

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

д-р Людмила Владимирова Кънчева

**ОЦЕНКА НА БАКТЕРИАЛНАТА ТРАНСЛОКАЦИЯ  
ПРИ БОЛНИ С ХРОНИЧНИ ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ С И В**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за присъждане на научна степен „Доктор”

Научен ръководител  
Проф. д-р Росен Кирилов Николов, дмн

София, 2017

Дисертационния труд е отпечатан на 114 писмени страници, онагледен е с 40 фигури и 9 таблици. Във връзка с дисертационния труд са реализирани 3 публикации.

Дисертационния труд е обсъден на заседание на научния съвет към Катедра по вътрешни болести – Медицински университет – София на 21.03.2017 г. и е насочен за официална защита пред научно жури в състав:

Официални рецензенти:

1. Проф. д-р Росен Кирилов Николов, дмн – вътрешен член за МУ – София, Катедра по вътрешни болести на Медицински факултет при МУ – София, научен ръководител на докторанта
2. Проф. д-р Людмила Матева Владимирова, дмн – вътрешен член за МУ – София, Катедра по вътрешни болести на Медицински факултет при МУ – София
3. Проф. д-р Димитър Василев Таков, дмн – външен член за МУ – София, Военномедицинска академия – София
4. Доц. д-р Иванка Пенчева Маринова, дм – външен член за МУ – София, Медицински университет – Плевен
5. Доц. д-р Владимир Николов Андонов, дмн – 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 12.09.2017 г. от 13.00 часа в Аулата на УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД – гр. София, бул. Акад. Иван Гешов 15

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ:

### *На кирилица:*

АЛТ – аланин аминотрансфераза  
АСТ – аспартат аминотрансфераза  
БТ – бактериална транслокация  
ГГТ – гама-глутамил трансфераза  
Декомп. Ци – декомпенсирана цироза  
ЕВЛ – ендоскопско връзково лигиране на варици на хранопровода  
ЕКГ – електрокардиография  
ИР – инсулинова резистентност  
ИТМ – индекс на телесната маса  
ЛПЗ – липополизахарид  
Неусл. Ци – неусложнена цироза  
НР – нон-респондъри на специфична противовирусна терапия за хепатит С  
Общ бил. – общ билирубин  
СЧБ – сляпа чернодробна биопсия  
ТБСР – тънкочревен бактериален свръхрастеж  
ТВО – траен вирусологичен отговор

### *На латиница:*

APRI-скор – AST to Platelet Ratio скор  
BMI – body mass index  
ELISA – ензим-свързан имуносорбентен анализ  
HBV – инфекция с хроничен хепатит В  
HBV DNA – хепатит В вирусна ДНК  
HCC – хепатоцелуларен карцином  
HCV – инфекция с хроничен хепатит С  
HCV RNA – хепатит С вирусна РНК  
HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance  
hsCRP – високочувствителен С-реактивен протеин  
INR – International Normalized Ratio  
iqr – interquartile range  
mCD14 – мембранна форма на cluster of differentiation 14 (CD14)  
NUC – нуклеозиден/нуклеотиден аналог  
sCD14 – soluble cluster of differentiation 14 (разтворим CD14)  
TLR-4 – toll-like receptor 4  
TNF-a – тумор-некротичен фактор алфа

## СЪДЪРЖАНИЕ

1	ВЪВЕДЕНИЕ .....	5
2	ЦЕЛ И ЗАДАЧИ .....	6
2.1	Цел .....	6
2.2	Задачи .....	6
3	МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ .....	7
3.1	Изследвани лица.....	7
3.2	Използвани методи .....	9
3.3	Статистическа обработка на резултатите .....	12
4	РЕЗУЛТАТИ .....	13
4.1	Изследване на серумни нива на ЛПЗ при пациенти с хронична С и В вирусна инфекция и здрави контроли.....	16
4.2	Оценка на връзката на sCD14 с фиброзата и тежестта на чернодробното заболяване .....	17
4.3	Оценка на връзката на sCD14 с хистологичната активност и маркерите за чернодробно и системно възпаление при хронична инфекция с хепатит С и В.....	25
4.4	Оценка на sCD14 във връзка с терапевтичния отговор при хепатит С инфекция, показанията за терапия при хепатит В инфекция .....	32
4.5	Оценка на серумните нива sCD14 при някои усложнения на чернодробната цироза .....	36
5	ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ .....	39
6	ИЗВОДИ .....	43
7	ПРИНОСИ.....	44
8	ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	45

## 1 ВЪВЕДЕНИЕ

Бактериалната транслокация (БТ) представлява преминаване от чревния лумен в мезентериалните лимфни възли на чревни бактерии или техни продукти (вкл. бактериален липополизахарид ЛПЗ). Изяснена е ролята ѝ в развитието на усложнения на чернодробната цироза. Активно се проучва участието ѝ в патогенезата на чернодробната фиброза, инсулиновата резистентност, карциногенезата.

Вирусните хепатити С и В са социално значими заболявания, свързани с риск за развитие на чернодробна цироза и хепатоцелуларен карцином. Излекуването на С вирусната инфекция при напреднала фиброза и придружаващ захарен диабет не премахва риска от развитие на НСС, което налага проследяването на тези болни и разработването на нови стратегии за профилактика.

Бактериалният липополизахарид е компонент от клетъчната обвивка на Грам-отрицателните чревни бактерии и преминал в кръвообращението води до мощен възпалителен отговор чрез свързване с toll-like receptor 4 (TLR-4). Последният е свързващото звено между БТ, прогресията на фиброзата (чрез активация на Купферовите клетки и чернодробните звездовидни клетки към фиброгенеза), развитието на инсулинова резистентност и системна възпалителна активност (чрез синтеза на провъзпалителни цитокини). Разтворимата форма на cluster of differentiation 14 (sCD14) е една от молекулите, опосредстващи контакта на ЛПЗ с рецептора и се синтезира от периферните моноцити. Така освен маркер за бактериална транслокация представлява и маркер за имунна активация в отговор на ЛПЗ. Установено е, че не толкова количеството ЛПЗ, а имунният отговор, който ще предизвика в организма определя ефекта му върху възпалението, фиброгенезата, канцерогенезата.

Определянето на маркер за БТ, който да корелира с тежестта на предизвиканите от нея усложнения ще допринесе за проследяването и профилактиката на тези усложнения.

## **2 ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

### **2.1 Цел**

Оценка на бактериалната транслокация при болни с хронични вирусни хепатити С и В и връзката ѝ с хода на заболяването.

### **2.2 Задачи**

1. Да изследваме маркери за бактериална транслокация (LPS, sCD14) при пациенти с хронична С и В вирусна инфекция и да ги сравним със здрави контроли.
2. Да оценим връзката на маркерите за бактериална транслокация със стадия на фиброзата и тежестта на чернодробното заболяване при пациентите с вирусна С и В инфекция.
3. Да оценим връзката на маркерите за бактериална транслокация с показатели за чернодробна и системна възпалителна активност при хронична инфекция с хепатит С и В.
4. Да оценим връзката на маркерите за бактериална транслокация с терапевтичния отговор при хепатит С инфекция и с показанията за терапия при хроничен вирусен хепатит В.
5. Да оценим връзката между маркерите за бактериалната транслокация и развитието на тежки усложнения на чернодробната цироза с С и В вирусна етиология.

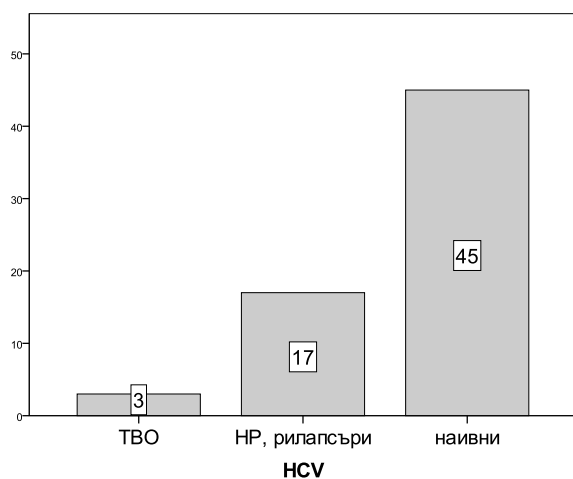
### 3 МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

#### 3.1 Изследвани лица

Изследваха се данните от общо 119 лица, изследвани и лекувани в Клиника по гастроентерология към УМБАЛ „Св. Иван Рилски” ЕАД, МУ София за периода от май 2014 г. до септември 2016 г., разделени в следните групи:

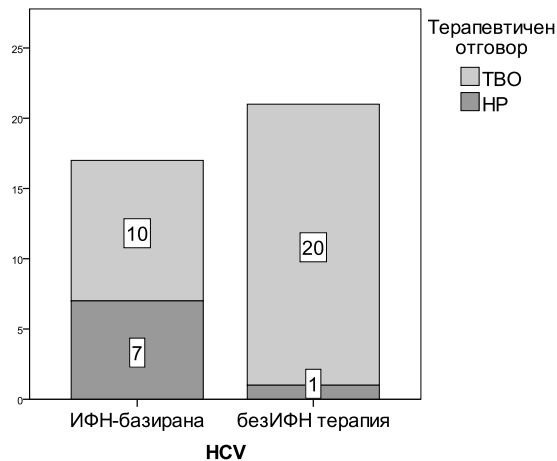
**I група** – 65 пациенти с хроничен хепатит С – 37 жени и 28 мъже, от 19 до 85 години, средна възраст  $49.6 \pm 14.3$  г. Болестта беше хистологично верифицирана при 28 пациента, 34 имаха доказана чернодробна цироза без проведена биопсия, при 4 пациента биопсия не се проведе поради противопоказания за лечение с Интерферон (единствената опция за терапия по НЗОК през 2014 г).

3 пациента бяха с ТВО 2 години след проведено интерфероново лечение, 17 бяха нон-респондъри на предишно интерфероново лечение, останалите 45 пациенти бяха наивни. (фиг. 1)



Фиг. 1 Изходен терапевтичен статус на болните с HCV

За периода на проследяване 2.5 години при 38 пациента (11 от нон-респондърите и 27 от наивните болни) се проведе специфично противовирусно лечение. 30 от тях постигнаха траен вирусологичен отговор – 10 пациента без цироза с Интерферон-базирана терапия (двойна, тройна, Пегасис + Копегус + Совалди) и 20 пациента с цироза с безинтерфероново лечение. 8 пациента не отговориха на терапията – 7 бяха нон-респондъри или релапсъри след Интерферон-базирана терапия, 1 пациентка с цироза беше нон-респондър след безинтерфероново лечение. (фиг. 2)



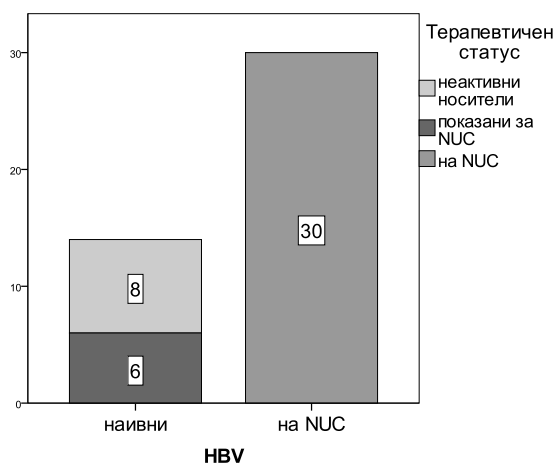
Фиг. 2 Терапевтичен отговор при пациентите с HCV

6 от пациентите имаха хепатоцелуларен карцином. Двама от тях бяха Чайлд А, трима – Чайлд В, а един пациент – Чайлд С. Трима пациенти имаха едно огнище с размер до 3 см, двама бяха с мултифокален НСС, 1 пациентка беше след проведена чернодробна резекция за НСС.

**II група** – 44 пациенти с хроничен хепатит В – 11 жени и 33 мъже, от 22 до 68 години, средна възраст  $50.4 \pm 12.5$  г. Болестта беше хистологично верифицирана при 21 пациента, 17 имаха доказана чернодробна цироза без проведена биопсия, 6 бяха носители на хепатит В с нормални чернодробни ензими и виремия под 2000 UI/ml и при тях биопсия не се проведе.

14 от пациентите бяха наивни, останалите 30 – на терапия с нуклеоз(т)идни аналози – от тях 26 бяха с негативна виремия и 4 с позитивна виремия. (фиг. 3)

За периода от 2.5 г. при 6 от наивните пациенти се започна терапия с нуклеоз(т)иден аналог, останалите 8 нямаха показания за започване на терапия и продължиха да се проследяват. (фиг. 3)



Фиг. 3 Терапевтичен статус на болните с HBV

**III група** – 10 здрави доброволци с негативни маркери за хепатит В и С (HBsAg, anti HBc total, anti HCV) и с нормални чернодробни ензими. При тях еднократно се изследваха чернодробни ензими, високочувствителен С-реактивен протеин, sCD14, кръвна захар и инсулин на гладно.

Разпределението на участниците по пол, възраст и наличие или не на цироза е представено на табл. 1.

Табл. 1 Разпределение по пол, възраст и наличие на чернодробна цироза в отделните групи

	Брой	Жени	Мъже	Възраст	Цироза
HCV	66	38	28	49.6 ± 14.3	37
HBV	44	11	33	50.4 ± 12.5	17
контроли	10	8	2	31.6 ± 4	

### 3.2 Използвани методи

- Анамнеза
- Физикален статус, демографски данни, вкл. индекс на телесната маса (BMI = телесно тегло/ръст<sup>2</sup>)
- 12-канален ЕКГ-запис
- Абдоминална ехография – конвенционално и Доплер изследване
- Специализирани изследвания
  - 1) Молекулярно-биологична техника – real-time PCR за количествено определяне на HCV RNA и HBV DNA

- 2) ELISA – техника на принципа на количествено измерване на антиген/антитяло комплекса по стандартна крива – за изследване на липополизахариди (LPS) и разтворим CD14 (sCD14)
  - 3) Турбидиметричен метод – за определяне на hsCRP
- Стандартни лабораторни методи – за определяне на серумни нива на АСТ, АЛТ, ГГТ, общ и директен билирубин, албумин, INR, тромбоцитен брой

Диагнозата на чернодробните заболявания е поставена по съответните стандартни критерии, изградена на базата на анамнестични, физикални, изобразителни, инструментални, хистологични, лабораторни, имунологични, серологични, молекулярно-биологични и др. специализирани изследвания, съвместими със съответната диагноза.

