МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ

КЛИНИКА ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ
УМБАЛ “СВЕТИ ИВАН РИЛСКИ“ЕАД

Еволюция на напредналата чернодробна болест след успешна ерадикация на хронична HCV инфекция с директно действащи антивирусни средства

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР“
по област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт,
професионално направление 7.1 Медицина

Докторант: д-р Христо Пенчев Пенчев

Научна специалност - Гастроентерология

Научен ръководител:
ПРОФ. КРАСИМИР АНТОНОВ АНТОНОВ, дмн
Катедра по вътрешни болести, МФ, МУ-София
КЛИНИКА ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ
УМБАЛ„СВЕТИ ИВАН РИЛСКИ” ЕАД, ГР. СОФИЯ

София, 2023

Съдържание

Използвани съкращения:

на кирилица:

АЛАТ – аланин аминотрансфераза

АСАТ – аспартат аминотрансфераза

α2МГ – алфа-2 макроглобулин

БАР – биполярно афективно разстройство

ГГТ – гама-глутамилтранспептидаза

ГИТ – гастро- интестинален тракт

ГФ – гломерулна филтрация

ДДАС – директно действащи антивирусни средства

ЕАЦО- ефективен артериален циркулиращ обем

ЕВЛ – ендоскопско връзково лигиране

ЕМ- екстрацелуларен матрикс

ЕП - енцефалопатия

НАСХ- неалкохолен стеатохепатит

ПХ – портална хипертония

ПЧР – първичен чернодробен рак

РААС – ренин-ангиотензин-алдостеронова система

СБП – спонтанен бактериален перитонит

ТВО – траен вирусологичен отговор

ХБЗ – хронична бъбречно заболяване

ХЗСН – хронична застойна сърдечна недостатъчност

ХК – хиалуронова киселина

ЧБ – чернодробна биопсия

ЧТ – чернодробна трансплантация

на латиница:

AAR – AST/ALT ratio

API – age-platelet index

ADAMTS – дисинтегрин и металопротеиназа с тромбоспондинов домейн

BCRP – brest cancer resistance protein

GUCI - Göteborg University cirrhosis index

CDS - cirrhosis discriminate score

CTPS – Child-Turcotte-Pugh Score

CYP – цитохром P

DCP -des-gamma carbocy protrombin

ECM -екстрацелуларен матрикс

FIB-4 – fibrosis-4

GAPRI (GPR) - gamma-glutamyl transpeptidase to platelet count

HBV – вирусен хепатит B

HCV – вирусен хепатит C

HCC – хепатоцелуларен карцином

HPS – хепатопулмонален синдром

HRS – хепаторенален синдром

HSC – чернодробни звездовидни клетки

MELD – model for end-stage liver disease

METAVIR – Meta-Analysis of Histologic DATA in Viral Hepatitis

MMP – матриксни металопротеинази

NPV – negative predictive value

PPV – positive predictive value

PIIINP - амино-терминален пропептид от тип III колаген

LDL – липопротеини с ниска плътност

VLDL – липопротеини с много ниска плътност

HIV – човешки имунодефицитен вирус

HBV – хроничен вирусен хепатит B

HVPG – градиент на чернодробно венозно налягане

TIMP – тъканни инхибитори на металопротеиназите

TIPS - Transjugular intrahepatic portosystemic shunt

UA- пикочна киселина

1. Въведение

След навлизането на ДДАС лечението на хроничната HCV инфекция е лесно, достъпно, с голяма успеваемост и добра поносимост от страна на пациентите. Поради редица причини многообразие от неинвазивни методи заместват хистологичното изследване за оценка на степента на чернодробно увреждане на изходно ниво. Проследяването на промени след постигането на ТВО в чернодробната болест чрез хистологично изследване отдавна се отхвърли като неподходящо. Това налага отдиференцирането на комплекси от неинвазивни методи за изследване, които да дадат информация за протичащите оздравителни процеси в черния дроб или липсата на такива. Тези неинвазвини методи трябва да отговарят на изискванията за голяма безопасност, чувствителност, специфичност, репродуктивност, при ниска цена.

В случаите на чернодробна цироза (компенсирана или декомпенсирана) липсват сигурни методи за документиране на благоприятен ход след ерадикация на инфекцията.

2. Литературен обзор

2.1 Вирусен хепатит С

HCV е малък вирус, с едноверижна положителна РНК. Принадлежи към хепацивируси от семейство Flaviviridae (1) Вирионите са 45-65 nm в диаметър и са обвити от двоен липиден слой. В този слой се намират и два гликопротеина Е1 и Е2. Тази обвивка заобикаля нуклеокапсид, съставен от множество копия HCV core протеин и положително заредена РНК. Белтъците се разделят на структурни (core, Е1, Е2) и неструктурни протеини (п7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B. Вирионите се асоциират с липопротеини с ниска плътност и с много ниска плътност от приемника. По този начин се образуват липовирусни частици. Липовирусните частици съдържат и аполипопротеин В (2) .

HCV е хетерогенен вирус. В целия свят са описани седем генотипа с много подтипове (3). При инфектираните индивиди се наблюдава позитивен резултат за антитела за HCV, но активна вирусна репликация се доказва чрез количествено определяне на HCV RNA. Поради персистиране на антителата, както и фалшиво-положителни резултати, HCV RNA се използва за проследяване и за доказване на ТВО, както и за релапс или ре-инфекция. По тази причина е необходимо скриниране на рискови групи за анти- HCV антитела и последващо изследване на вирусен товар при положителните. Пациентите с излекувана инфекция не са защитени от повторно инфектиране при нова експозиция. Необходимо е провеждане на скрининг сред рисковите групи, в това число най- вече хора инжектиращи наркотици, лишени от свобода, емигранти, хора с рисково сексуално поведение и други с нисък социално-икономически статус (4). Според повечето препоръки вече не е необходимо определяне на генотип, ако е достъпно пангенотипно лечение.

Епидемиологичните данни за страната са оскъдни, непълни и обикновено едноцентрови. В по стари данни около 1.3 % от скринираното население в България е анти- HCV (+) пол. (5). Нов опит за натрупване на епидемиологични данни в Стара Загора и областта е завършил неуспешно(6). Според данни на К. Антонов от 2014 г. най- честият генотип е 1 – 84,7 % (7). Само няколко години по- късно (2016-2017 г.) относителният дял на генотип 1 намалява и то за сметка на генотип 3, макар да остава най- честият. (8). От тези резултати може индиректно да съдим и за промяна в пътя на предаване (генотип 3 е типичен за по- млади инфектирани болни (7)). В нито едно проучване не са установени значими разлики в стойностите на вирусния товар по пол, нито по генотип,

но зависи от субгенотипа (има разлика между стойностите при 1a и 1b) (7)(8). Според Антонов хистологичната активност зависи от количеството на HCV RNA, но не и фиброзата (7). При по- възрастните болни по- често се среща по- тежка степен на фиброза (9).

По литературни данни HCV води до хронична инфекция в до 85 % от инфектираните индивиди, която е причина за напреднала чернодробна фиброза и цироза. Данните изнесени за пациенти от Българската популация, за период от една година 2016 г. – 2017 г., са сходни – при 80 % от положителните за анти-HCV Ab се наблюдава активна вирусна репликация (8). Хроничната инфекция поддържа хроничен възпалителен процес, който води след себе си до фиброза на черния дроб, цироза, HCC (10). Заболяването прогресира през тези етапи с времето (11).

Макар острата инфекция да протича най-често безсимптомно, клиничната презентация включва жълтеница, гадене, болка в десен хипохондриум или артралгия. Тези прояви в острия период се свързват с по-ниска честота на хронифициране. За период от 20-30 години хроничната инфекция прогресира до чернодробна цироза, като голяма част от пациентите разберат за наличието на инфекцията при авансирало заболяване. При декомпенсиране на чернодробното заболяване се наблюдава асцит, кървене от гастроинтестиналния тракт (ГИТ), иктер, чернодробна енцефалопатия. Сериозно късно последствие е и развитието на HCC. Пациентите съобщават за оплаквания като гадене, загуба на тегло, болки в мускулите и ставите, сърбеж, тежест и болка в дясно подребрие. Прогресията на заболяването се влияе от множество фактори, включително възраст, пол, алкохолна консумация, ко-инфекция с вирусен хепатит B, HIV (12).

Усложненията на HCV инфекцията, включително и смъртността, без връзка с чернодробното заболяване, най- чето се наблюдават при пациенти развили цироза. Клинични прояви на чернодробна цироза се наблюдават при по-малко от половината пациенти, които не са декомпенсирани(13). По тази причина е необходим редовен скрининг с различни методи, включително и транзиентна еластография (14).

Най-често първи признак на декомпенсация е асцитът, следван от кървене от варици, енцефалопатия и жълтеница, като годишният риск за декомпенсация е около 5 % при пациенти с чернодробна цироза (15). При първи прояви на декомпенсация смъртността е около 50 % за 5 години(16). Обнадеждаващи данни сочат, че при лечение с ДДАС се наблюдава клинично-значимо повлияване на прогресията, развитието на HCC и

необходимостта от чернодробна транспалнтация (17). Въпреки това при MELD над 18-20 точки не се очаква достатъчно подобрение в чернодробната функция само с противовирусна терапия (18).

При пациенти с установена чернодробна цироза терапията с антивирусни средства може да предотврати прогресия на заболяването и прояви на декомпенсация (19). Има доказателства, че приложената спрямо европейските препоръки противовирусна терапия намалява (без да елиминира) риска от развитие на HCC с над 70 % (20). Логично, предвид натрупаната информацията за интерферон- базираната терапия, вече се появяват сходни данни, че ерадикацията на HCV с ДДАС намалява екстрахепаталните прояви на вирусната инфекиця – сърдечно- съдовите, метаболитните, бъбречните и хематологичните, като подобрява и качеството на живот (17). При първи прояви на декомпенсаця 5 годишната преживяемост е от 20 до 57 % (21).

За интерферон-базираната терапия се знае, че постигането на ТВО довежда до по- ниска обща смъртност (22), а според мета-анализ рискът от развитие на HCC намалява с поне 70 % (абсолютна редукция на риска с 4.6%) независимо от степента на фиброза (23). Естествено при пациенти с чернодробна цироза рискът остава, макар и да намалява. Очаква се успешното лечение с ДДАС да покаже редукция на риска от HCC, подобно на безинтерфероновия режим.

Според други доклади се възлага голяма надежда излекуването на HCV, при пациенти с излекуван HCC да намалява вероятността на рецидив. Тази теория се базира на намаляване на некроинфламаторния отговор следствие на успешното лечение. В определени публикации се посочва, че се увеличава вероятността за по- ранен рецидив, но и за по- агресивен ход на карцинома (24). Предполага се, без да е доказано, че това се дължи на имунни нарушения следствие на терапията. Противоречива е и информацията, поради предположения, че ДДАС могат да участват в карциногенезата (25).

Доста разискуем остава въпросът при пациентите с HCV – асоциирана цироза, провели радикално лечение за HCC. Според литературната справка те са с повишен риск от рецидив, дори при последваща ерадикация на HCV с ДДАС По тази причина са необходими още проучвания при тази група от пациенти в отношението полза/риск от лечението, спрямо честотата на рецидив на онкологичното заболяване. (19)

Разнопосочни данни от групи изследователи от целия свят са следствие на ограничения като ретроспективно проучване, липса на скрининг за ПЧР, кратък период на

проследяване и загуба от проследяване на голям брой пациенти. Сред публикациите важни са данните от метаанализ, които сочат, че не може да се докаже разлика в честотата на новопоявил се рак на черния дроб при терапия с интерферон или ДДАС, като отново се наблюдават същите ограничения. Ретроспективно изследване (n=22,500) показва редукция в честотата на новопоявилия се ПЧР при пациенти постигнали ТВО. (26)

2.2 Фиброгенеза:

Натрупването на фиброза в черния дроб е част от процеса на възстановяване на органа от хронични увреди като вирусни хепатити, автоимунни болести, генетични дефекти и токсини. За напреднала фиброза се приема ≥F2 по METAVIR (разширени портални пространства с единични септи), където вече рискът от цироза не може да се пренебрегне.

Следствие на увреда чернодробните звездовидни клетки претърпяват фенотипни промени в миофибробласт – подобни клетки, които произвеждат компоненти от екстрацелуларния матрикс (27). Още в началото се активират клетки, които участват във възпалението. Много от медиаторите на възпалението се продуцират от увредените хепатоцити, холангиоцити и ендотелни клетки. Физиологичната функция на HSC е да натрупват ретиноиди, като те се откриват в перисинусоидалното пространство (28).

Чернодробните синусоидални ендотелни клети са фенестрирани и са без базална мемрана. С напредване на хроничното чернодробно заболяване синусоидите капиляризират и се трансформират в системни капиляри – капиляризация на синусоидите. Хистопатологично се наблюдава дефенестрация, формиране на базална мембрана, фиброобразуване в пространството на Disse. Нарушава се транспортът на различни вещества между хепатоцитите и кръвообръщението, което допълнително води до дисфункция на чернодробните клетки (29).

Известни са четири члена на семейството на тъканните инхибитори на металопротеиназите, като те са с до 50 % сходство помежду си. В резултат на натрупване на съединителна тъкан се развива патологично състояние наречено чернодробна цироза. Това състояние се характеризира с натрупване на съединителна тъкан, промяна в архитектониката на черния дроб и образуване на регенеративни нодули (30)

Персистирането на регенерационните стимули води до акумулиране на ексцесивни количества от екстрацелуларен матрикс (ЕМ) и дисорганизация в архитектониката на

чернодробната тъкан. Основен източник на екстрацелуларен матрикс са чернодробните звездовиди клетки (ЧЗК), които под въздействието на увреждащ фактор преминават през активация. Чрез тази активация латентните, богати на витамин А клетки се превръщат в пролифериращи, фиброзопродуциращи с контрактилна функция клетки (31). ЧЗК също така участват в ремоделирането на ЕМ чрез доставянето на матриксни металопротеинази (ММР) и тъканни инхибитори на металопротеиназите. (TIMP).

2.2.1 Участие на ТИМП в развитието на чернодробната фиброза

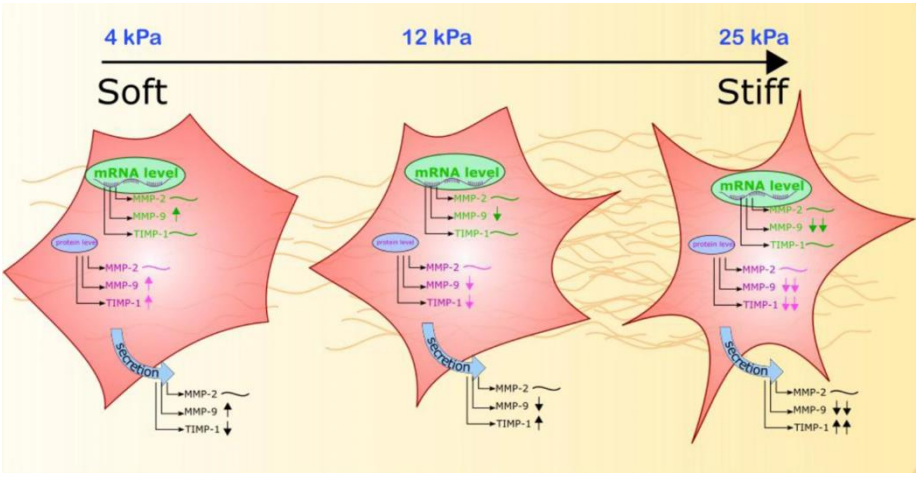
ММР участват в деградирането на нормалния матрикс при началните етапи на фиброзиране, като улесняват заместването на нормална тъкан с фиброза (32). ММР играят основна роля измежду протеиназите участващи в катаболизма на екстрацелуларния матрикс (ЕМ). Други такива протеинази са колагенази, желатинази, стромелизини, матрелизини, мембранен тип металопротеинази и дисинтегрин, и ADAMTS. Закотвените за мембраната ADAM металопротеинази, (така наречените „шедази“) освобождават протеолитично екстрацелуларни домейни на молекули по клетъчната повърхност (мембрано-свързани растежни фактори, цитокини, молекули участващи в клетъчната адхезия) (33). Нарушаването на баланса между произвеждането и инхибирането на активните ензими може да доведе до болести свързани с неконтролиран turnover на екстрацелуларния матрикс, възпаление, клетъчен растеж и миграция. Примери за такива болести са артрит, сърдечно-съдовите болести, рак, белодробни болести, нефрит, неврологични болести и тъканни улцерации (34). В изнесени резултати от последните години експресията на TIMP-1 може да се обвърже с прогнозата при онкологични заболявания – папиларен тиреоиден карцином, стомашен карцином, малигнен меланом, карцином на гърдата (35–38). При карцином да дебелото черво TIMP-1 е значимо по- експресиран, отколкото в нормална мукоза, като има статистически значими разлики при метастази в локорегионалните лимфни възли, както и при далечна дисеминация (39).

Тъканните инхибитори на металопротеиназите са ендогенни инхибитори на тези металлопротеинази и са важни регулатори на описаните порцеси (40). В човешкия геном има 4 гена кодиращи TIMP-ове от 1 до 4. Различните TIMP-ове имат до 50 % сходство помежду си. Протеините кодирани от генната фамилия за TIMP са инхибитори на ММР. От протеините, които се кодират от тази фамилия промотират и пролиферацията на група клетки и може би участват в процесите възпиращи апоптозата. Транскрипцията се

индуцира във висока степен от редица цитокини и хормони. Тези гени се допуска, че се инактивират от полиморфни гени в Х хромозомата.

Всичките TIMP-ове инхибират ММР с различен афинитет. Най-широк спектър има TIMP-3 (41), но TIMP-1 се смята за главен инхибитор на ММР (42)(43). През седмото десетилетие на 20 век е открита функция на TIMP-1 като инхибитор на колагена в клетъчна култура на фибробласти от човешка кожа и човешки серум (44). В последствие е открито, че е протеин с молекулна маса 25-31 kDa. Генът му е кодиран на хромозома Xp11.3-p11.23, като се кодира mRNA, съдържаща 931 двойки бази, както и протеин, съставен от 207 аминокиселини, като този протеин е с протеолитична активност към ММР (45). Доказано е, че инхибира също желатиназа и протеогликаназа (металопротеиназа-3) (46). Друго специфично е, че той е тясно свързан за екстрацелуларния матрикс (47). ММП и TIMP се произвеждат от активираните чернодробни миофибробласти, поради което може да са свързани с фиброгенезата. Експресията на ММР от миофибробластите промотира ензимнат резолюция на фиброзата като се разгражда отложеният екстрацелуларен матрикс. Напълно възможно е балансът ММР-TIMP да определя степента на фиброгенезата (42)(43). ММР и техните специфични инхибитори, TIMP, в много изследвания са показали, че са свързани не само с чернодробната фиброгенеза, но и с фибринолизата (48)(49). При проведено проучване върху 84 пациента с диагностицирана цироза (по системата CTPS 20 пациента клас А, 32 клас В, 32 клас С) и доказана портална хипертония се е определил общ TIMP-1 (свободен и в комплекс с ММР) от кръвни проби взети едновременно от феморална артерия и портална вена. Изведени са няколко заключения. Едно от основните открития е, че стойностите на TIMP-1 са значително повишени при пациенти с цироза. Също така има прогресивно повишаване в различните класове по CPS. TIMP-1 може да е силен предиктор за портална хипертония. Стойностите на TIMP-1 са по-високи при пациенти с асцит, в сравнение с тези без асцит (50).

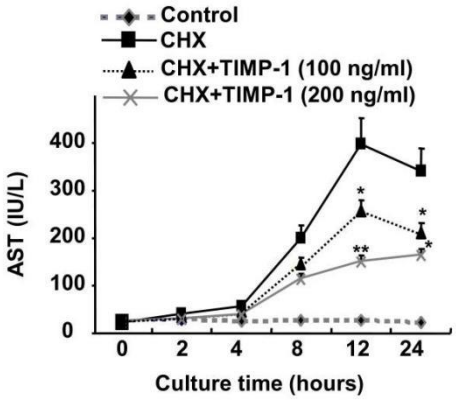
При експериментална постановка, с култури на звездовидни клетки в среда, с близка плътност до здрав черен дроб, плътност като при цироза и плътност, достатъчна за развитие на усложнения, звездовидните клетки приели морфологията на миофибробласти, като ММР-9 се редуцирал значително, а TIMP-1 интраклетъчно се е намалил, а в междуклетъчното пространство се е увеличил. Най- важното заключение от този експеримент бил, че нивата на TIMP-1 са зависими от плътността, тоест са и механозависими (фиг. 1).



Фигура Промени в регулацията на TIMP-1 и MMP-2, MMP-9 при различна ригидност на средата в експериментална обстановка. MMP – матриксна металопротеиназа, TIMP- тъканен инхибитор на металопротеиназите Lachowski, D., Cortes, E., Rice, A. et al. *Matrix stiffness modulates the activity of MMP-9 and TIMP-1 in hepatic stellate cells to perpetuate fibrosis.* Sci Rep ***9****, 7299 (2019)*

В ролята си на инхибитор на MMP, TIMP-1 показва една малка част от клетъчните ефекти, които изпълнява – да промотира фиброзата, да инхибира регенерацията на черния дроб, да предпазва активираните звездовидните клетки от апоптоза. В последствие се установява, че молекулата може да се разглежда и като цитокин, който се свързва с различни клетъчни структури. Оказва се, че TIMP-1 има известна дуалистична роля в процесите настъпващи в черния дроб при физиологични и патологични състояние. Освен, че се синтезира от активираните стелатни клетки и от Купферовите клетки, има доказателства, че TIMP-1 се произвежда и от хепатоцитите(51,52). С цел определяне на ролята на TIMP-1 във фиброобразуването са изследвани мишки с делеция на гена за TIMP-1 и резултатите са сравнени с див тип. При лабораторна постановка с инжектиране на въглероден тетрахлорид на див тип гризачи и такива с TIMP-1$^{-/-}$ са установени по- широки зони на некроза в черния дроб на TIMP-1$^{-/-}$ мишки, корелиращо и с многократно по- високи нива на чернодробните ензими. При хронична експозиция на въглероден тетрахлорид е установена по- често bridging фиборза както и по- изразена експресия на гладко мускулен актин. При прилагане на въглероден тетрахлорид върху клетъчни култури третирани с TIMP-1 (в

различни концентрации) и без TIMP-1 е показана също забележителна разлика (фиг. 2)



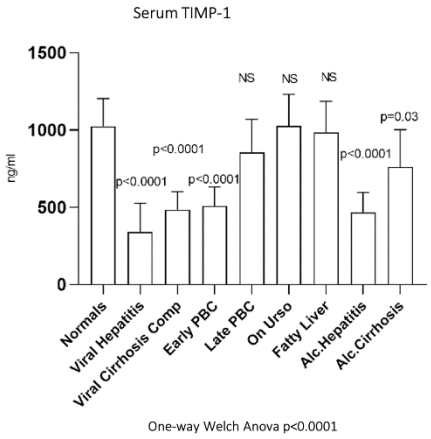
(53).

