,95 | 5,25 | 5,25 | 4,65 | 4,7 | 3,95 | 4,45 |
| ttest | | 0,145712 | 5,98341E | 0,206939 | 0,03744 | 0,54807 | 0,314609 | 0,025317 |

Още на ден 3 след започване на безинтерфероновата терапия се наблюдава спад на левкоцитите, последван от покачване на седмица 2 до стойности по-високи от изходните и постепенно спадане до стойностите на седмица 2 в края на дванадесетмесечната терапия. На седмица 24 се наблюдава отново покачване на левкоцитите.

Фигура 13- Промени на левкоцитите при дванадесетседмичното лечение с безинтерферонова терапия



Наблюдава се начален спад в стойностите на тромбоцитите в края на въвеждащата фаза на тройната терапия- седмица 4 от началото на терапията, като спадът не нараства в хода на анализирания етап от лечението. На седмица 72 / седмица 24 след края на лечението/

тромбоцитите показват по-високи стойности от края на терапията, но не се наблюдава възстановяване на изходния брой.

Таблица 22- Средна стойност и стандартно отклонение на тромбоцитите изходно и на проследяваните етапи в хода на тройната

| | Plt изх. | Plt 4 седм. | Plt 6 седм. | Plt 8 седм. | Plt 12 седм. | Plt 24 седм. | Plt 36 седм. | Plt 48 седм. | Plt 72 седм. |
|----|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| x | 206,8 | 163,1 | 142,9 | 137,9 | 134,7 | 127,4 | 132,4 | 137,9 | 188,9 |
| Sd | 71,3 | 61,6 | 51,5 | 61,3 | 43,0 | 50,5 | 49,0 | 54,9 | 53,05 |
| p= | | 9,61E- о,5 | 0,0001 | 0,32 | 0,29 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 6,71E- 06 |

Фигура 13- Промени на тромбоцитите при едногодишното лечение с тройна терапия

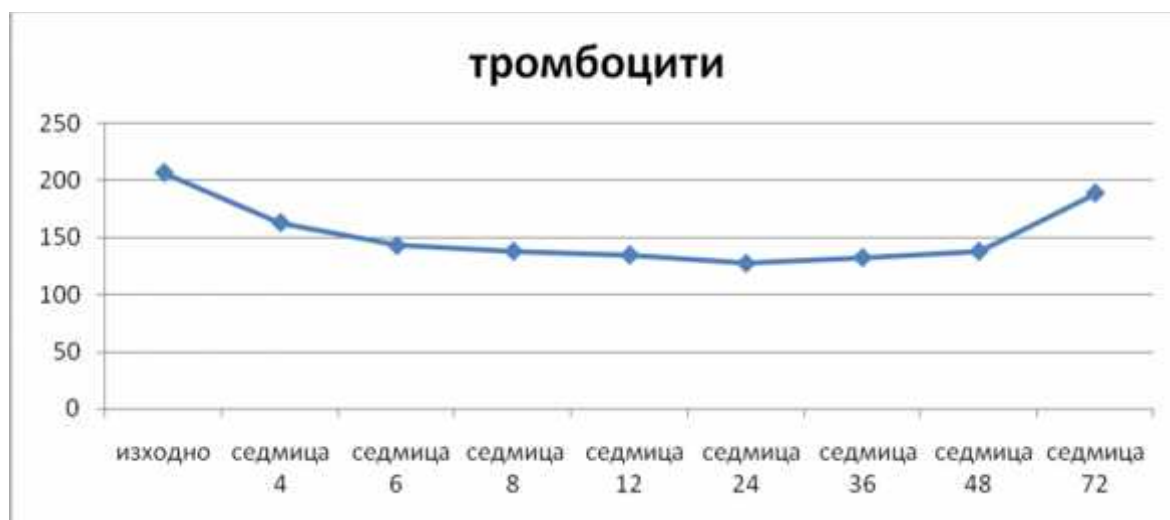
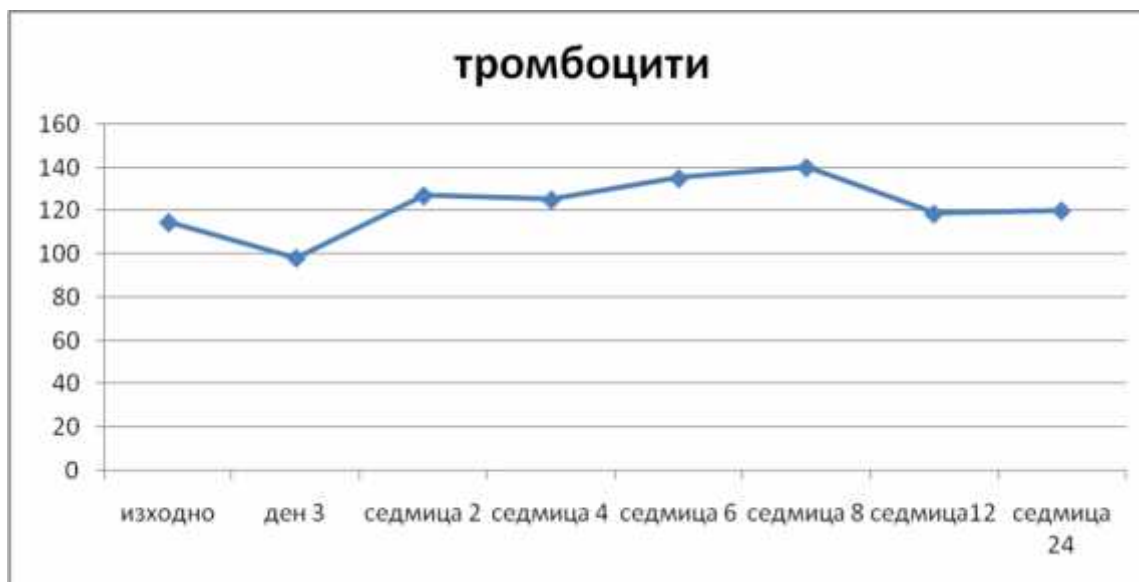


Таблица 23- Медиана на тромбоцитите по време на безинтерфероновата терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица12 | седмица 24 |
|----------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Медиан а | 114,5 | 98 | 127 | 125 | 135 | 140 | 118,2 | 120 |
| ttest | | 0,003723 | 0,000661 | 0,286516 | 0,413215 | 0,214327 | 0,479269 | 0,060495 |

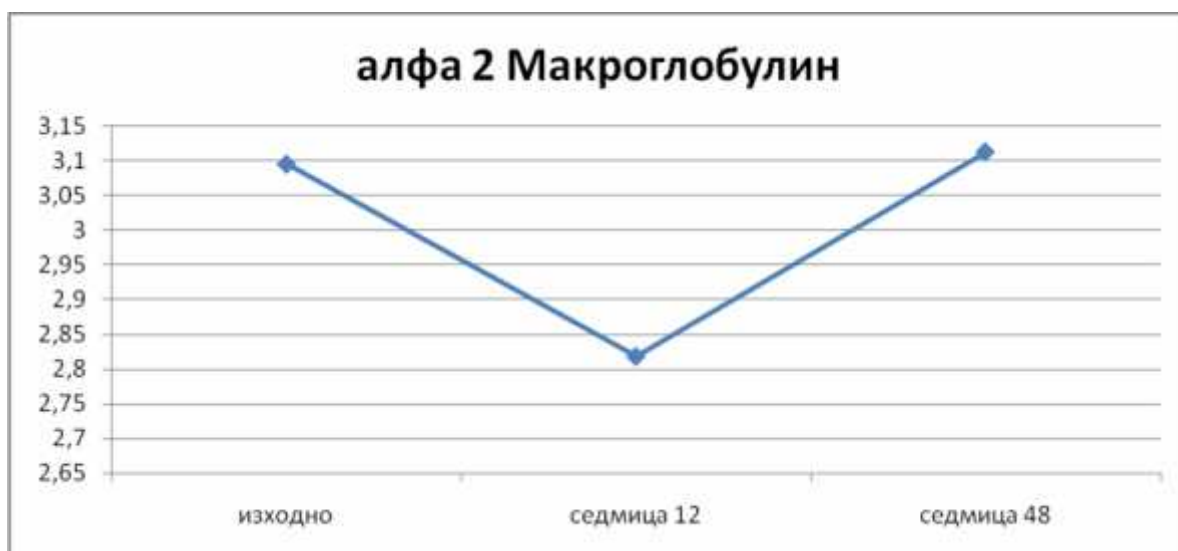
Още на ден 3 от началото на 3D терапията се наблюдава спад на тромбоцитите, след което започва нарастване с пик на седмица 8 от началото на терапията, след което се достигат по-високи стойности от изходните на седмица12 и седмица 24.