Фиброзата се оцени ехографски при всички болни. Хистологична оценка на фиброзата се проведе по МЕТАВИР като A0-4 отразява степента на хистологична активност, а F0-4 – стадия на фиброзата, F0-1 се прие за липсваща или минимална фиброза, F $\geq$ 2 се прие за клинично значима фиброза, F $\geq$ 3 – за напреднала фиброза. При всички болни се проведе неинвазивна оценка на фиброзата чрез изчисляване на APRI-скор (АСТ/тромбоцитен брой). При 10 пациенти с С вирусна инфекция и чернодробна цироза допълнително се проведе оценка на фиброзата и хистологичната активност чрез неинвазивен метод – FibroTest с изследване на следните биомаркери – алфа2-макроглобулин, хаптоглобин, аполипопротеин А1, билирубин, ГГТ, АСТ, АЛТ, глюкоза на гладно, общ холестерол и триглицериди.

В групата с хепатит С инфекция болестта се верифицира хистологично при 27 болни, 34 имаха клинични, инструментални и лабораторни данни за чернодробна цироза и при тях биопсия не се проведе, при 4 пациенти без данни за чернодробна цироза не се проведе чернодробна биопсия поради наличие на противопоказания за интерфероново лечение (единствената опция за терапия по НЗОК през 2014 г в България).

В групата с хепатит В инфекция болестта беше верифицирана хистологично при 21 болни, 17 имаха клинични, инструментални и лабораторни данни за чернодробна цироза и при тях биопсия не се проведе, а 6 пациенти не бяха биопсирани, тъй като бяха оценени като неактивни носители на В вируса.

Пациентите с чернодробна цироза се оцениха чрез изчисляване на Child-скор (на базата на серумни нива на общ билирубин, албумин, INR, наличието на асцит и портална енцефалопатия) и MELD-скор (на базата на креатинин, билирубин и INR).

Порталната хипертония се оцени ехографски при всички болни. При 33/35 от циротиците с С вирусна инфекция и 15/17 от циротиците с В вирусна инфекция се проведе и гастроскопия с оценка на варици на хранопровода. Пациентите се разпределиха по групи и във връзка с това, дали болестта е неусложнена, с наличие на варици на хранопровода или с настоящ или предшестваш епизод на декомпенсация (епизод на асцит, кръвоизлив от варици на хранопровода, епизод на портална енцефалопатия, епизод на хепаторенален синдром, наличие на хепатоцелуларен карцином).

Инсулиновата резистентност оценихме чрез изчисляване на НОМА-IR индекса (homeostasis model assessment of insulin resistance, = глюкоза на гладно x инсулин/22.5). Като инсулинова резистентност приехме стойности над 2. Оценка на инсулинова резистентност проведохме при 51 от пациентите с С вирусна инфекция, както и при всички пациенти с В вирусна инфекция и всички здрави контроли.

Промените в телесната маса изчислихме на базата на индекс на телесната маса ( $BMI = \text{телесно тегло} / \text{ръст}^2$ ) според отклоненията в BMI по Класификацията на СЗО за телесното тегло (WHO, 1999). Като наднормено тегло или затлъстяване приехме стойности на BMI над 25. Данни за индекс на телесната маса имаше за 45 от пациентите с С вирусна инфекция, 40 от пациентите с В вирусна инфекция, при здравите контроли. При останалите болни липсваха данни или имаше наличен асцит.

Бактериалната транслокация оценихме чрез изследване на серумни нива на ЛПЗ с *ELISA Kit for Lipopolysaccharide, Cloud-Clone corp., No. CEB526Ge*, с линеен обхват 12.35-1000 ng/ml. Изследването проведохме при 11 пациенти с хронична С вирусна инфекция (2 от тях с цироза), 11 пациенти с В вирусна инфекция (3 с цироза) и 4 здрави контроли.

Като втори маркер за бактериална транслокация, както и за имунна активация от преминал в кръвообращението ЛПЗ изследвахме серумни нива на sCD14 чрез *ELISA Kit Human sCD14, R&D Systems, No. 321628*, с линеен обхват 0-16000 pg/ml. Изследването проведохме еднократно изходно при всички включени в изследването лица.

При 10 от пациентите с HCV цироза оценихме маркера двукратно – изходно и 6 месеца след проведена безинтерферонова терапия с постигнат траен вирусологичен отговор. Успоредно с това изследвахме чернодробни ензими, албумин, билирубин, INR и тромбоцитен брой.

### 3.3 Статистическа обработка на резултатите

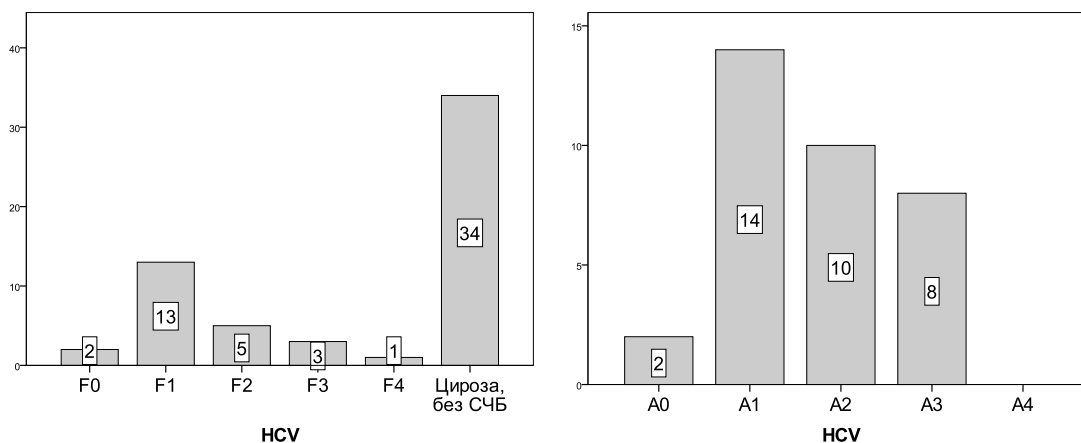
Използвахме следните статистически методи за оценка на достоверността на получените резултати: дескриптивна статистика; тест на Колмогоров-Смирноф за проверка на вида на разпределение на данните в групите (Гаусово/не-Гаусово); тест на Shapiro-Wilk за проверка на вида на разпределение на данните при групи с по-малко от 50 лица; Student (t-тест) за сравняване на две независими групи данни при Гаусово разпределение; непараметричен тест на Mann-Whitney за сравнение на две независими групи и откриване на статистически значима разлика при не-Гаусово разпределение; ANOVA; корелационен анализ – Spearman при не-Гаусово разпределение и Pearson при Гаусово разпределение и оценка на силата на корелационните коефициенти.

Получените резултати са оценени като статистически достоверни при прагово ниво на значимост  $p < 0.05$ .

## 4 РЕЗУЛТАТИ

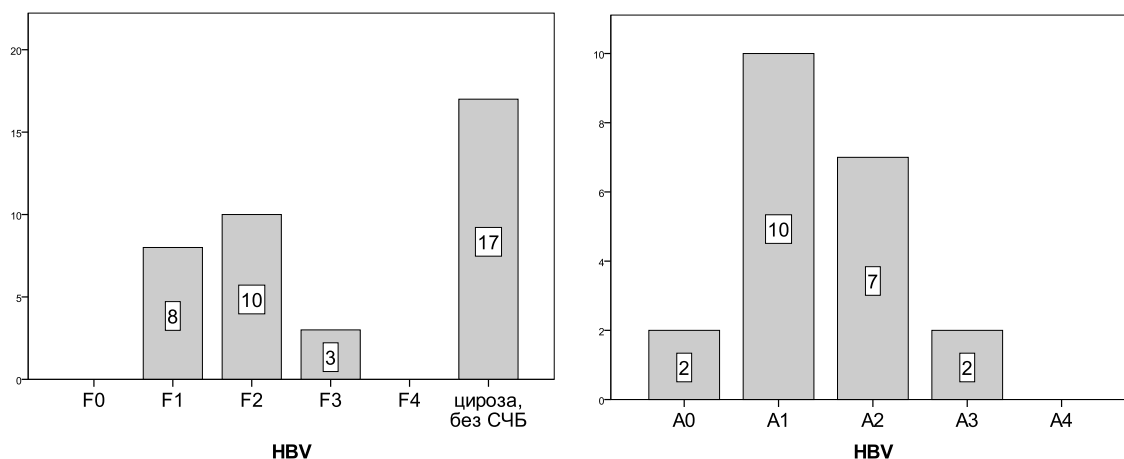
Разпределение на данните:

В групата с С вирусна инфекция имаше данни за начална фиброза (F0-2) при 22 болни и за напреднала фиброза (F3-4) при 39 болни (липсват данни за 4 болни). Лека хистологична активност (до A2) установихме при 26 от болните, а изразена – при 8. (Фиг. 4)



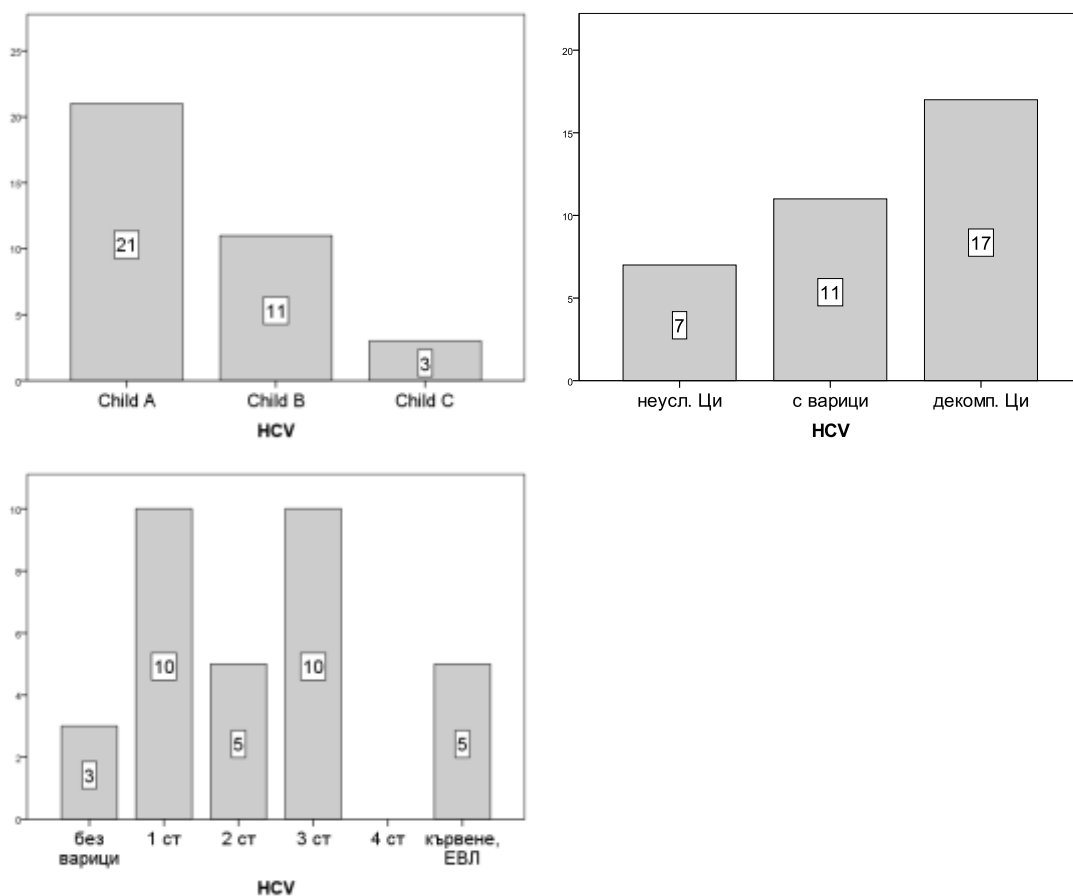
Фиг. 4 Разпределение на пациентите с HCV по стадий на фиброзата (F) и тежест на хистологичната активност (A)

В групата с хепатит В инфекция 18 болни имаха данни за начална фиброза, а 20 – за напреднала фиброза (липсват данни за 6 болни). 19 от болните имаха данни за лекостепенна хистологична активност, а 2 – изразена хистологична активност. (фиг. 5)



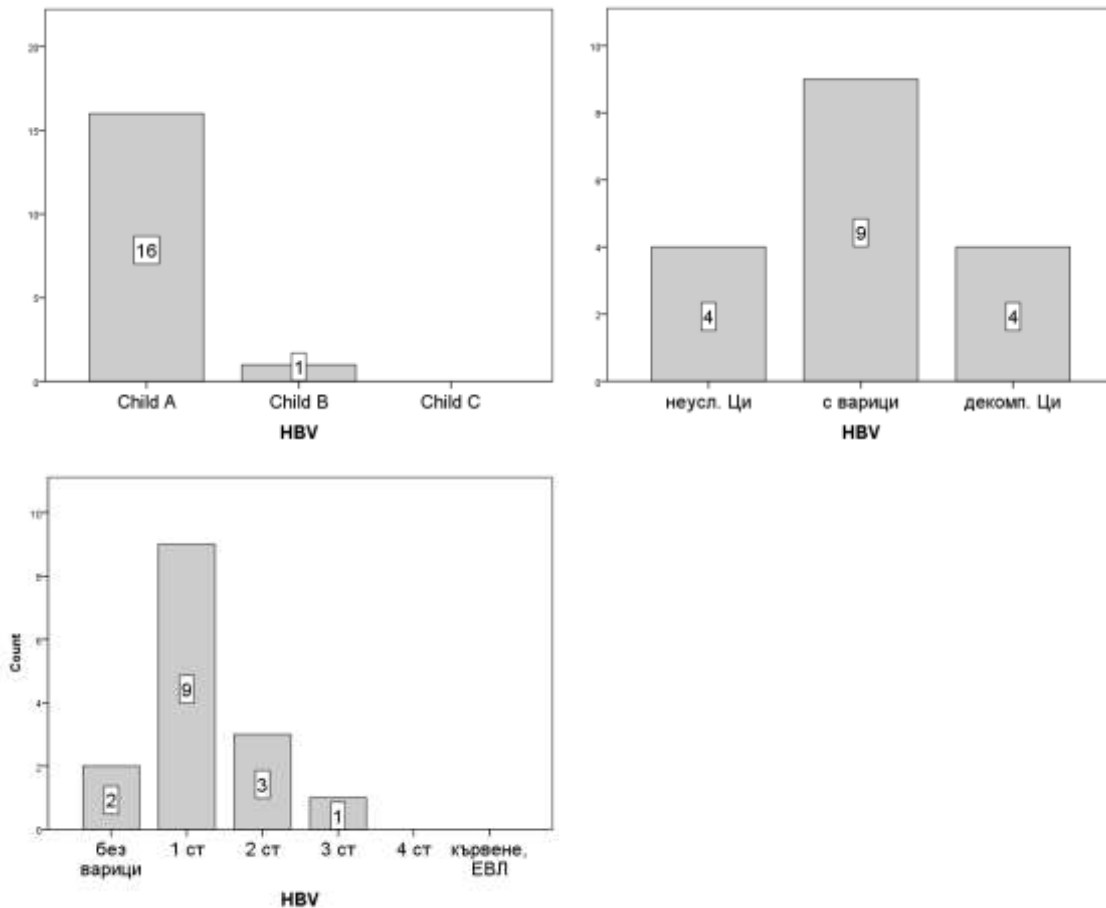
Фиг. 5 Разпределение на пациентите с HBV по стадий на фиброзата (F) и тежест на хистологичната активност (A)