Фигура Инкубирани хепатоцити с и без циклохексимид в комбинация и без TIMP-1 Wang H, Lafdil F, Wang L, Yin S, Feng D, Gao B. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) deficiency exacerbates carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis in mice: i

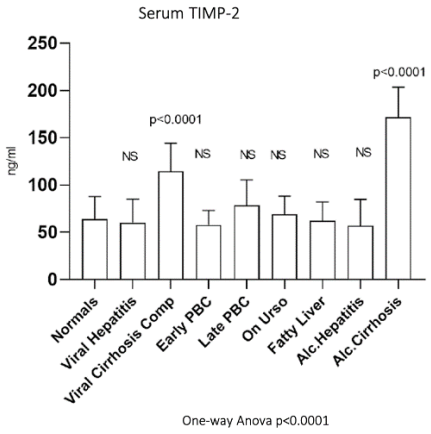
За дуалистичната роля на TIMP-1 може да се съди и по връзката му с други два показателя с противоречива роля в чернодробните заболявания – сигнален трансдюсер и активатор на транскрипцията 3 (STAT3) и интерлевкин-6 (Il-6), присъствието на които увеличава концентрацията на TIMP-1. Il-6/STAT3 сигналният път повишава продукцията на TIMP-1, което води до защита на хепатоцитите от външни фактори.

STAT3 е цитоплазмен транскрипционен маркер от семейството на Janus киназите (JAK-STAT). Сред многообразието от пептидни хормони, които могат да активират STAT3, най- добре са изучени фамилията на Il-6. STAT3 е набеден, че играе двойна роля – притежава хепатопротективна и пролиферативна функция (54).

Като потвърждение, че все още не са ясни напълно промените в концентрацията на TIMP-1 се явяват по- нови резултати, при които има неоднопосочни промени в TIMP-1, които се различават дори при различните етиологии на чернодробно увреждане. При изследване на 140 пациента с първичен билиарен холангит, вирусни хепатити, НАСХ и алкохолна генеза, в различни стадии на напредналост е установена значимо намалена активност на ММР-1, ММР-2, ММР-9 при болните в сравнение със здравите контроли. Изключение са били пациентите с НАСХ и тези с първичен билиарен холангит на терапия с УДХК. Най- интересен и непредвидим с резултатът при TIMP-1. Докато TIMP-2 следва до известна степен предполагаемата тенденция за по- високи нива при пациенти с по- напреднало заболяване, то TIMP-1 е по- нисък при пациентите с чернодробно заболяване, отколкото при здравите контроли (фиг.3 и фиг. 4).



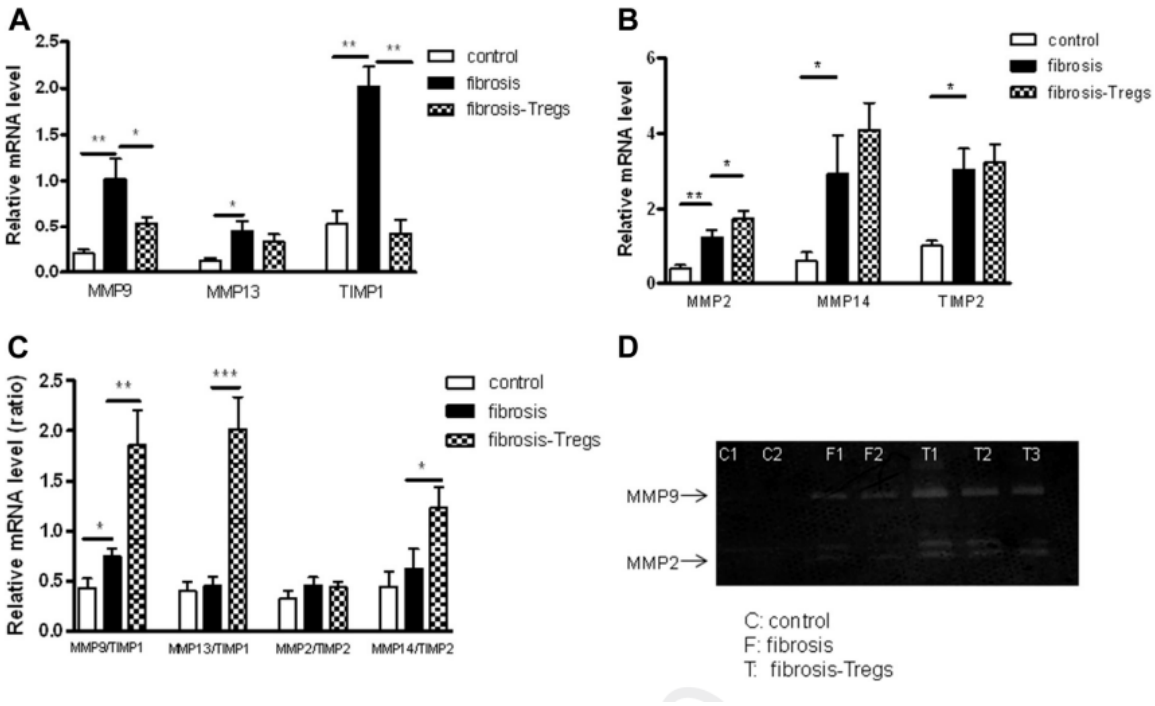
Фигура Разлики в TIMP-1 при различни етиологии и стадии на чернодробно заболяване. Tsomidis, I.; Notas, G.; Xidakis, C.; Voumvouraki, A.; Samonakis, D.N.; Koulentaki, M.; Kouroumalis, E. Enzymes of Fibrosis in Chronic Liver Disease. Biomedicines 2022, 10, 3179.



Фигура Разлики в TIMP-2 при различни етиологии и стадии на чернодробно заболяване. Tsomidis, I.; Notas, G.; Xidakis, C.; Voumvouraki, A.; Samonakis, D.N.; Koulentaki, M.; Kouroumalis, E. Enzymes of Fibrosis in Chronic Liver Disease. Biomedicines 2022, 1

Сред многото възможни обяснения на авторите се споменава и дисрегулацията на сигналите на Купферовите клетки и Т-регулаторните лимфоцити (Tregs), които се наблюдават при HCV (55). Tregs се докладва, че влияят върху NK (natural killers) клетките, върху звездовидните клетки и върху механизмите между тях. Повишени количества Tregs са открити в периферна кръв на пациенти с HCC, но все още не е ясна ролята, която изиграват в натрупването и разграждането на съединителната тъкан в черния дроб. От резултати както върху миши черен дроб, така и човешки е установено, че при напреднала фиброза се концентрират Treg (особено при HCV-етиолгоия). При мишки, при които е установена деплеция за Treg, се е наблюдавала и резолюция на фиброзата. Деплецията на Treg освен това намалява TIMP-1, като променя и отношението на MMP/TIMP-1 в полза на MMP. В моделите, при които не е осъществена

деплеция на Treg, не се наблюдава значима промяна в TIMP-1 или MMP, нито значима разлика със здравите (56).



Фигура Разлика в TIMP-1, w MMP/TIMP-1 при животински модели, вкл. след деплеция на Treg. X, Feng M, Liu X, Bai L, Kong M, Chen Y, Zheng S, Liu S, Wan YJ, Duan Z, Han YP. Persistence of cirrhosis is maintained by intrahepatic regulatory T cells that inhibit fibrosis resolution by regulating the balance of tissue inhibitors of metalloproteinases and matrix metalloproteinases. Transl Res. 2016 Mar;169:67-79.e1-2. doi: 10.1016/j.trsl.2015.10.008. Epub 2015 Nov 6. PMID: 26613891.

Treg клетки освен това се активират от звездовидните клетки в присъствието на дендритни клетки и TGF-β_1 (transforming growth factor) (57). TIMP-1 провежда епигенетично подтискане върху MMP, които са основните ензими, участващи в разграждането на фиброзата. За да претърпи обратно развитие цирозата трябва да се увеличи отношението MMP/TIMP-1.

MMP-3 и TIMP-1 участват заедно или по отделно в редица патентовани и непатентовани скорови системи за диагностика на чернодробна цироза като ELF, HALT-C model (58).

2.3 Усложнено чернодробно заболяване и рекомпенсация

Компенсираната цироза може да се групира спрямо наличието или отсъствието на клинично- значима портална хипертония. *ПХ* (трайно повишение в налягането в системата на порталната вена) е водещата причина за наличието на асцит и варици.

Чернодробните синусоиди в норма са пропускливи за протеини. При повишено налягане в тях, протеините от плазмата, в резултат на повишения хидростатичен градиент, трансудират в интерстициума (пространството на Disse). Следствие на това се увеличава потокът на лимфа, който се връща във венозната циркулация през ductus thoracicus. Когато капацитетът на ductus thoracicus не може да осигури връщането на образуващата се чернодробна лимфа, тя се натрупва в перитонелното пространство, като постепенно намалява ЕАЦО (59). Повишеното интрасинусоидално хидростатично налягане се предава в системата на порталната венозна циркулация с разрастване на спланхникусовата венозна система (образуване на порто-системни шънтове). Следствие на капиляризация на синусоидите, нарушената пропускливост за протеини и намаленото онкотично налягане задълбочават трансудацията в чернодробното лимфно пространство.

Порталното налягане се измервана чрез определяне на HVPG, като клинично значима портална хипертония (при вирусна етиология) се наблюдава при HVPG > 10 mmHg. Въпреки, че е „златен стандарт“ (Baveno VII), HVPG може да е неточно в редица ситуации. Например, при порто- синусоидално съдово нарушение, усложнения се наблюдават при по- ниски стойности, при декомпенсирана чернодробна цироза се измерва по- ниско, а при алкохолна етиология – по-високо. При някои причини, вкл. и вирусна, при плътност от 25 kPa специфичността и чувствителността за значима портална хипертония- ендоскопски белези, както и за прояви на декомпенсация са > 90% (60).

При появата и на рефрактерност към вазопресорния ефект на ангиотензин II и катехоламините се наблюдава и спланхникусова, и системна вазодилатация. Под въздействието на shear-stress силите, в условията на хипердинамичната циркулация и порталната хипертония се установява повишена локална експресия на eNOS, водеща до продукцията на вазодилататори (NO, CO, PGI_2, адреномедулин и ендогенни опиати). Следствие на хипердинамичната циркулация се поддържа системното артериално налягане в нормални стойности, докато не се наблюдава декомпенсация със засягане на други области, намаляване на ЕАЦО и развитие на бъбречна вазоконстрикция (61).

В западния свят натрупването на абнормно количество течност в перитонеалната кухина (*асцитът*) най- често се дължи на цироза (над 80% от случаите)(62). Асцит се очаква да се развие в 60% от пациените с чернодробна цироза в рамките на 10 години от поставяне на диагнозата. Състоянието се свързва със сериозно нарушение в качеството

на живот на пациентите и е предпоставящ фактор за по- нататъчни усложнения – спонтанен бактериален перитонит, хипонатриемия, остра бъбречна увреда. Според различните проучвания 1-годишна преживяемост при пациенти след развитие на асцит е 71 % (63), докато 5-годишната преживяемост се равнява на 30 %. За сравнение, 5-годишната преживяемост при компенсирана цироза е 80%(62). Натрупването на асцит е следствие на задръжка на натрий, активация на РААС и симпатикусовата нервна система. Според класическата теория за „артериалното недопълване“ асцитът се формира на основата на трансудация при декомпенсирано чернодробно заболяване, водещо до намален ЕАЦО. Намаленият ЕАЦО се регистрира от артериални барорецептори, носещи информация до вазомоторния център и активация на симпатикусовата нервна система, РААС, като е налице и неосмотично хиповолемично стимулиране на АДХ. Получава се затворен кръг, в който участва повишената тубулна реабсорбция на Na^+ и H_2O с намален клирънс на осмотично свободната вода и положителен натриев баланс, допълнително увеличаващо формирането на асцита (59). Последица е експанзия на екстрацелуларна течност. Бъбречните нарушения водещи до натриева задръжка са следствие на тяхната вазоконстрикция, предизвикана от спланхнисувата вазодилатация. За циркулаторните нарушения допринася и системния възпалителен отговор при пациенти с напреднало чернодробно заболяване(64). Късно в еволюцията на чернодробната цироза като патофизиологичен фактор се добавя хипоалбуминемията (59).

При декомпенсирана чернодробна цироза ретенцията на Na^+ е вторично стимулирана и не е свързана с първично намален ЕАЦО. На фона на портална хипертония се наблюдава прекомерна задръжка на Na^+ и H_2O, следствие на което се образува асцит. Тоест, тези електролитни промени изначало не зависят от фактори като сърдечен дебит, средно артериално налягане, промени в спланхникусовото кръвообръщение, в кръвотока на чернодробната артерия, ГФ, бъбречният кръвоток, нивата на алдостеронът или симпатикусовата активност. Първичният стимул за задръжка на Na^+ от бъбрека се оказва повишеното интрахепатално налягане. Впоследствие на нарастналото интрахепаталното венозно налягане се наблюдава и повишена бъбречна и кардиопулмонална симпатикусова активност (59). Денервацията на черния дроб при експериментална постановка (при чернодробен венозен застой) е довел до увеличаване на уринна екскреция на Na^+, тоест до намалено възприятие за хиповолемия (65). Естествено посочените по- горе механизми са в някои несъответствия с вече споменатана

теория за „артериалното недопълване“. Интересно е да се добави, че повишените нива на жлъчните киселини в условия на декомпенсирана чернодробна цироза въздействат пряко върху бъбрека, като потискат изоосмотичната реабсорбция на Na^+ в проксималния тубул (66).

Следствие на редица изменения болните с чернодробна цироза са по- често застрашени от редица бактериални инфекции, сред които бактериемия, клостридиални инфекции, целулит, пневмония, СБП и инфекции на отделителната система. Все още не е напълно изяснено, дали инфекциите са с повишена честота при чернодробна цироза без клинично-значима портална хипертония, но те могат да причинят декомпенсация, по-чети са при пациенти с декомпенсирана цироза и водят до по- нататъчна декомпенсация (преминаване на пациента в стадий на по- лоша прогноза, след предходна проява на декомпенсация) (40)(67).

Цирозата и порталната хипертония водят до нарушения във васкулатурата на редица органи като засягането на сърдечно- съдовата и дихателната система е по-често. Тези пациенти не рядко се диагностицират с кардиомиопатия и хидроторакс. Относно белодробната циркулация са отдиференцирани 2 състояние –HPS и портопулмонална хипертония. И двете състояния са с ненапълно разгадан механизъм.

HPS се наблюдава при съдови промени, водещи до нарушения в обмяната на газовете, като се наблюдава в 5-30 % от пациентите при начална оценка за чернодробна трансплантация. Единственото лечение, което подобрява симптоматиката и при което в част от случаите HPS търпи обратно развитие е чернодробната трансплантация. Трябва да се има предвид, че пациентите с HPS след чернодробна трансплантация са с по- малка преживяемост от тези без данни за HPS (68). В досега публикуваната литература не е установена ясна корелация между тежестта на чернодробното заболяване и HPS (69). Един от критериите за поставяне на диагнозата е доказване на интрапулмонални шънтове чрез контраст-усилена ехокардиография (70).

Сред засяганията на гастро-интестиналния тракт са кървенето, което се дели според източника на варикозно и неварикозно, протеин- губещата ентеропатия и венозната тромбоза. След варикозно кървене преживяемостта е 80 % (63).

Като наблюдавано с висока честота, повлияващо хода на болестта (участващо в основните скорови системи за преживяемост) е засягането на бъбреците (*хепаторенален синдром*, глумерулонефрити и други). HRS е част от каскада от събития, асоциирани с

изразена дилатация на артериите на паренхимните органи при чернодробна увреда. Следствие на това се наблюдава вазоконстрикцията на бъбречните артериални съдове, водеща до бъбречна недостатъчност. Тъй като няма органна увреда на бъбреците, състоянието е потенциално обратимо (71). Въпреки, че се наблюдава най- често (25%) при пациенти с остра чернодробна недостатъчност (или остра върху хронична) при основна нокса алкохол (72), има редица проучвания за четотата при различни класове по CPS. В едно от тези проучвания се посочва индиректно, че HBV и HCV са водеща етиологична причина за декомпенсирана чернодробна цироза, усложнена с HRS (73). Естествено целите на публикацията не са разделяне на болните спрямо етиологията и е проведено върху малка група от пациенти, поради което са необходими по-широкообхватни разработки. Освен описаните в предходния абзац причини за промяната в концентрацията на Na^+, задръжката на течности, промяна в циркулацията, като допълнителна причина може да се посочи и намаленият клирънс на черния дроб за ендотоксините. Тези биологично активни субстанции също повлияват кръвообръщението, но имат и пряко въздействие върху бъбреците.

Коагулационните нарушения са двупосочни, от една страна е удълженото протромбиново време, а от друга се наблюдават често хиперкоагулабилитет, водещ до съдови инциденти. Като често усложнение, налагащо проследяване се посочва и хиперспленизмът, както и анемията (не рядко със смесена генеза).

Повечето усложнения се припокриват или едното води до другото. Такъв пример е енцефалопатията. Тя представлява усложнение, проявяващо се при декомпенсация на чернодробното заболяване, смятащо се за най- влошаващ прогнозата прогностичен белег от всички прояви на декомпенсация. По различни данни 1- годишната преживяемост е от 36 % (63) до 42%, а 3-годишната преживяемост без да е проведен чернодробна трансплантация е едва 23 % (74). Често новопоявилата се енцефалопатия е симптом на кървене от ГИТ с последващ бактериален свръхрастеж, както и на СБП. Участието на амоняка е най- подробно описано в патогенезата. Произвежда се в дебелото черво, следствие на метаболизма на протеини от бактериалната флора. Следствие на нарушената функция на хепатоцитите и порто-системните шънтове е повишено нивото му в системната циркулация. Етиологично енцефалопатията при краен стадии на чернодробно заболяване е класифицирана като тип С. Тежестта се оценява чрез комплексна оценка на невромускулната и интелектуалната функция по West Haven, както и по наличието на астерикс, промени в менталния статус и специфични тестове

(тест за синдром на порто-системната енцефалопатия и Stroop test-ът) по SONIC (spectrum of neurocognitive impairment in cirrhosis). Минималните прояви на енцефалопатията е най- трудният за изключване признак на декомпансация поради необходимостта от многократно провеждане на количествени неврофизиологични тестове, както и поради липса на стандарт за поставяне на диагнозата и невъзможността при всеки пациент да се изключат редица други заболявания в диференциално-диагностичен план. Друга често наблюдавана комбинация от прояви на декомпенсация е между кръвоизлив от варици на хранопровода и асцит. В този случай средната преживяемост за една година намалява до 51% (63).

Двупосочни остават данните дали минимални прояви на енцефалопатия, асцит, който може да се регистрира само с образни изследвания или окултно кървене от портална гастропатия могат да се приемат признаци на декомпенсация. Иктерът, също на този етап не може да се посочи като изолиран признак на декомпенсирано чернодробно заболяване (40).

Като поражения върху ендокринните жлези се посочват надбъбречната недостатъчност и хипогонадизма, като много тежък за решаване проблем е и малнутрицията. Интерес поради честотата си, влиянието върху качеството на живота и преживяемостта е и остеопорозата. Релативната надбъбречна недостатъчност е с много различна честота в различните проучвания, поради липса на ясни критерии за поставяне на диагнозата (75). С неизяснена напълно генеза са мускулните крампи, еректилната дисфункция и гаденето при пациенти с чернодробна цироза. Все още се изучава ефектът на *саркопенията* върху чернодробната цироза. Саркопенията оказва сериозно влияние върху преживяемостта до такава степен, че увеличава страничните ефекти след TIPS (40).

Не малка част от пациентите страдат от депресивни разстройства, като депресивният синдром е регистриран при всеки трети с хронична HCV инфекция. Честотата на депресивния синдром при тези пациенти е 1.5 до 4 пъти по- голяма отколкото при здравата популация. Това е една от екстрахепаталните прояви със сериозно влошаване на качеството на живот. Сред хипотетичните механизми са директна инвазия на вируса в нервната система, индукцията на локален и системен възпалителен отговор, нарушения в метаболитни процеси и балансът на невротрансмитерите (отношение холин/креатин; N-ацетиласпартат/креатин, миоинозитол/креатин, както и в техните концентрации) (76). Открива се връзка между продължителността на

инфекцията и рискът от развитие на депресия или тревожно разстройство, като те са по-често проявени при HCV, отколкото при HBV и се подобряват след ерадикация на вируса (77).

Все повече се официализира терминът *„рекомпенсация“*, за който в при HCV-етиология трябва да са покрити:

1. ерадикация на инфекцията,

2. липса на асцит (без пациентът да приема диуретици), липса на енцефалопатия (без пациентът да приема лактулоза или антибиотик, без епизод на кървене от варици в продължение на 12 месеца.

3. значимо и персистиращо подобрение в протеосинтетичната функция и билирубин

Ако пациентът е преживял TIPS, ендоскопско връзково лигиране или не е ерадикирана инфекцията не може да се приеме за рекомпенсирал.

2.4 Определяне на напредналостта на чернодробната болест

Чернодробната цироза е финален резултат (краен стадий) на различните етиологични единици, увреждащи черния дроб. От патоанатомична гледна точка се дефинира като дифузна фиброза с промяна в нормалната архитектоника и образуване на възли (регенераторни нодули). Скоростта на развитие на промените е различна при различните нокси. Поради продължително чернодробно увреждане се образува по-голямо количество съединителна тъкан, отколкото се разгражда.

Компенсирана напреднала чернодробна болест (КНЧБ) се дефинира като хронично чернодробно заболяване, заплашващо да доведе до значима портална хипертония. Според Baveno VI, в случай на LSM ≥10 kPa е възможна, а при ≥ 15кPa е много вероятна КНЧБ (78).

Фиброзата е един от основните критерии за наличието на хронично чернодробно заболяване. Степента на фиброзата се определя по разпространението ѝ, местоположението на депозитите и наличието на промяна в лобуларната архитектоника (79).