Фигура 14- Промени на тромбоцитите при дванадесетседмичното лечение с безинтерферонова терапия

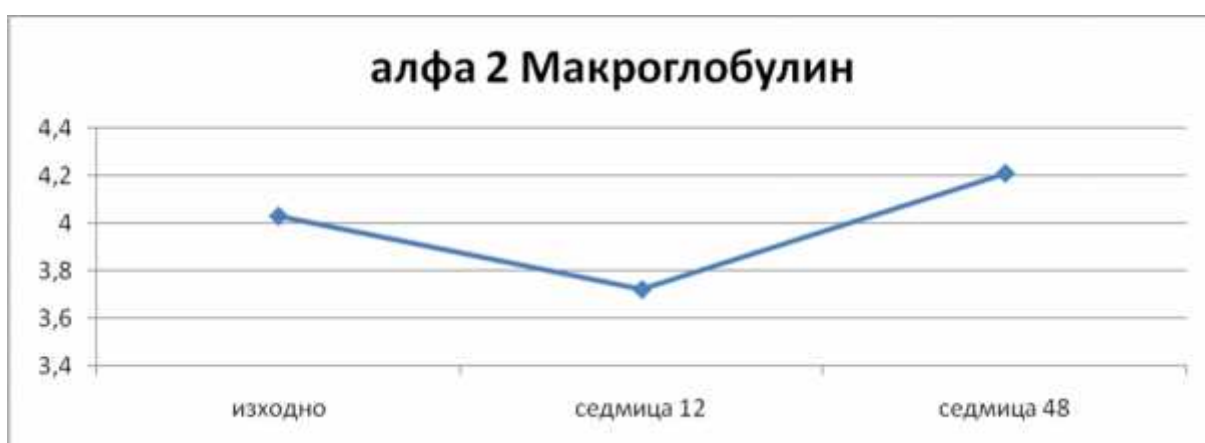


Анализирахме динамиката на алфа 2 Макроглобулина при пациентите, лекувани с тройна терапия и с безинтерферонова терапия.

Фиг.15- Динамика на алфа2 Макроглобулин при отговорили пациенти на тройна терапия



Фигура 16- Динамика на алфа2 Макроглобулин при неотговорили пациенти на тройна терапия



Фигура 17- Динамика на алфа 2 Макроглобулина при отговорили и неотговорили пациенти на тройна терапия

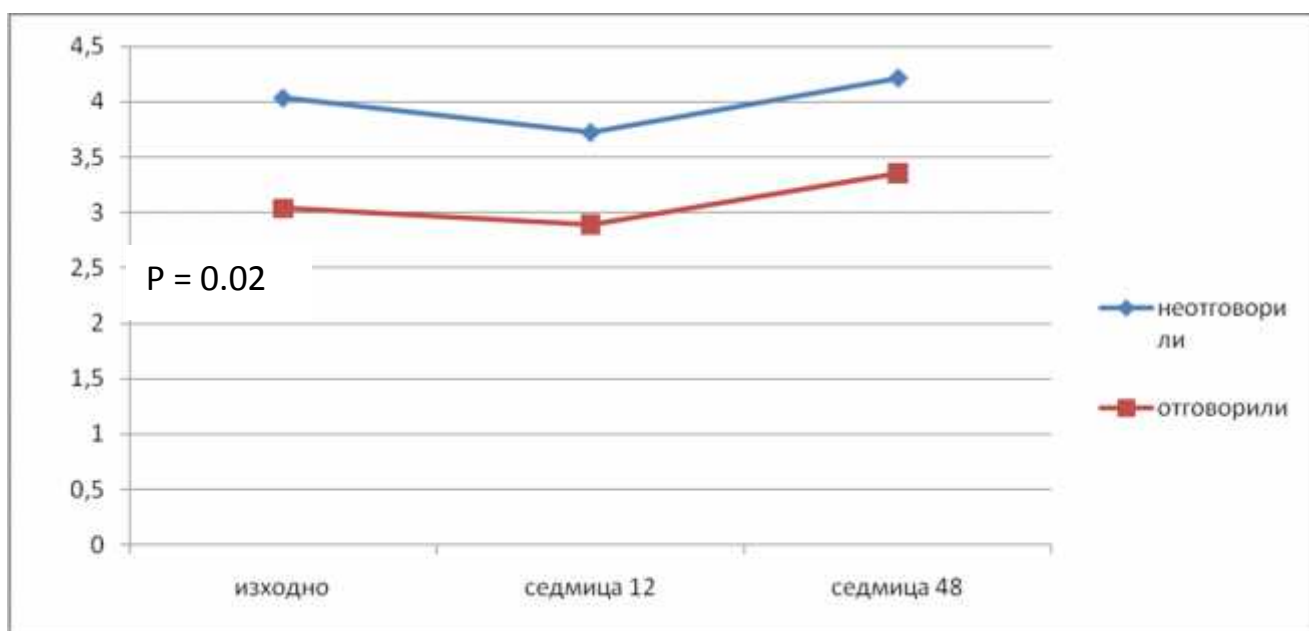
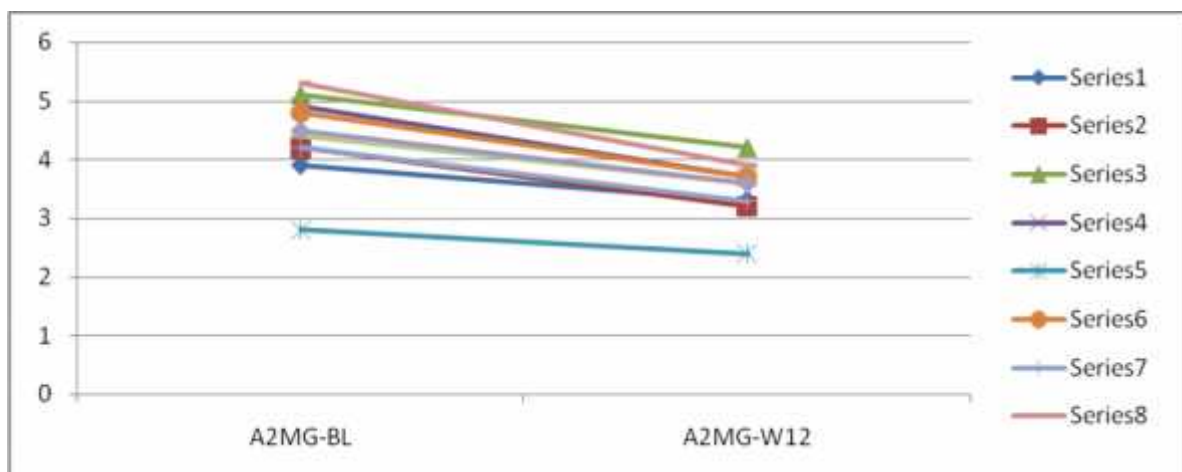


Таблица 24- Медиана на алфа2 Макроглобулин при отговорили и неотговорили пациенти на тройна терапия

| Алфа 2 Макроглобулин | Изходно | Седмица 12 | Седмица 48 |
|-------------------------|------------|------------|------------|
| общо | 3,09 ±1,25 | 2,82 ±1,14 | 3,11 ±1,27 |
| Отговорили | 4,8 ±1,22 | 2,5 ±0,99 | 2,9 ±1,23 |
| Отговорили (Медиана) | 3,04 | 2,89 | 3,36 |
| Неотговорили | 4,03 | 3,72 | 4,21 |

На седмица 12 е налице значимо спадане в нивата на Алфа 2 Макроглобулин $P < 0,001$. Изходните стойности при неотговорилите пациенти на тройна терапия са по-високи в сравнение с тези на отговорилите ($p = 0,002$). В края на терапията стойностите се върнаха към изходните.

Фигура 18- Динамика на алфа2 Макроглобулина



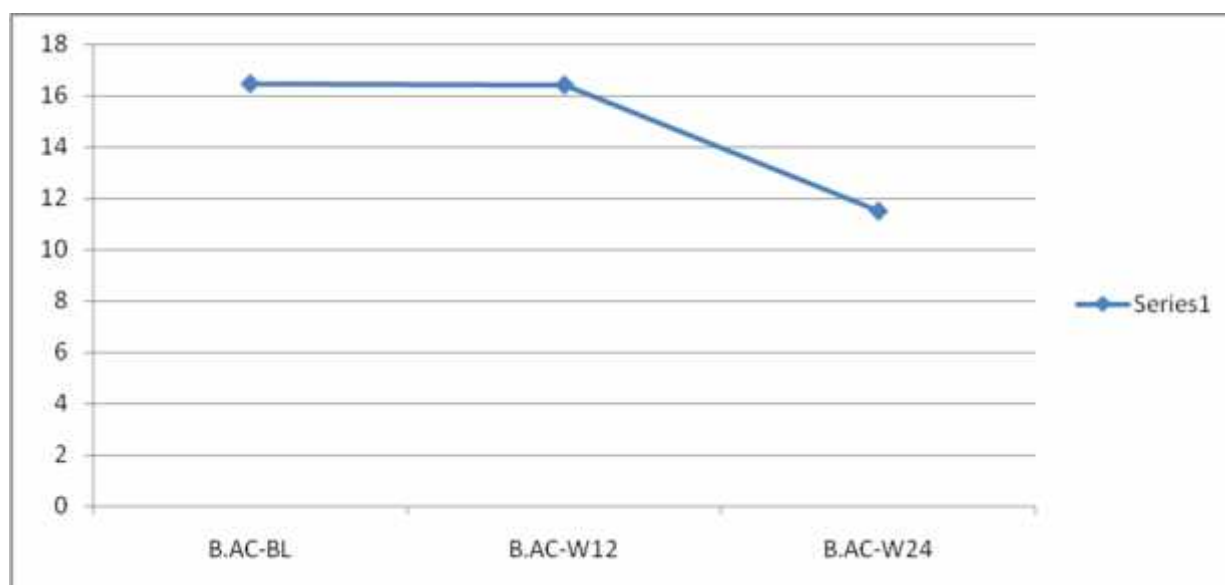
Същият феномен на значим спад в нивото на алфа-2 Макроглобулина се установи и след дванадесетседмично безинтерфероново лечение с директни вирустатичи: медианата спадна от 4,45 на 3,6 g/L ($p < 0,00001$).