В групата с С вирусна инфекция 35 от пациентите бяха с данни за чернодробна цирроза – 21 Чайлд А, 11 Чайлд В и 3 Чайлд С. 7 от пациентите бяха с неусложнена болест, 11 имаха само варици на хранопровода, 17 – бяха с настоящ или предшестващ епизод на декомпенсация. При 18 пациенти имаше данни за нискорискови или липсващи варици на хранопровода, а при 15 – високорискови варици или предшестващ епизод на кръвоизлив от варици на хранопровода (липсват данни за 2 пациента с противопоказания за ендоскопско изследване). (фиг. 6)



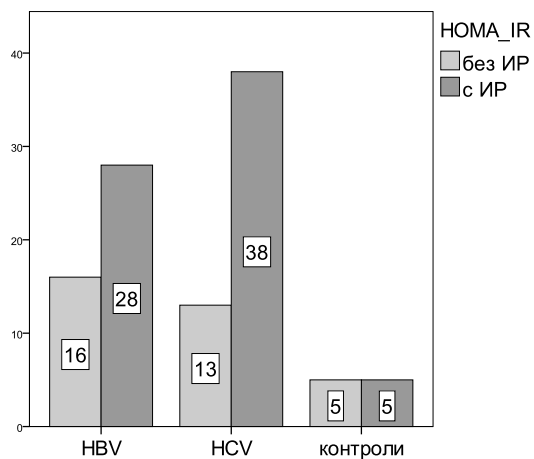
Фиг. 6 Разпределение на пациентите с HCV-цироза по Чайлд, според наличието на усложнения на болестта, според тежестта на вариците на хранопровода

16 от пациентите с В вирусна цирроза бяха Чайлд А, а 1 – Чайлд В в момента на включване в изследването. 4 от пациентите бяха с неусложнена болест, 9 имаха само варици на хранопровода, 4 бяха с настоящ или предшестващ епизод на декомпенсация. Данни за нискорискови варици на хранопровода имаше при 14 болни, а 1 пациент беше с високорискови (липсват ендоскопски данни за 2 пациента). (фиг. 7)



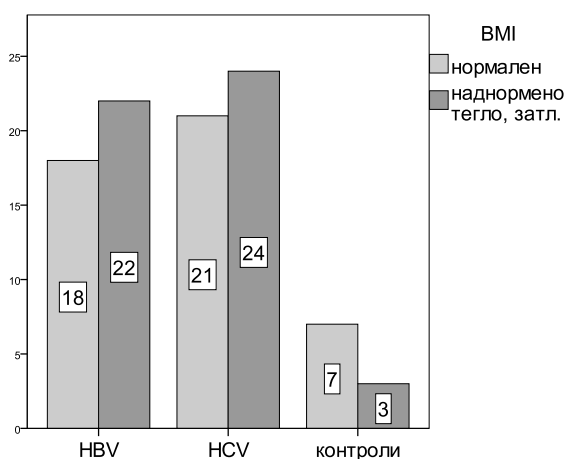
Фиг. 7 Разпределение на пациентите с HBV-цироза по Чайлд, според наличието на усложнения на болестта, според тежестта на вариците на хранопровода

По отношение на инсулиновата резистентност от пациентите с С вирусна инфекция без ИР бяха 13, с ИР – 38 болни (липсват данни при 14 болни), 16 от пациентите с В вирусна инфекция бяха без ИР, а 28 – с ИР, а в групата на здравите контроли по 5 души бяха съответно без и с ИР. (фиг. 8)



Фиг. 8 Разпределение на пациентите според НОМА-индекса

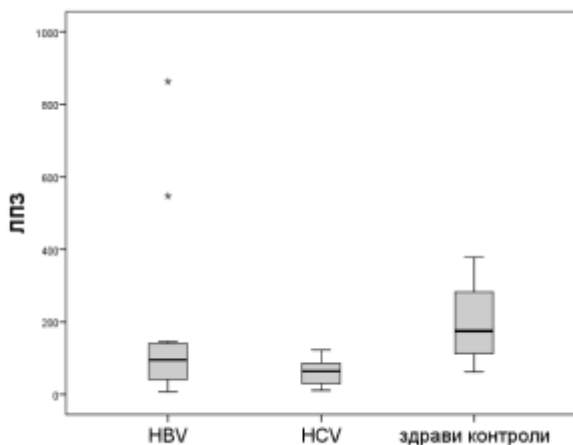
От пациентите с С вирусна инфекция 21 бяха с нормален индекс на телесната маса, а 24 – с наднормено тегло или затлъстяване (при 20 болни липсват демографски данни или има наличие на асцит). От пациентите с В вирусна инфекция съответно 18 и 22 са с нормално или наднормено тегло/затлъстяване (липсват данни за 4 болни). От здравите контроли 7 души са с нормален индекс на телесната маса, а 3 с наднормено тегло. (фиг. 9)



Фиг. 9 Разпределение на пациентите според индекса на телесната маса (BMI)

#### 4.1 Изследване на серумни нива на ЛПЗ при пациенти с хронична С и В вирусна инфекция и здрави контроли

Не установихме значима разлика в нивата на ЛПЗ между групите, като имаше тенденция към по-високи стойности при здравите контроли в сравнение с пациентите с С и В вирусна инфекция. (фиг. 10)



Фиг. 10 Сравнение в нивата на ЛПЗ между групите

Не установихме значима разлика в серумните нива на ЛПЗ по отношение на стадия на фиброзата ( $p=0.6$ ), наличието или не на цироза ( $p=0.55$ ), наличието на нормална или повишена АЛТ ( $p=0.6$ ), наличието или не на инсулинова резистентност ( $p=0.25$ , с тенденция към по-високи нива при пациентите с ИР).

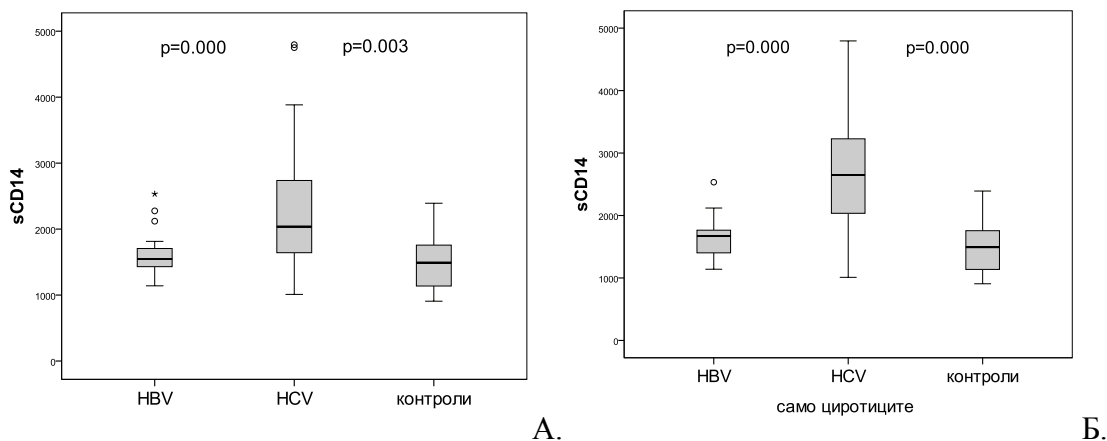
Нивата на ЛПЗ не корелираха със стадия на фиброзата, степента на хистологичната активност, цитолитичните ензими, инсулиновата резистентност, маркерите за тежест на чернодробното заболяване. Наблюдавахме единствено слаба корелация с индекса на телесната маса ( $r=0.56$ ,  $p=0.004$ ).

## **4.2 Оценка на връзката на sCD14 с фиброзата и тежестта на чернодробното заболяване**

### **4.2.1 Разлики между групите**

Наблюдавахме значимо по-високи серумни нива на sCD14 при пациентите с С вирусна инфекция в сравнение със здравите контроли ( $p=0.003$ ) и спрямо пациентите с В вирусна инфекция ( $p=0.000$ ). (фиг. 11А) Тази разлика беше за сметка на пациентите с HCV чернодробна цироза и загуби значимост при изключването им от анализа (съответно  $p=0.17$  спрямо контролите и  $p=0.1$  спрямо пациентите с В вирусна инфекция). Не установихме значима разлика между пациентите с хепатит В инфекция и здравите контроли ( $p=0.48$ ).

Пациентите с С-вирусна цироза имаха значимо по-високи нива на sCD14 в сравнение със здравите контроли ( $p=0.000$ ) и в сравнение с пациентите с В-вирусна цироза ( $p=0.000$ ). (фиг. 11Б) Не установихме значима разлика в нивата на маркера между циротиците с В-вирусна етиология и здравите контроли ( $p=0.32$ ).



Фиг. 11 Разлика в нивата на sCD14 между групите при: А. всички индивиди, Б. пациентите с цирроза

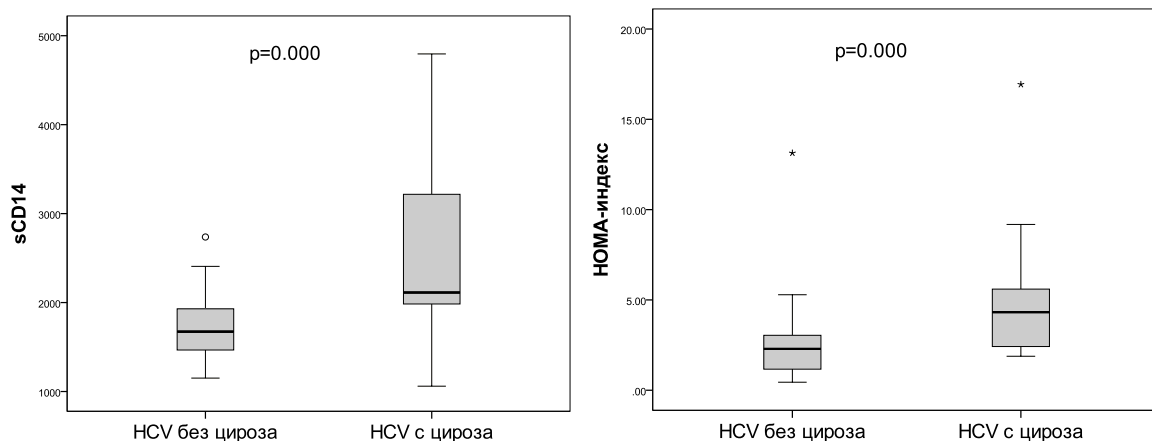
На таблица 2 са сравнени медианите на някои показатели за възпалителна активност и тежест на чернодробното заболяване между пациентите с хронична С и В инфекция. Наблюдавахме значимо по-тежко чернодробно заболяване при пациентите с С вирусна инфекция, оценена чрез APRI-скора и показателите за тежест на чернодробното заболяване – албумин, билирубин, INR, тромбоцитен брой. В групата с С етиология на болестта имаше по-голям брой пациенти с декомпенсирана цирроза. Наблюдавахме и значимо по-високи стойности на чернодробните ензими при пациентите с HCV – вероятно във връзка с факта, че повечето тежко болни HCV пациенти бяха наивни в началото на изследването, докато в групата с В вирусна инфекция почти всички включени циротици бяха на терапия с постигнат контрол над вирусната репликация и цитолизата. Здравите контроли имаха значимо по-ниски стойности на чернодробните ензими в сравнение с пациентите с С и В вирусна инфекция ( $p=0.000$ ), като не се различаваха по отношение на НОМА-индекса, индекса на телесната маса и стойностите на високочувствителния С-реактивен протеин от пациентите.