2.4.1 Инвазивни методи – чернодробна биопсия

В миналото чернодробната биопсия (ЧБ) се използвала за диагностициране и стадиране на редица заболявания, но с развитието на дисциплини като клиничната лаборатория, клиничната имунология и образната диагностика все по- рядко се налага хистологичната верификация на заболяванията. Биопсията, естествено, в редица случаи остава незаменим метод, като само по този начин може да се регистрират клетъчни включвания (телца на Mallory-Denk, хиалинни телца, гликоген, промени тип матово стъкло)(80), отлагания на мед и желязо, провеждане на имунохистохимично изследване (81).

Широк спектър от промени се наблюдават при инфекция с HCV. Изключително рядко се провежда биопсия в хода на остра инфекция, а при хронична се оценява степента на възпаление и фиброза. Сред многообразието от класификации най-често се използва METAVIR (meta-analysis of histological data in viral hepatitis) за оценка на напредналост и активност на заболяването: F0 – липсва фиброза; F1 – перипортална фиброзна експанзия, F2 – повече от 1 перипортална септа, F3 – порто- централни септи, F4- цироза; A0- няма хистологична активност; A1 – лека, A2 – средно-изразена, A3 – изразена активност (82).

Използването на ЧБ като референция за оценяването на точността на неинвазивни методи има редица методологични ограничения, което води до ограничаване и подценяване на тяхното представяне (83). Точността на чернодробната биопсия се влияе от вариабилност спрямо разчитащия резултата, както и от грешки при добиване на материала. В изследване на > 10.000 биопсии (84) се показа, че диагнозата сред редица други, зависи и от големината на материала. Напредналостта на фиброзата е правилно определена при 65% от биопсиите поне 1.5 mm., и при 75% при биопсия с размер поне 25 mm. Според същото проучване материалът трябва да е с размер поне 40 mm. Такива размери рядко се получават по време на ЧБ.

В едно проучване са проследени 10 пациента чрез чернодробна биопсия преди започване на лечение с ДДАС и 15-85 месеца след постигане на ТВО. При 60% е персистирал лимфоцитен инфилтрат в порталното пространство, но е установено значително намаляване в активността на заболяването. Не е установено значително подобряване във фиброзата, а стеатозата е варирала значимо при проследяването спрямо изходните стойности, като естествено най- изразена е била стеатозата при пациентите с BMI > 30 (85).

2.4.2Неинвазивни методи

В съвременната гастроентерология има голяма необходимост от безопасни, безболезнени, бързи и достъпни методи за определяне на чернодробната фиброза. Това представлява вариант за пациентите с напреднало чернодробно заболяване, които трябва да се проследяват стриктно за усложнения от страна на порталната хипертония и за хепатоцелуларен карцином, ще бъдат своевременно диагностицирани и адекватно наблюдавани. При пациенти с хроничен HCV се използват различни неинвазивни методи за оценка на напредналостта на чернодробната болест. Степента на чернодробна фиброза определя последващата диспансеризация, както и риска от развитие на хепатоцелуларен карцином (HCC). Посочени са и редица предиктори за бърза прогресия на фиброзата, които се делят на некоригируеми (напреднала възраст при инфектиране, генотип 3, мъжки пол, ко- инфекция с HIV) и коригируеми (захарен диабет, затлъстяване, алкохол).

Въпреки, че златен стандарт за определяне на фиброзата е чернодробната биопсия (ЧБ), този метод на изследване е инвазивен, неточен поради вариабилността в резултатите от различни сегменти, оператор-зависим е и е скъпо струващ. Серумните маркери самостоятелно не са достатъчно точни поради ниска специфичност. На настоящия етап най-често използвани са ултразвук-базирани неинвазивни методи за оценка на чернодробната плътност като маркер за стадия на чернодробна фиброза.

Могат да се посочат редица критерии, по които чернодробната биопсия отстъпва на неинвазивните методи за оценка на напредналостта на чернодробното заболяване. На първо място ЧБ често се приема трудно от пациентите. Чрез неинвазивни изследвания много по-бързо и безопасно е определянето на чернодробното заболяване. В съвременната медицина все повече етиологични единици могат да се диагностицират чрез лабораторни изследвания (86). Поради множеството противопоказания за провеждането на чернодробна биопсия, тя е неподходящ метод за проследяване на напреднало чернодробно заболяване в хода на лечение. Освен това се предпочита извършването на финансово по-изгодни изследвания (79). Макар и „златен стандарт“ за стадиране на дифузни заболявания, има натрупани данни, за несъответствия в хистологичната оценка, най-често следствие на различно напреднала фиброзата в проби взети от левия и десния лоб (87).

Неинвазивните тестове се провеждат чрез серумни маркери (“биологични“), методи за определяне на физичните свойства на черния дроб и образни методи за определяне на структурни промени („физични“). Всички методи се сравняват с

чернодробната биопсия, въпреки че методът не е перфектен и се е установило, че никой метод не може да достигне AUROC >90 (88).

Насоките, в които се проучват нови методи за стадиране и проследяване на дифузни заболявания са серумни маркери и определяне на чернодробната плътност (89).

Анализът на резултатите от всеки един неинвазивен тест налага задълбочена интерпретация. Фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати могат да се получат в редица случаи – остър хепатит, придружаващи заболявания, лекарства.

Еластография

Чрез определяне на скоростта на разпространения на шокова вълна в чернодробната тъкан може да се определи плътността на черния дроб. Еластографията е базирана на ултразвук или на магнитен резонанс. При първата чрез ултразвук се отчита скоростта на микродеформация (shear wave) индуцирано в черния дроб. Ултразвуковата еластография се дели на два вида спрямо принципа на работа: strain и shear wave elastography. От Echosens е въведена първата Shear wave еластография-транзиентната еластография, FibroScanTM. Скоростта на share wave се конвертира в плътност, изразена в килопаскали (kPa) или в метри за секунда (m/s) (58). Транзиентната еластография с вибрации е с най- широка разпространеност в световен мащаб. Методът дават допълнителна информация и относно наличието на стеатоза (90). При транзиентната еластография се използва controlled attenuation parameter (CAP). Изследването не е трудоемко, процедурата се провежда обикновено за под 5 минути, като резултатът се получава веднага и може да се проведе в амбулаторни условия. Критериите за качество са измерване поне 10 пъти и интерквартилен интервал(IQR – вариация в стойностите на измерванията) от по-малко от 30 %. Неуспех може да се наблюдава при пациенти с затлъстяване или при липса на опит в извършващия изследването. Със сонда XL неуспехът в случаи на изразена подкожна мастна тъкан намалява от 80% на 7% (91)(92). При този метод редица фактори се отразяват на точността на изследването. При провеждане на изследването трябва да се вземе под внимание, че плътността излиза нереално по- висока след нахранване, при некроинфламаторна активност, високи стойности на АЛАТ, повишено централно венозно налягане, сърдечна недостатъчност, холестаза, алкохолна злоупотреба.

Друг метод, който от доста автори е смятан за по- противоречив е strain еластографията (93). Упражнява се натиск върху изследваната област от трансдюсер или

разместването се предизвиква от сърдечна дейност и дишане, като измерването се осъществява чрез радиофреквентно exo- корелационно проследяване, Doppler processing или и двете. Резултатът се представя на еластограма, която се налага върху снимката от B-mode. Чрез определените cut-off стойности увеличава значимо точността на диагностициране на наредналостта на чернодробното заболяване (60).

Установеният факт, че по-високи стойности на плътността, които се получават при завишени стойности на чернодробни ензими (94), е валиднен в по-голяма степен за хроничен HBV (95), отколкото при хронична инфекция с HCV (96). Точността на метода може да се компрометира от редица състояния на сърдечно-съдовата система. Еластографията е неподходящ метод при пациенти, които са със сърдечна недостатъчност, трикуспидална регургитация. При тези пациенти резултатите също показват по-напреднала чернодробна болест (97). Трябва да се посочи, че холестазата (екстрахепатална, както и интрахепатална) е изключително важен фактор за повишаване на чернодробната плътност. Не е открито влияние на резултатите от етиологията на екстрахепаталната холестаза (98).

Според препоръките стойности от ТЕ < 10 kPa, могат да изключат хронично чернодробно заболяване, между 10-15 kPa могат да го предположат, а над 15 kPa трябва да се подозира такова. ТЕ може да служи и за прогностичен белег за декомпенсация – под 10 kPa 3- годишният риск за чернодробни усложнения е под 1 %. От Baveno-VI е въведено и правилото на 5-ците – с всеки 5 kPa прогресивно се увеличава рискът от декомпенсация и смъртност от чернодробно заболяване. Пациентите се проследяват на една година. Клинично- значимо намаляване на чернодробната плътност се означава като редуциране на стойностите с 20% и под 20kPa или всеки спад под 10 kPa.

Установява се голяма корелация при сравняване на резултати от измерване на HVPG и ТЕ, като нито един пациент не е имал значима портална хипертония, от тези, при които ТЕ е показала липса на напреднала фиброза (99).

Р. Балабанска установява умерена корелационна зависимост между стеатозата и фиброзата доказани чрез хистологична верификация и тези получени от FibroScan (9). Според резултатите на Р. Цонев, след лечение с ДДАС е налице регрес на фиброзата, като авторът препоръчва проследяване на 12 месеца с ТЕ(100).

Някои серумни маркери и скорови системи в които са включени:

Редица тестове се използват при чернодробно заболяване с дадена етиология. Тези тестове корелират слабо с порталната хипертония и не отразяват достатъчно достоверно свързаните усложнения (50). За разлика от APRI и FIB-4, патентованите тестове са трудно достъпни и с висока цена. От тях най- вече е разработван FibroTest, който е по- точен при вирусни хепатити, отколкото при алкохолна етиология. Състои се в алгоритъм от пет маркера – алфа-2 макроглобулин, аполипопротеин А1, хаптоглобин, ГГТ, билирубин.

APRI и FIB-4

Поради ниската си цена, лесна достъпност и репродуктивност са сред най-разпространените маркери за измерване на чернодробна фиброза. За изчисляването на APRI са необходими стойностите на тромбоцитите и AST. Като при резултат < 0.42 е с висока предиктивна стойност за нискостепенна фиброза, а при > 1.2 – за напреднала фиброза. 90% е негативната предиктивна стойност за липса на фиброза, а 91% е позитивната предиктивна стойност за наличието на такава (101) (102) (103). Диагностичните способности на APRI намаляват при пациенти с АЛАТ < 1.5 ГРГ (104).

FIB-4, като неинвазивен тест за определяне на чернодробната фиброза, също се базира на кръвни параметри (AST, ALT, тромбоцити) и възраст. Създаден е от Sterling и колектив, като се е ползвал при HIV/HCV пациенти. Според APRICOT при cut-off <1.45; FIB-4 има NPV за изключване на напреднала фиброза от 90%, а cut-off >3.25 има PPV за значима фиброза от 65% (105) . В последствие, е използван при 592 инфектирани с HCV (без други етиологични фактори), като за идентификация на напреднала фиброза и цироза AUROC са били съответно 0.85 и 0.91 (106) . За отхвърляне на значима фиброза чувствителността на метода е 62 %, при специфичност 67%, с PPV от 37% и NPV от 85% (107) .

Според ралични данни е най- точен от скоровете за неинвазивно предвиждане на напреднала фиброза и цироза (107) (108). Най- показателни са данните от The Chronic Hepatitis Cohort Study, според които FIB-4 е с по- голяма точност от APRI и особено от AAR, като различава начални фиброзни промени от значими. Първите два скора имат достатъчно добра предиктивна стойност за напреднали промени (109). Според

публикувани данни от Т. Комитова, APRI и FIB-4 са с положителна корелация с възрастта, не зависят от пола (110).

GAPRI (GPR)

Серумните нива на ГГТ не се повлияват от бременност и нямат разлики между мъже и жени, като повишените стойности са чувствителни, но недостатъчно специфични за чернодробни заболявания. Уместно е да се използва, за изключване на повишена алкална фосфатаза поради костно засягане, като високи стойности на ГГТ могат да се установят при прием на редица лекарства, а от много автори се предлага като маркер, показващ нерегистриран прием на алкохол, където отново е чувствителен, но неспецифичен(111).

При HCV често се установява повишение в ГГТ, без това да се обвързва със стеатоза или нарушение в билиарния дренаж. Има наблюдения, че повишените стойности на ГГТ при пациенти с HCV могат да предсказват по- напреднала фиброза (112). През 2016 г. е въведен нов скор за разграничаване на началната от напредналата фиброза, съчетаващ ГГТ и тромбоцити. Новият индекс е сравнен с по- утвърдени – FIB-4, APRI и ТЕ при HBV. Резултатите показват, че GAPRI се асоциира с фиброза, но не се асоциира с хистологичната активност или със стеатозата. Освен това AUROC за предвиждане на цироза е значимо по- добра от тази на APRI и FIB-4. В проучването е показано, че GAPRI отстъпва по диагностични възможности на еластографията (113). В последствие индексът е показал добри диагностични способности при смесена генеза (HBV и HIV) (114). Проведено е и изследване на GAPRI при HBV и НАСХ – установена е позитивна корелация на ГГТ с METAVIR и негативна на тромбоцити с METAVIR, положителна на GPR с фиброзата и не е установена със стеатозата. В заключение на изследването GPR е с по- добра предиктивна стойност за напреднала фиброза, но не и за цироза. Данните са показани на таб. 1 (115). Друго преимущество на GAPRI е, че при пациенти с HCV след терапия е единственият показател, който корелира с ТЕ (116).

Таблица Чувствителност, специфичнос позитивна и негативна предиктивна способност на неинвазивни скорове за фиброза. Li Q, Lu C, Li W, Huang Y, Chen L. The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio for non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B and non-alcoholic fatty liver disease. Oncotarget. 2017 Apr 25;8(17):28641-28649. doi: 10.18632/oncotarget.16162. PMID: 28415736; PMCID: PMC5438679.

Diagnostic thresholds of noninvasive models for liver fibrosis and cirrhosis

	Cut-offs	Youden Index	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	PLR	NLR
GPR								
≥ F2	0.49	0.63	83	80	65	91	4.15	0.21
≥ F3	0.62	0.65	90	75	39	98	3.57	0.13
= F4	0.74	0.81	100	81	30	100	5.26	0
APRI								
≥F2	0.41	0.39	80	59	47	87	1.96	0.33
≥ F3	0.44	0.36	80	56	25	94	1.81	0.36
= F4	0.55	0.69	100	69	21	100	3.18	0
FIB-4								
≥ F2	0.77	0.22	86	36	37	84	1.32	0.41
≥ F3	0.83	0.38	95	43	23	98	1.67	0.12
= F4	0.91	0.49	100	49	14	100	1.95	0

PIIINP

Според консенсус за проследяване на пациенти с ревматоиден артрит, издаден във Великобритания PIIINP се включва в изследванията за изключване на чернодробна фиброза при прием на Метотрексат(117)(118). Първоначално създадена за да предвижда чернодробна фиброза (най- вече при токсичен хепатит, предизвикан от медикаменти(117)(119)), впоследствие се оказва недостатъчно надежден. Използва се в контекста на други скорови системи, като ELF.

Алфа-2 макроглобулин

Представлява екстрацелуларен широкоспектърен протеазен инхибитор. Освен, че регулира екстрацелуларната протеолиза, улеснява миграцията на клетки и свързването им с цитокини, растежни фактори и увредени екстрацелуларни протеини (120).

Според данните изнесени от Косева, О. α2МГ показва значима корелация с чернодробната фиброза (коефициент на Spearman 0.512; p <0.01), която надвишава тази на други по- широко използвани и достъпни показатели (АСАТ, тромбоцити, IgG,

албумин, хаптоглобин, ГГТ, АЛАТ). (104) . Боянова установява, че при пациенти с хронична HCV инфекция, на терапия с интерферон, нивата на α2МГ намаляват на 6 м. от началото, като след това се покачват, като не корелират с други показатели (като феритин).

Хиалуронова киселина

При патологични процеси натрупаният ЕМ се състои от колаген, гликопротеини и хиалуронани, като определяща роля в структурата му заема НА (121). Представлява полизахарид (високомолекулен гликозаминогликан), изолиран от всички тъкани в човешкото тяло (122). Синтезира се в синовиалните покривни клетки и звездовидните клетки на черния дроб, като в процеса участва ензимът синтетаза на хиалуроновата киселина. В черния дроб се разгражда от синусоидалните ендотелни клетки. От тук следва, че концентрацията на НА се повлиява както от чернодробно увреждане, така и от активирането на звездовидните клетки и превръщането им в миофибробласти. Пуложивотът му в кръвта е едва 2-5 минути. Тези три условия я правят маркер, включен в някои от скоровите системи за чернодробна фиброза, като най- достъпен е HAPRI.

$$\text{HAPRI} = \frac{\text{HA}}{\text{prothrombin index}} \text{x}100$$

Средните стойностите на HAPRI са 10.95 (4.72-34.94) при нелекувани пациенти и 28.88 (10.35-39.95) при лекувани, като е налична статистически значима разлика (p = 0.04) (123).

Като повечето неинвазивни показатели не е специфична и се повлиява от придружаващи заболявания. В повечето изследвания е посочена като слабо чувствителна към начални стадии на чернодробно заболяване. Повлиява се от ограничена бъбречна функция.

За разлика от други глюкозаминогликани (хондроитин сулфат, дерматан сулфат и хепаран сулфат) не съдържа сулфатна група и рядко е свързана с други протеини. Разграждането се осъществява в черния дроб и бъбреците. Хиалуронаните с високо молекулно тегло се предполага, че потискат ангиогенезата и възпалението (124).

В разработка от 2003 г. е установено, че при пациенти с хронична HCV инфекция в стадий на фиброза F0-F1 стойностите на серумния хиалуронат са в референтни граници, като не може да се направи разграничаване по този маркер между стадий F0-F1

и стадий F2. При напреднало заболяване е установено, че серумният хиалуронат е повишен, като средните стойности са 187 ng/ml. Стойности от 45 ng/ml са насочващи за напреднала фиброза, а 60 ng/ml. са насочващи за чернодробна цироза. Стойности на хиалуронат в серума над 45 ng/ml, в комбинация с възраст над 45 г., тромбоцитопения, данни за уплътнен черен дроб в 90% са насочващи за чернодробна цироза (125). Боянова, Я. установява при пациенти с хронична HCV инфекция, провели едногодишно лечение с пегилиран интерферон, че стойностите на НА са значимо по- високи на 6 м. и на 12 м. от началото на терапията, но 6 м. след проведената терапия се връщат до изходните стойности (126), като не са изследвани при пациенти постигнали ТВО с ДДАС.

ELF

The Enhanced Liver Fibrosis Test (ELF, Siemens Diagnostics) представлява алгоритъм от три маркера за фиброза : ХК, амино-терминален пропептид от тип III колаген, ТИМП-1 (127). Разработен е след международно кохортно изследване с 1021 обекта с хронично чернодробно заболяване. Използван е дискриминантен анализ за да се идентифицира алгоритъмът, като са изследвани най- различни маркери от матриксния търн-овър и индиректни маркери за чернодробната функция (128). Валидиран е при НАСХ както при възрастни(129), така и при деца(130), при първичен билиарен холангит (ПБХ)(131) и при HCV (127).

В проучване сред 36 пациента с HCV, 10 с HBV и 28 с първичен билиарен холангит (ПБХ), на които е проведена ЧБ и ТЕ са изчислили ELF. Корелационният коефициент на Spearman между FibroTest и ELF при различните хистологични стадии е между 0.44 и 0.61 ($p<0.0001$). Не е установена статистически значима разлика в диагностичната стойност за определяне на значима фиброза. ТЕ успешно е проведена при 66 човека, като при тях изследването е сравнено с FibroTest и е установена статистически значима корелация, независимо от стадия на фиброза. В заключение от изведените резултати може да се каже, че горепосочените методи имат сходна диагностична стойност.

Всички патентовани тестове са недостатъчно валидирани извън изследванията, провеждани от техните откриватели. Освен това те са слабо валидирани при токсична етиология, автоимунни и холестатични заболявания.

При диагностицираните с чернодробна цироза, често се наблюдава ПХ, водеща до редица усложнения (132). Според водещи консенсуси по темата за диагностика и лечение

на такива състояние (напр. BAVENO V) са необходими разнородни изследвания, вкл. и инвазивни диагностични и терапевтични процедури – ЧБ, HVPG и др. HVPG е златен стандарт, но трудоемко и скъпо изследване. (133)

HALT-C

The Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment against Cirrhosis (HALT-C) е проспективно, рандомизирано, контролирано проучване, което цели да докаже, че лечението с пегилиран интерферон може да повлияе положително върху прогресията на чернодробната болест. Натрупаните данни върху кохорта от над 1000 прецизно подбрани пациенти, с ревизирани хистологични резултати от комисия от патолози, при голям процент на пациенти с чернодробна цироза са фактори, предпоставящи към разработването на модел за диагностициране на напреднало чернодробно заболяване. Макар лечението с интерферон при HCV да е отдавна изместено от ДДАС, HALT-C моделът е анализиран с цел да се идентифицират демографски, клинични, лабораторни, вирусологични и образни фактори, асоциирани с циротично преустройство на хистологичен препарат. HALT-C се базира на рутинно използвани лабораторни маркери(134).

Hepascore

За този скор са необходими билирубин, α2МГ, хиалуронова киселина и ГГТ.
Разработван е при чернодробни заболявания с разнообразна етиология HACX, HBV, алкохолен стеатохепатит(117). Според данни може да предвиди дългосрочен риск за развитие на декомпенсация, обща смъртност и смъртност свързана с чернодробното заболяване (135).

Стойности над 0.84 се приемат за отговарящи на чернодробна цироза(136). Над този cut-off са установени и по- ниски стойности на албумин, по- високи на билитубин и ГГТ. Установено е, че пациентите с висок Hepascore са били с по- голям риск за чернодробна смъртност от останалите ($p=0.001$). Нито един пациент не е загинал поради чернодробна причина със стойности <0.84. Общата смъртност при тези с висок Hepascore е изчислено, че се увеличава с 7.91 пъти (117).