Таблица 24- Медиана на алфа 2 Макроглобулин изходно и на седмица 12 при дванадесетседмично безинтерфероново лечение

| | изходно | седмица 12 |
|---------|---------|------------|
| Медиана | 4,45 | 3,6 |
| p | | 1,55E-06 |

Анализирахме динамиката на жлъчните киселини на пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия. Наблюдава се значим спад на стойностите на седмица 12 след приключване на бизинтерфероновата терапия.

Фигура 19- Динамика на жлъчни киселини при пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия



Няма статистически значима разлика в стойностите та хаптоглобина на пациентите, лекувани с дванадесетседмична безинтерферонова терапия на изследваните етапи.

Таблица 25- Медиана на жлъчни киселини изходно, на седмица 12 и седмица 24 при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

| | В.АС-Изходно | В.АС-W12 | В.АС-W24 |
|---------|--------------|----------|----------|
| Медиана | 16,45 | 16,4 | 11,5 |

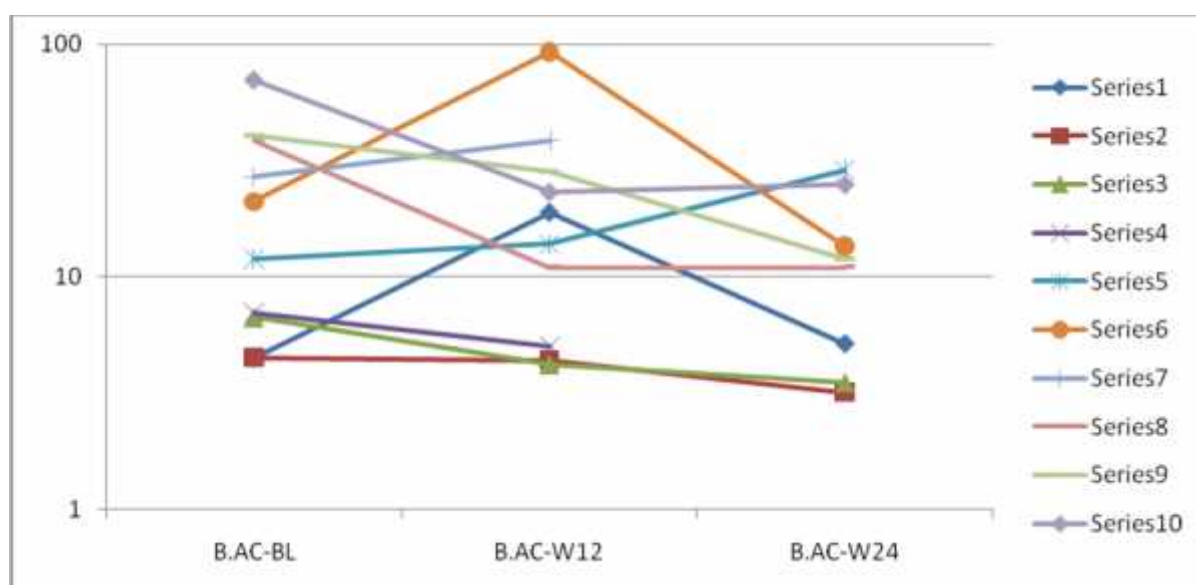
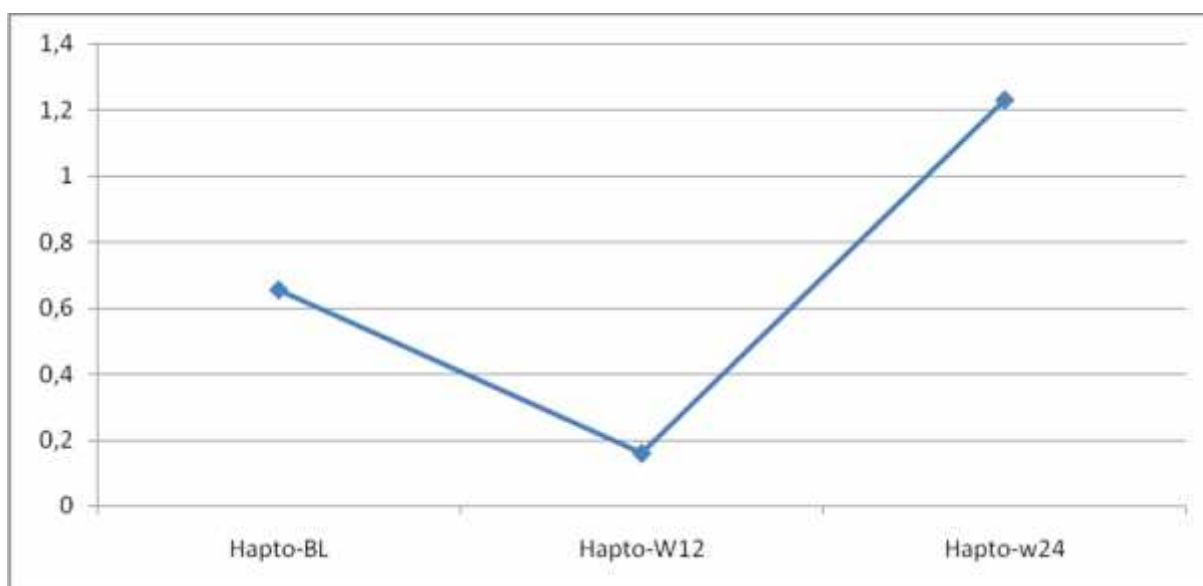


Таблица 26- Медиана на хаптоглобин изходно , седмица 12 и седмица 24 при дванадесетседмично безинтерфероново лечение

| | изходно | седмица 12 | седмица 24 |
|---------|---------|------------|------------|
| Медиана | 0,655 | 0,16 | 1,23 |

Фигура 20- Динамика на хептоглобин при пациентите, лекувани с безинтерференова терапия



Медианата на изходната HCV RNA на пациентите, лекувани с безинтерференова терапия е 1 119 534.

Табл.26- Медиана на активността и фиброзата- изходно и на седмица 12, и на различни етапи на хемоглобин при пациенти, лекувани с безинтерференова терапия

| | A-BL | A-W12 | F-BL | F-W12 | Hb-BL | Hb-DAY3 | Hb-W2 | Hb-w4 | Hb-w6 | Hb-w8 | Hb-w12 | Hb-w24 |
|---------|------|----------|------|-------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Медиана | 3 | 1 | 4 | 4 | 137,5 | 131 | 127 | 118 | 119 | 119,5 | 122,5 | 139 |
| ttest | | 0,001281 | | 0,5 | | 0,004184 | 0,067841 | 0,000165 | 0,273692 | 0,441722 | 0,390176 | 0,000151 |

По време на безинтерфероновата терапия се отчита спад в активността на болестта, но не и на фиброзата.