Табл. 2 Сравнение на някои маркери между групите

	HCV	HBV	p	Контроли
	Медиана (iqr)	Медиана (iqr)		Медиана (iqr)
sCD14	2037.5 (1010-4795)	1548.5 (1548.5-1707.5)	0.000	1491.5 (1117.5-1779)
НОМА-IR	2.61 (0.44-16.93)	2.69 (1.69-3.81)	> 0.05	2.0 (1.3-3.3)
hsCRP	1.9 (0.1-30.0)	1.9 (0.8-4.5)	> 0.05	3 (1.3-8.2)
ИТМ	25.9 (18.2-41.3)	25.5 (23.6-27.9)	> 0.05	24.2 (19.7-28.3)
APRI	1.32 (0.06-24.3)	0.37 (0.24-0.51)	0.000	
Общ бил.	16 (4-93)	11 (8-15)	0.001	
Албумин	44.0 (26-53)	47 (44-49)	0.001	
Тромбоцити	146 (25-334)	202 (161-234)	0.003	
АСТ	60.0 (5-264)	25 (19-36)	0.000	16 (15-18)
АЛТ	57.5 (13-206)	26 (19-47)	0.000	11 (10-17)
ГГТ	46.5 (11-585)	26 (15-43)	0.000	3 (1-8)

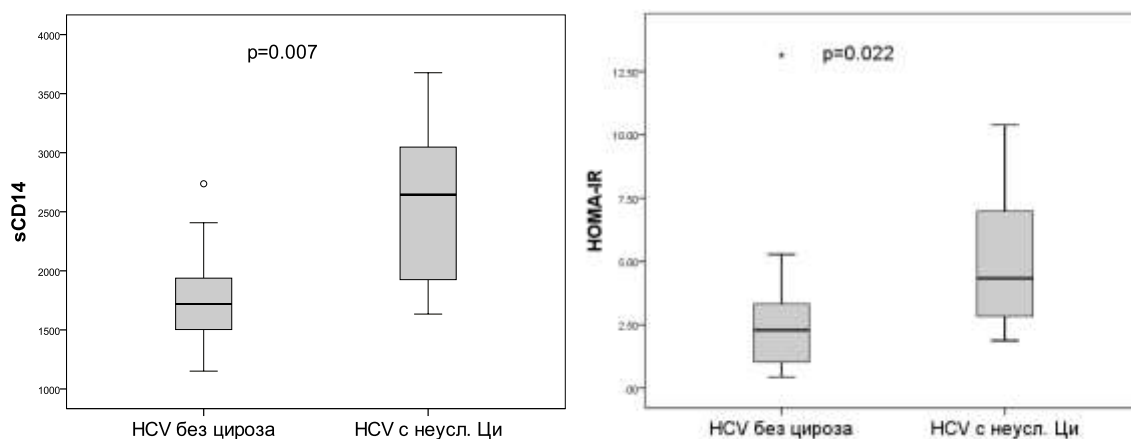
#### 4.2.2 sCD14 и стадий на фиброзата при хронична С вирусна инфекция

Наблюдавахме значимо по-високи серумни нива на sCD14 при пациентите с цироза в сравнение с тези без цироза ( $p=0.000$ ), като двете групи се различаваха значимо по степента на инсулиновата резистентност ( $p=0.000$ ), нивата на цитолитичните ензими ( $p=0.007$  за АЛТ), маркерите за тежест на чернодробното увреждане ( $p=0.000$  за билирубин, албумин, INR и тромбоцити), hsCRP ( $p=0.032$ ), ИТМ ( $p=0.014$ ). (фиг. 12)



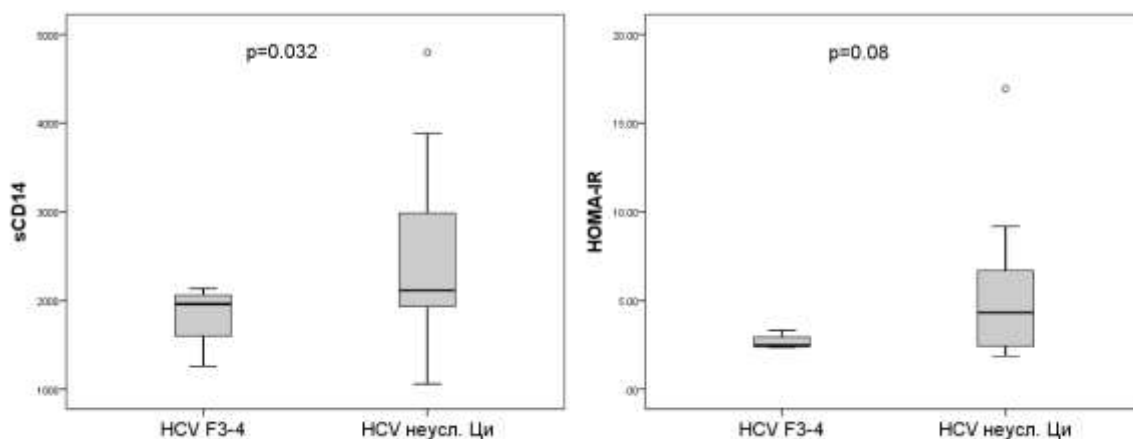
Фиг. 12 Разлика в нивата на sCD14 и НОМА-индекса между HCV пациентите без и с чернодробна цирроза

Разликата в стойностите на някои от показателите остана сигнификантна и между пациентите с неусложнена цирроза (без данни за изразена портална хипертония, оценена като липса на варици на хранопровода; без епизод на предшествваща или настояща декомпенсация) и тези без чернодробна цирроза. При циротиците наблюдавахме значимо по-високи нива на sCD14 ( $p=0.007$ ), НОМА-индекса ( $p=0.022$ ), (фиг. 13) чернодробните ензими ( $p=0.04$  за АЛТ,  $p=0.013$  за АСТ), маркерите за тежест на чернодробното заболяване ( $p=0.003$  за албумина,  $0.034$  за INR,  $0.009$  за тромбоцитите), хистологичната активност ( $p=0.034$ ).



Фиг. 13 Разлика в стойностите на sCD14 и НОМА-индекса при HCV пациенти без цирроза спрямо неусложнена цирроза

Пациентите с напреднала фиброза (F3-4) имаха по-ниски нива на sCD14 спрямо пациентите с неусложнена цироза (без епизод на декомпенсация, без варици на хранопровода) ( $p=0.032$ ), като двете групи не се различаваха по стойностите на НОМА-индекса и hsCRP. (фиг. 14) Циротиците имаха значимо по-високи билирубин ( $p=0.03$ ), INR ( $p=0.001$ ) и АСТ ( $p=0.007$ ) и по-ниски албумин ( $p=0.005$ ) и тромбоцити ( $p=0.013$ ).



Фиг. 14 Разлика в стойностите на sCD14 и НОМА-индекса при HCV пациенти с напреднала фиброза спрямо неусложнена цироза

След изключване на пациентите с чернодробна цироза не установихме значима разлика в серумните нива на sCD14 между пациентите с начална (F0-2) и напреднала фиброза (F3-4) ( $p=0.16$ ).

#### 4.2.3 sCD14 и тежест на цирозата при хронична С вирусна инфекция

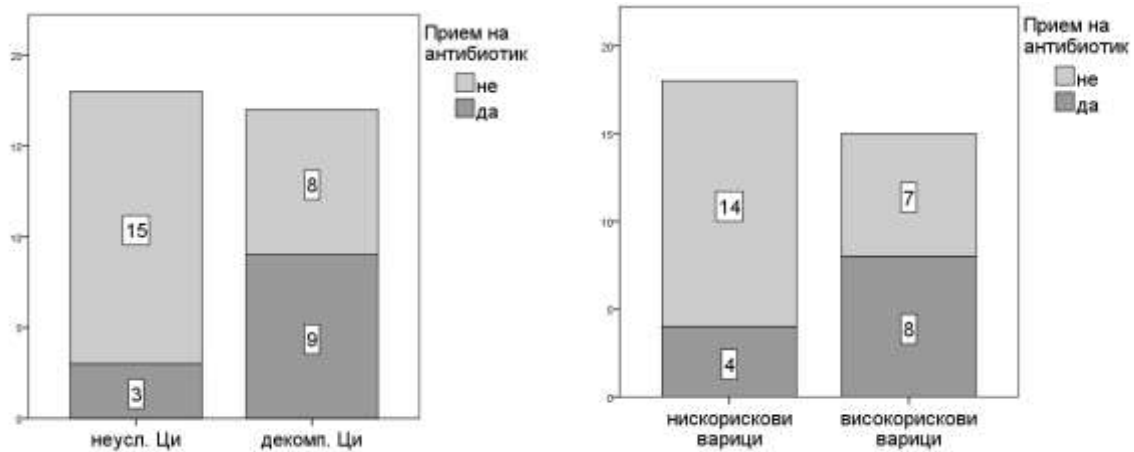
При пациентите с чернодробна цироза сравнихме маркерите за системна и чернодробна възпалителна активност и показателите за тежест на чернодробното заболяване по отношение на Child-скора, тежестта на порталната хипертония, оценена чрез степента на вариците на хранопровода и наличието или не на минал или настоящ епизод на декомпенсация на заболяването.

Не установихме значима разлика в серумните нива на sCD14 при пациентите с Чайлд А спрямо пациентите с Чайлд В и С ( $p=0.8$ ), както и между пациентите с високо- и нискорискови варици на хранопровода – индиректен белег за тежест на порталната хипертония ( $p=0.6$ ).

Сравнихме групите по прием на антибиотик до 3 месеца преди включване в изследването и на Пропранолол с оглед на съобщения за благоприятното им въздействие върху бактериалния свръхрастеж и бактериалната транслокация.

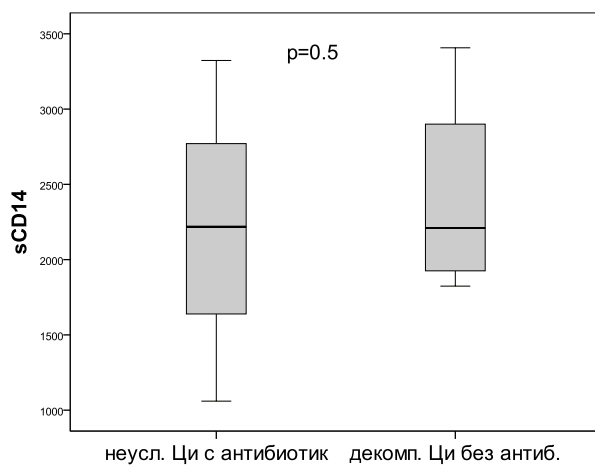
Оценихме възможно ли е приемът на тези медикаменти да е причината за несигнификантната разлика в нивата на sCD14 и възпалителните маркери между пациенти с различна тежест на порталната хипертония и с компенсирани/декомпенсирани болест.

Установихме по-висока честота на скорошен прием на антибиотик в групите с декомпенсирани цироза и високорискови варици на хранопровода. (фиг. 15)



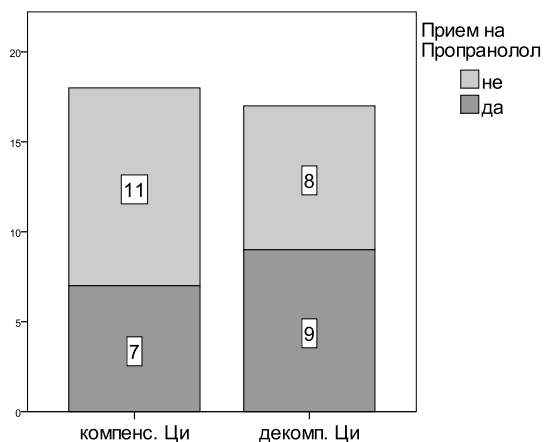
Фиг. 15 Антибиотичен прием при пациентите с HCV цироза

Нивата на sCD14 не се различаваха между пациентите с и без скорошен прием на антибиотик ( $p=0.9$ ), също и в отделните подгрупи. Не установихме разлика в нивата на маркера дори между пациентите с неусложнена болест, приемали антибиотик в близките 3 месеца и декомпенсирани циротици без скорошен прием на антибиотик ( $p=0.5$ , фиг. 16).



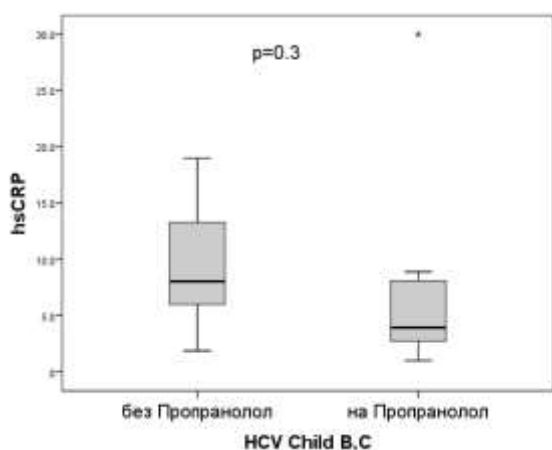
Фиг. 16 Нива на sCD14 при HCV пациенти с неусложнена и декомпенсирани цироза според антибиотичния прием

На фиг. 17 е представен относителният дял пациенти приемащи Пропранолол в групата с компенсирани и декомпенсирани цирози:



Фиг. 17 Прием на Пропранолол в групите с компенсирани и декомпенсирани цирози

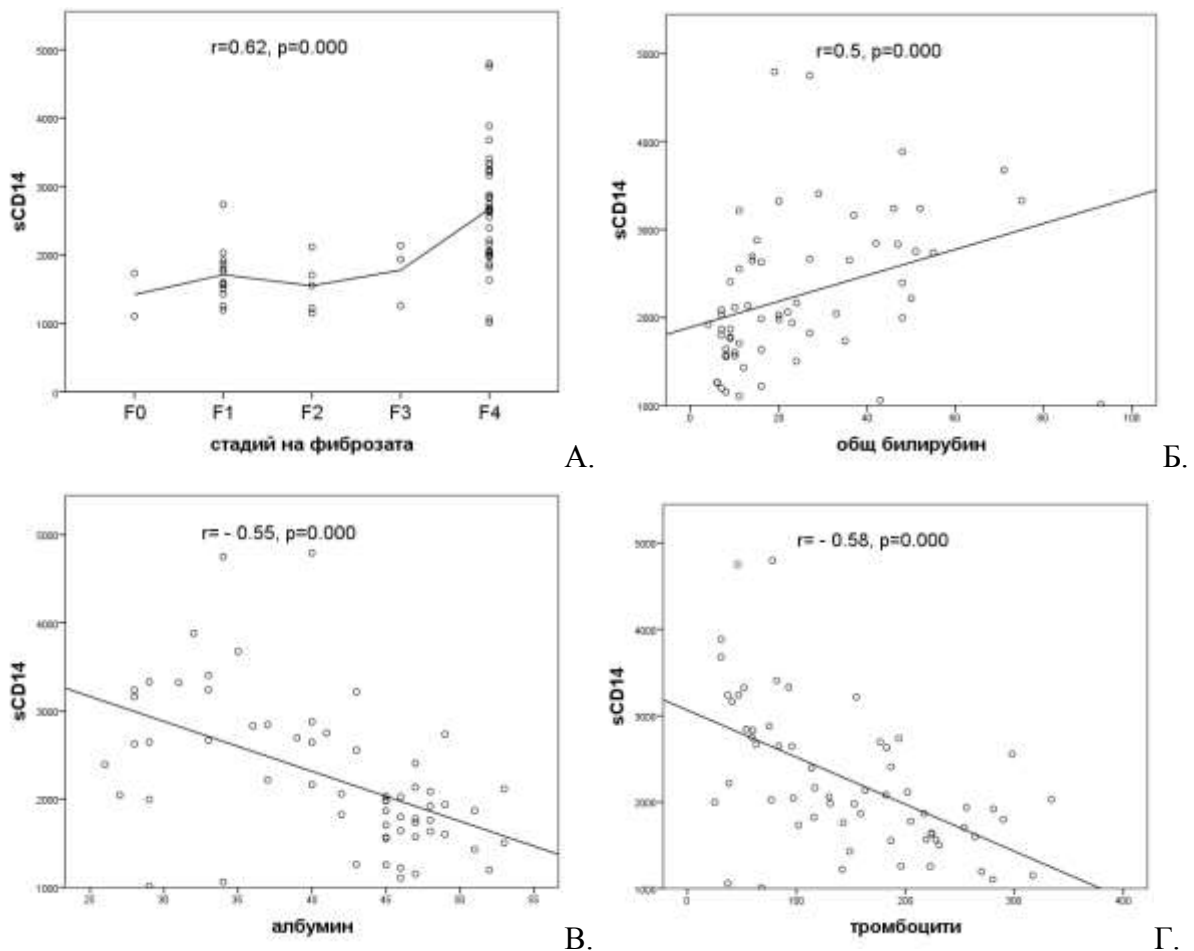
Не установихме значима разлика в стойностите на sCD14 между пациентите приемащи и не приемащи Пропранолол ( $p=0.4$ ). Наблюдавахме тенденция към по-ниски стойности на hsCRP при пациентите, приемащи Пропранолол в групата с декомпенсация на заболяването (Чайлд В, С) спрямо пациентите, които не приемаха медикамента ( $p=0.3$ , фиг. 18).