PAPAS индекс

Съставя се от стойностите на тромбоцитите, възрастта, алкална фосфатаза, алфа фетопротеин и АСАТ. Има предиктивна роля за определяне на степента на фиброза при

пациенти с HBV. (137) Индексът е сравнен с други скорови системи – отношение AST/ALT (AAR), APRI, API, FIB-4, GUCI, CDS при пациенти с HCV, като е открита корелация между различните показатели. С най- голяма корелация са били: FIB4 (r =0.451), PAPAS (r =0.448), and CDS (r= 0.433) (P< 0.001). По ниска е била за останалите скорове - GUCI (r= 0.369), APRI (r =0.352), API (r =0.335), като при AAR (r= 0.152) не е имало сигнификантност. С най-голяма предиктивна стойност за напреднала фиброза и циорза е FIB-4, но PAPAS има междинн диагностична стойност при HCV. (108)

BE3A score:

Преди лечение няколко фактора са в асоциация с достигане до CPS клас А след терапия с ДДАС. BMI, енцефалопатия, асцит, ALT и албумин са включени в BE3A. Всеки от компонентите е с 1 точка, като cut off за ALT е до 1.5 пъти (до 60 IU/ml). Всеки един от показателите е показал отделно статистическа значимост, естествено с най- голям HR (hazard ratio) за асцит и енцефалопатия. Според публикуваните резултати BE3A 4-5 точки в поне 75 % води до постигане на клас А по CPS. Тези с 0 точки са с под 5% вероятност да достигнат клас А в рамките на 36 седмици. Резултатите показват много висока честота на чувствителност и специфичност за определяне на риска за декомпенсация в последствие, за смъртност и ориентировъчни данни за евентуалната необходимост от трансплантация (138).

MELD

Разработен за прогнозиране на преживяемостта след поставяне на TIPS (трансюгуларен интрахепатален порто-системен шънт), в последствие MELD е валидиран при пациенти с различна тежест на чернодробно заболяване (139). Първоначално е кръстен „Mayo End-Stage Liver Disease", в последствие е наложен като основен фактор определящ приоритизирането на пациенти за чернодробна трансплантация. Името е сменено с цел да бъде припознат от повече центрове по света (140). MELD се изчислява от стойностите на три изключително достъпни и евтини за изследване показателя – INR, креатинин и билирубин, като в началото етиологията е била важна – по- добра е била прогнозата при пациенти с алкохолна етиология и холестаза, но е без значение при определяне на перживяемостта в друг контекст. Без да се взима етиологията като фактор превръща скорът в обективен показател в много по- голяма степен (140).

Смъртността е както следва: ≤9 точки– 1.9%; 10-19 т. – 6%; 20-29 т. – 19,6%; 30-39 т. – 52.6 %; ≥40 т. – 71.3%, като за да не се получават негативни резултати серумният

креатинин се въвежда между стойности от 1 до 4 mg/dl, а за най- ниска стойност на билирубин и INR се въвежда 1.

Въвеждането на MELD води до незабавно редуциране на пациените в листите за трансплантация с 12 % за 2002 г. и води до значителна редукция в смъртните случаи при пациентите включени в листата на чакащите (140). Посочват се различни преимущества на MELD пред CPS. При CPS се оценяват субективно някои от факторите – асцит, енцефалопатия, като при MELD има много повече възможности за разпределяне на пациентите в различни групи и се взима предвид бъбречната функция при определяне на преживяемостта.

С цел прецизиране на резултатите от MELD е необходимо да се вземат предвид и да се коригират по възможност фактори, които са потенциално обратими (например инфекция). Освен това възрастта и придружаващите заболявания е необходимо също да се вземат под внимание (141).

По литературни данни от Боянова има известни несъответствия в тежестта на състоянието при измерване по CPTS и MELD; като най- големи са различията за клас В по CPTS, но цялостно се установява добра корелация между двете системи за оценка на чернодробното заболяване (126).

Други достъпни показатели, повлияващи се от чернодробната болест

UA представлява краен продукт от пуриновия метаболизъм, който се екскретира с урината. Повишените нива се асоциират с подагра, нефролитиаза, хипертонична болест и метаболитен синдром (142)(134). Хиперурикемията е епифеномен на всички тези състояние, но са предложени и механизми, според които повишените нива на пикочна киселина водят до ендотелна дисфукция, инсулинова резистентност, оксидативен стрес и системно възпаление (142)(134). Всички тези механизми играят роля в развитието на неалкохолният стеатохепатит, но е допустимо, че допринасят и за напредването на чернодробните промени при HCV (134).

И. Вълков изследва множество метаболитни отклонения и връзката им с чернодробната болест при пациенти с HCV в различен стадий на фиброза, като установява, че пикочната киселина показва корелационна връзка със стадия на чернодробната фиброза (r=0.284, p=0.025). В неговите резултати е несигнификантна връзката с FIB-4, APRI, AST и ALT(120) . Според Р. Балабанска средните стойности на

пикочната киселина са по- високи при пациентите с чернодробна фиброза, отколкото при тежи без фиброза (r=0.2849; p =0.0062) (9).

2.4.3Комбинирани инструментални и лабораторни показатели

При измерена чернодробна плътност с ТЕ < 15 kPa в комбинация с тромбоцитен брой > 150x10^9 може да се изключи значима портална хипертония (чувствителност и NPV > 90%). При стойности в интервал 20-25 kPa и тромбоцити < 150x10^9 или 15-20 kPa и тромбоцити <110 x10^9 рискът за значима портална хипертония е поне 60% (60). При постигане на ТВО, плътност измерена с ТЕ <12 kPa, тромбоцити >150x10^9, пациентите може да не подлежат на ендоскопско проследяване (60).

ТЕ според препоръки от Baveno- VII, при стойности > 10 kPa е уместно да се съчетава със серумни маркери, като са изброени FibroTest ≥0.58 (при смесена алкохолна и вирусна генеза), FibroTest ≥0.48 (при НАСХ), FIB-4 ≥2.67, ELF ≥9.8 (60).

Резултатите от ТЕ и FibroTest съвпадат при 70-80 % от изследваните, като при F=2 те съвпадат и с чернодробната биопсия в 84% от случайте, в 95% при F≥3. Според авторите на разработката биопсията може да се избегне при поне 77% от пациентите и е предложен алгоритъмът Бордо (96).

2.5 Исторически преглед на терапевтичните подходи

През 1986 г. за първи път са докладвани резултати от проведено лечение на хроничен “non-A, non-B“ хепатит. При това проучване са лекувани с интерферонов режим 10 пациента, отговрящи на критериите за хроничен “non-A, non-B” хепатит. При 8 от тях, след започване на лечението, се е наблюдава значимо намаляване в стойностите на чернодробните ензими, като само при един тези стойности са се задължали една година след преустановяване на терапията. (143) В последствие се открива HCV. Въвежда се терминът ТВО, при трайно негативиране на HCV RNA шест месеца след приключване на лечението. Докато в началото на 90-те години ТВО се е постигал при под 10% (144) от лекуваните в следващите години са се отчитали все по – добри резултати. В последствие към лечението с интерферон α2-b се добавя рибавирин, като според цитирани резултати е постигнат ТВО при между 41% и 47% от пациентите. (145)(146) Според публикувани резултати от рандомизирано проучване обхващащо 62 клинични центъра, в различни точки на света режимът с пегилиран интерферон и рибавирин е по-

ефективен от този с интерферон и рибавирин, като ТВО е постигнат при 54 % от пациентите. (147)

През януари 2014 г., софосбувир е първият одобрен от ЕМА пангенотипен NS5A полимеразен инхибитор. Използвал се е за хроничен хепатит С (генотип 2-5), без да е имало достатъчно данни за генотип 1 или за пациенти с цироза. През същата година са одобрени симепревир (второ поколение протеазен инхибитор) и първият NS5A инхибитор даклатасвир. Комбинацията симепревир със софосбувир постига 80% успеваемост. Даклатасвир със суфосбувир е бил предназначен за пациенти след неуспешно лечение. В последствие е получена по- ниска успеваемост при цироза. (148)

2.6 Съвременно лечение на хронична инфекция с вирусен хепатит С

Според съвременните препоръки всеки пациент, инфектиран с вирусен хепатит С трябва да бъде лекуван, ако няма противопоказания. Терапия на избор в съвременната практика са ДДАС както при пациенти без цироза, така и при такива с цироза (вкл. и декомпенсирана). Един от основните факти, които трябва да се съобразят при изборат на ДДА е вирусният генотип на пациента (в държави, където не са достъпни пангенотипните режими). Сред пангенотипните опции на лечение се нареждат софосбувир/велпатасвир и глекапревир/пибрентасвир. Софосбувир се транспортира чрез P-gp. По тази причина препарати, които са индуктори на P-gp не трябва да се използват, защото могат да намалят плазмената му концентрация (рифампицин, карбамазепин, фенитоин, жълт кантарион). При пациенти, при които се провежда лечение и с амиодарон има риск от животозастрашаващи аритмии. Около 80 % от софосбувир се екскретира чрез бъбреците, като по последн препоръки е допустимо предписването му и при пациенти с креатининов клирънс под 30 мл./мин. (18) In vitro велпатасвир се метаболизира от CYP2B6 (цитохром P), CYP2C8 и CYP3A4. В плазмата се открива предимно неметаболизиран продукт. Транспортира се основно от P-gp и BCRP (brest cancer resistance protein), елиминира се чрез жлъчна екскреция. ДДАС са с доказана ефективност и безопасност, които позволяват използването им при напреднало чернодробно заболяване (за разлика от интерферон- базираните режими), включително и при пациенти с декомпенсирана чернодробна цироза.

В проучване на М. Петкова се анализират данните от всички български пациенти, с хронична HCV инфекция, лекувани след бъбречна трансплантация. Резултатите

показват спад в стойностите на билирубин, подобрение в стойностите на албумина и нормализиране в стойностите на ALT (149).

2.7 Определяне на риск за развитие на HCC

При пациенти с хроничен вирусен хепатит С и bridging fibrosis (F3 по Metavir) може да бъде подценен рискът от развитие на ПЧР, поради трудното определяне на прехода от напреднала фиброза към циротично преустройство. По тази причина Европейското дружество за изследване на черния дроб препоръчва пациенти с F3 да бъдат проследявани за HCC. Един от обещаващите методи за оперделяне на риск от развитие на рак на черния дроб е транзиентната еластография. (150)

2.7.1 Връзка между плътността на черния дроб и риска за развитие на HCC

Еластографията е по-чувствителен метод за по напреднали стадии (за F4 cut-off 13.01 kPa; AUROC, 0,94). 5 Макар да не е толкова точен за по- ниски стойности на фиброза, е неинвазивен метод, безболезнен, уместен за проследяване и се изследва по-голяма площ, отколкото при ЧБ. При положение, че чернодробната плътност отговаря на чернодробната фиброза, се очаква пациентите с измерена по-висока плътност да са с по-висок риск от развитие на HCC. В проспективно проучване сред 866 пациента с хроничен вирусен хепатит С (HCV), е установено, че тези с измерена по-висока чернодробна плътност са били с по-голям риск от развитие на HCC. Докато при пациентите с LSM ≤10 kPa, едногодишният риск за развитие на HCC е 1.4%, при тези с LSM > 25 kPa е 11,5 %. Проведено е друго проучване сред 60 пациента, диагностицирани с чернодробна цироза, (но без асцит или затлъстяване). Пациентите са разделени в две групи спрямо наличието на HCC. Статистически значима разлика (p=0,001) е установена в резултатите от Fibroscan между тях. Strain elastography показва разликата в деформацията на тъканите и се използва при real-time tissue elastography (RTE). HI-RTE (real-time tissue elastography by Hitachi System) все още не е постигнал желаните резултати за оценка на чернодробната фиброза. Сред причините е липсата на синхронизиране между УЗ, методите и обработката на данните в различните изследователски екипи. Резултатите от метаанализите показват, че LFI е отличен при диагноза на F≥3, умерено точен е за F≥2 и F=4. Методът не може да разграничи ясно F2 от F0-1 или F4 от F0-3. HI-RTE е достъпен в комбинация с УЗ, приложим при пациенти с асцит или висока активност на чернодробното заболяване, което го превръща в обещаващ метод при пациенти с чернодробна стеатоза и вирусни хепатити. Point SWE, използваща Acoustic Radiation

Force Impulse (ARFI) технологията, е еластометрична техника, вградена в конвенционалната ултразвукова система, което позволява real-time неинвазивно измерване на тъканният еластицитет по време на B-mode изследване. За да се оцени дадена лезия чрез Virtual Touch Quantification-VTQ (ARFI) технологията, фокалната чернодробна лезия първо трябва да бъде визуализирана чрез конвенционален абдоминален ултразвук. След това измерващото поле се поставя върху лезията и се провежда VTQ (ARFI) изследването (средната стойност от 10 измервания, изразени в m/s). Такова измерване трябва да бъде проведено и в околоните тъкани. Почти всички случаи на хепатоцелуларен карцином изглеждат като лезии с по-ниска плътност в сравнвнение с околния циротичен черен дроб (средна VTQ стойност 2.17 m/s спрямо 2.99 m/s респективно).VTQ (ARFI) отношение- отношението между средната VTQ (ARFI) стойност в черния дроб и в лезията, изглежда е по-точно в оценката на огнищни чернодробни лезии. Real-time elastography (RTE) е доказала своята полза при отдиференцирането между бенигнени и малигнени панкреасни лезии и лимфни възли. Има няколко проучвания, които показват ползата от RTE при характеризирането на огнищни чернодробни лезии. Gheorghe и сътр. провеждат студия, в която се демонстрира, че УЗ еластогарфията е обещаващ метод за неинвазивна диагностика на ранен HCC. В проучването са включени 42 пациенти с чернодробна цироза с 58 нодула (1-3 cm), които са оценени посредством real-time еластография (Hitachi EUB-6500)-средните стойности на цветния интензитет (червено, синьо, зелено) са измерени чрез полу-количествен метод. Извършен е анализ на хистограмите за всеки цвят, за да се измери еластицитета в сравнение с околната циротична чернодробна тъкан. Средния интензитет на синия цвят се оказва добър диагностичен инструмент за HCC (AUROC=0.94) за прагово ниво >128.9, с отчетени чувствителност 92.2%, специфичност 78.9%, PPV 95.4% и NPV 68%. 2D-Shear Wave еластографията (2D-SWE) е друга сравнително нова еластографска техника, използвана при характеризирането на огнищни чернодробни лезии. В проучване на Guibal и сътр., чиято цел е била да опишат характеристиките на еластична карта за огнищни чернодробни лезии, оценени чрез 2D-SWE. В проучването са включени 106 чернодробни лезии при 85 пациента (41 бенигнени и 65 малигнени): 17 хемангиома, 14 фокални нодуларни хиперплазии (FNH), 10 аденома, 16 HCC (вкл. 2 HCC при нормален черен дроб), 43 метастази и 6 холангиокарцинома (CCC). Туморната хетерогенност е оценена на еластични 2D карти и са измерени стойностите на еластичност на тумора и околония паренхим. Наблюдавани са значими различия в плътността, съответно при: FNH (33±14.7 kPa) спрямо аденоми (9.4±4.3 kPa)

(p=0.0002); HCC (14.86±10 kPa) спрямо CCC (56.9±25.6 kPa) (p=0.0004). HCC е най-честото малигнено заболяване на черния дроб. Заема шесто място по заболеваемост от онкологични заболявания и трето по смъртност. 11 Ако не се открие в ранни стадии, заболяването е с лоша прогноза. Изброените причини го нареждат сред туморите с обществена значимост. По препоръки на Европейската асоциация за изследване на черния дроб (EASL) и Американската асоциация за изучаване на чернодробните болести (AASLD) в случай на напреднало чернодробно заболяване трябва да се провежда абдоминална ехография на 6 месеца. Различните методи за измерване на чернодробната плътност ще повишат възможността за прогнозиране на HCC. Те са все по – достъпни, лесни и безопасни методи за изследване. Конвенционалната ехография носи информация за промени в паренхима. Ехографската еластография дава информация за механичните свойства на черния дроб. От всичките методи магнитно-резонансната еластография (MPE) е с най-голяма информативност, но е сравнително недостъпен метод. pSWE в зависимост от скоростта на вълната определя плътността на изследваната тъкан. При методът може да се изобрази зоната на интерес (фокална лезия) и е с добра репродуктивност и не се ограничава от наличието на асцит.

2.7.2 Разграничаване на фокални лезии

При проучаване върху 59 участници, диагностицирани с HCC, е установено, че няма статистически значима разлика в плътноста между зоната на огнището и останалия паренхим. Едно от обясненията на авторите, е че изследването е проведено след нахранване. Автори като Gallotti et al., Heide et al. показват, че средната плътност на тумора е по-ниска. Според Kim et al., Park et al. и Frulio et al. HCC е с по-висока плътност. От данните на Cho et al. в 24 % HCC е с по-ниска плътност, а при 76 % е с еднаква или по-висока. При 1054 пациенти (88 с HCC, 966 без HCC), при които е измерена LSM и CAP чрез транзиентна еластография. При HCV рискът за развитие на HCC е бил значително по- голям при тези с комбинация от LSM ≥8.0 kPa и CAP ≤221 dB/m отколкото при други стойности. (log-rank test 0.0239, hazard ratio 2,66, 95 % CI 1.47-67.97, p= 0,0192)

Различните методите за радикално лечение на първичен рак на черния дроб се използват с голям успех при пациенти без напреднало заболяване. Това налага развитието на нови методи и програми за скрининг на рискувите групи. На този етап методите за определяне на чернодробната плътност са полезни със своята неинвазивност, лесна репродуктивност и достъпност. Те са показали своята роля при определяне връзката между степента на

фиброза и увеличаване на риска от поява на HCC. Макар сред различните публикации да се наблюдава голяма вариабилност относно разликите в плътността на HCC и останалия паренхим, се трупат все повече данни за нови възможности да се отграничават фокални лезии.

2.8 Отношение на ДДАС към онкогенезата на HCC

Първите докладван случай на постигнат ТВО с ДДАС, при пациенти провели радикално лечение за HCC са от З. Кръстев и съавтори. След въвеждането му в практиката, екипът назначава 3-D режим на двама пациенти, при които е осъществена пълна локална деструкция на HCC. И при двамата са овладяни НЛР и взаимодействия с други медикаменти и при двамата е постигнат ТВО (151).

Нуждата за откриване на точната роля на ДДАС върху пациенти с HCC е продиктувана от високата честота при пациентите инфектирани с HCV (152). Едно от неизвестните остава дали HCV играе директна или индиректна роля в онкогенезата. От една страна core протеинът има онкогенен потенциал (153), но е известно и че вирусът поддържа хронично възпаление, пролиферация и цироза (154). Известно е, че основни рискови фактори сред контингента са генотип 1b (155) и циротичното преустройство (154). Принципно ерадикацията на вируса следва да намали вероятността от развитие на рак, но с възрастта се увеличава честотата на HCC (156). Честотата на рецидив сред азиатското население след терапия е над 29 %, докато тази на новопоявил се рак е 1.3 % (157).

HCC е сред водещите причини за смърт от онкологични заболявания (над 78 000 новодиагностицирани/годишно, около половин милион починали/годишно в световен мащаб), като е причина за 90% от ПЧР.

Всяка година 2 % от пациентите с чернодробна цироза с HBV етиология и 3-8 % с HCV-етиология развиват HCC (158). Това превръща HCV-асоцийраната цироза в основен рисков фактор за развитие на ПЧР. Поне половината от пациентите не предполагат за тумора, поради късните прояви на заболяването и субоптималния скрининг. Заболяването е значимо и поради лошата прогноза. (159)

Развитието на HCC корелира с някои от показателите за напреднала чернодробна болест като варици на хранопровода и тромбоцитопения (тромбоцити < $100x10^9$/L) в комбинация с напреднала възраст и мъжки пол (160). Според по- нови проучвания честотата на HCC е паралелна на стойностите на порталното налягане и чернодробната

плътност. (161) Освен това има и резултати, сочещи, че с по- висок риск са инфектираните с генотип 1b (155) или генотип 3 (162). Предполага се, че тези генотипове имат специфични последователности или тригерират по- изразен възпалителен отговор (163). Все още не е определена плътност на черния дроб – самостоятелно или в комбинация с други методи за оценка на плътността, при които пациентите с напреднала фиброза не подлежат на профилактика за HCC (60).

Пълният отговор на радикално лечение при HCC (complete response= CR) се дефинира като липса на тумор от образни изследвания на първи и трети месец след терапия (159). Дори в случаите на приложено радикално лечение, честотата на рецидивите е над 15 % (164), като те се делят на ранни (<2 години) и късни. Късните рецидиви са следствие процеси провокирани от циротичното преустройство, като регенерацията след резекция също може да провокира онкогенеза(165). Според публикуван метаанализ рецидивът на HCC при пациенти с HCV (нелекувани с ДДАС) е 7% на 6-тия месец и 47% до 2 години(166). По тази причина е необходимо разработване на ефективна неоадювантна терапия. (159)

Изказани са предположения, че ранният рецидив е свързан с момента на започване на ДДАС. Поради изключване на пациенти с рак от проучвания, данните произхождат от ретроспективни изследвания и реалната клинична практика. Важни данни са получени от ретроспективно проучване, според което ТВО с ДДАС при пациенти с чернодробен рак, неподлежали на радикално лечение бил значимо по- нисък – 82% (при останалите пациенти ТВО бил 93%). В друго проучване на 421 пациента с цироза, пациените били разделени в две групи със статистически значими разлики в успеха от лечението(159). При пациентите с история за HCC ТВО бил постигнат при 79 %, срещу 88% при пациенти без HCC. Тези резултати допринесли за извода, че активен HCC е рисков фактор за неуспешно лечение с ДДАС, като по време на ремисия ефектът бил сходен. Препоръките на американското дружество за случаите на наличен HCC са насочен към изчакване от 4-6 месеца след постигане на ремисия (167), преди инициийране на ерадикация на HCV., докато тези на German Alliance for Liver Cancer (GALC) препоръчват дори изчакване 6-12 месеца(23). Въпреки излезлите препоръки дълъг период на проследяване все още няма, което налага натрупване на още данни (159).

Дискусията по темата е започната след публикация на Reig относно рецидив в хода на проследяване на лечение за HCV (168). В последствие Pei Chien Tsai и съавтори наблюдават при над 50 % от започналите в рамките на 4 месеца, срещu 21% от

започналите лечение след повече от 4 месеца от лечение за HCC (168). Мултицентрично кохортно изследване в Северна Америка получило различна честота на рецидива в зависимост от периода на започване на ДДАС, но без да е достигната статистическа значимост (169). Интерес представлява резултата от мултивариабилен Cox анализ на 152 пациенти с HCC и HCV инфекция. Според резултатите, (HR: 3.20; 95% CI: 1.29–9.65; P=0.0011) в рамките на една година рецидивът е асоцийран с приема на ДДАС. Тези данни остават опровергани от други проучвания с противоположни резултати – според Singal и съавтори ДДАС са свързани с редукция на леталитета (170). Следствие на това се препоръчва от повечето автори изчакване от поне няколко месеца (171)(172)(168).

Лечението с ДДАС може да е негативно, положително или да няма отношение при пациенти постигнали ремисия на HCC.