Фигура 21- Динамика на активност и фиброза на пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

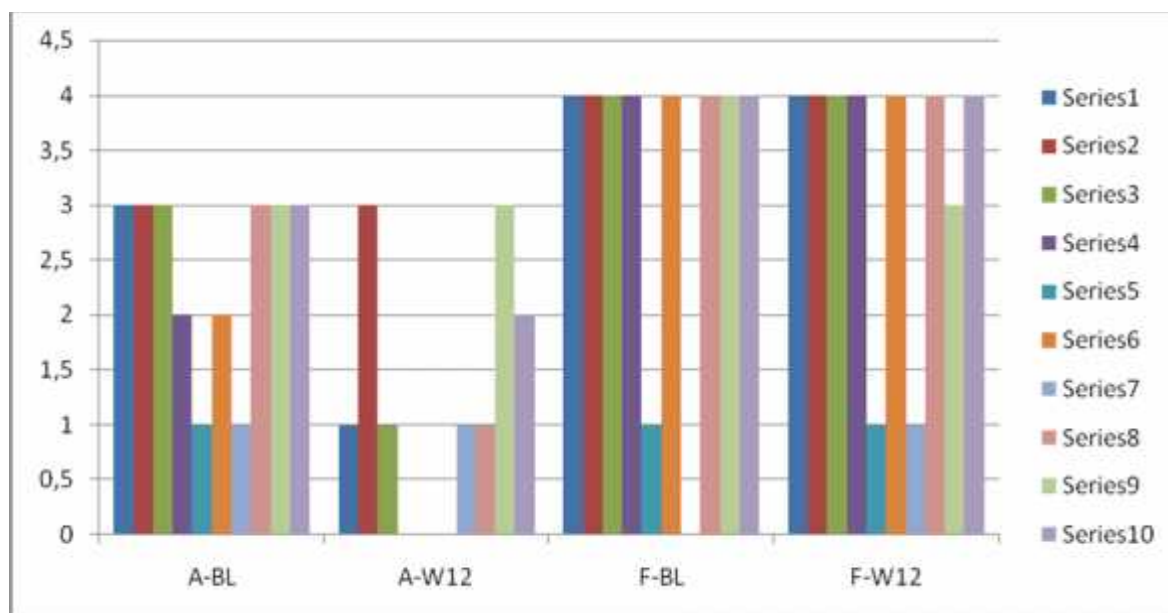


Таблица 27- Медиана на общия билирубин при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
|---------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Медиана | 17 | 33 | 28,5 | 23 | 28 | 21 | 23,5 | 11 |
| T-test | | 0,012758 | 0,097937 | 0,013323 | 0,41028 | 0,443605 | 0,336078 | 0,029288 |

Фигура 21-Динамика на общия билирубин при пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия



Таблица 28- Медиана на директния билирубин при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

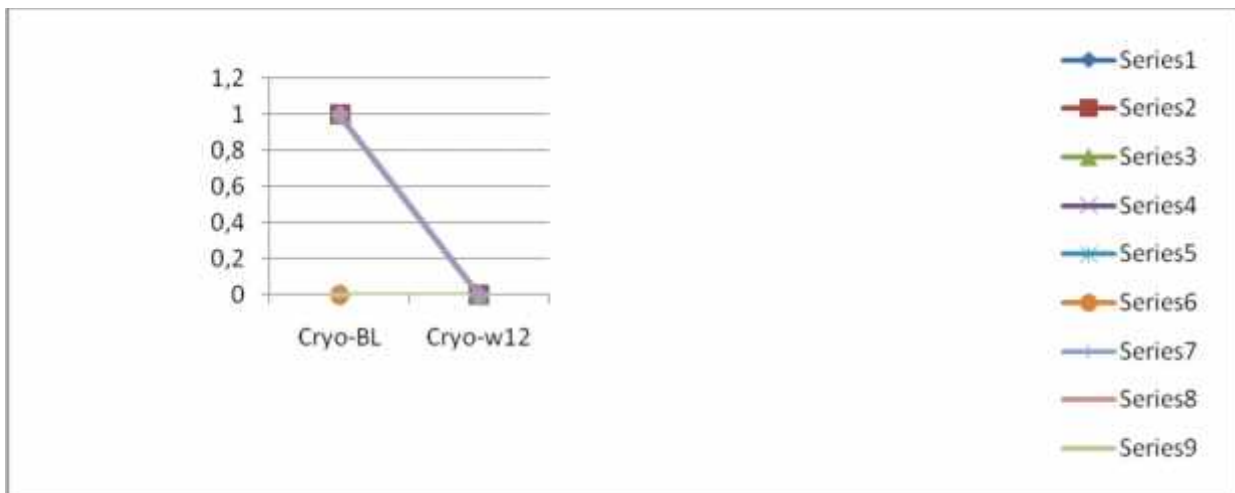
| | изходно | ден 3 | седмица 2 | седмица 4 | седмица 6 | седмица 8 | седмица 12 | седмица 24 |
|---------|---------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Медиана | 9 | 17 | 14,5 | 9,5 | 8,5 | 9 | 8 | 4 |

Фигура 22- Динамика на директния билирубин при пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия



Налице е негативиране на криоглобулините на седмица 12 при пациентите лекувани с безинтерферонова терапия сравнение с изходните стойности ($p=0,006675$)

Фигура 23- Динамика на криоглобулини при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

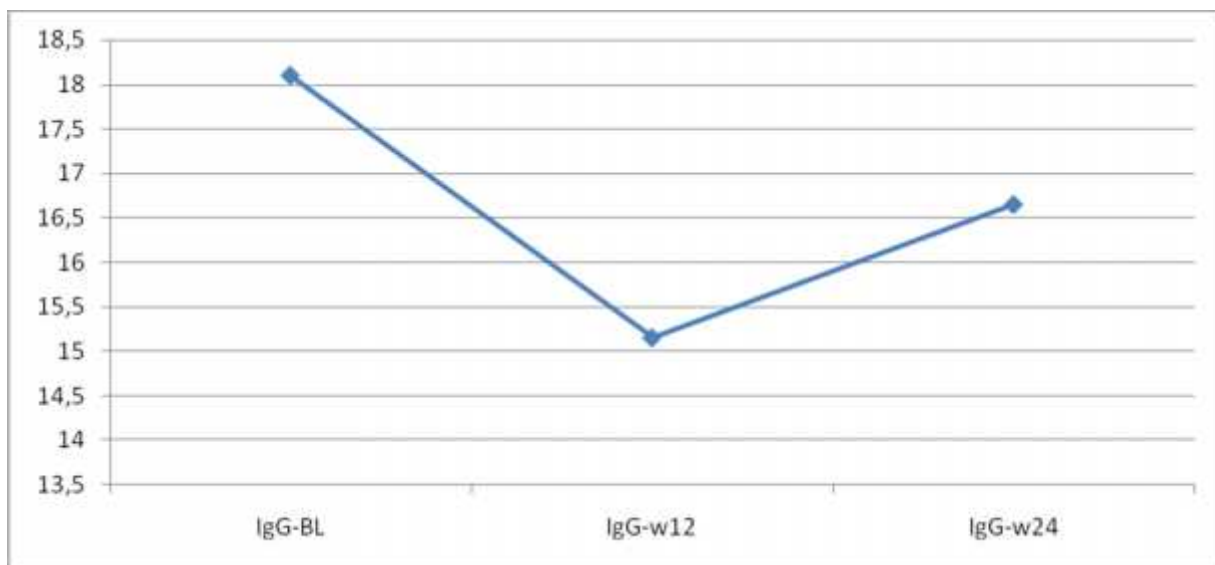


Налице е спад на ИгГ на седмица 12 от безинтерфероновата терапия, като на седмица 24 се наблюдава покачване на ИгГ без да се достигнат изходните стойности.

Таблица 29- Медиана на ИгГ при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

| | IgG-изх. | IgG-седм.12 | IgG-седм.24 |
|----------------------------------|----------|-------------|-------------|
| Медиана | 18,105 | 15,15 | 16,65 |
| Ttest спрямо предходния резултат | | 0,002226 | 0,168463 |
| Ttest спрямо изходния резултат | | | 0,000301 |

Фигура 24- Динамика на ИгГ при пациенти, лекувани с безинтерферонова терапия

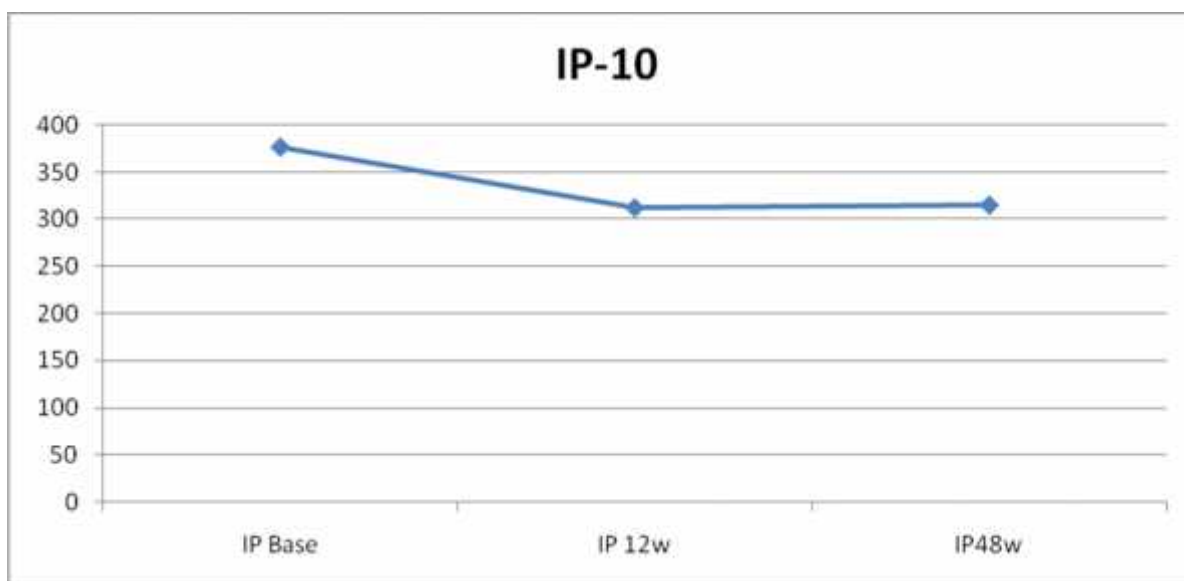


При 20/35 пациенти лекувани с тройна терапия определихме динамиката на IP-10. При пациентите отговорили на тройна терапия е налице спад на IP-10 на седмица 12 и този спад продължава до седмица 48. При неотговорилите пациенти на тройна терапия не се наблюдава такъв спад на IP-10.