Фиг. 18 Серумни нива на hsCRP според приема на Пропранолол при декомпенсирани цирози

#### 4.2.4 Корелации на sCD14 с маркерите за тежест на чернодробното заболяване при хронична С вирусна инфекция

Установихме позитивна корелация на серумните нива на sCD14 с тежестта на фиброзата ( $r=0.62$ ,  $p=0.000$ , фиг.19 А), APRI-скора ( $r=0.57$ ,  $p=0.000$ ), билирубина ( $r=0.5$ ,  $p=0.000$ , фиг.19 Б) и INR ( $r=0.45$ ,  $p=0.000$ ), както и негативна със стойностите на албумина ( $r= - 0.55$ ,  $p=0.000$ , фиг.19 В) и тромбоцитите ( $r= - 0.58$ ,  $p=0.000$ , фиг.19 Г).

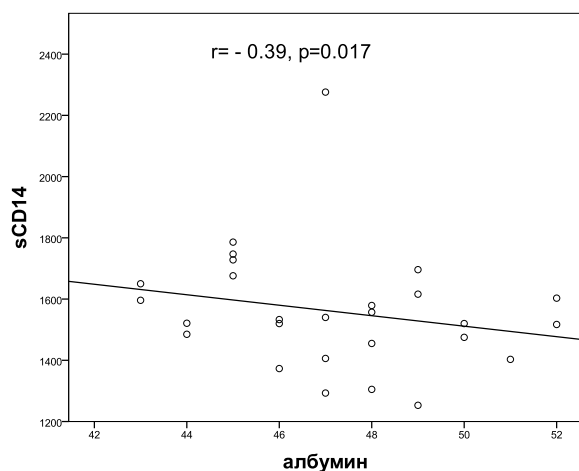


Фиг. 19 Корелации между нивата на sCD14 и някои маркери за тежест на чернодробното заболяване

#### 4.2.5 sCD14 и тежест на фиброзата при пациенти с В вирусна инфекция

Не наблюдавахме значима разлика в серумните нива на sCD14 между пациентите с лека и напреднала фиброза ( $p=0.9$ ), както и между болните с и без чернодробна цироза ( $p=0.8$ ).

Маркерът не корелираше със стадия на фиброзата, APRI-скора и показателите за тежест на чернодробното заболяване, освен слабо със стойностите на албумина ( $r = -0.39$ ,  $p=0.017$ , фиг. 20).

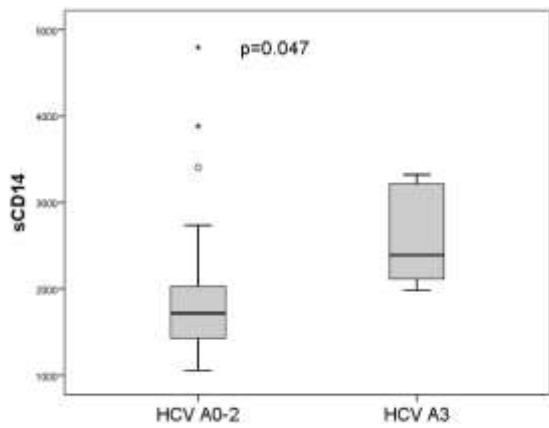


Фиг. 20 Корелация между нивата на sCD14 и албумин при HBV инфекция

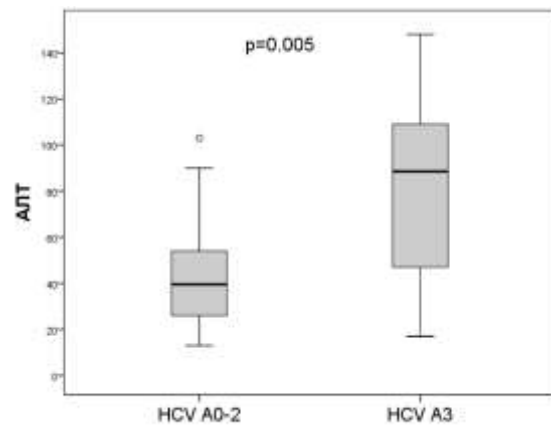
### 4.3 Оценка на връзката на sCD14 с хистологичната активност и маркерите за чернодробно и системно възпаление при хронична инфекция с хепатит С и В

#### 4.3.1 sCD14 и хистологичната активност при С вирусна инфекция

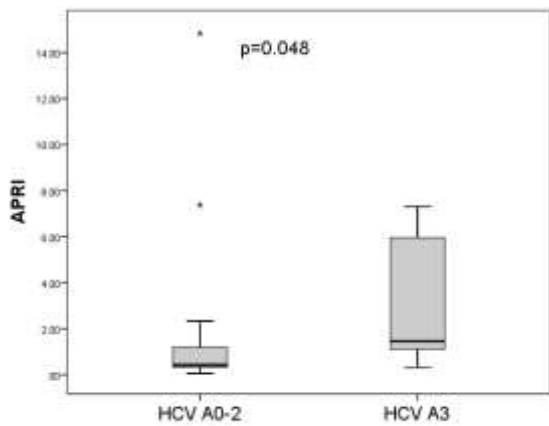
При пациентите с изразена хистологична активност (A3) установихме по-високи серумни нива на sCD14 в сравнение с болните с лекостепенна и умерена хистологична активност (A0-2) ( $p=0.047$ , фиг. 21 А). При тези болни наблюдавахме и значимо по-високи нива на цитолитичните ензими ( $p=0.016$  за АСТ и  $p=0.005$  за АЛТ, фиг. 21 Б), както и по-висок APRI-скор ( $p=0.048$ , фиг. 21 В). Пациентите не се различаваха по стойностите на билирубина, албумина, INR, тромбоцитите. Несигнификантна беше и разликата в стойностите на НОМА-индекса, индекса на телесната маса.



А.



Б.



В.

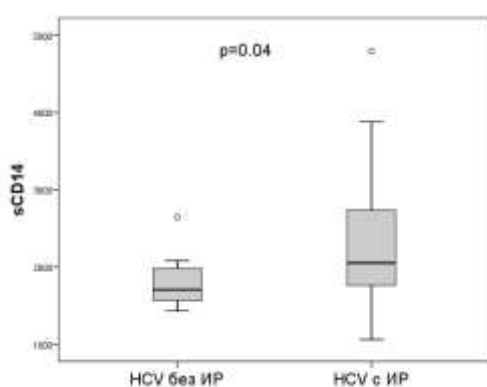
Фиг. 21 Разлика в нивата на sCD14, АЛТ и APRI-скора между пациенти с лекостепенна и изразена хистологична активност.

#### 4.3.2 sCD14 и инсулинова резистентност при С вирусна инфекция

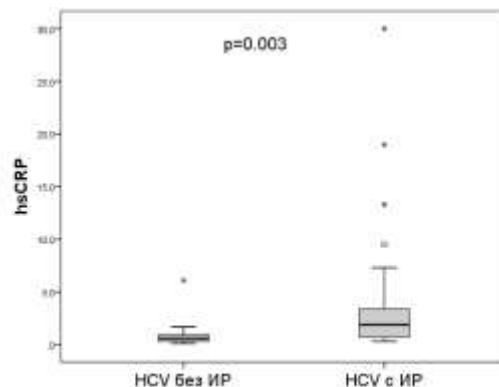
Наблюдавахме значимо по-високи нива на маркера при пациентите с инсулинова резистентност в сравнение с пациентите без инсулинова резистентност ( $p=0.04$ , фиг. 22 А), както и на АСТ (фиг. 22 Б), ГГТ, билирубина, индекса на телесната маса, hsCRP (фиг. 22 В), както и по-ниски на албумина и тромбоцитите. (табл. 3) Пациентите с инсулинова резистентност се отличаваха и с по-висока степен на фиброза ( $p=0.004$ , фиг. 22 Г).

Табл. 3 Сравнение на някои показатели между пациентите с HCV с и без инсулинова резистентност

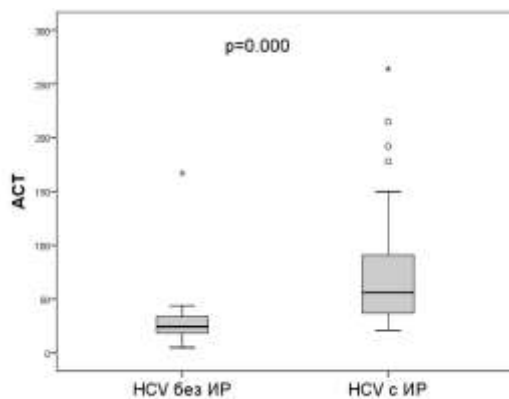
	Без ИР	С ИР	p
	Медиана (iqr)	Медиана (iqr)	
sCD14	1706 (1560-2006)	2053 (1754-2772)	0.04
hsCRP	0.6 (0.3-1)	1.9 (0.7-3.6)	0.003
ИТМ	21.9 (20.7-23.9)	26.2 (24.2-30.7)	0.000
APRI	0.33 (0.24-0.52)	1.5 (0.5-3.9)	0.000
Общ бил.	10 (8-13)	20 (9-36)	0.01
Албумин	47 (45-50)	43 (33-47)	0.013
Тромбоцити	219 (156-259)	131 (78-203)	0.007
АСТ	25 (19-38)	60 (36-105)	0.000
АЛТ	29 (24-70)	53 (37-105)	>0.05
ГГТ	21 (14-53)	56 (28-86)	0.016



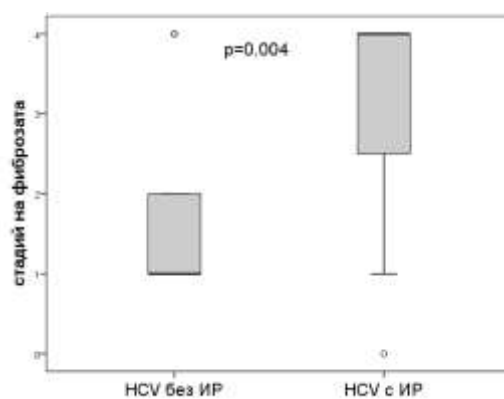
А.



Б.



В.

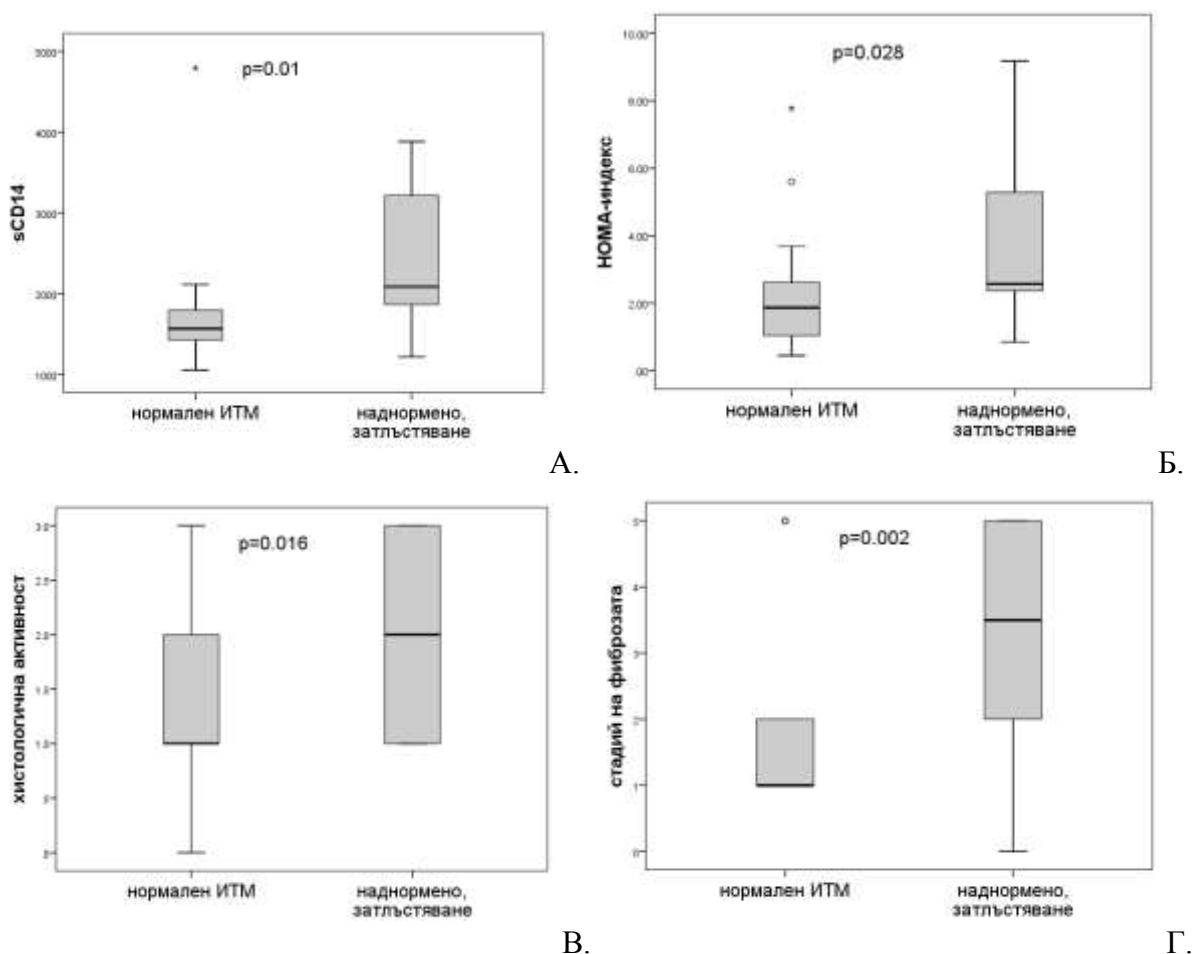


Г.