2.8.1 ДДАС повишават риска от рецидив на HCC след приложена радикална терапия

В редица публикации се посочва увеличение на случаите на рецидив при ранно започване на ДДАС (понякога дори до двойно по-голяма честота) (168). Една от предполагаемите причини е негативното повлияване върху имунната система, което дори води до препоръки от автори на проучвания с малка бройка пациенит за по-задълбочен скрининг за HCC при пациенти над 50 г., индицирани за започване на терапия с ДДАС . Друг трудно обясним факт е наличието на 17 пациента в ремисия (средно 446 дни), които получили рецидив на HCC няколко месеца след лечение с ДДАС (173). Към тези данни за добавени от друго проучване, според което времето за релапс е по- кратко при лекувани с ДДАС. В това проучване изходните нива на АФП били по- високи при групата започнала приема на ДДАС, което до някъде обяснява феномена (174).

2.8.2 ДДАС няма отношение към честотата на рецидивите на HCC

Новите терапевтични режими на HCV са революционни, с доказана успеваемост в ерадикацията на инфекцията, като те не трябва да бъдат стигматизирани без ясни доказателства. Според редица публикации, терапията понижава риска от рецидив, но всички резултати са без статистическа значимост (HR: 0.61; 95% CI: 0.28–1.32)(169); (HR: 0.70; 95% CI: 0.44–1.13; P=0.15) (175). Естествено остава и фактът, че все повече са данните за безапорната полза за подобрение на чернодробната функция при декомпенсирана цироза (175). По- скорошно проучване (отново ретроспективно) показва, че при пациентите лекувани с интерферон, няма получили рецидив на HCC, за разлика от пациентите лекувани с ДДАС. Въпреки това преживяемостта свободна от заболяване е била по- висока при пациените лекувани с ДДАС, в сравнение с пациентите

които не са провеждали противовирусно лечение. Важно е да се отбележи, че заболяването е било по- напреднало при пациентите, които не са получавали ДДАС (p=0.003) (152). Едно от големите проспективни проучвания гласи, че рецидивите не са по- високи от тези при пациенти, които не са получавали лечение ДДАС (166). Kogiso и съавтори потвърждават (ретроспективно), че ДДАС не повишават честотата на HCC, дори при имунокомпрометирани (156). Резултатите от три проспективни мултицентрични кохортни проучвания при пациенти с различно напреднала чернодробна болест, включително и след чернодробна трансплантация показват, че ДДАС не водят до рецидив на HCC (60).

Въпреки някои от натрупаните данни, лечението с ДДАС има редица предимства пред интерфероновата терапия– много по- висок процент на успешна ерадикация, много по-нисък процент на сериозни нежелани реакции, по- добра поносимост от пациентите и много по-малко контраиндикации. Според редица данни ДДАС не могат да предотвратят ранния рецидив, но и не го предизвикват(152). Mashiba и съавтори при проведено мултицентрично кохортно проучване, отразяващо данни от реалната клинична практика не откриват разлика в рецидивите при пациенти лекувани с интерферон и с безинтерферонова терапия (176). Според друго проучване, ДДАС дори може да намали вероятността за втори рецидив, след излекуване на първи (177). За сравнение от предишни резултати, Urabe получава данни, че рискът от рецидив е по- нисък на шестия и дванадесетия месец след началото на терапията. Друг много важен извод е че няма разлика в честотата на ранните рецидиви в рамките на 18 месеца при бациентите лекувани с интерферон и с ДДАС (178). В национално проучване от Япония е обявено, отново, че не е открита разлика в рецидивите, но подробни данни не са публикувани. Важни са данните на Waziry (179) и съавтори (от анализ на 17 доказани проучвания), според които рецидиви се наблюдават с еднаква честота при безинтерфероновата и интерфероновата терапия. Концепцията за липса на разлика в рецидивите се потвърждава от Shinichiro.

Едно от важните заключения е, че може би е уместно пациенти с история за излекуван HCC и ерадикиран HCV трябва да се проследяват на период от 4 месеца. Не бива да се забравя, че за да се приложи радикално лечение на HCC трябва да е съхранена чернодробната функция, а според голям брой публикации, тя се подобрява след ерадикация на етиологичния причините. Тоест преживяемостта от HCC би трябвало да се подобрява индиректно, следствие на увеличените възможностите за лечение при

подобрен PS. Естествено при очаквана продължителност на живота под 12 месеца се препоръчват единствено палиативни грижи. (180)

2.8.3 ДДАС намалява риска от развитие на рецидив

Не малък брой проучвания показват, че всъщност ДДАС намаляват риска от развитие на рецидив, сред тях и европейско мултицентрично проучване на 47 пациента със среден период на проследяване от 21.5 месеца (171). При 20 пациента проследяване средно 12 месеца (между 4-60 месеца), нито един не е развил реидив, а в друго от 31 пациента само 1 развива рецидив в рамките на 8 месеца. Отново е предположена връзка между времето на започване на ерадикацията и честотата на рецидивите (168) (181). В проучването е установено, че при приемалите ДДАС на 6 месец, първата, втората и петата година рецидивите са били по- малко отколоко при нелекувани пациенти (168). Резултатите са сходни и в редица други проучвания като това на Virlogeux и съавтори. Сред различните терапевтични подходи на HCC са сравнени доир данните при пациенти след TACE (коят се приема за палиетивно лечение). И там са били по- обещаващи резултатите при приемалите ДДАС (181). В противоречие на резултати, коментирани по- горе, според тези на Nagada и съавтори няма разлика в честотата на рецидивите при пациенти лекувани с интерферон с ДДАС (54.2% vs 45.1%; P=0.54). А в друго кохортно проучване на пациенти със сходни параметри (CPS, чернодробна функция, брой и големина на огнища, пол, възраст и др.) е допуснато, че дори се намалява честотата на рецидивите след терапия с ДДАС (182). В Италия, при сходна постановка сред 111 пациенти, заключението отново е било сходно. В много от проучванията честотата на рецидивите е еднаква независимо от лечението, но по- висока отколкото при пациенти непровеждали терапия за HCV.

Резултатите са противоречиви поради хетерогенните модели на проучванията. Оптималното време на иницииране на терапия за HCV при пациенти след проведено радикално лечение на HCC остава дискутабилна. Основната неточност на проведените изследвания е липсата на изключващи фактори, липса на данни за пациенти със смесена генеза на чернодробното заболяване, стадиране на онкологичното заболяване, интервал между лечението на тумора и вируса. Друго, което не трябва да се пренебрегва е фактът, че ДДАС са приложими при декомпенсирана цироза, както и редица други заболявания, които представляват контраиндикация за аплициране на интерферон. Значимо теоритично обяснение е, че интерферонът таргетира инфектираната клетка, стимулирайки имунен отговор срещу нея, докато ДДАС директно нарушават вирусната

репликация. Внезапният спад във вирусния товар може да води до имунен дисбаланс. По този начин може би имунната система губи контрол върху развитието на рецидив (сходен е един от механизмите за активиране на HBV след ерадикация на HCV) (159).

Des- gamma carboxy prothrombin (DCP) е един от множеството маркери, изследвани в годините за диагностициране и проследяване на HCC. Едно от проучванията в тази сфера е върху пациенити с хронична HBV инфекция, здрави контроли, пациенти с цироза и пациенти с HCC. Според публикуваните данни, DCP е по- чувствителен и специфичен от AFP, особено в ранни стадии на HCC. Освен това DCP може да допринесе за диагнозата при HCC и нормални стойности на AFP. Твърди се, че стойностите на DCP може да разграничат и чернодробна цироза от HCC. (183)

AFP-L3 фракция

Като заключение от всички резултати до момента AFP и DCP не се препоръчват за проследяване на пациенти с риск за HCC.

За да е адекватно определен рискът от развитие или рецидив на HCC, трябва да се потърси информация за продължителността на проследяване преди започване на специфично лечение, както и е нужно една от целите след лечение да е продължителна профилактика. Причината за продължаващ интерес към честотата на HCC при ерадикиран вирусен е честата липса на горепосочените резултати.

2.9 Публикувани резултати от лечението при пациенти с напреднала чернодробна болест
Чернодробната цироза не само е краен стадий на натрупване на фиброза, но се асоциира с нарушаване на архитектониката и биохимични процеси и параметри, които от своя страна възпрепятстват регенерацията на черния дроб (30).
При пациенти с декомпенсирана чернодробна цироза са налице известни ограничения в избора на ДДАС (18). Тази причина, прибавена към увреденото общо състояние на тази група от болни представлява предизвикателство в съвременната медицина. Интересен за отбелязване е опитът натрупван при провеждането в 34 клинични центъра проучване SOLAR- 2. Проследяван е ефектът на комбинацията от софосбувир (директno-действащ инхибитор на NS5B полимераза), ледипасвир (директно-действащ инхибитор на NS5A полимераза) и рибавирин приемани в продължение на 12 или 24 седмици при пациенти

с напреднала чернодробна болест (инфектирани с генотип 1a 1b или 4). В едната група са проследявани пациенти след чернодробна трансплантация. Следствие на високата честота на траен вирусологичен отговор (ТВО) това е един от терапевтичните режими, препоръчани от европейското (EASL) и американското (AASLD) дружество за изучаване на черния дроб (184).

Важен въпрос остава ползата от безинтерферонова терапия при пациените с напреднала болест. Според най- ранните данни се подобрява чернодробната функция. В едно от изследванията са проследени показателите на пациенти от две групи – с CPS B или C и пациенти с тромбоцитопения (тромбоцити < 90.000/μL). Пациентите са лекувани с различни безинтерферонови режими по препоръките от 2015 г., като над половината са били генотип 1. Проследени са протромбиново време, албумин, холинестераза и билирубин. Според резултатите нарушената протеосинтетична функция се е подобрила (албумин: 29.6 ± 4 g/L изходно и 33.0 ± 4 g/L на седмица 12; p < 0.001, с по-противоречиви резултати относно протромбиновото време). В хода на терапията е отчетено влошаване в стойностите на хемоглобин и билирубин (което авторите са свързали с приемът на рибавирин), последвано от спад в билирубина 12 седмици след терапия, в сравнени с изходните показатели ((35 ± 12 lmol/L срещу 23 ± 8 μmol/L; p < 0.001)). Серумната холинестераза е била приета за маркер на чернодробната функция (185), като също е претърпяла подобрение при пациентите с ниски стойности (186).

И в двете групи се е наблюдавало увеличени в броя на тромбоцитите. При пациентите с CPS B или C от изходни стойности 104.000 ± 53.000/μL, на 4 седмица от лечението са се покачили до 117.000 ± 56.000/μL; (p< 0.001). Във втората група изходно средните тромбоцити са се повишили от 67.000 ± 17.000/μL на 83.000 ± 27.000/μL на четвъртата седмица от лечението; (p < 0.001). Въпреки че ефектът най- вероятно се следствие на приема на рибавирин, и стойностите са спаднали в последствие, те са отстанали по-високи на 12 седмица след края на лечение, в сравнение със стойностите преди началото. Данните за наличието на асцит са неточни поради липса на ехографско изследване при всички пациенти и липса на статистическа значимост (p=0.07). В началото на изследването 5% са определени като клас C по CPS, като 12 седмици след ТВО, при всички тях се е наблюдавало спадане в класа. При 15 % е имало влошаване в MELD, срещу подобрение при 44%. Не е установена връзка с генотипа (186). Според Герджикова. при пациентите с чернодробна цироза, независимо от наличието на HCC, тромбоцитите комулативно нарастват и не се установява разлика в стойностите на

билирубина. В изнесените резултати стойностите на серумния албумин се подобряват, като при пациентите без HCC, но с цироза те се задържат по- високи. Друг показател за протеосинтетичната функция – INR, не се е повлиял, MELD намалява, CPS се подобрява при над 18% и се влошава при близо 14 %, като са изследвани двама пациенти с CPS C, от които при единия е спаднал до B (187).

Друго проучване показало, че ДДАС подобряват състоянието на пациентите чакащи за чернодробна трансплантация, като сред 1194 пациента с HCV етиология е отчетен трайна тенденция за изключване от листата на чакащите (188). Също така е открито, че подобряването на пет фактора са ключови в намаляването на класа по CPS – портална енцефалопатия, индекс на телесната маса, асцит, серумни стойности на АЛАТ и албумин, като е въведен B3AE скор (138). Според Герджикова, при над 85 % от пациентите с напреднало чернодробно заболяване се наблюдава биохимичен отговор, като при пациентите с изходно нормални нива на АЛАТ, при проследяването той остава нормален. Биохимичен отговор се наблюдава значително по- често при пациентите с компенсирано заболяване, отколкото при тези с декомпенсирана чернодробна цироза (187).

27 пациента с чернодробна цироза и 25 със стадий на фиброза F3 са проследявани за 60 седмици след успешна ерадикация с ДДАС. Двукратно е проведена транзиентна еластография, APRI, FIB-4 и измерванена биполярен диаметър на слезката. Отчетено е статистически значимо намаляване на плътността на черния дроб, както и значимо намаляване в броя на пациентите с индиректни белези за портална хипертония. Отчетено е увеличение в средните стойности на тромбоцитите и спад в стойностите на индексите за чернодробна фиброза, както и в размерите на слезката (189). По публикувани данни фиброзата, при пациенти с чернодробна цироза на 3D режим, се е редуцирала при около половината болни (в групата от изходно 21,4 % до 11,4% след лечение)(116).

Едни от най- ранните данни са от проспективно, едноцентрово проучване върху 80 пациенти с чернодробна цироза. От тях 43 % са били с клас B или C по CPS, а средните стойности от еластографията са били 27.4 кРа. Въпреки, че при един пациент е спряно лечението по медицински индикации, и двама за загинали преди края на терапията, са получени обещаващи резултати относно подобрението в основните показатели за чернодробна функция. (186)

Според Baveno-VII премахването на причинителят на чернодробното заболяване може да доведе до потенциално подобрение в порталното налягане и намаляване на

риска за декомпенсация, а изчезването на значима портална хипертония превентира развитието на декомпенсация. Все още не са открити посочени точните стойности за премахване на този риск (60).

2.9.1 Еволюция при кандидати за чернодробна трансплантация

Сред най- честите критерии за изключване на пациент от листа на чакащите са ТВО, подобрение в порталната енцефалопатия, резорбция или намалено количество на асцита, MELD под 15 точки, дози на фуроземид ≤25 мг., на спиронолактон под 100 мг. Тези критерии трябва да останат стационарни за поне три до шест месеца (190). При пациентите с MELD под 16 точки, индикации за чернодробна трансплантация могат да бъдат хронична енцефалопатия, рефрактерен асцит или хидроторакс, неконтролируемо кървене, хепато-пулмонален синдром, хепато-пулмонална хипертония, тежка малнутриция (190).

В резултат на лечение с ДДАС около 25 % от пациентите с декомпенсирана чернодробна цироза могат да отпаднат от листата на чакащи за чернодробна трансплантация (191)(192). Резултатите са подобни на тези, при провеждащите лечение с нуклеотидни/нуклеозидни аналози за хроничен вирусен хепатит В(192). Според ELITA study(191) за проследяване от краткотраен период 1 от 4 може да отпадне от листата, без да се знае, при колко настъпва нов епизод на декомпенсация.

В проучване сред 11 европейски центъра са лекувани 103 пациенти с декмпенсирана чернодробна цироза (без ПЧР), с ДДАС за. Към тях са добавени в последствие още 39. Пациентите са проследявани между 29,8 и 39.5 месеца . .

При 6.3% е настъпила смърт (5 човека поради сепсис, 1 поради неовладян кръвоизлив, 1 от белодробен тромбемболизъм). При 48,6 % е проведена чернодробна трансплантация (като един от тях с диагностициран HCC). 30.9% са отпаднали от листата за трансплантации поради подобрение. 9 пациента са делистнати по други причини (отказ от трансплантация, сериозни сърдечно- съдови заболявания, злоупотреба с алкохол, тромбоза в системата на порталната вена, сърдечна недостатъчност предизвикана от трансюгуларен интрахепатален портосистемен шънт, неоперабилен HCC) При пациентите, които са отпаднали от листата на чакащи поради подобрение са били с изходни стойности на MELD и CPS сигнификантно по- ниски от останалите в листата. Булшинството, когато са махнати от списъка са били с MELD под 12 точки.

Кумулативната честота на делистване се увеличава с времето от началото на терапията (48 седмици- 7%; 72 седмици – 18%, 96 седмици – 27%). Почти половината от тези с MELD под 16 точки са делистнати поради подобрение. 35 пациенти са с пълна резорбиця на асцита. От делистнатите пациенти 4 са били включени отново в списъка за чернодробна трансплантация (един поради новоустановен HCC, трима поради влошаване на оточно- асцитния синдром). (190).

2.9.2 Качество на живот :

От повече от 40 г. е въведен интегриран подход в здравните грижи, който комбинира в себе си проследяване не само на биохимичните резултати, но и динамиката в психоемоционалното състояние при пациентите (141). С различни подход се оценява свързаното със здравния статус качество на живот на пациентите . Най- честите оплаквания, водещи до влошаване на качеството на живот на пациентите с чернодробни заболявания са гадене, намалено самочувствие, намалена работоспособност, тревожност, депресия (141). Хроничният HCV в редица държави се диагностицира при пациенти в работоспособна възраст (трето и четвърто десетилетие), като това е все по- често наблюдавано явление и в България (141).

По данни на Р. Цонев преобладаващ процент от пациентите възстановяват качеството си на живот. Той установява, че възрастта много слабо повлиява самооценкат на качеството на живот на пациентите с хронична HCV инфеция (слаба отрицателна корелационна зависимост). На база на проведената анкета той прави заключение, че въпроси относно депресия, тревожност и раздразнителност могат да получат адекватен отговор само пред клиничен психолог. Освен това установява, че самооценката за качеството на живот не се повлиява от степента на чернодробната фиброза (100).

3. Цел и задачи

Цел:

Да се оценят промените в активността и степента на чернодробното увреждане при пациенти с хронична HCV инфекция, постигнали ТВО в резултат на лечение с ДДАС и проследени поне 6 месеца след това, при използване на широк спектър от клинични, клинико-лабораторни, имунологични и инструментални методи за изследване.

Задачи:

2.2.1. Да се сравни чувствителността и специфичността на неинвазивни методи спрямо хистологичната находка на изходно ниво.

2.2.2. Да се изследват и проследят стойностите на TIMP-1, α2MG и HA при пациентите с различна степен на чернодробно увреждане.

2.2.3. Да се потърси панел от изследвания, позволяващ отчитане на обратно развитие на чернодробното възпаление и фиброза

2.2.4. Да се създаде скорова система за оценка на риска от смърт в резултат на чернодробното увреждане

2.2.5. Да се оцени качеството на живот и промяната му след успешна ерадикация на хронична HCV инфекция

4. Материали и методи

В клиника по гастроентерология УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД за периода 01.2014 – край август 2021 г. при 935 човека, с диагностициран хроничен вирусен хепатит С, с активна вирусна репликация, е назначено лечение с ДДАС. Терапията е успешно приключила при 839 човека, без да се наблюдават сериозни НЛР. ТВО е регистриран при 774 (92%). В хода на терапията са починали 3 пациенти, а след приключване на лечението, преди да постигнат ТВО още 5, с декомпенсирана чернодробна цироза са починали - 2 . От пангенотипните режими Глекапреви/Пибрентасвир е назначен при 170 човека, като 37 са загубени от проследяване, от останалите 133 пациента не са отговорили 3 (2,3 %), а ТВО е постигнат при 130 пациента (97,3%). Със Софосбувир/Велпатасвир започнаха лечение 76 пациента, като 15 не са се явили за проследяване, 93% (n= 61) са постигнали ТВО, 7% (n=5) - не са. Софосбувир/Велпатасвир/Воксилапревир беше назначен при 4 пациенти, неотговорили пациенти, без история за декомпенсирано чернодробно заболяване, които не бяха отговорили на другите пангенотипни режими, като всички те постигнаха ТВО 12 или 24 седмици след приключване на терапията.

Половото разпределение на пациентите с ТВО беше: мъже 51% (n=395), жени -49 % (n=379).

От постигналите ТВО - болни, генотипизирани 558 болни. Окончателна диагноза и съответно разпределение в диагностична група можеше да се проведе при 503 болни както следва: хроничен хепатит - 318, с комепнсирана чернодробна цироза – 124, с данни за декомпенсирана чернодробна цироза - 61.

4.1 Клинични, лабораторни и инструментални методи за оценка на новоприет болен

Снемане на анамнеза и статус в Клиника по гастроентерология УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД

Лабораторни изследвания (хематологични параметри, биохимични показатели за оценка на чернодробното заболяване, електролитния баланс, възпалителни маркери, коагулационен статус и допълнителни при съответните показания) изработени в Клинична лаборатория на УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД

Образни изследвания – при всички пациенти бяха проведени ехография на коремни органи, оценка на кръвотока в системата на vena portae чрез методът на Doppler, електрокардиограма.

За ехографско изследване на коремни органи в B-mode, Color-Doppler, Power-Doppler, B-flow за изследване на кръвотока в системата на v. portae, контраст- усилена ехография и Strain еластография (Hitachi Real-time Tissue еластография) се използваше Hitachi Arietta V60. В проследяване се проведе Strain еластография на 50 човека, постигнали ТВО.

При съмнение за неопластичен процес, тромбоза в порталната система и др. бяха проведени и допълнителни образни изследвания (КТ, МРТ, КУЕ) в Отделение по образна диагностика УМБАЛ „Св. Иван Рилски“.

ТЕ беше проведена на Fibroscan Compact (Echosens) 530 F81376 софтуер 4.0.3 P1. Изследването беше проведено на гладно (поне след 6 часа без прием на храна и напитки), в дясно интеркостално пространство на нивото на десния чернодробен лоб, в дорзална позиция на пациента. Десет валидни измервания (определени от софтуера) бяха извършвани на всеки пациент, като се приемаше изследване само с ≥70% успешни измервания, при интерквартилен обхват (IQR)≤30%. Резултатите за плътността са изразени в kPa. Не бяха включени резултатите от пациенти с доказана сърдечна недостатъчност, трикуспидална регургитация, както и при данни за интра- или екстрахепатална холестазата (от образни изследвания, алкална фосфатаза >150 I/U). При проследяване се проведе ТЕ на 46 човека.