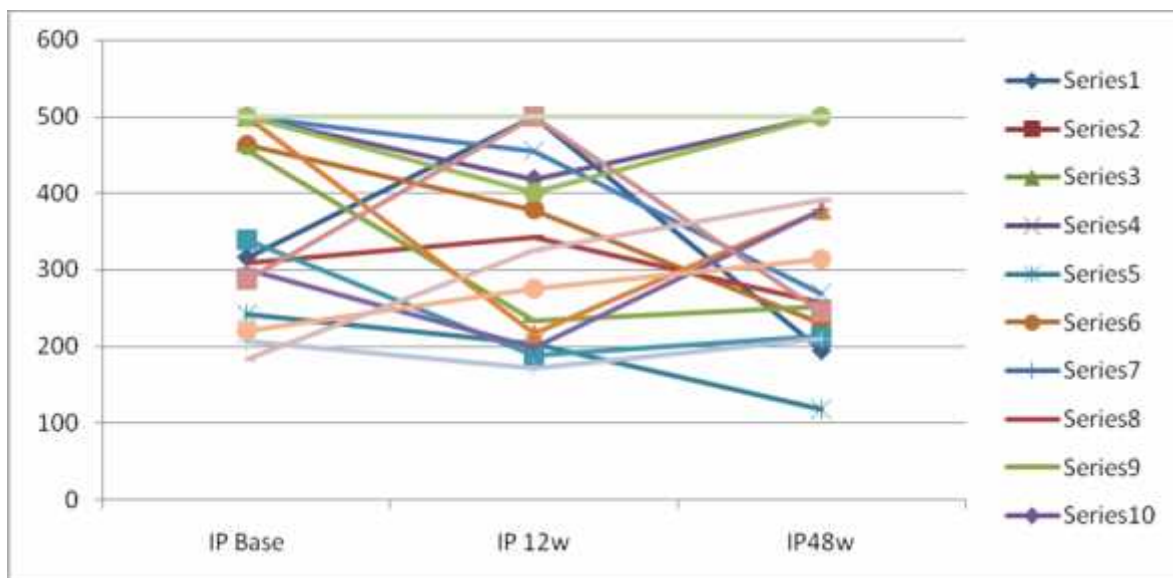
Таблица 30- Стойности на IP-10 при пациенти, лекувани с тройна терапия

| | Изходно | Седмица 12 | Седмица 48 |
|-------|----------|------------|------------|
| x | 376,483 | 312,5765 | 315,3705 |
| Sd | 117,2746 | 119,9989 | 117,7293 |
| ttest | | 0,040258 | 0,468663 |

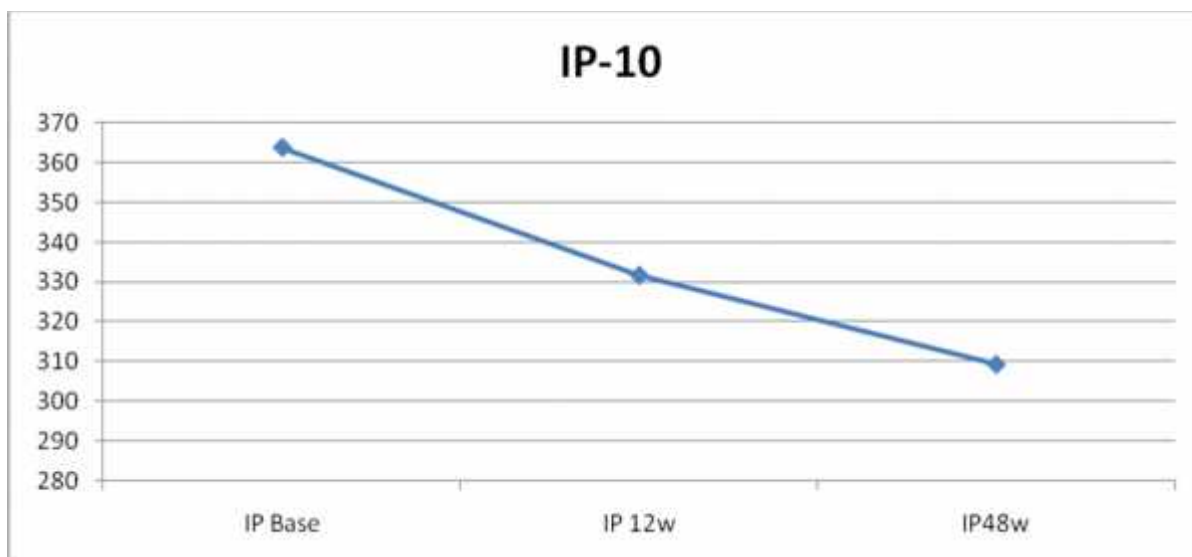
Фигура 24- Динамика на IP-10 при пациенти, лекувани с тройна терапия



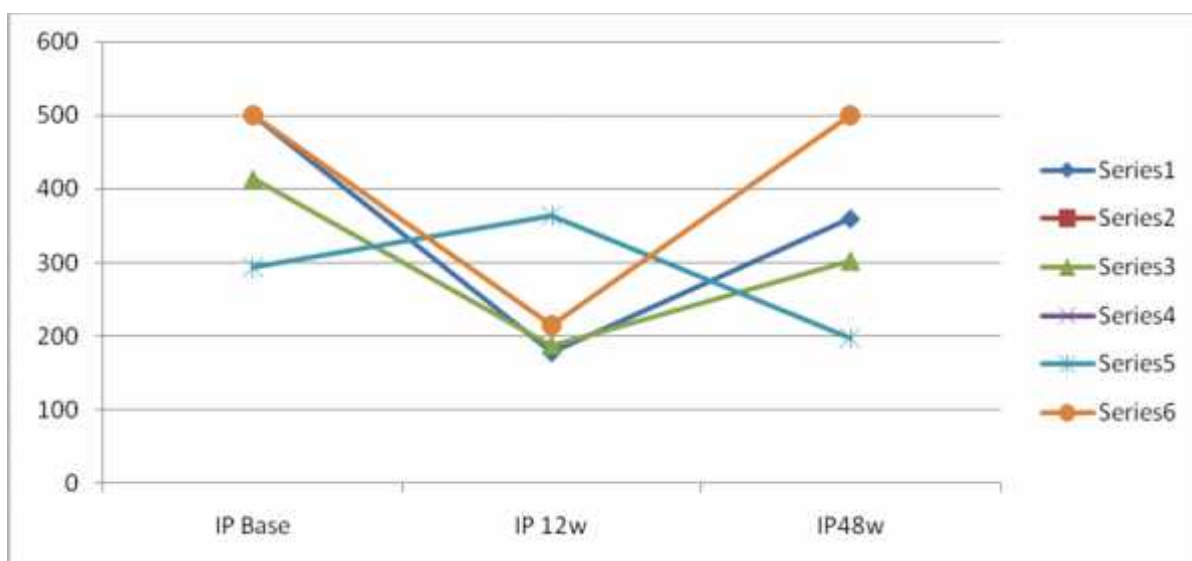
Фигура 25- Динамика на IP-10 при пациенти отговорили на тройна терапия



Фигура 26- Динамика на IP-10 при пациенти отговорили на тройна терапия



Фигура 27- Динамика на IP-10 при пациенти неотговорили на тройна терапия



Определихме наличието или липсата на стеатоза чрез чернодробна биопсия и абдоминална ехография при всички пациенти, лекувани с тройна терапия. При 33/35 болни беше проведена чернодробна биопсия. При двама пациенти чернодробна биопсия не беше направена- поради придружаваща Хемофилия А при единия пациент, а при другия- поради налични коагулационни нарушения. 13/35 пациенти имат данни за чернодробна стеатоза. 4/13 пациенти имат значима стеатоза (>30%). При 6/13 наличието на стеатоза е < 30%, а при 3/13 не е оценена стеатозата процентно от чернодробната биопсия. Проведената абдоминална ехография потвърждава наличието на стеатоза при 11/13 пациенти, при които има данни за стеатоза от чернодробната биопсия. При двамата

пациенти, при които не се установява стеатоза ехографски, процентът на стеатоза от чернодробната биопсия е 10%.