Фиг. 22 Разлика в нивата на sCD14, hsCRP, АСТ и стадия на фиброзата при HCV пациенти с/без инсулинова резистентност

### 4.3.3 sCD14 и индекс на телесната маса при C вирусна инфекция

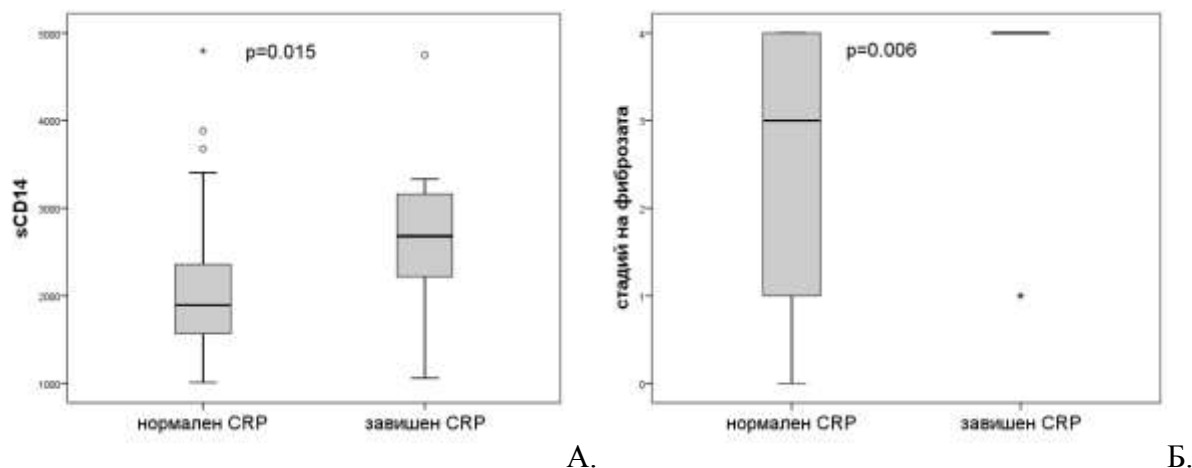
При пациентите с наднормено тегло и затлъстяване установихме значимо по-високи стойности на системните и чернодробни възпалителни маркери – sCD14 ( $p=0.01$ , фиг. 23 А), АСТ ( $p=0.009$ ), НОМА-индекса ( $p=0.028$ , фиг. 23 Б), хистологичната активност ( $p=0.016$ , фиг. 23 В), както и по-изразена фиброза ( $p=0.002$ , фиг. 23 Г), както и по-високи нива на билирубин ( $p=0.002$ ) и по-ниски на албумин ( $p=0.014$ ) и тромбоцити ( $p=0.017$ ).



Фиг. 23 Разлика в нивата на sCD14, НОМА-индекса, стадия на фиброзата и хистологичната активност между HCV пациенти с нормален или повишен индекс на телесната маса

#### 4.3.4 sCD14 и hsCRP при пациентите с С вирусна инфекция

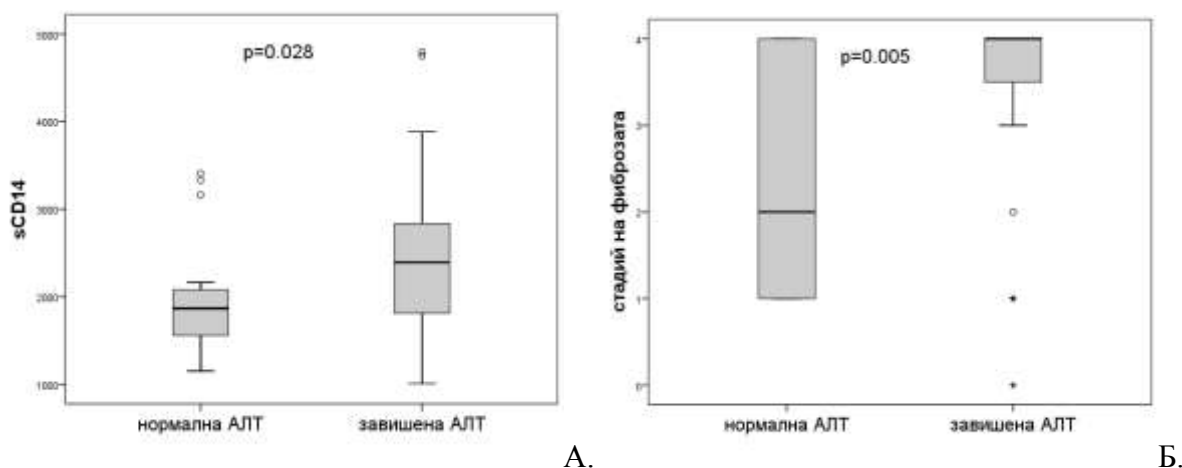
При пациентите с повишени стойности на hsCRP установихме значимо по-високи нива на sCD14 ( $p=0.015$ , фиг. 24 А) и АСТ ( $p=0.007$ ). Тези пациенти се отличаваха и с по-напреднала фиброза ( $p=0.006$ , фиг. 24 Б) и показателите за тежест на чернодробното заболяване – по-високи стойности на билирубина ( $p=0.001$ ) и INR ( $p=0.004$ ), както и по-ниски на албумина ( $p=0.001$ ) и тромбоцитите ( $p=0.003$ ).



Фиг. 24 Разлика в нивата на sCD14 и стадия на фиброзата между пациенти с нормален или повишен hsCRP

#### 4.3.5 sCD14 и АЛТ при пациентите с С вирусна инфекция

При пациентите с повишена АЛТ наблюдавахме значимо по-високи нива на sCD14 ( $p=0.028$ , фиг. 25 А), по-напреднала фиброза ( $p=0.005$ , фиг. 25 Б), както и маркери за тежест на чернодробното заболяване – по-високи нива на билирубина ( $p=0.024$ ) и INR ( $p=0.038$ ), по-ниски на албумина ( $p=0.039$ ) и тромбоцитите ( $p=0.006$ ).



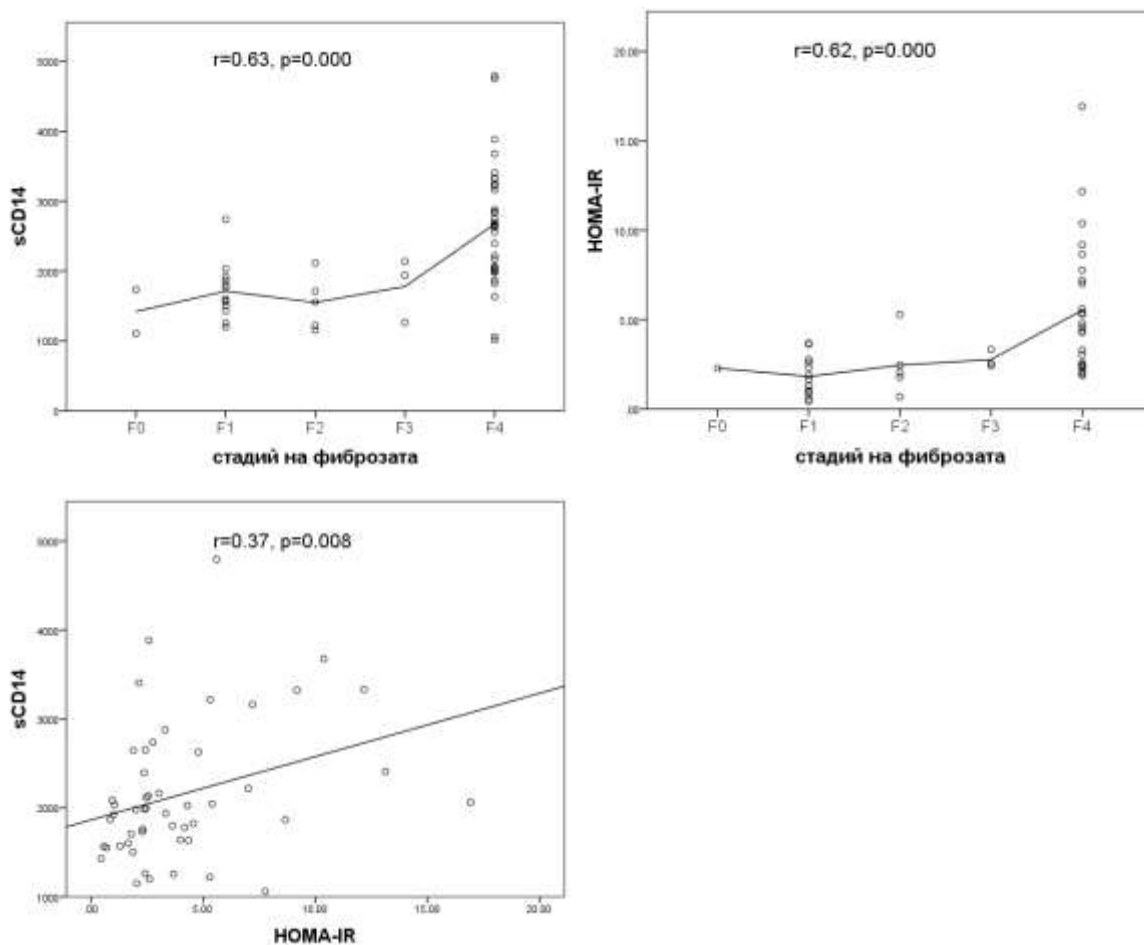
Фиг. 25 Разлика в sCD14 и стадия на фиброзата при пациенти с нормална и завишена АЛТ

#### 4.3.6 Корелации между маркерите за чернодробно и системно възпаление при пациентите с С вирусна инфекция

Серумните нива на sCD14 корелираха позитивно с НОМА-индекса ( $r=0.37$ ,  $p=0.008$ , фиг. 26), индекса на телесната маса ( $r=0.43$ ,  $p=0.003$ ), hsCRP ( $r=0.27$ ,  $p=0.039$ ), цитолитичните ензими и ГГТ ( $r=0.47$ ,  $p=0.000$  за АСТ). Отделните маркери за чернодробна и системна възпалителна активност корелираха позитивно и помежду си, както и с тежестта на фиброзата. (табл. 4)

Табл. 4 Корелации между някои възпалителни маркери, sCD14 и стадия на фиброзата

		sCD14	НОМА-IR	ИТМ	hsCRP	АСТ
<b>НОМА-IR</b>	r (p)	<b>0.37</b> (0.008)				
<b>ИТМ</b>	r (p)	<b>0.43</b> (0.003)	<b>0.35</b> (0.022)			
<b>hsCRP</b>	r (p)	<b>0.27</b> (0.039)	<b>0.33</b> (0.021)	<b>0.44</b> (0.003)		
<b>АСТ</b>	r (p)	<b>0.47</b> (0.000)	<b>0.57</b> (0.000)	<b>0.37</b> (0.013)	<b>0.33</b> (0.009)	
<b>Фиброза</b>	r (p)	<b>0.63</b> (0.000)	<b>0.62</b> (0.000)	<b>0.45</b> (0.003)	<b>0.32</b> (0.017)	<b>0.69</b> (0.000)



Фиг. 26 Корелация на sCD14 и HOMA-индекса със стадия на фиброзата и помежду им

#### 4.3.7 sCD14 и маркери за чернодробна и системна възпалителна активност при хроничната В вирусна инфекция

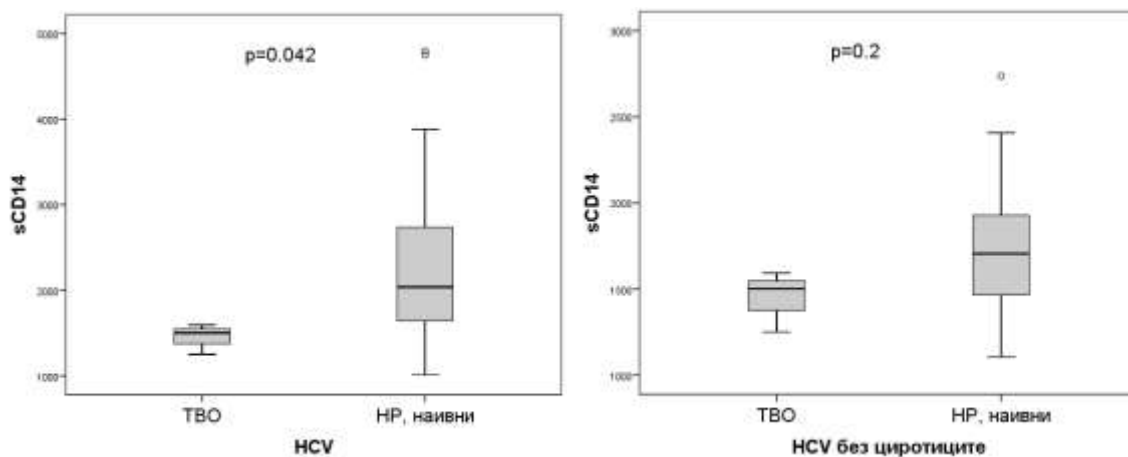
Не установихме значима разлика в серумните нива на sCD14 по отношение на степента на хистологичната активност ( $p=0.35$ ), наличието или не на инсулинова резистентност ( $p=0.6$ ), завишена АЛТ ( $p=0.5$ ) и hsCRP ( $p=0.7$ ).