Strain еластографията беше извършено на гладно след 10 мин. Покой на пациента. Средно 3 валидни измервания бяха направени в VIII межуребрие вдясно с отведена нагоре дясна ръка при задържано дишане. Трансдюсерът беше насочен в посока към сърцето (за да може strain-образът да се генерира от натиска на сърдечните контракции върху черния дроб). Беше избран регион на интерес (ROI) поне на 1 см под чернодробната капсула и бяха избягване зони с големи съдове. При всяко валидно изследване автоматично от апарата беше изчислен LF индекс (на базата на регистрирани правилно поне 5 сърдечни контракции) по формула, използваща регресионен анализ. От валидните измервания се приемаше средната стойност на LF индекс за съответния пациент /виж. Приложение/.

При 385 пациента след получаване на писмено информирано съгласие беше проведена перкутанна чернодробна биопсия по Менгини с игла 18 G преди започване на лечението. Бяха включени резултатите от хистологии, съдържащи поне 4 портални пространства. Пробите се оцветяваха с Хематоксилин и Еозин и се стадираха по METAVIR. Това бяха пациенти без данни за усложнения следствие на портална хипертония, без абсолютни контраиндикации за провеждане на инвазивни изследвания,

като манипулацията беше необходима поради актуалните за съответния период изисквания за провеждане на лечение по НЗОК.

Последващо провеждане на чернодробна биопсия не беше проведено при нито един пациент, постигнал ТВО, тъй като това представлява ненужна инвазивна процедура и подходът е отхвърлен от официалните световни и европейски препоръки. Използвахме два инструментални метода за неинвазивно интерпретиране на стадий на фиброза чрез определяне на чернодробна плътност – ТЕ (n=46) и Strain еластография (n=50). Cut-off стойностите, които използвахме за ТЕ по препоръките на производителя бяха: F0-F1 (1-7 kPa); F2 (7-9,5 kPa); F3 (9,5-12,5 kPa); F4(>12,5 kPa).

Неинвазивна оценка на чернодробната фиброза с рутинни лабораторни показатели се осъществи чрез APRI и FIB-4.

Скор	Формула	Интерпретция
APRI	$APRI = \frac{\frac{\text{АСАТ}}{\text{ГГС на АСАТ}}}{\text{Тромбоцити}\left(10\,^{9}/_{L}\right)} \times 100$	• APRI≤0.5 - малко вероятна е напреднала болест • 1≤APRI>0.5 – не може да се изключи значима фиброза; цироза е малко вероятна • 2≤APRI>1 – значима фиброза; не може да се определи цироза • APRI>2 – вероятна цироза
FIB-4	$FIB-4 = \frac{\text{възраст x АСАТ}}{\text{Тромбоцити}(10^{9}/L) \times \sqrt{\text{АЛАТ}}}$	• FIB-4<1.45 – Цироза малко вероятна • 1.45≥FIB-4≤3.25 – неопределен • FIB-4>3.25 – цироза е вероятна
GAPRI (GPS)	$GAPRI = \frac{\text{ГГТ}}{\text{Тромбоцити}\left(10\,^{9}/_{L}\right)} \times 100$	• F≥2 – 0.49 • F≥3 – 0.62 • F=4 = 0,74

Пациентите бяха разделени в две групи:

1. Здрави доброволци /n=23/: при които се изключиха остри или хронични чернодробни заболявания, актуална или преживяна инфекция с вирусен хепатит, хронични или остри възпалителни заболявания, злокачествени новообразувания, психични заболявания, автоимунни болести или друго здравно състояние, протичащо с активиране на имунна реакция. Включените индивиди в групата нямат вредни навици – не употребяват системно алкохол (повече от 20 гр./дн. за жени и повече от 40 гр./дн. за мъже), нямат зависимост към наркотични вещества, не приемат системно хепатотоксични медикаменти или билки.
2. Пациенти с хроничен вирусен хепатит С /определен с двукратно установена активна вирусна репликация за период от поне 6 месеца/, които са излекувани с ДДАС /постигнат ТВО 12 седмици или 24 седмици след края на терапията/.

Пациентите с хроничен вирусен хепатит С бяха допълнително разделени според напредналостта на чернодробната болест :

1. с различен стадий на фиброза, но без данни за чернодробна цироза (критериите за поставяне на диагнозата са посочени при втората група)

2. чернодробна цироза- в тази група разпределихме пациентите спрямо поне един от следните критерии:

- данни за F4 (по METAVIR),
- пациенти с данни за варици на хранопровода или стомаха, портална гастропатия, при дифузен паренхимен процес на черния дроб /без данни за прехепатална или постхепатална причина за портална хипертония/
- данни за хиперспленен синдром (моно-, би- или панцитопения, определени от референтните стойности за пола и възрастта на пациента, в комбинация с ехографски установени по- големи размери на слезката спрямо ръстта на пациента), при пациенти с дифузен паренхимен процес на черния дроб
- данни за циротично преустройство на черния дроб и белези за портална хипертония

3. декомпенсирана чернодробна цироза – пациенти с данни към момента или в миналото за асцит, енцефалопатия, иктер или кръвоизлив от горен ГИТ при напреднало чернодробно заболяване

При пациентите с чернодробна цироза /вкл. и декомпенсирана/, които нямат абсолютни противопоказания за инвазивни манипулации е проведена фиброгастродуоденоскопия за оценка на варици на хранопровода и стомаха или портална гастропатия.

Анализът на нивата на *HCV RNA* беше извършен чрез количествена real time полимеразна верижна реакция (PCR- polymerase chain reaction). Изследването се извършваше в „Лаборатория по порфирии и молекулярна диагностика на чернодробни заболявания“ УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД. За целта беше използвана Rotor-Gene Q System (Quiagen, Germany). Наличието и количественото определяне на HCV РНК беше осъществено чрез кит QIA symphony DSP Virus/Pathogen Midi (Qiagen) и Artus HCV Q5-RGQ Kit (Qiagen), като бяха стриктно спазени инструкциите на производителя. В допълнение беше използван и китArtus HCV Q5-RGQ с оглед изключването на PCR инхибиция. По този начин се установяваше и вътрешен контрол (IC) във флуоресцентен канал Cycling Orange of the Rotor-Gene Q. Резултатите са получени в международни единици за милилитър (IU/ml). Тестът отчита количествено HCV РНК в интервалът 65 – 1x105 HCV IU/ml. При установяване на HCV RNA при даден пациент, беше провеждано генотипизиране чрез Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 (Siemens Healthcare Diagnostics). Генотиповете и субгенотиповете, които могат да се отчетат с метода включват 1, 1a, 2, 2a/c, 2b, 3, 3a, 3b, 3c, 4, 4a, 4b, 4c/d, 4e, 4f, 4h, 5a и 6a.

За определяне на HA, alfa-2 MG и TIMP-1 се отделяше серум, който първо се оставяше на стайна температура за 30 минути, след което се центрофугираше за 15 минути на 1000xg. Серумите се съхраняваха на -80 градуса по Целзий, като се размразяваха само непосредствено преди изследване. Количественото определяне на трите маркера се извърщи в „Лаборатория по клинична имунология“ и „Клинична лаборатория“ в УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД.

За определяне на стойностите на *TIMP-1* [i]се използваше ,The Quantikine Human TIMP-1 Immunoassay с чувствителност 0.08 ng/ml. Представлява 3.5- часова твърдо-фазова ELISA. Анализът е предназначен да измерва концентрацията на TIMP-1 в супернатанта от клетъчни култури, серум, плазма или слюнка. Съдържа NS0-експресиран рекомбинантен човешки TIMP-1 и антитела срещу рекомбинантния фактор. Получените резултати показват линейни криви, които са паралелни на стандартната крива, която е получена чрез стандарт за количествен кит. Тези резултати са индикация,

че китът може да бъде използван за определяне на стойностите на релативната маса за естествен човешки TIMP-1.

Анализът използва количествен ензимен „сандвич“ техника. Предварително се покрива микроплака със специфично за човешки TIMP-1 моноклонално антитяло. Стандартите и пробите се пипетират в клетките, като наличният TIMP-1 се свързва с имобилизиращото антитяло. След отмиване на несвързани субстанции, ензимно свързано поликлонално антитяло, специфично за TIMP-1 се добавя, след което се отмиват отново несвързани субстанции. Добавя се субстратен разтвор, като се получава различен цвят спрямо количеството на TIMP-1. След получаване на цвета се измерва интензитетът му.

Всички серуми се разтваряха 100 пъти с Calibrator Diluent RD5P (1:5). Използваше се отмиващ буфер, след затопляне на стайна температура и без наличие на кристали в него. 20 mL от него се добавяха към дестилирана вода за получаване на 500 mL. За да се получи субстратния разтвор последователно се смесваха в равни количества цветен реагент A и B, 15 минути преди употреба, без да се излагат на светлина. Добави се 20 mL от Calibrator Diluent RD5P концентрат към дестилирана вода за 100 mL Calibrator Diluent RD5P (разтворен 1:5). Възстановява се TIMP-1 Standard с дестилирана вода, като по този начин се образува готов разтвор от 10 ng/mL. Стандартът престояваше за 15 минути преди да се постигнат разрежданията. 200 µL от Calibrator Diluent RD5P (разтворен 1:5) се пипетира в епруветки. Използвайки готовият разтвор се приготвиха дилуционни серии. Неразтворената проба служеше за висок стандарт (10 ng/ml), а Calibrator Diluent RD5P (разтворен 1:5) служеше за нулева стандарта (0 ng/mL).

За референтни граници спрямо литературни данни се определниха (80-103 ng/ml); (48-211 ng/ml) (60).

За определяне на нивата на αМГ в серум се използва имунен анализ. Изследването включва няколко инкубационни фази: αМГ от тестваните серуми се свързва с поликлонални антитела от заек, които са имобилизирани към кладенчетата. Несвързаните субстанции се отмиват. Във втората стъпва се свързва маркирано с пероксидаза антитяло за αМГ и отново се отмиват несвързаните субстанции. В следващата стъпка твърдата фаза се инкубира с тетраметилбензидин, след което се добавя киселинен разтвор и реакцията се спира. Цветът се променя от син в жълт, като интензитета отразява концентрацията на αМГ. Генерира се дозово зависима крива от

резултатите от калибраторите. От кривата се взимат резултатите. Референтните стойности са 1.3 – 3.0 g/l.

За определяне на серумните нива на НА се използва количествен „сандвич“ имунен анализ. Микроплака беше предварително покрита с филм от рекомбинантен човешки агрекан. Стандартите, контролите и пробите бяха пипетирани, като наличният хиалуронан се свързваше с имобилизирания рекомбинантен човешки агрекан, след което несвързаните субстанции се отмиват. Добави се последователно ензимно свързан рекомбинантен човешки агрекан и субстратен разтвор. Резултатният цвят в различните гнезда се определя от концентрацията на НА.

50 µL от пробата се разтваряха със 150 µL от калибрационен разтворител RD5-18. Използваше се отмиващ буфер, след затопляне на стайна температура и без наличие на кристали в него. 20 mL от него се добавяха към дестилирана вода за получаване на 500 mL. За да се получи субстратния разтвор последователно се смесваха в равни количества цветен реагент А и В, 15 минути преди употреба, без да се излагат на светлина. Във всяко гнездо се накапваше по 100 µL от получената микстура. Стандартът за НА се възстанови с калибрационния разтворител, като се получи разтвор 40 ng/ml. Стандартът се разбърка за 15 мин.

В епруветки се пипетира 200 µL от калибрационния разтворител и се получиха дилуционни серии заедно с разтвора на НА 40 ng/ml. Неразтвореният стандарт (40 ng/ml) служи за висок стандарт, а разтворителя за нулев стандарт (0 ng/ml).

След като всички реагенти са готови се добавя 50 µL от разредителя за анализа RD1-14 във всички гнезда. Плаката се покрива с адхезивна лента и се инкубира за 2 часа на стайна температура върху шейкът (0.12‘‘ orbit) настроен на 500 ± 50 rmp. След това се аспирира и се измива 5 пъти плаката и се добавя 100 µL от конюгат НА към всяка клетка, покрива се с нова лента и се инкубира на шейкър за още 2 часа. След пет кратно измиване се добавя 100 µL субстратен разтвор и се инкубира за още 30 мин. далече от светлина. Реакцията се прекъсва след това с разтвор и се провежда спектрофотометрично измерване. Интензитетът на цветния продукт е правопропорционален на количеството антиген в биологичната проба. Построява се стандартна крива според калибраторите на всеки кит и по нея се определя количеството на търсения фактор в тестваните проби.

Изключващи критерии за провеждане на изследване на TIMP-1; НА; α2МГ:

1. Активна инфекция с HBV или друг хепатотропен вирус
2. Хронично бъбречно заболяване, остра бъбречна увреда, хронична застойна сърдечна недостатъчност, пулмонална хипертония декомпенсиран захарен диабет, късен дегенеративен синдром
3. Психични заболявания
4. Възпалителни заболявания (инфекциозни, автоимунни)
5. Липса на информирано съгласие
6. Непостигнат ТВО

Рутинните кръвни показатели проследихме отново само в тази група, с цел изключване на повлияване в тях от придружаващи заболявания (нефритен, нефротичен синдром, хипертиреоидизъм, хемолитична анемия и др.) и приемани медикаменти (аценокумарол, билки и др.).

Скорови системи :

Hepascore се изчисляваше по следната формула:

$$y = \exp[-4.185818 - (0.0249 \times \text{възраст}) + (0.7464 \times \text{пол}) + (1.0039 \times \alpha 2\text{макроглобулин}) + 0.0302 \times \text{хиалуронова киселина}] + (0.0691 \times \text{билирубин}) - (0.0012 \times \text{ГГТ})]$$

$$Hepascore = \frac{y}{1+y}‘$$

където възрастта се изчисляваше в години, за мъжки пол се взимаше =1; за женски = 2. Стойности ≥ 0.84 приехме за индикатор за цироза.

Forns

[7.811 - 3.131 × ln [тромбоцитен брой] × 0.781 ln [GGTP (U/L)] + 3.467 × ln [възраст (години)] - 0.014 [холестерол (mg/dL)]\]

$$\textbf{HAPRI} = \frac{\text{HA}}{\text{prothrombin index}} \text{x}100$$

HALT-C

3.66 - 0.00995 × platelet count (10^3/mL) + 0.008 × TIMP–1 + 1.42 × log(hyaluronate)

На 66 пациента с излекуван хроничен вирусен хепатит С, изходно в стадий на значима чернодробна фиброза, цироза или декомпенсирана чернодробна цироза бяха

предоставени анкети за оценка на качеството на живот (виж. Приложение). Пациенти с чернодробно заболяване със смесена генеза, пациенти с тежки придружаващи заболявания, които нарушават качеството им на живот – сърдечна, дихателна, бъбречна недостатъчност, психиатрични и онкологични заболявания или силни болки в опорно-двигателния апарат. Анкета не се предоставяше на пациентите, които не бяха подписали информирано съгласие. Въпросите в анкетата бяха заимствани от The Medical Outcomes Study Short Form (SF-36), като бяха добавени и въпроси от The Chronic Liver Disease Questionnaire (CLDQ), които са определящи за качеството по- специфично при чернодробни заболявания и понякога са определящи за поведението (напр. пруритус и мускулни крампи).

Задълбоченото проследяване на енцефалопатията не беше приоритет в настоящата разработка по ред причини: минималните прояви на енцефалопатията е най- трудният за изключване признак на декомпансация поради необходимостта от многократно провеждане на количествени неврофизиологични тестове; липсва стандарт за поставяне на диагнозата; невъзможността при всеки пациент да се изключат редица други заболявания в диференциално- предстояща промяна в критериите за енцефалопатия като признак за декомпенсирана чернодробна болест.

Статистически методи

Статистическият анализ на суровите данни бе извършен със специализирана програма за биостатистическа обработка на данни IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0. Armonk, NY: IBM Corp. Released 2012, програмни езици "R", чрез RStudio и "Python", чрез JupyterNotebook. Графичните изображения, представящи статистическите данни, са изготвени с помощта на "R", GraphPad Prism 9 и SPSS.

Дескриптивна статистика: Използвахме методите на дескриптивната статистика за описание на демографската и клинична характеристика на пациентите, както и за представяне на данните от изследваните имунологични параметри с показателите на централната тенденция.

Тестове за определяне нормалността на разпределението (Kolmogorov–Smirnov, Shapiro-Wilk): Извършихме проверка за нормалност на разпределението, тест за съответствие между емперичното и непрекъснато теоретичо разпределение, използвайки тест на Kolmogorov–Smirnov и тест на Shapiro Wilk. Тестовете за определяне на вида

разпределение бяха използвани за проверка дали данните за определен изследван параметър са с нормално разпределение. Видът разпределение определя дали ще бъдат използвани параметрични или непараметрични тестове за сравнение на извадки.

Параметрични тестове за свързани и несвързани извадки: За сравняване на данните с нормално разределение, между отделните групи пациенти, използвахме параметрични тестове за свързани извадки (T-тест на Student) и за несвързани извадки (unpaired T-тест на Student).

Непараметрични тестове за свързани и несвързани извадки: В случаите с данни за разпределение, различно от нормалното, бяха извършени непараметрични тестове за несвързани извадки, посредством Wilcoxon signed-rank test, Mann-Whitney U test, ANOVA (Analysis of Variance, мултивариантен дисперсионен анализ), Kruskal-Wallis *H* test Използвахме също пермутационен тест за асоциации на Фишер (Fisher's Permutation Test) при анализа на номинални данни. Поради множеството проведени тестове, бе извършена корекция, отчитаща вероятността да се допусне грешка от първи род, наричана ниво на значимост (на грешката) и означавана с α, съгласно метода на Benjamini-Hochberg.

Корелационен анализ: за изследване на зависимост между количествени величини: За данни с параметрично разпределение използвахме Pearson correlation coefficient, а за данни с непараметрично разпределение беше приложен Spearman's rank correlation coefficient.

ROC curve анализ: За да определим оптималните cut-off values, т. е. праговите стойности на процент камерен пейсинг, по отношение на предвиждане на типа отговор към CRT терапията, използвахме ROC curve анализ - метод, който комбинира най-добре показателите чувствителност и специфичност. Построихме ROC (receive operator characteristics) крива.

Изчисления за диагностичната чувствителност, специфичността и положителната предиктивна стойност :

	Респондери	Не-респондери
Надпрагова процент	a	b
Подпрагово ниво	c	d

- Чувствителност = a/(a+c)
- Специфичност = d/(b+d)
- Положителната предиктивна стойност (ППС) = a/(a+b)
- Отрицателната предиктивна стойност (ОПС) = d/(c+d)

Линеен дискриминантен анализ (Linear Discriminant Analysis, LDA) и метод на дърветата за класификация и регресия (Classification and Regression Tree, CART) LDA и CART използвахме за оценка и идентифициране на предиктивен маркер или група маркери, от потенциалното множество изходни (ехография, клинични, лабораторни, имунологични и др.) показатали, въз основа на които да бъде изграден предиктивен модел, с цел прогнозиране на типа отговор към CRT терапията.

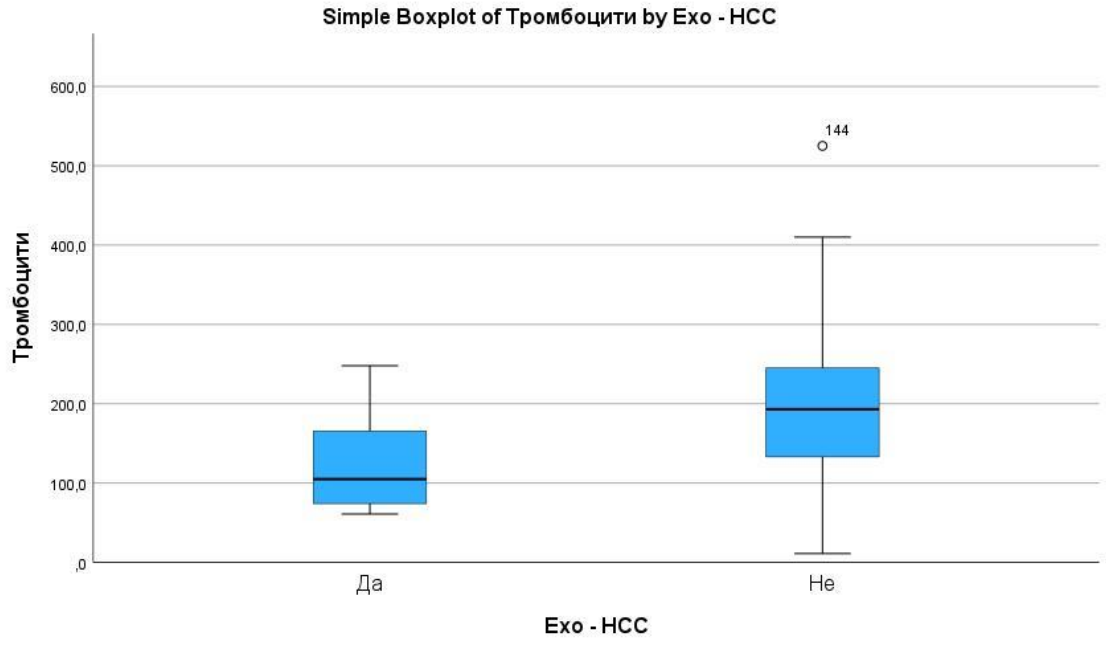
Логистичен регресионен анализ: За оценка на силата на връзката между определени фактори (предиктори) и зависимата променлива (тип отговор към терапията), формирахме математически модели. Приложихме множествен логистичен регресионен анализ, като чрез стъпкова процедура формирахме няколко модела и типът отговор беше представен като дихотомна променлива с две категории - да/не. Изчислихме отношението на шансовете (Odds Ratio, OR), което е приблизителна мярка на рисковото отношение за попадане в съответната категория, т. е. OR представлява анализ на рисковите фактори, относно типа изход. Стойностите на OR са представени със съответния 95% доверителен интервал (95% CI). Оценена беше адекватността и точността на моделите (процент на правилно класифициране). На следващ етап, типът отговор беше разделен на три категории: не/да/супер. Силата на връзката между потенциалното множество от независими рискови фактори и зависимата променлива „тип отговор към терапията“ беше изследвана посредством мултиноминален логистично регресионен модел. Всички OR, бяха коригирани (adjusted) по възраст и пол. Оценено бе и евентуалното взаимодействие между използваните в модела променливи по мултипликативната скала.

Резултати

При изследваните пациенти, както и в други публикации от българската популация най- честият генотип беше 1 (n=496), следван от генотип 3 (n=62).

Изследвахме връзка на вирусен товар с генотип, пол, диагноза, възраст, както и с MELD и CPS). От коефициент на Spearman установихме слаба обратна корелация на вирусния товар с диагноза, MELD и CPS. С цел да коригираме взаимното влияние на променливите проведохме множествен логистичен регресионен анализ, като включихме всички променливи заедно, като моделът не показа сигнификантно влияние. Изследвахме и наличие на връзка между HCV RNA и ТВО, като проведохме логистичен регресионен анализ, но установихме, че изходните стойности на вирусния товар не оказват влияние върху ТВО (p=0,14). Тряба да се има предвид и неправилната форма на разпределение на таргетната променлива – HCV RNA.