Няма разлика в изходните показатели на активност, фиброза, възраст, HCV RNA, алфа2- Макроглобулин, АЛАТ, ГГТ, тромбоцити при пациентите с и без налична стеатоза- табл 31

Таблица 31- Средна аритмитична на изходните стойности на активност, фиброза, възраст, HCV RNA, алфа2- Макроглобулин, АЛАТ, ГГТ, тромбоцити при пациентите лекувани с тройна терапия с и без налична стеатоза.

| Стеатоза | Активност* | Фиброза* | Възраст Години | Алфа2- М | HCV RNA IU/ml | АЛАТ U/L | ГГТ U/L | Тромбоцити G/L |
|----------|------------|----------|-------------------|-------------|---------------------|-------------|------------|-------------------|
| Наличие | 1,46 | 1,90 | 43,1 | 2,81 | 818 000 | 50 | 74 | 194 |
| Липса | 1,54 | 2,46 | 49,3 | 3,36 | 350 000 | 80 | 86 | 191 |

*Оценена по МЕТАВИР

IV.6. Странични ефекти

IV.6.1. Странични ефекти при лечение с тройна терапия

Значимите страничните ефекти в групата пациенти лекувани с тройна терапия с протеазен инхибитор Боцепревир и Телапревир са представени в таблица 32.

Таблица 32- Честота на страничните ефекти при пациентите лекувани с тройна терапия

| Странични ефекти | PEGINF+RBV+PI |
|-------------------------|----------------------|
| Анемия | 31/35 (89 %) |
| Тромбоцитопения | 27/35 (77%) |
| Отпадналост | 19/35 (54%) |
| Намален апетит | 18/35 (51%) |
| Дисгеузия | 15/35 (43%) |
| Неутропения | 13/35 (37%) |
| Алопеция | 10/35 (29%) |
| Анален пруритус | 7/35 (20%) |
| Кожни промени | 5/35 (14%) |
| Диария | 5/35 (14%) |
| Гадене, повръщане | 5/35 (14%) |
| Кашлица | 3/35(9%) |

АНЕМИЯ

Всички пациенти започнаха тройната терапия с нормални стойности на хемоглобина. При 31 пациента в хода на лечението с тройна терапия се разви анемичен синдром.

Таблица 33- Степен на анемия при пациентите, лекувани с тройна терапия с протеазен инхибитор

| | степен 1 Нв до 100 гр/л | степен 2 Нв 100-80 гр/л | Нв<80 гр/л |
|------|----------------------------|----------------------------|------------|
| Мъже | 17 | 4 | 0 |
| жени | 3 | 5 | 2 |
| Общо | 20 | 9 | 2 |

АСТЕНО- АДИНАМИЧЕН СИНДРОМ

Отпадналост и астено- адинамия имаше при 19 пациенти. Всички 19 пациента имаха и анемия, като при 11 тя беше поне степен 2. Поради изразена астеноадинамия и умора до невъзможност за самообслужване тройната терапия беше прекратена при двама пациента от групата. При едната пациентка беше прекратена на седмица 12, а при другата пациентка няколко дни след приема на протеазен инхибитор след въвеждащата фаза- седмица 4.

Таблица 34- Степен на анемия при пациентите, лекувани с тройна терапия с протеазен инхибитор и астено- адинамичен синдром

| | Астено-адинамичен синдром | степен 1 Hв до 100 гр/л | степен 2 Hв 100-80 гр/л | степен 3 Hв<80 гр/л |
|------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|
| Мъже | 10 | 5 | 4 | 0 |
| жени | 9 | 3 | 5 | 2 |
| Общо | 19 | 8 | 9 | 2 |

ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ

6 пациенти започнаха тройната терапия със стойности на тромбоцитите под долна референтна граница. Всички те са с чернодробна цирроза-таблица 35.

Таблица 35- Пациенти с изходни тромбоцити под долна референтна граница

| Пол | Възраст години | Изходни тромбоцити G/L |
|---------|----------------|------------------------|
| 1. мъж | 43 | 98 |
| 2. мъж | 59 | 59 |
| 3. мъж | 39 | 55 |
| 4. мъж | 50 | 137 |
| 5. жена | 37 | 80 |
| 6. мъж | 50 | 105 |

Тромбоцитопения се разви в хода на лечението при 27 пациенти.

Таблица 36- Степени на тромбоцитопения при пациентите, лекувани с тройна терапия с протеазен инхибитор

| | степен 1 Tr до 100 G/l | степен 2 Tr 100-50 G/l | степен 3 Tr<50 G/l |
|------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Мъже | 8 | 12 | 2 |
| жени | 3 | 2 | 0 |
| Общо | 11 | 14 | 2 |

НЕУТРОПЕНИЯ

Всички пациенти започнаха лечението с нормални стойности на неутрофили и левкоцити. При 13 от тях поради неутропения/ Neu<0,75/ се намали дозата на интерферона до 90 микрограма седмично. Само при 3 пациента поради Neu<0,5 освен намаляване дозата на интерферон се приложи и Неупоген в доза 5 мкгр/кг телесно тегло преди апликацията на пегелиран интерферон от седмица 12 или 24, което направи възможно продължаването на тройната терапия.

Таблица 37- Степени на неутропения при пациенти, лекувани с тройна терапия с протеазен инхибитор

| | степен 1 Neu <0,75 | степен 2 Neu<50 |
|------|-----------------------|--------------------|
| Мъже | 9 | 1 |
| жени | 1 | 2 |
| Общо | 10 | 3 |

БЕЗАПЕТИТИЕ И РЕДУКЦИЯ НА ТЕЛЕСНАТА МАСА

17 пациенти /49%/ имаха намален апетит и отслабване на тегло с до 10% от изходното в хода на тройната терапия. Оплакванията се засилиха след въвеждащата фаза с PEGIFN и RBV и включването към терапията на PI-Боцепревир или Телапревир.

При 5 пациенти се наблюдава гадене и повръщане. Всички те бяха лекувани с тройна терапия с Боцепревир. Оплакванията бяха най-изразени в първите 4 седмици след включване на протеазния инхибитор, след което постепенно отзвучаха, без да се налага допълнително лечение.

КОЖНИ ПРОМЕНИ

В хода на лечението с тройна терапия кожни промени се наблюдаваха при 5 пациента. 2 от тях бяха лекувани с тройна терапия с Телапревир, 3 – с Боцепревир. При 3 пациенти имаше кожни промени в няколко области от тялото- гръден кош, гръб, подбедрици и корем, както и на апликационното

място на PEG INF. Те се появиха на седмица 4 от началото на терапията и при двама от тях след приключване на лечението с Телапревир отзвучаха. Наблюдаваните промени отзвучаха постепенно за 20 до 30 дни след появата им и не наложиха специфично лечение. Само при един от пациентите, лекуван с тройна терапия с Телапревир кожните обриви, които се появиха 40 дни след включване към терапия на Телапревир, наложиха лечение с кортикостероидни кремове. Постепенно тяхната площ на фона на локално кортикостероидно лечение се увеличи до над 50% от телесната повърхност и се локализира в повече от един участък от кожата на тялото/глава, гърди, гръб и двете ръце/. Това наложи прекратяване на приема на Телапревир на седмица 1, като лечението с PegINF и RBV продължи до седмица 48.

КАШЛИЦА

При 3 пациенти се наблюдава кашлица. Само при един пациент, лекуван с Боцепревир се установи белодробна инфекция на седмица 5, доказана с рентгенография на бял дроб. Приложението на Азитромицин за 7 дни доведе до отзвучаване на клиничните оплаквания на пациента, нормализиране на CRP и резорбиране на промените в белия дроб рентгенологично.

АНАЛЕН ПРУРИТУС

7 пациенти имаха анален пруритус и дискомфорт. 4 се лекуваха с тройна терапия с Телапревир и аналният дискомфорт беше по-изразен. Той се появи на първите 3-4 дни след включване към терапията на Телапревир. При тези пациенти спирането на Телапревир на седмица 16 доведе до анален пруритус.

IV.6.2. Странични ефекти при безинтерференова терапия

Най-честите наблюдавания в хода на безинтерференовата терапия странични ефекти са представени на таблица 38.

Таблица 38- Честота на страничните ефекти при пациентите лекувани с тройна терапия

| Страничен ефект | Честота |
|-------------------------------------|---------|
| Хипербилирубинемия /общ бил.>30/ | 7/10 |
| Анемия/ Нв <120 g/l/ | 5/10 |

| | |
|--------------------------------------|------|
| Безсъние/ Нарушение в ритъма на съня | 4/10 |
| Сърбеж | 3/10 |
| Преходно покачване на АСТ и АЛТ | 1/10 |

АНЕМИЯ

Анемичен синдром степен 1: Само при един пациент се разви

анемията степен 1 / Нв до 100 гр/л/. При него не редуцирахме дозата на рибавирин.

Анемичен синдром степен 2: Четирима пациента развиха степен 2 на анемия/ Нв 100-80 гр/л/. При тях редуцирахме дозата на рибавирин с 200 мг. Най- изявена беше анемията в периода седмица 4-8 от терапията.

Анемичен синдром степен 3: Само един пациент разви степен 3 анемия/ Нв под 80 гр/л/. При него редуцирахме дозата на рибавирин с 400 мг.