Стойностите на маркера не корелираха сигнификантно с показателите за системна или чернодробна възпалителна активност.

#### 4.4 Оценка на sCD14 във връзка с терапевтичния отговор при хепатит С инфекция, показанията за терапия при хепатит В инфекция

##### 4.4.1 Разлика в стойностите на маркера между пациентите с излекувана и неизлекувана С вирусна инфекция

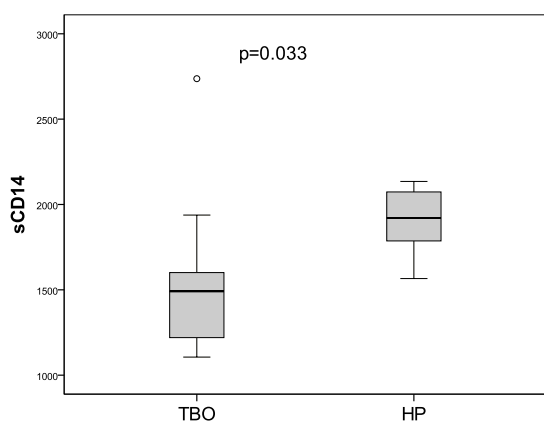
Наблюдавахме значимо по-ниски серумни нива на sCD14 при пациентите с постигнат ТВО в сравнение с наивните пациенти и нон-респондърите ( $p=0.042$ ). Разликата загуби значимост след изключване на пациентите с чернодробна цироза ( $p=0.2$ ). (фиг.27) След премахване на циротиците, двете групи се различаваха сигнификантно по стойностите на APRI-скора ( $p=0.03$ ), АСТ ( $p=0.02$ ) и АЛТ ( $p=0.002$ ) (по-високи в групата без ТВО), без разлика в стадия на фиброзата, хистологичната активност, възпалителните маркери, инсулиновата чувствителност и индекса на телесната маса, възрастта и маркерите за тежест на чернодробното увреждане. Нивата на sCD14 не се различаваха между нон-респондърите и наивните пациенти ( $p=1$ ). При последващата обработка на данните пациентите с постигнат траен вирусологичен отговор бяха изключени от анализа.



Фиг. 27 Разлика в нивата на sCD14 между излекувани пациенти и пациенти с HCV инфекция

#### 4.4.2 Значение на изходните нива на sCD14 за терапевтичния отговор при хронична С вирусна инфекция

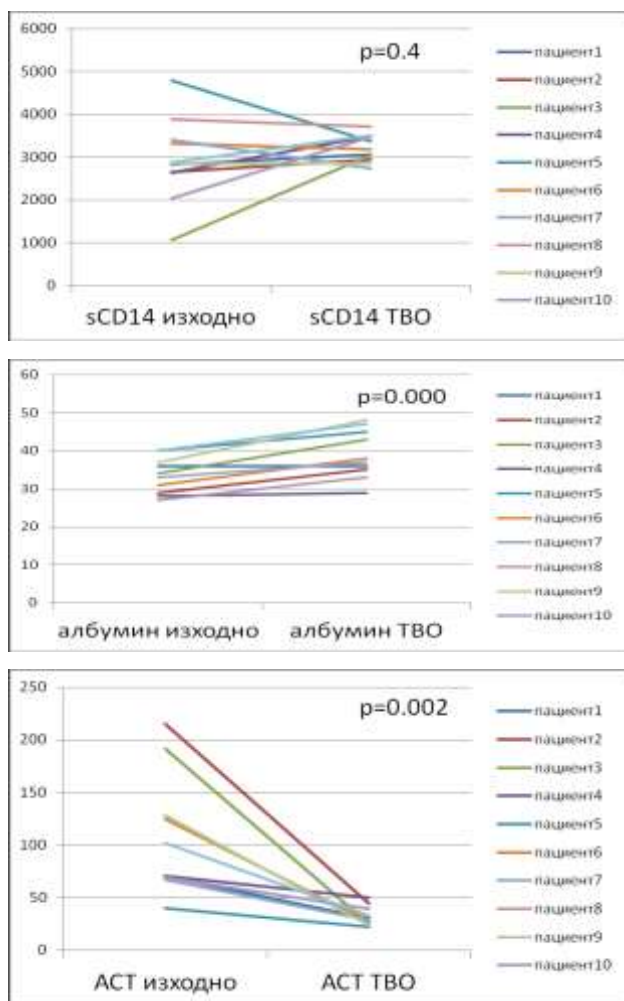
Изследвахме предиктивната роля на изходните нива на sCD14 за постигането на ТВО при пациентите с хепатит С инфекция. Установихме значимо по-ниски изходни нива на маркера при отговорилите на интерфероново лечение спрямо нон-респондърите ( $p=0.033$ , фиг. 28). Двете групи не се различаваха сигнификантно по други предиктори на ТВО: стадия на фиброзата, нивото на изходната виремия, инсулиновата резистентност, както и по хистологичната активност, цитолитичните ензими, показателите за тежест на чернодробното заболяване, индекса на телесната маса и възпалителните маркери.



Фиг. 28 Изходни нива на sCD14 и терапевтичен отговор на Интерферон-базирани режими при HCV

#### 4.4.3 Разлика в серумните нива на sCD14 изходно и след постигане на ТВО на фона на безинтерферонова терапия

Проследихме нивата на sCD14, трансаминазите и маркерите за тежест на чернодробното заболяване изходно и след постигане на ТВО при 10 пациента лекувани с безинтерферонови режими. Докато с постигането на ТВО наблюдавахме значимо повишение в стойностите на албумина ( $p=0.000$ ) и спад в стойностите на трансаминазите ( $p=0.002$ ), отчетлива промяна в серумните нива на sCD14 не се наблюдава ( $p=0.4$ ). (фиг. 29) Не наблюдавахме значима промяна и в стойностите на билирубина, тромбоцитите, INR.

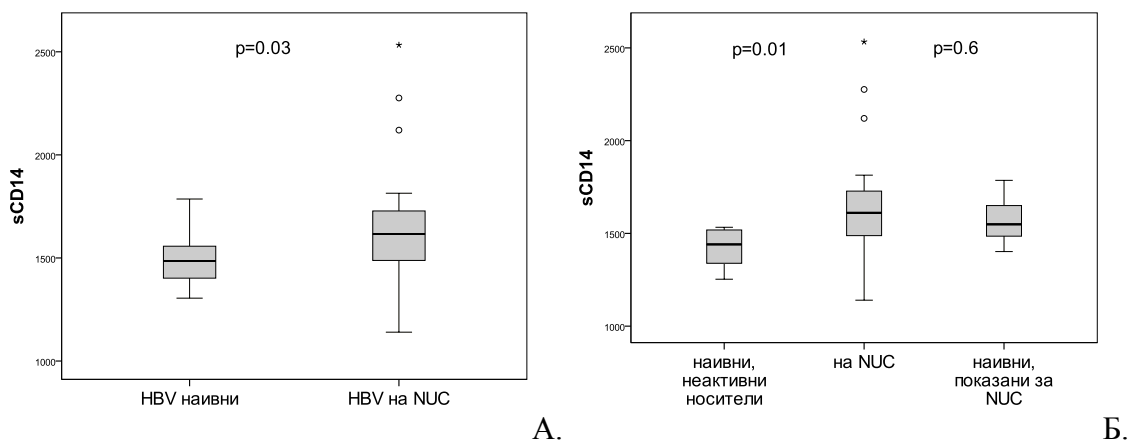


Фиг. 29 Динамика в стойностите на sCD14, албумин и АСТ преди и след постигане на TBO при 10 пациенти с HCV цирроза на безинтерференова терапия

#### 4.4.4 Връзка на серумните нива на sCD14 с показанията за терапия при хронична В вирусна инфекция

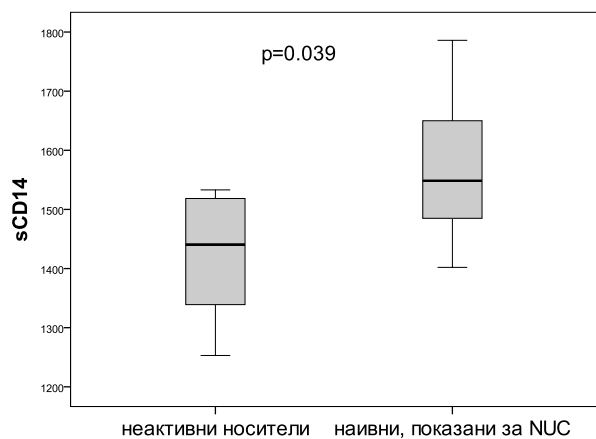
Установихме значимо по-ниски нива на sCD14 при наивните спрямо пациентите на терапия с NUC ( $p=0.04$ ). (фиг. 30 А) Двете групи се различаваха и по стадия на фиброзата ( $p=0.027$ ) и нивото на виремията (по-ниска при пациентите на терапия с NUC,  $p=0.000$ ).

Разликата в нивата на sCD14 остана сигнификантна между неактивните носители спрямо пациентите на терапия с NUC ( $p=0.033$ ) и загуби сигнификантност при сравнение на шестимата наивни пациенти с показания за терапия с пациентите на терапия ( $p=0.5$ ). (фиг. 30 Б)



Фиг. 30 Разлика в нивата на sCD14 А. между наивните HBV пациенти и тези на терапия с NUC, Б. между пациентите на терапия с NUC и съотв. неактивните носители и наивните пациенти, показани за терапия

В групата на наивните пациенти наблюдавахме значимо по-ниски серумни нива на sCD14 при неактивните носители в сравнение с пациентите с показания за започване на терапия ( $p=0.04$ , фиг. 31). Двете групи се различаваха и по по-ниските стойности на албумина ( $p=0.01$ ) и по-високите на АСТ ( $p=0.004$ ) и временията ( $p=0.001$ ). Не установихме корелация на маркера с временията, стойността на фиброзата, хистологичната активност, цитолитичните ензими и показателите за синтетична чернодробна функция в тази група.



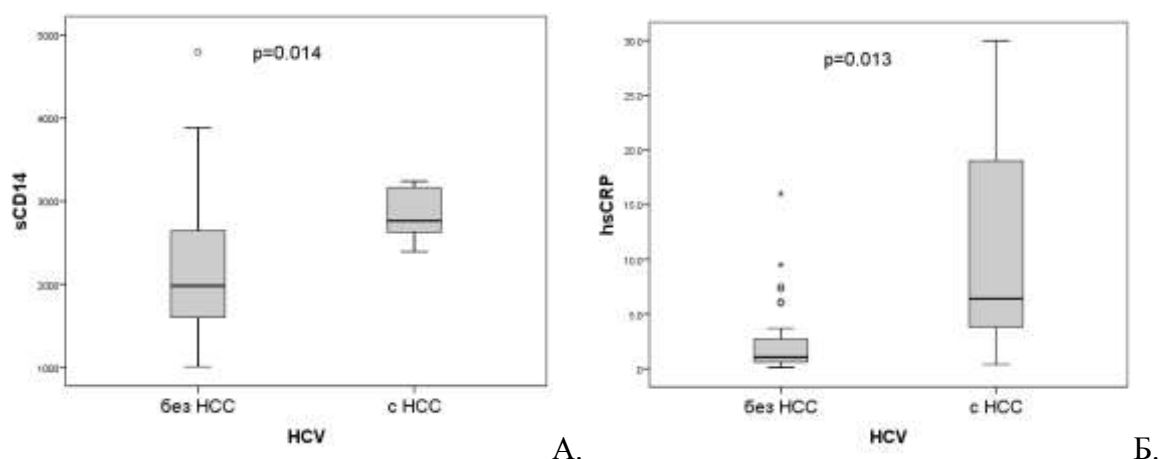
Фиг. 31 Разлика в нивата на sCD14 между неактивните носители и наивните пациенти с показания за терапия

При пациентите, приемащи нуклеозиден/нуклеотиден аналог, не установихме разлика в стойностите на sCD14 между пациентите с негативна и откриваема вирусемия ( $p=0.4$ ). Двете групи се различаваха единствено по серумните нива на АЛТ ( $p=0.007$ ).

#### 4.5 Оценка на серумните нива на sCD14 при някои усложнения на чернодробната цирроза

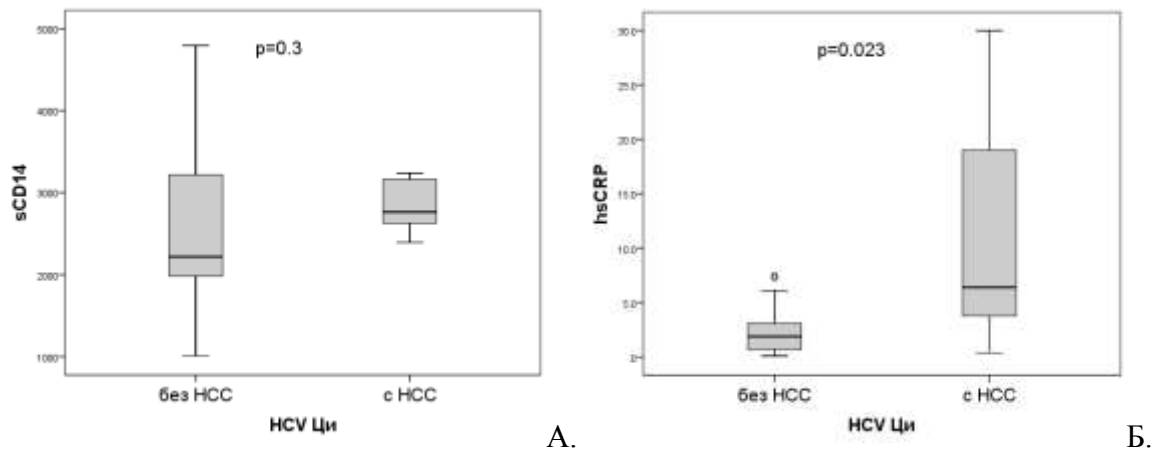
##### 4.5.1 sCD14 и хепатоцелуларен карцином

В хода на проследяването при 6 пациенти се установи хепатоцелуларен карцином (HCC). Установихме значимо по-високи нива на sCD14 при пациентите с HCC спрямо останалите пациенти с С вирусна инфекция ( $p=0.014$ , фиг. 32 А). При тези пациенти наблюдавахме и значимо по-високи нива на hsCRP ( $p=0.013$ , фиг. 32 Б) и директния билирубин (0.03), както и по-ниски нива на албумина ( $p=0.002$ ).