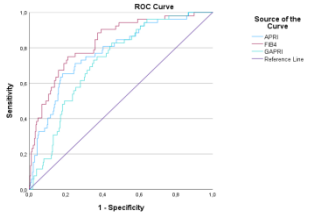
Установихме, че пациентите с данни за чернодробна стеатоза от ехографското изследване бяха с по- нисък тромбоцитен брой на изходно ниво (p= 0,001) и при проследяване (p= 0,001). Също така намерихме, че пациентите с HCC (n=8) са с значително по-ниски стойности на тромбоцитите (p=0,014), като тази сигнификантност се запазва и при проследяване (p=0,006). Разликите са показани с бокс-плот на фиг1.



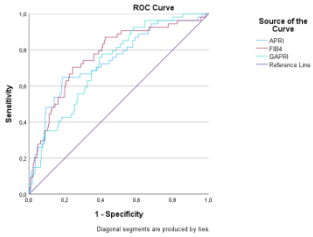
Фиг. 1 Разлика в тромбоцитния брой спрямо наличието на хепатоцелуларен карцином

Корелация на използваните в проучването показатели и скорови системи за фиброза с чернодробната биопсия.

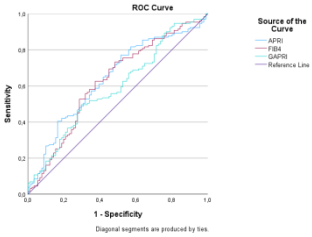
При пациентите с хистологична верификация на напредналостта на чернодробната болест (n=385) съпоставихме хистологичния резултат със стойностите на APRI, GAPRI, FIB-4 като проведохме ROC анализ. Както се вижда от фиг. 2 и фиг. 3 резултатите в нашата група съвпадат с литературните данни, като неинвазивните методи могат да разграничават напреднала от ненапреднала болест, но се наблюдава бинарен проблем – F4 не може да се разграничи от F3.



1А



1Б



1В

Фиг. 2 ROC анализ на неинвазивни методи за напреднала болест –2А – цироза спрямо останалите степени на фиброза; 2Б - F3 спрямо F2 и F1; 3В- F1 спрямо F2

Area Under the Curve

Result Variable(s)	Area	Std. Error[a]	Asymptotic Sig.[b]	Asymptotic 95% Lower Bound	Asymptotic 95% Upper Bound
APRI	0,776	0,035	0,000	0,707	0,84
FIB4	0,832	0,030	0,000	0,773	0,89
GAPRI	0,725	0,033	0,000	0,659	0,79

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

А

Area Under the Curve

Result Variable(s)	Area	Std. Error[a]	Asymptotic Sig.[b]	Asymptotic 95% Lower Bound	Asymptotic 95% Upper Bound
APRI	0,746	0,039	0,000	0,670	0,821
FIB4	0,769	0,036	0,000	0,698	0,841
GAPRI	0,725	0,035	0,000	0,656	0,794

The test result variable(s): APRI has at least one tie

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Б

Area Under the Curve

Result Variable(s)	Area	Std. Error[a]	Asymptotic Sig.[b]	Asymptotic 95% Lower Bound	Asymptotic 95% Upper Bound
APRI	0,643	0,038	0,000	0,570	0,717
FIB4	0,625	0,039	0,001	0,550	0,701
GAPRI	0,591	0,039	0,022	0,515	0,666

The test result variable(s): APRI, FIB4, GAPRI has at

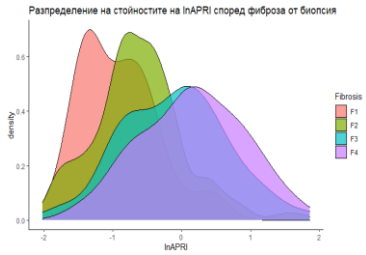
a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

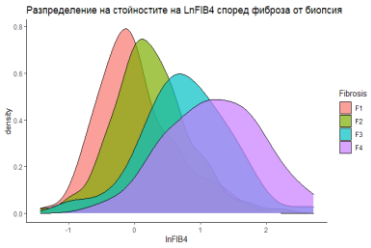
В

Фиг. 3 Специфичност и чувствителност на неинвазивни методи за напреднала болест –3А – цироза спрямо останалите степени на фиброза; 3Б - F3 спрямо F2 и F1; 3В- F1 спрямо F2

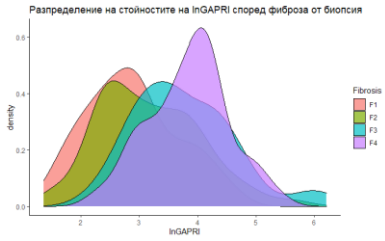
Поради непараметричното разпределение на неинвазивните скорове логаритмувахме с натурален логаритъм GAPRI, APRI, FIB-4 като получените стойности следваха нормалното Гаусово разпределение показано на фиг. 4, фиг. 5 и фиг. 6



Фиг. 4 Разпределение на lnAPRI спрямо фиброза от хистология

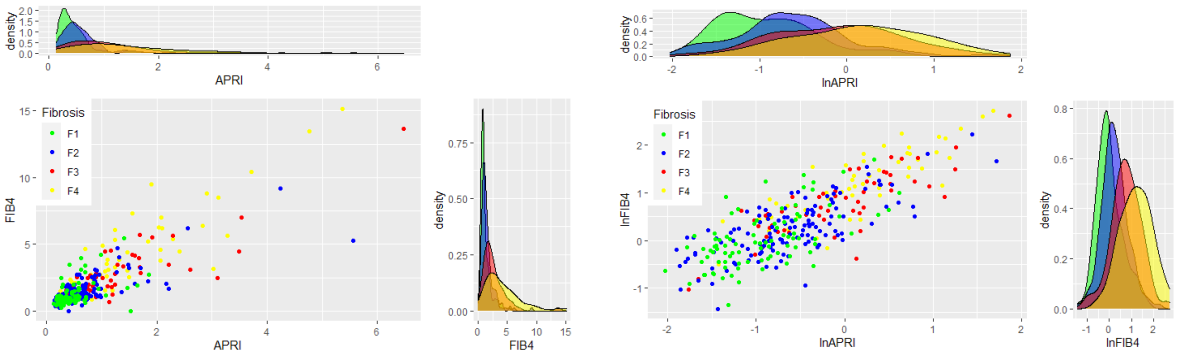


Фиг. 5 Разпределение на lnFIB-4 спрямо фиброза от биопсия



Фиг. 6 Разпределение на lnGAPRI спрямо фиброза от биопсия

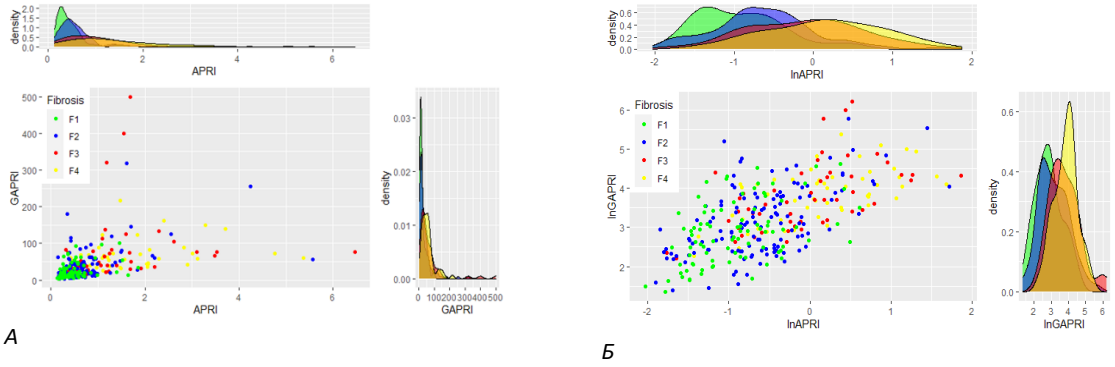
На фиг. 7 и фиг. 8 са представени чрез точкови диаграми връзките между различните биологични неинвазивни тестове за определяне на чернодробна фиброза.



А *Б*

Фиг. 7 Представяне връзката между биологични неинвазивни тестове в точкова диаграма А- APRI/FIB-4; Б- lnAPRI/lnFIB-4

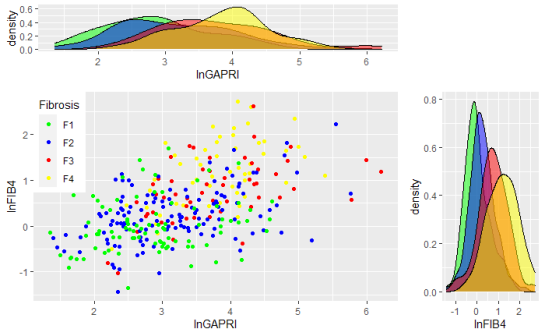
При изследване на lnAPRI и lnFib-4 установихме добра корелация между APRI и FIB-4 като зависимостта е линейна и положителна.



А Б

Фиг. 8 Представяне връзката между биологични неинвазивни тестове в точкова диаграма А- APRI/GAPRI; Б- lnAPRI/lnGAPRI

Зависимостта между APRI и GAPRI показва слаба зависимост с потенциални отделени стойности.



Фиг. 9 Представяне връзката между биологични неинвазивни тестове в точкова диаграма lnGAPRI/lnFIB-4

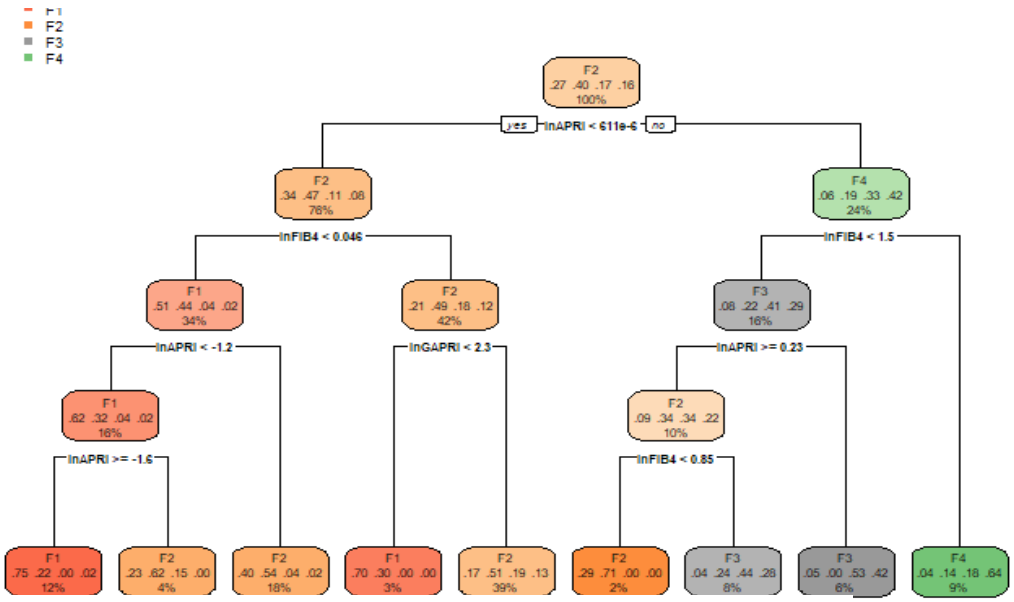
Зависимостта между GAPRI и FIB-4, изразена с точковата диаграма на фиг. 8 показва слаба, положителна зависимост и наличие на отделени стойности.

С цел да проверим дали по стойностите на FIB-4, GAPRI и APRI можем да предскажем степента на фиброза, използвахме класификационен анализ от групата на Машинното обучение: Дървета за Класфикация и Регресия (CART). Моделът намира най-добрите cut-off стойности на независимите променливи с цел най-точна класификация, генерират се правила, с помоща на които моделът взема решение, даден към кой клас фиброза може да бъде пречислен, това се визуализира чрез „дърво-подобна" структура (фиг. 10). При проверка на точността на модела установихме, че точността на диагнозата е средно 44 % за четирите класа (F1- F4). Моделът е построен на базата на петкратна кросвалидация и резултатиуте показват, че 3-те скора не могат да бъдат

използвани с достатъчно добра точност като предиктори на всеки един от 4-те класа. Но когато трябва да се разграничи 4-ти клас фиброза, точността на класификацията е доста по-добра 73% (балансирана точност).

Таб. 1 Чувствителност. специфичност, положителна и отрицателна предиктивна стойност

Class	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**
Sensitivity	0,371	0,754	0,000	0,635
Specificity	0,915	0,513	1,000	0,832
Pos Pred Value	0,623	0,508	NaN	0,418
Neg Pred Value	0,794	0,758	0,834	0,923
Prevalence	0,274	0,400	0,166	0,160
Detection Rate	0,102	0,302	0,000	0,102
Detection Prevalence	0,163	0,594	0,000	0,243
Balanced Accuracy	0,643	0,633	0,500	0,733



Фиг. 10 Анализ за определяне на специфичността и чувствителността на биологичните методи за фиброза

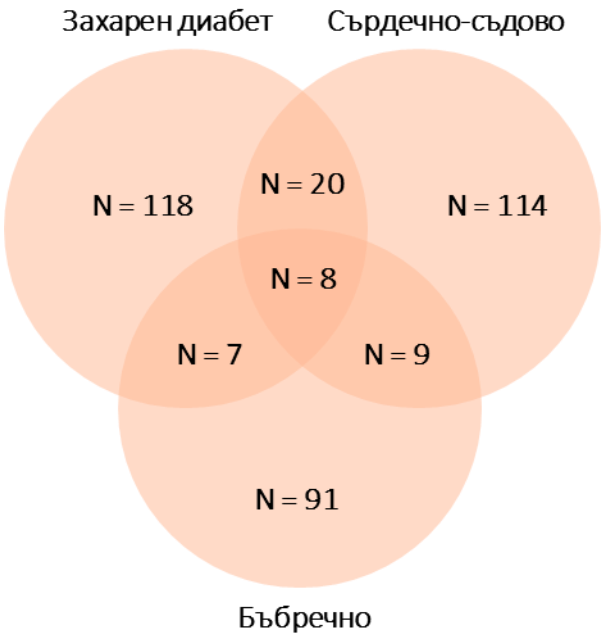
Динамика в рутинни показатели при пациентите без придружаващи заболявания или смесена генеза на чернодробното заболяване

В проучената група се срещаха редица заболявания и състояния, които по литературни данни се свързват с екстрахепатални прояви, но имаше трима пациента, при които явленията (криоглобулинемия, тромбоцитемия) не можеха да се асоциират с друго заболяване. С цел намаляване на влиянието върху показателите при проследяване, от проследените пациенти изключихме тези, които бяха диагностицирани с поне едно придружаващо заболяване (n=365) от посочените в таблицата (таб. 2).

Заболяване	Бройка (n)	Процентно (%)
Захарен диабет	118	23
Сърдечно-съдово	114	22,7
Хематологични*	21	4,2
Бъбречни**	91	18,2
Автоимунни***	109	21,8
Други****	365	100

Таб. 2 Придружаващи заболявания; *Таласемия, глюкозо-6 фосфат дехидрогеназен дефицит, хемофилия, болест на фон Вилебранд; **хронично бъбречно заболяване, хрониодиализа, трансплантация; ***Орган-специфични и системни;****Онкологични, онкохематологични, хронични възпалителни заболявания на белите дробове, ГИТ, жлъчен мехур, жлъчни пътища или панкреас, психични заболявания

Всеки от изследваните пациенти имаше заболяване в групата на „Други“, което можеше да повлияе в резултатите от по- нататъшните изследвания. Всеки от болните имаше повече от едно заболяване. За по- ясно представяне в таб. сме описали хроничните заболявания, които се срещат заедно най- чест.



Фиг. 11 Комбинация от придружаващи боести

От пациентите при 34,1 % (n=171) се установи положителен резултат за anti-HBcor tot. Сравнихме биохимичните показатели при тези болни, проведохме Fisher-Freeman-Halton тест, като не установихме значими разлики в стойностите.

Проследяване на рутинни изследвания

Изследвахме на изходно ниво и при проследяване стойностите на задължителните лабораторни показатели за оценка на чернодробно заболяване – тромбоцитен брой, функционални чернодробни проби – чернодробни ензими (АСАТ, АЛАТ, ГГТ), рутинни изследвания за оценка на протеосинтетичната чернодробна функция – протромбиново време, албумин, оценихме бъбречната функция – серумен креатинин и креатининов клирънс. Представяме стойностите на пациените, при които до минимум се ограничили възможността за отклонения от друга причина освен изследваната – чернодробно заболяване при хронична HCV инфекция (n=138). В трите подгрупи пациентите бяха както следва – хроничен хепатит – 74 пациента, чернодробна цироза – 33 пацента, декомпенсирана чернодробна цироза – 31 пациента.

Пациентите с повишени стойности на алкална фосфатаза ги изключихме поради голямата вероятност отклоненията да се дължат на друго заболяване или на друга

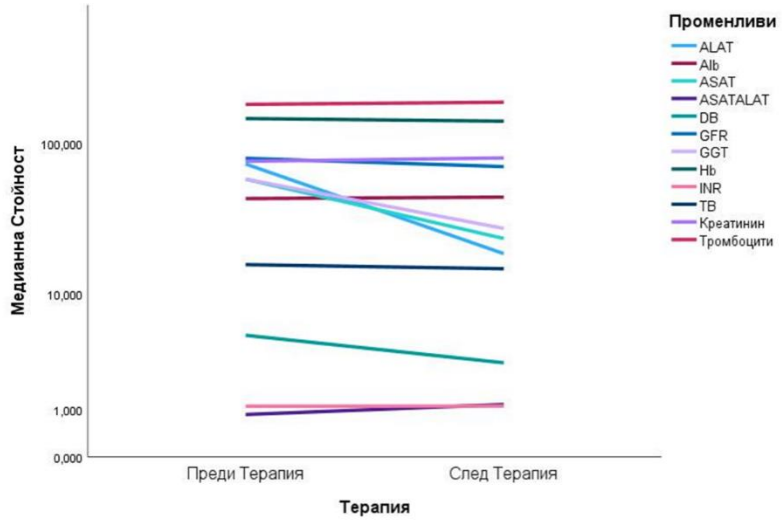
етиологична единица. Стойностите на албумин ги интерпретирахме в контекста на тези на общия белтък. От всички изследвани маркери нормално Гаусово разпределение следваха само стойностите на тромбоцитите. Останалите показатели имат непараметрично разпределение. По тази причина е цитирана медианата с минимални и максимални стойности. Сигнификантно се подобриха стойностите на тромбоцитите, общ билирубин, директен билирубин, албумин. Значима промяна не достигнаха стойностите на INR.

	Hb1	Hb2	Thr1	Thr2	CREAT1	CREAT2
Median	146	140	180	186	77	81
Minimum	8	89	2	11	45	47
Maximum	181	178	407	380	197	253
p-value (2-1)	0,001		0,001		0,022	

Таб. 3 Динамика в рутинните кръвни показатели при проследяване

	ASAT1	ASAT2	ALAT1	ALAT2	GGT1	GGT2	TB1	Tb2	Alb1	Alb2	INR1	INR2
Median	59	24	74	19	59	28	16	15	44	45	1,11	1,12
Minimum	19	10	0	8	0	3	0	5	25	28	0,85	0,90
Maximum	353	94	374	146	411	293	97	147	56	54	3,10	2,32
p-value (2-1)	0,001		0,001		0,001		0,001		0,001		0,400	

Таб. 4 Динамика в пряко свързаните с чернодробното заболяване кръвни показатели



Фиг. 12 Графично представяне на динамиката на промяна на някои показатели

Оценихме в началото на терапията и при проследяване броят на пациентите с поне едно усложнение от изброените : ЕП, асцит, варици на хранопровода или стомаха. Пациентите с варици бяха разделени в 3 групи: без данни за варици, с варици, с варици, които са били източник на кръвоизлив или се е наложило провеждане на ЕВЛ (ендоскопско връзково лигиране) поради висок риск от кървене. По тест на Мак Немар в бройката на пациентите с асцит изходно (n=12) и неусложнени варици изходно (n=36), установихме несигнификантно намаление, като при един пациент са се наблюдавали усложнения от вариците след иницииране на терапията. Броят на пациентите с иктер (n=17), намалява до (n=4), като промяната е сигнификантна съгласно Мак Немар (p=0,001). Таб. 5

Таб. 5 Усложнения преди терапия и след постигане на ТВО

Усложнение		Брой
Енцефалопатия	Да	3
	Не	135
асцит	Да	12
	Не	126
иктер	Да	17
	Не	121
варици	Да	36
	Не	95
	Усложнени	7

А

Усложнение		Брой
Енцефалопатия	Да	7
	Не	131
Асцит	Да	8
	Не	130
Иктер	Да	4
	Не	134
Варици	Да	35
	Не	95
	Усложнени	8

Б

Усложне	Тест	Two-Sided p
Асцит = Да	Mid-p Adjusted Binomial	>0,05
Асцит 2 = Да	McNemar	>0,05
иктер = Да	Mid-p Adjusted Binomial	0,000
Иктер 2 = Да	McNemar	0,000
варици = Да	Mid-p Adjusted Binomial	>0,05
Варици 2 = Да	McNemar	>0,05
ЕП* = Да	Mid-p Adjusted Binomial	>0,05
ЕП 2 = Да	McNemar	>0,05

В ЕП - енцефалопатия*

Пациентите, на които беше проведена ТЕ при проследяване, бяха изходно разпределени спрямо диагнози както следва: хроничен хепатит (n= 28), чернодробна цироза (n=11), декомпенсирана чернодробна цироза (n=7). Резултатите от проследяването показаха: F0-F1 бяха 24 човека, F2 – 4 пациенти, F3 – 4 пациенти, F4 – 14 пациента.

Пациентите, на които беше проведена Strain еластография бяха изходно разпределени спрямо степента на чернодробна увреда както следва : хроничен хепатит – 30 пациента, чернодробна – 11 пациента, декомпенсирана чернодробна цироза – 9 пациента. Резултатите от проследяване поне 6 месеца след ерадикация на инфекцията бяха: F0-F1 – 20 пациента, F2 – 8 пациента, F3 – 7 пациента, F4 – 17 пациента.