ХИПЕРБИЛИРУБИНЕМИЯ

Най- изявено беше покачването на общия билирубин >30 /още на 5 ден след започване на терапията и продължи до края и с постепенно спадане. Само при един пациент наблюдавахме покачване на общия билирубин до

98. След спиране на терапията стойностите спаднаха до границите на нормата.

ПРЕХОДНО ПОКАЧВАНЕ НА АЛАТ И АСТ

Само при един пациент наблюдавахме преходно покачване на АЛТ и АСТ. АЛТ достигна максимална стойност до 247 на седмица 8, а АСТ до 109 на седмица 4.

Честотата и тежестта на страничните ефекти е значимо по- малка при пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия. При нито един пациент не се наложи прекратяване на терапията поради странични ефекти. Поносимостта на страничните ефекти е по- лека и не наложи допълнителни мерки.

V.Обсъждане

ЛЕЧЕНИЕ С ТРОЙНА ТЕРАПИЯ

Постигнатата ефективност от лечението (77%) с четиредест и осем седмична тройна терапия с протеазен инхибитор в лекуваната група пациенти , неотговорили на предходна терапия с INF и Ribavirin е по-голяма от тази, цитирана в данните от много други страни.

Пациентите, включени за лечение с тройна терапия бяха внимателно подбрани от голяма група болни, неотговорили или реактивирали болестта след предходна терапия с INF и RBV. След анализ на страничните ефекти и поносимостта от предходни лечения с INF и RBV, пациентите, за които имахме съмнение, че ще проявят по-голям процент и по-тежки странични ефекти не бяха включени в групата на лекуваните с тройна терапия. По този начин намалихме броя на пациентите, при които тройната терапия с протеазен инхибитор би се спряла поради сериозни и тежки странични явления на по-ранен етап и не би довела до оздравяване на пациента като краен ефект, който целим.

Корекцията на негативните предиктори за траен вирусологичен отговор при 29% от групата преди започване на лечението с тройна терапия

вероятно увеличава шанса за излекуване на тези пациенти или поне го изравнява с този на пациентите, при които не е извършвана корекция на негативни предиктори. При 2/3 от тях се наложи корекция на повече от един негативен предиктор за траен отговор.

Най-голям процент от отговорилите на тройна терапия (89%) са тези пациенти, които са имали реактивация на болестта при предходно лечение с INF и RBV. Трайното негативиране на HCV RNA по време на предходна терапия увеличава шанса за излекуване на пациентите с тройна терапия.

Неотговорилите пациенти на предходна терапия с INF и RBV отговарят по-трудно и на тройната терапия. В лекуваната група пациенти с тройна терапия неотговорилите на предходна терапия с INF и RBV имат най-малка успеваемост от новата терапия (50%). Изглежда отговорът от предходно лечение има много по-голямо значение за отговора от тройната терапия с протеазен инхибитор сравнение с броя предшестващи лечения с INF и RBV. Не установихме статистически значима разлика в отговора на пациентите на тройна терапия и броя предшестващи курсове с INF и RBV.

Пациентите стартираха тройната терапия с по-ниски нива на HCV RNA сравнение с предходни терапии с INF и RBV и така предходните терапии, макар и неуспешни оказват влияние върху шанса за излекуване на пациентите с тройна терапия. Няма цитирани данни в световната литература за това по-ниско изходно ниво на HCV RNA преди тройна терапия у неотговорили на предходна терапия с INF и RBV пациенти.

Негативирането на HCV RNA в края на въвеждащата фаза с INF и RBV е много добър и надежден предиктор за траен вирусологичен отговор към тройната терапия с протеазен инхибитор. Всички пациенти от лекуваните с тройна терапия, които имаха такова негативиране в края на въвеждащата фаза оздравяха.

Половината от болните, при които не беше постигнато такова негативиране на HCV RNA или не беше отчетен спад на HCV RNA $\geq 1 \log$ IU/mL в края на въвеждащата фаза също оздравяха. Това ясно показва, че има други фактори, с които трайният вирусологичен отговор към тройната терапия корелира. Ние установихме, че в нашата група пациенти такива фактори със статистическа значимост са възрастта, фиброзата и стойностите на АЛТ.

Негативирането на HCV RNA 4 седмици след включването на протеазен инхибитор е надежден предиктор за траен вирусологичен отговор към тройната терапия. Всички пациенти от нашата група, при които не е постигнато такова негативиране на седмица 8 или спадане на HCV RNA \geq от 3 log₁₀ показаха липса на траен вирусологичен отговор към тройната терапия и не оздравяха.

Само един пациент от групата, лекувани с тройна терапия имаше реактивация на болестта след спиране на лечението. Този пациент е с чернодробна цироза. При него беше налична позитивна HCV RNA - 149 IU/mL на седмица 12, но ние продължихме тройната терапия, като изследвахме отново HCV RNA на седмица 16, когато HCV RNA беше негативна и продължихме тройната терапия. Не се наблюдава, обаче, нормализиране на АСТ, АЛТ и ГГТ по време на целия 48- седмичен курс на лечение. Нашият опит показва, че при наличие на HCV RNA > 100 IU/mL на седмица 12, дори и по-късното негативиране на HCV RNA след този етап не води до излекуване на пациентите и не е показано тройната терапия да се продължава, тъй като не се постига крайната цел за излекуване на пациента и се понасят по-дълго страничните ефекти от лечението без позитивен резултат.

В нашата група реактивиралите болестта пациенти с чернодробна цироза след лечение с тройна терапия с протеазен инхибитор са много по-малко сравнение с цитираните данни на много други страни. Не е ясно дали този по-нисък процент в тази лекувана група е свързан с по-добрия подбор на пациентите, които се лекуваха с тройна терапия и с корекцията на негативните предиктори за траен вирусологичен отговор.

Отговорилите пациенти на тройна терапия имат по-ниска изходна активност на болестта, оценена по МЕТАВИР. Освен активността, възрастта е също предиктор за траен отговор към тройната терапия. По-младите пациенти показват по-висока ефективност от тройната терапия.

Прогресивният спад на АСТ в хода на тройната терапия е предиктор за траен вирусологичен отговор.

Серумните нива на ГГТ намаляват значимо по време на тройната терапия и показват по-ниски стойности от изходните, но това установено намаляване е по-бавно сравнение с цитолитичните ензими АСТ и АЛТ. Спадът на АФ е по-муден от този на ГГТ. Двата ензима нямат еднопосочно движение защото промените не са в билиарния полюс на

хепатоцита, а вероятно са свързани с инфилтрати в порталните пространства и пролиферация на жлъчни каналчета.

Страничните явления при пациентите, лекувани с тройна терапия бяха животозастрашаващи и станаха причина за спиране на лечението при 10% от лекуваните с Боцепревир. Този процент съвпада с цитираните данни на други европейски страни. При един пациент от лекуваните с Телапревир поради сериозен страничен ефект се наложи по-ранно спиране на протеазния инхибитор Телапревир, без обаче да се спре цялата терапия. Това не промени отговорът на пациента към тройната терапия и той оздравя.

Най-сериозните и налагащи мерки за тяхната корекция странични ефекти в хода на тройната терапия бяха анемията и изразената астено-адинамия. По-тежка анемия-степен 3 имаше при пациентите, лекувани с Боцепревир сравнение с лекуваните с Телапревир. При лекуваните с Телапревир най-сериозният страничен ефект беше кожният обрив, наложил по-ранно спиране на протеазния инхибитор на седмица 12 при един пациент от групата. Нашите наблюдения са, че по-кратката 8-седмична терапия с Телапревир има същата успеваемост като 12-

седмичната такава и при пациенти с проявени значими странични ефекти препоръчваме спиране на Телапревира, ако е бил прилаган поне 8 седмици.

Корекцията на страничните ефекти осигурява възможност за продължаване на тройната терапия до нейния край и увеличава шанса на пациентите за излекуване.

Пациентите, отговорили на тройна терапия, показват спад на нивото на IP-10, както на седмица 12, така и на седмица 48, за разлика от неотговорилите пациенти, при които такъв спад не се наблюдава.

Вероятно спадането на на IP-10 е свързано с оздравителния процес при тези пациенти. Има сравнително малко данни на екипи в света, които са изследвали динамиката на IP-10 при тройна терапия и повече данни за динамиката му при двойна терапия с INF и RBV. Данните за спада на IP-10 при отговорилите пациенти на тройна терапия в нашата група пациенти съвпада с цитираните данни на други световни екипи, като това важи както за лекуваните с тройна терапия, така и за лекуваните с INF и RBV.

Същият спад на седмица 12 показва и алфа 2- Макроглобулина при пациентите, отговорили на тройната терапия. Неотговорилите пациенти

започват с по- високи изходни стойности на алфа2- Макроглобулина и спадът при тях е по- малък. Спадът на алфа2- Макроглобулина може да бъде надежден предиктор за траен вирусологичен отговор при лекуваните пациенти с тройна терапия.

Спадът на тези два биологични маркери в хода на тройната терапия може да бъде надежден предиктор за траен вирусологичен отговор, особено при наличие на ниска активност на болестта и по- млада възраст на пациентите.