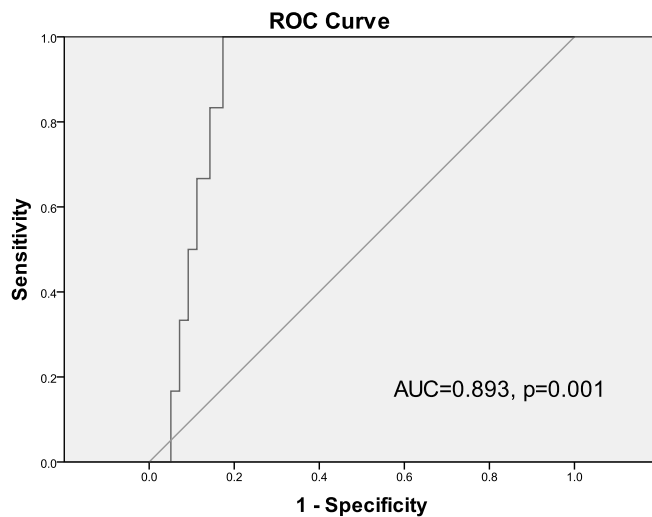
Фиг. 32 Разлика в нивата на sCD14 и hsCRP при HCV пациенти с и без хепатоцелуларен карцином

Пациентите с HCC не се различаваха значимо от останалите циротици по отношение нивата на sCD14 ( $p=0.3$ , фиг. 33 А), като имаха значимо по-високи нива на hsCRP ( $p=0.023$ , фиг. 33 Б) и по-ниски на албумина ( $p=0.031$ ).



Фиг. 33 Разлика нивата на sCD14 и hsCRP при HCV цироза с и без хепатоцелуларен карцином

Проведохме ROC-анализ за установяване на чувствителността и специфичността на sCD14 като маркер за хепатоцелуларен карцином при хронична С и В вирусна инфекция. (фиг. 34) Установихме площ под кривата 0.893 (при доверителен интервал 0.829-0.957, стандартна грешка 0.033,  $p=0.001$ ). Установихме, че при серумни нива на sCD14 2334.5 pg/ml чувствителността за установяване на HCC е 100 %, при специфичност 82.7 %.



Фиг. 34 ROC-анализ – sCD14 като маркер за хепатоцелуларен карцином при хронична С и В вирусна инфекция

#### **4.5.2 sCD14 при починалите пациенти**

Пациентите, които впоследствие починаха имаха значимо по-високи нива на sCD14 ( $p=0.016$ ) и hsCRP ( $p=0.008$ ) в сравнение с останалите пациенти с С вирусна инфекция (изключени са пациентите с НСС и портална енцефалопатия). Разликата не беше сигнификантна спрямо останалите циротици ( $p=0.07$ ).

#### **4.5.3 sCD14 при пациентите с портална енцефалопатия**

Четиримата пациенти с изявена портална енцефалопатия не се различаваха по стойностите на sCD14 от останалите циротици ( $p=0.7$ ), различаваха се единствено по по-ниските нива на албумина ( $p=0.002$ ).

## 5 ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Настоящото изследване е първото в България, оценяващо бактериалната транслокация и предизвиканата от нея имунната активация при пациенти с хронична вирусна С и В инфекция.

Нашите резултати сочат, че серумните нива на ЛПЗ не са подходящ маркер за оценка на бактериалната транслокация при хронична С и В вирусна инфекция, което съответства на данните от световната литература. Установено е, че не количеството преминал в кръвообращението ЛПЗ определя прогресията на хроничните чернодробни заболявания, а предизвиканият от него имунен отговор. Описано е, че степента на експресия на TLR-4 – рецепторът, медиращ ефектите на ЛПЗ в черния дроб – може да е подлежащият механизъм за по-бързата прогресия на чернодробното заболяване при някои болни. Този механизъм също може да е обяснение между групите.

Наблюдавахме значимо по-високи серумни нива на sCD14 при пациентите с С вирусна инфекция спрямо пациентите с В вирусна инфекция и здравите контроли. Тази разлика беше за сметка на пациентите с чернодробна цироза и след изключване на циротиците стана несигнификантна. При хепатит С инфекция е описана загуба на TLR-толеранс под действието на С-вирусният кор-протеин, ЛПЗ и Интерферон гама. Това води до персистираща активация на периферните моноцити и Купферовите клетки от преминалия в кръвообращението ЛПЗ и персистиране на системна и чернодробна възпалителна активност в организма.

В групата с С вирусна инфекция високите стойности на sCD14 отдиференцираха пациентите с чернодробна цироза. Тази находка не беше за сметка на декомпенсираните циротици, а беше значима и за пациентите с неусложнена цироза – компенсирана болест, без изявена портална хипертония, без варици на хранопровода. Тези пациенти имаха значимо по-високи серумни нива на sCD14 от пациентите без цироза, както и в сравнение с пациентите с напреднала фиброза (F3-4), но без развита цироза. Освен тежките промени в чревната пропускливост, мотилитет и порталното шънтиране при напреднала болест, са описани нарушения и в ранните стадии на цирозата. Наблюдават се промени в чревната флора при циротици, с намален относителен дял на някои бенефициентни щамове, което благоприятства прикрепването на патогенни бактерии към чревната стена и улеснява транслокацията им. Открити са придобити дефекти във вродения и адаптивен имунен отговор – повишена активност на противовъзпалителни цитокини, намален фагоцитарен капацитет, повишен синтез на профибротични цитокини. Тези промени от една страна

благоприятстват напредването на фиброзата, развитието на бактериален свръхрастеж и бактериална транслокация, а от друга намаляват капацитета на организма за справяне с транслокираните бактерии.

Не установихме значима разлика в нивата на маркера за бактериална транслокация по отношение тежестта на цирозата и порталната хипертония. При напредналата болест нараства честотата на усложненията, изискващи прием на антибиотик, а наличието на изразена портална хипертония и високорискови варици е свързано с прием на Пропранолол. Известно е, че чревната деконтаминация намалява степента на бактериална транслокация. Има данни за благоприятен ефект върху БТ и от приема на Пропранолол – на базата на намаляване степента на порталната хипертония и ускоряване на оро-цекалното транзитно време. Оценихме болните в отделните групи според приема на тези медикаменти и не установихме значима разлика в стойностите на възпалителните маркери. Наблюдавахме тенденция към по-ниски серумни нива на sCD14 и hsCRP при декомпенсираните циротици, приемащи Пропранолол спрямо болните, които не приемаха медикамента.

sCD14 корелираше със стадия на фиброзата, както и с маркерите за тежест на чернодробното заболяване. По-високите нива на маркера за бактериална транслокация съответстваха на по-тежка болест. Установихме корелация и с маркерите за чернодробно възпаление – цитолитичните ензими и системно възпаление – hsCRP и НОМА-индекса. Пациентите с повишена АЛТ, hsCRP и данни за инсулинова резистентност имаха значимо по-високи серумни нива на sCD14 спрямо пациентите с нормални стойности на маркерите. Освен това възпалителните маркери корелираха помежду си, както и с тежестта на фиброзата, което е в съответствие с данни от литературата за повишена системна възпалителна активност и бактериална транслокация при пациентите с по-тежка чернодробна болест. От една страна напредналата болест благоприятства преминаването на бактериални продукти в кръвообращението, а от друга – ЛПЗ и последващата имунна активация и синтез на провъзпалителни цитокини, вкл. TNF-a и TGF-b, активират Купферовите клетки и чернодробните звездовидни клетки към фиброгенеза.

При пациентите с В вирусна инфекция не установихме разлика в стойностите на sCD14 между циротиците и останалите болни, както и разлика по отношение на възпалителната активност. В момента на включване в изследването пациентите с цироза бяха на терапия с NUC, с постигнат цитолитичен и вирусологичен контрол и с компенсирана болест – Чайлд В беше само един пациент.

Интересно беше да се оцени връзката на бактериалната транслокация и инсулиновата резистентност при пациентите с хронични вирусни хепатити и особено с хепатит С инфекция. Хепатит С вирусът чрез кор-протеина си и чернодробната възпалителна активност води до развитие на чернодробна, а по-късно и периферна инсулинова резистентност, докато с постигането на траен вирусологичен отговор инсулиновата чувствителност се подобрява. Инсулиновата резистентност и диабетът от своя страна увеличават риска за развитие на декомпенсация на болестта и хепатоцелуларен карцином, като рискът персистира дори след изчистване на вируса. Описана е ролята на бактериалната транслокация в патогенезата на инсулиновата резистентност, чрез индуциране синтеза на провъзпалителни цитокини. При пациентите с по-изразена фиброза установихме по-високи нива на инсулинова резистентност, а при пациентите с инсулинова резистентност – по-изразена фиброза. sCD14 и НОМА-индексът корелираха значимо помежду си, както и по-силно със стадия на фиброзата. Това говори, че бактериалната транслокация и инсулиновата резистентност може да са кофактори за напредването на болестта, или че и двете са следствие от по-тежката степен на чернодробната фиброза. TLR-4 чрез синтеза на провъзпалителни цитокини под въздействието на преминал в кръвообращението ЛПЗ е свързващото звено между БТ, прогресията на чернодробната фиброза и инсулиновата резистентност.

Изследвахме предиктивната роля на изходните нива на sCD14 за постигането на ТВО при пациентите с хепатит С инфекция. Установихме връзка между по-високите изходни нива на маркера и последващия неуспех от интерферонова терапия. Групите на отговорилите и неотговорилите на лечението не се различаваха сигнификантно по други показатели определящи терапевтичния отговор – индекса на телесната маса, инсулинова резистентност, ниво на вирусемията, както и по стойностите на маркерите за тежест на чернодробното заболяване и възпалителна активност. Данните са в съответствие с други научни съобщения, като други автори са отдали по-високите изходни нива на маркера при неотговорилите на по-напредналата фиброза при тези болни.

Проследихме стойностите на sCD14 след постигане на ТВО при 10 болни с чернодробна цироза, провели безинтерфероново лечение. Не установихме значим спад в нивата на маркера след края на терапията, като наблюдавахме подобрене по отношение на чернодробните ензими и албумина. Други автори също са установили, че sCD14 не намалява 2 години след успешна терапия. Това може да се обясни с по-

напредналата болест при тези болни. При пациентите с чернодробна цироза персистират налична ИР и рискът за развитие на НСС, въпреки намалението на честотата на възникване на диабетни усложнения, чернодробната и общата смъртност.

В групата с хепатит В инфекция установихме значимо по-ниски нива на sCD14 при неактивните носители на вируса в сравнение с пациентите с показания за терапия, както и с тези на терапия с NUC. Наблюдавахме по-напреднала фиброза при пациентите на противовирусна терапия, което може да обясни разликата в нивата на маркера. Последният не се различаваше между пациентите с негативна и откриваема вирусна и не корелираше с нивата на HBV DNA при наивните пациенти. Други автори са описали негативна корелация с HBsAg, както и по-високи нива на маркерите за бактериална транслокация при пациенти с позитивен HBeAg.

Пациентите с С вирусна инфекция и НСС имаха значимо по-високи серумни нива на sCD14 в сравнение с останалите болни в групата. Маркерът не отдиференцира пациентите с НСС от останалите болни с чернодробна цироза. Заедно с него наблюдавахме и значимо по-високи нива на hsCRP. Описана е роля на повишената бактериална транслокация и системна възпалителна активност в канцерогенезата, както и повишената чревна пропускливост и степен на БТ при напреднал чернодробен рак. Описано е забавяне на туморния растеж при терапия за БТ, както и спад в маркерите за БТ при успешно третиране на хепатоцелуларния карцином. След набиране на достатъчно данни маркерът би могъл да се използва в проследяването и профилактиката на НСС при високорискови групи.

## 6 ИЗВОДИ

1. Серумните нива на ЛПЗ не корелират с тежестта и активността на чернодробното заболяване при хронични вирусни хепатити С и В.
2. По-високите серумни нива на sCD14 отдиференцират болните с чернодробна цироза в групата с С вирусна инфекция. Този феномен не е във връзка с тежестта на чернодробната цироза.
3. По-високи серумни нива на sCD14 при С вирусна инфекция съответстват на по-активно чернодробно възпаление и по-изразена системна възпалителна активност.
4. По-високите изходни нива на sCD14 при хроничен вирусен хепатит С съответстват на по-лош терапевтичен отговор към Интерферон-базирани режими.
5. Неактивните носители на В вирусната инфекция имат по-ниски серумни нива на sCD14 от наивните пациенти, които имат показания за специфична противовирусна терапия.

## **7 ПРИНОСИ**

1. За първи път в България се оцени връзката между бактериалната транслокация и чернодробното заболяване при хронични вирусни хепатити В и С.
2. Определи се sCD14 като сигнификантен маркер за бактериална транслокация при хронична С и В вирусна инфекция.
3. Установи се връзка на sCD14 с тежестта на заболяването при пациенти с хронична С вирусна инфекция.

## 8 ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

- 1) **Lyudmila Kancheva**, Petar Nikolov, Tsvetelina Velikova, Ivan Valkov, Rossen Nikolov, Lyudmila Mateva, Soluble CD14 is associated with disease activity and severity in chronic viral hepatitis C and B, Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences (под печат)
  
- 2) **Л. Кънчева**, П. Николов, Ц. Маринова, А. Алексиев, Д. Попов, А. Иванова, Р. С. Иванова, Д. Желев, К. Антонов, Р. Николов, Л. Матева, sCD14 корелира с активността и тежестта на чернодробното заболяване при пациенти с хроничен хепатит С, Българска хепато-гастроентерология, 2016, кн. 2, 35-39
  
- 3) **Людмила Кънчева**, Патогенетична роля на бактериалната транслокация при хроничен вирусен хепатит В и С, Българска хепато-гастроентерология, 2016, кн. 2, 45-50