ЛЕЧЕНИЕ С БЕЗИНТЕРФЕРОНОВА ТЕРАПИЯ

След дванадесетседмичната безинтерферонова терапия всички пациенти в нашата група, неотговорили на предходно лечение с INF и RBV с компенсирана HCV- чернодробна цироза генотип 1 оздравяха при сравнително по- малка честота и тежест на проявени странични ефекти. Нашите данни за ефективност на терапията съвпадат с данните на другите световни екипи.

При пациентите в тази група не са коригирани никакви негативни предиктори за отговор, както при тройната терапия, защото при тях се

приложи безинтерферон базирана такава. Тези пациенти нямаха никакъв предварителен подбор, освен наличието на компенсирана чернодробна болест- Child- Pugh A.

Анемията, причинена от рибавирин, беше най- честият страничен ефект в тази група лекувани пациенти, но тя не беше така тежка, както при пациентите, лекувани с тройна терапия. При нито един пациент не се наложи спиране на безинтерфероновата терапия поради странични ефекти, а само редукция в дозата на рибавирин.

При всички пациенти в групата се наблюдава бързо негативиране на HCV RNA още на седмица 2 след началото на терапията. Това ниво остана трайно негативно при всички пациенти, както до края на лечението, така и в периода на 12 седмично проследяване след неговото спиране.

Динамиката на алфа 2 Макроглобулина при пациентите, лекувани с безинтерферонова терапия не показва разлика с отговорилите пациенти на тройна терапия. Спадът на алфа 2 Макроглобулина по време на безинтерфероновото лечение може да бъде надежден предиктор за отговор също както и към тройната терапия.

По време на безинтерфероновата терапия се наблюдава непрекъснато покачване на броя на тромбоцитите, като след спиране на терапията те показват по-високи стойности сравнение с изходните. Това покачване на тромбоцитите в нашата група лекувани пациенти съвпада с наблюдаваното покачване в хода на безинтерфероновата терапия от други световни екипи.

Вероятно покачващият се брой тромбоцити има отношение към подобрието на чернодробната болест при тези пациенти.

Левкопенията в хода на безинтерфероновата терапия не е така изразена както при тройната терапия, преходна е и не налага мерки за нейната корекция.

Хипербилирубинемия е страничен ефект от безинтерфероновата терапия, тя е преходна и вероятно е свързана с токсичен ефект върху хепатоцитите от прилаганите директно действащи молекули.

В хода на безинтерфероновата терапия е налице намаляване на активността на болестта, но не и на фиброзата. След дванадесетмесечно лечение е възможно бързо намаляване активността на болестта, но не и на

фиброзата. Стихването на възпалителния процес в черния дроб е другият позитивен ефект от безинтерфероновата терапия освен трайното негативиране на HCV RNA и нарастващия брой тромбоцити при тези пациенти.

Негативирането на всички болни, които започнаха лечението с позитивни криоглобулини е добър ефект от безинтерфероновата терапия. Не е ясно, обаче, дали негативирането им е асоциирано с негативирането на HCV RNA при тези пациенти. Няма достатъчно данни за изследване на криоглобулини при пациенти и тяхната динамика в хода на безинтерфероново лечение в световната литература.

Намаляването на ИгГ при пациентите в хода на безинтерферонова терапия вероятно е свързано с намаляване на възпалителния процес в черния дроб. Това намаляване на Иг Г в нашата група пациенти съвпада с цитираните данни за намаляване на Иг Г на други световни екипи.

Спадът на жлъчните киселини на седмица 12 от лечението с безинтерферонова терапия може да бъде предиктор за траен вирусологичен отговор към безинтерфероново лечение с директно действащи агенти.

Предвид на високата успеваемост на безинтерфероновата терапия с директно действащи агенти не са установени предиктори за траен вирусологичен отговор. От една страна значение за успеваемостта от безинтерфероновата терапия има нейната достатъчна продължителност, която се определя от субгенотипа, а от друга- наличието на компенсирана чернодробна цироза. Данните от световната литература показват по-малък процент на успеваемост (94%) при пациенти, които са с декомпенсирана чернодробна цироза. Нашият опит с двама пациенти от групата лекувани с безинтерферонова терапия и наличен НСС показва, че не се наблюдава прогресия на чернодробния рак на фона на безинтерфероновото лечение.

VI.Изводи

1. Пациентите с хронична HCV генотип 1 инфекция с няколко безуспешни лечения с интерферон и рибавирин стартират тройната терапия с протеазен инхибитор с по-ниски нива на HCV RNA сравнени с тези в началото на предходните курсове .
2. Високите нива на IP-10, които се негативен предиктор за класическо лечение на хепатит С генотип 1 спадат на третия месец от началото на тройната терапия с протеазен инхибитор
3. При тройната терапия най- честият проблем е анемията, която при повечето болни се преодолява чрез редуциране на RBV, а най-тежкият е адинамията, която може да наложи спиране на лечението.
4. Тройната терапия и беинтерфероновата терапия са алтернатива за пациентите, неотговорили на предходна стандартна терапия

VII. Приноси

1. Извършен е подбор на пациентите за лечение с тройна терапия с протеазен инхибитор първо поколение въз основа на регистрираните странични ефекти от предходно лечение, с което се удвоява ефективността от тройната терапия.
2. Предлага се подход за неколкмесечна подготовка на пациентите с цел повишаване на ефективността от тройната терапия/ например корекция на недостиг на Вит. Д, инсулинова резистентност, BMI/.
3. Предложена е значима и ранна редукция в дозата на рибавирин, с което се подобрява поносимостта на терапията, като това е с добър резултат от приложението на заместително лечение с еритропоетин.
4. Установи се, че предварителната корекция на определени фактори с отношение към отговора повишава шанса за ерадиране на С вирусната инфекция с тройна терапия.
5. Описани и оценени са най- значимите странични ефекти от тройната терапия, както и начините за въздействие върху тях.

6. За първи път се оцени ефекта от безинтерфероновата терапия при български пациенти с хроничен хепатит С.

Списък на научните публикации във връзка с дисертацията:

1. Н.Желева, Д. Желев, К. Антонов, Л. Матева, З.Кръстев- Тройна терапия с протеазен инхибитор, пегелиран интерферон алфа и рибавирин при пациенти с хронична HCV инфекция, неотговорили на предходно лечение с интерферон алфа и рибавирин- Българска хепатогастроентерология, Г. 2014- КН.2, 33-36
2. Н.Желева, Д. Желев, К. Антонов, Л. Матева, З.Кръстев- Значими странични ефекти при лечение с протеазни инхибитори първо поколение, PEG- INF и RBV при болни с хронична HCV инфекция - Българска хепатогастроентерология, Г. 2014- КН.2, 37-40

3. Н.Желева- Съвременно лечение на хроничната HCV инфекция-в процес на публикация в Българска хепатогастроентерология
4. Ombitasvir, paritaprevir, ritonavir, dasabuvir and ribavirin in cirrhosis after complete destruction of hepatocellular carcinoma- World Journal of Hepatology, ESPS Manuscript NO: 22351

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

1. Jelev D., N.Zheleva, K.Antonov, A.Ivanova, L.Mateva, Z.Krastev- Second line boceprevir triple therapy induces EVR in null responders IL 28 B-CT with advanced disease. EASL and AASLD Special Conference therapy of Hepatitis C- clinical application and drug development, 14-16 September 2012 Prague, Czech Republic, Abstract boo, page 104

2. Dimitrova N.Z., Zhelev D., Antonov K., Mateva L.- Clinical and Virological Characteristics of Bulgarian patients with Chronic Hepatitis D - Poster 82
.Poster presented at Easl Monothematic Conference Delta Hepatitis ,
September 24-26,2010, Istanbul, Turkey

3. N. Zheleva, D. Jelev, K. Antonov, L. Mateva, Z. Krastev- Triple Therapy and HCV patients without effect of previous therapy- Poster - Gastro Update Europe 2014- Vienna, Austria

4. N. Zheleva- Protease inhibitors and adverse effects in patients with Hepatitis C- IMAB 2013

5. N. Zheleva- Triple Therapy and HCV patients without effect of previous therapy- IMAB 2013

6. N. Zheleva, T. Petkova, E. Atanasova, K. Antonov, D. Jelev, L. Mateva, Z. Krastev- Interferon- free (INF- free) regimen with direct acting antivirals (DAAS) in HCV cirrhotic patients with HCC, nonresponders to PEG IFNbeta and ribavirin therapy in the past- IMAB 2015

Благодаря Ви!

На мама- за подкрепата и безграничната обич

На семейството и приятелите ми- за разбирането и толерантността

На проф. Кръстев и проф. Желев- за шанса, градивните критики и навременната помощ

На доц. Иванова, биолог Изабела Иванова, клинични лаборанти Доротея Леонкева и Тони Томова- за ентузиазма и позитивизма

На целия екип от лекари и сестри на Клиниката по Гастроентерология на УМБАЛ „ Св. Иван Рилски”- гр. София