От пациентите без други придружаващи заболявания, при 39 към терапията с ДДАС беше добавен и Рибавирин, вкл. и при 5 човека, от провеждащите лечение с пангенотипен режим. Дневната доза беше 1000 мг. при телесно тегло <75 кг. и 1200 мг. при телесно тегло >75 кг. С тестът на Wilcoxon не установихме закономерно различие в общия билирубин, а в стойностите на хемоглобинът имаше сигнификантен, но не клинично значим спад (от медиана на изх. стойности 148 g/l, до 142 g/l; p= 0,03).

Таб. 6 Промени в хемоглобин и общ билирубин, изходно и при проследяване, на пациенти, приемали Рибавирин

	Tb2 - TB1	Hb2 - Hb1
Z	-1,020[b]	-1,848[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,308	0,065
Exact Sig. (2-tailed)	0,314	0,065
Exact Sig. (1-tailed)	0,157	0,032
Point Probability	0,002	0,001
a. Wilcoxon Signed Ranks		
b. Based on positive		

		Hb1	Hb2
Mean		146,821	141,49
Median		148,000	142,00
Std. Deviation		16,6700	17,154
Variance		277,888	294,257
Range		74,0	71
Minimum		102,0	105
Maximum		176,0	176
Percentiles	25	137,000	131,00
	50	148,000	142,00
	75	160,000	153,00

Рутинните скорове за фиброза също показаха значимо намаляване в стойностите таб. Проведохме и линеен регресионен анализ, от който установихме, че всеки следващ клас на фиброзата се свързва със средно намаляване на APRI с 0,44 единици, (поне 6 м.) след приключване на терапията, спрямо изходното ниво, p=0,001 (таб. 7А). При FIB-4

това намаляване се увеличава с 1,35 за всеки клас (отново са сравнени изходните нива спрямо тези при проследяване), p=0,001 (таб. 7Б)

Таб. 7 Промяна при проследяване в А- APRI; Б- FIB-4

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	,517	,304		1,699	,093
	Фиброза (според биопсия)	**-,437**	,106	-,401	-4,135	**,000**

a. Dependent Variable: dif_APRI

А

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	2,940	1,081		2,721	,008
	Фиброза (според биопсия)	**-1,345**	,375	-,355	-3,585	**,001**

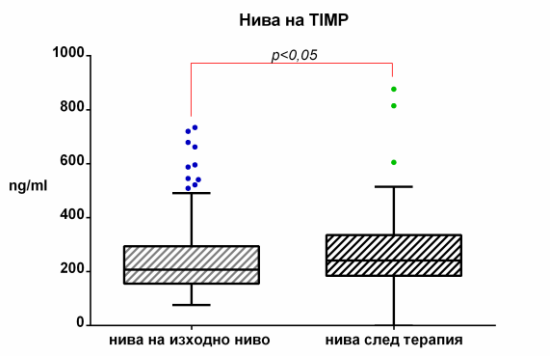
a. Dependent Variable: dif_FIB4

В

Връзка на специализирани лабораторни показатели

Установиха се статистически значими разлики в числовите променливи преди терапия и поне 6 м. след постигане на ТВО. Тъй като имат непараметрично разпределение са описани чрез медиана с минимални и максимални стойности.

Средните стойностите на TIMP-1 при 138 човека бяха 211,5 ng/ml (Min-Max: 0 – 899,2 ng/ml). При второто изследване на TIMP-1 на 85 от първоначално изследваните пациенти средните стойности се бяха увеличили на 241,4 ng/ml (Min-Max: 0,1 – 876,9 ng/ml), p = 0,001, според тестът на Уилкоксън за свързани извадки. Не установихме връзка между стойностите на TIMP-1 с възрастта, пола на пациентите или с изходната HCV RNA.



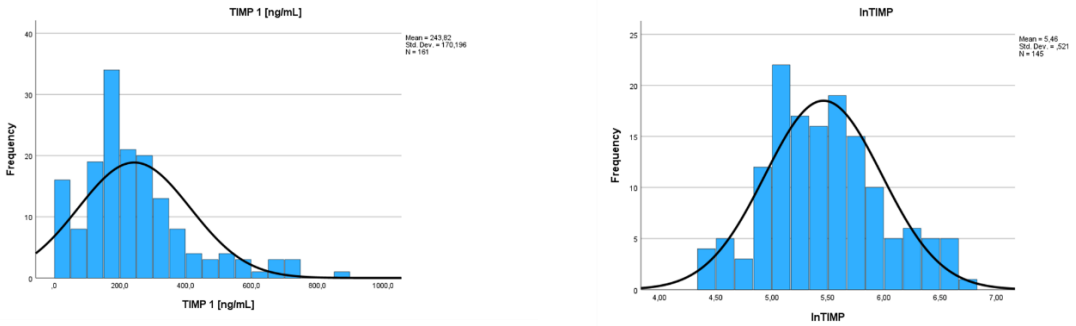
Фигура 13 Разлики в TIMP-1 на изходно ниво и след ерадикация на HCV

Средната промяна в стойностите на TIMP-1 беше 70,5 ng/ml (Min-Max -299,3 – 729,7 ng/ml). Установиха се два клъстъра от пациените – такива, при които намалява TIMP-1 (n=29) и такива, при които се покачва (n=56), медианите са посочени на таб. 8.

Таб. 8 Стойности на TIMP-1 разделени при пациентите, при които се покачва и спада

	TIMP-1 изходно	TIMP-1 проследяване	p-стойност
Медиана намаляващи изходно	252,4 ng/ml	185,4	p=0,001
Медиана намаляващи проследяване	165,9	309,2	p=0,001

Потърсихме може ли някоя от изходните променливи да предвиди динамиката в стойностите на TIMP-1. Поради това, че TIMP-1 имаше непараметрично разпределение използвахме логаритмична трансформация (фиг. 14) и проведохме тестът на Колмогоров – Смирнов като установихме, че lnTIMP-1 следва параметрично разпределение таб. 9.



Фиг. 14 Логаритмична трансформация на TIMP-1

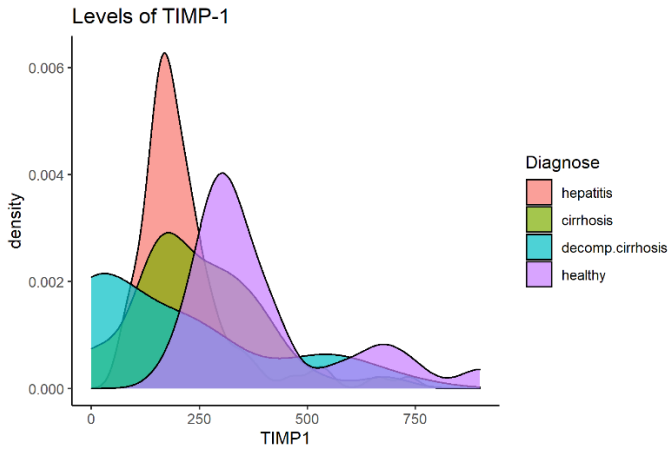
Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TIMP 1 [ng/mL]	0,146	145	0,000	0,848	145	0,000
lnTIMP	0,065	145	,200*	0,984	145	0,086
*. This is a lower bound of the true significance.						
a. Lilliefors Significance Correction						

Таб. 9 Тест на Колмогоров-Смирнов за проверка на нормално разпределение на lnTIMP-1

За да проверим има ли зависимост между нивата на TIMP-1 с тези на ГГТ и креатинин проведохме множествен линеен регресионен анализ. Установихме положителна корелация между нивата на ГГТ и креатинин, p= 0,012; p=0,001. Предложеният от нас модел обяснява около 20 % от дисперсията в нивата на логаритмувания TIMP-1. С нарастване на единица ГГТ lnTIMP нараства с 0.001, а при креатинина - с 0.009. Установихме значима, но слаба обратна корелация със стойностите на креатинина (ρ= -0,257, p=0,018), пикочната киселина (ρ= -0,273, p=0,02) и слаба положителна корелация с креатининовият клирънс (ρ=0,293, p=0,007).

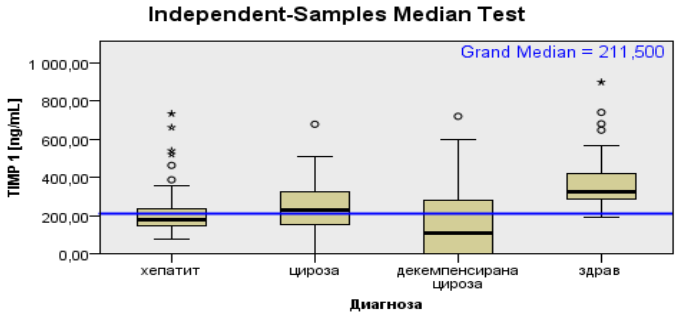
При пациените, при които TIMP-1 се понижава (n= 29) стойностите на AST са по-високи (p=0,033), а тези на албумин са по- ниски (p=0,02) в сравнение с тези, при които се повишава (n=56).

Диаграми на плътностно разпределение, от които се вижда че пикът на ТИМП-1 при здрави е изместено към по- високите стойности. На изходно ниво не може да служи като предиктор на диагноза.



Фиг. 15 Хистограма на плътностно разпределение на TIMP-1 в групите

Потърсихме връзка между стойностите на TIMP-1 и напредналостта на чернодробната болест като проведохме тест на Крускал-Уолис и установихме, че има разлика между всички групите (p=0.001), демонстрирано на фиг. чрез барплотове.



Total N	161
Median	211,500
Test Statistic	24,461
Degrees of Freedom	3
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,000

Фигура 16 Барплотове, демонстриращи разлика в изходните стойности на TIMP-1 по групи

След като приложихме корекция за множествено тестуване по Bonferroni установихме, че стойностите на TIMP-1 на изходно ниво са значимо по- високи при

здрави доброволци, отколкото при пациентите с хроничен хепатит, чернодробна цироза и декомпенсирана чернодробна цироза, като зависимостите са посочени на фиг. 17.

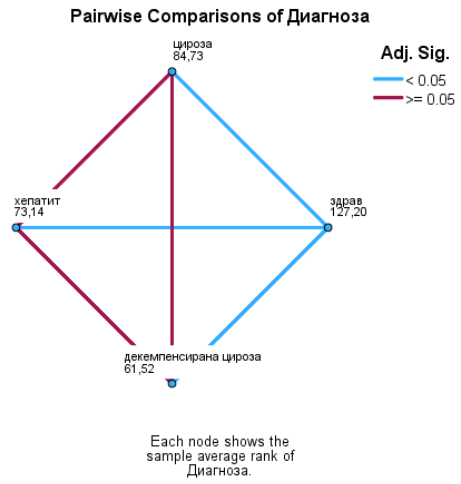
Както е видно от фиг. 17, не се установяват различия между болните спрямо напредналостта на болестта TIMP-1.

Pairwise Comparisons of Диагноза

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.[a]
декемпенсирана цироза-хепатит	11,626	9,969	1,166	,244	1,000
декемпенсирана цироза-цироза	23,211	11,655	1,991	,046	,279
декемпенсирана цироза-здрав	-65,680	12,824	-5,122	,000	,000
хепатит-цироза	-11,585	9,754	-1,188	,235	1,000
хепатит-здрав	-54,054	11,124	-4,859	,000	,000
цироза-здрав	-42,468	12,657	-3,355	,001	,005

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,050.

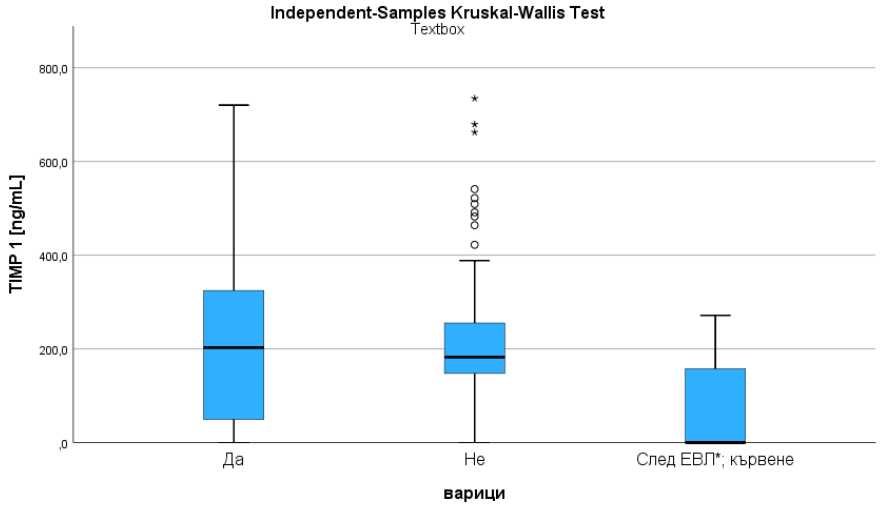
a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.



Фигура 17 Възможност на TIMP-1 да разграничи всяка група от останалите

Изходните стойности на TIMP-1, както и тези в хода на проследяването, не достигнаха сигнификантна разлика при пациентите, при които се установяваха белези на портална хипертония, от стойностите при тези, които бяха с нормодинамичен портален кръвоток. Въпреки това се установи разлика в стойностите на TIMP-1 при пациентите с усложнения на чернодробната болест, когато бяха разделени по наличието на варици.

Както се вижда на фиг. 18 и фиг. 19 пациентите преживяли кръвоизлив от вариците на хранопровода в миналото, както и тези, при които се е наложило провеждане на ЕВЛ за профилактика или лечение на кръвоизлив са със значимо по- ниски стойности на TIMP-1, отколкото здравите доброволци (p=0.049). Стойностите на TIMP-1 не достигат значимост при пациентите с нискостепенни варици в сравнение с пациените без варици.



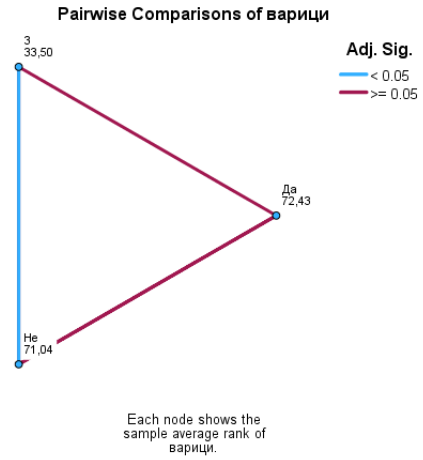
Pairwise Comparisons of варици

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.[a]
ЕВЛ; кървене-Не	37,542	15,646	2,399	,016	,049
ЕВЛ; кървене-Да	38,931	16,503	2,359	,018	,055
Не-Да	1,388	7,819	,178	,859	1,000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,050.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Фигура 18 Разлика в стойности на TIMP-1 при пациените без варици, с варици, с варици, причинили кръвоизлив или след ЕВЛ (ендоскопско връзково лигиране)

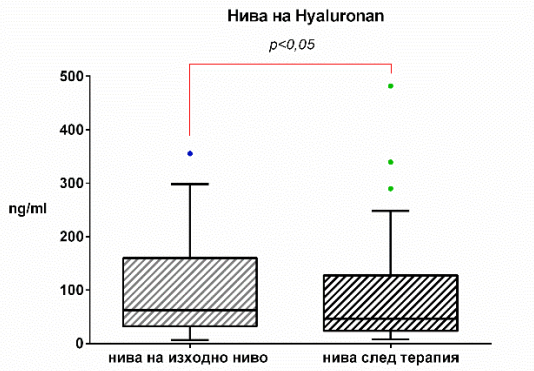


Фиг. 19 Възможност на TIMP-1 да отграничи варици

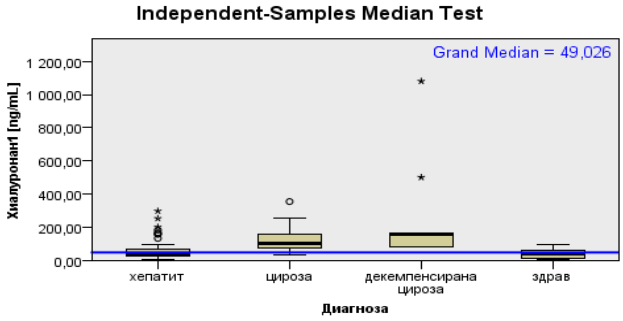
Не се установиха статистически значими разлики в стойностите на TIMP-1 в зависимост от наличието на иктер или асцит.

При проследяването установихме, че стойностите на TIMP-1 не се различават при пациентите провеждали различни лечения. Искахме да проверим дали има разлика в показателите при проследяване на пациентите спрямо стойностите на TIMP-1. Установихме статистическа значимост за AST и албумин, Разделихме стойностите на TIMP-1: високи/ниски и установихме, че пациентите с високи стойности на TIMP-1 имат по- ниски стойности на AST и по- високи на албумин.

HA **с**е изследва при 75 пациента изходно - 49,03 ng/ml (Min-Max: 6,71–1080,6 ng/ml), а при проследяване върху 48 пациента спадна до 46,8 ng/ml (Min-Max: 8,24– 482,05 ng/ml) p = 0,049.



Фигура 20 Разлики в нивата на HA на изходно ниво и след ерадикация на HCV



Total N	98
Median	49,026
Test Statistic	23,037
Degrees of Freedom	3
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,000

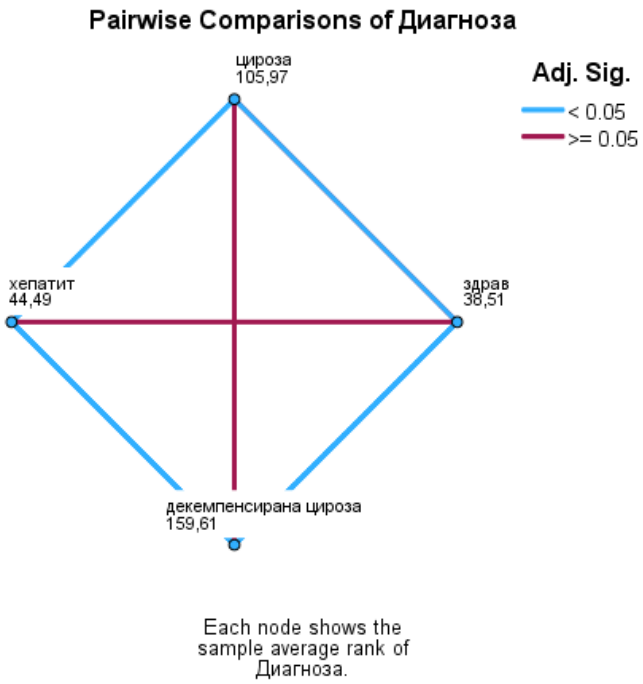
1. More than 20% of the cells have expected values less than five.

На фиг. 21 е демонстрирано, че стойностите на НА достигат статистически значима разлика при пациените с различни диагнози.

При разделяне по подгрупи се установи, че статистическа значимост се установява при здрави и пациенти с цироза (p=0,003) и декомпенсирана цироза (p=0,001), но не може да се отдиференцира компенсирана от декомпенсирана чернодробна цироза. За онагледяване на значимостите е приложена фиг.

Фиг.21 Разлика в медианите по подгрупи в стойностите на НА

Pairwise Comparisons of Диагноза					
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.a		
здрав-хепатит	0,568	0,451	1		
здрав-цироза	12,386	0	0,003		
здрав-декемпенсирана цироза	15,245	0	0,001		
хепатит-цироза	9,502	0,002	0,012		
хепатит-декемпенсирана цироза	12,359	0	0,003		
цироза-декемпенсирана цироза	0,137	0,711	1		
Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.					
Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,050.					
a Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.					

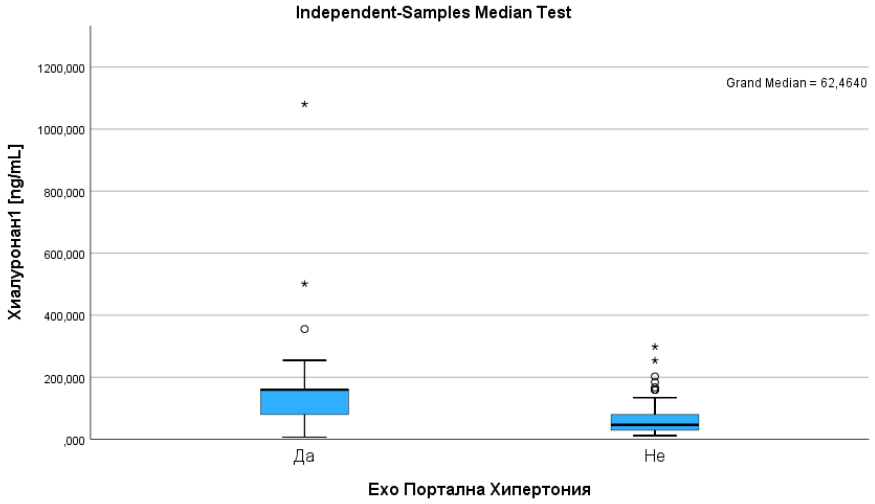


Фиг. 22 Разлики в стойностите на НА при изследваните групи

Серумните стойности на НА показват и различия в стойностите при пациентите с ехографски белези за портална хипертония спрямо останалите. За разлика от α2МГ и TIMP-1 тази зависимост се запази значима и при проследяване (p=0,004).

Independent-Samples Median Test Summary		
Total N		75
Median		62,464
Test Statistic		15,444[a]
Degree Of Freedom		1
Asymptotic Sig.(2-sided test)		,000
Yates's Continuity Correction	Chi-Square	13,489
	Degree Of Freedom	1
	Asymptotic Sig.(2-sided test)	,000

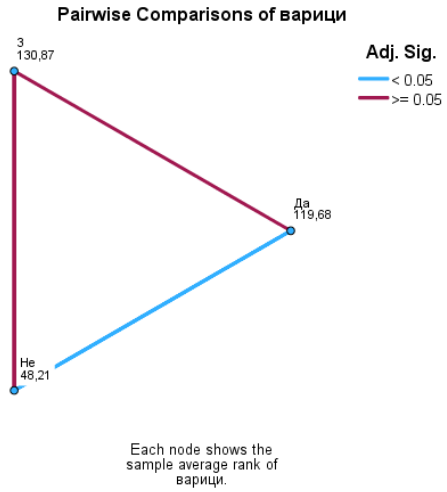
a. Multiple comparisons are not performed because there are less than three test fields.



Фиг. 23 Стойности на НА спрямо портална хипертония на изходно ниво.

НА показа значително по- високи стойности при пациените с данни за варици, в сравнение с тези, при които не се наблюдаваха усложнения от порталната хипертония фиг. Също така се установи значимо по- високи стойности при пациентите с иктер (p=0,016).

Поне 6 месеца след края на терапията получихме умерена кореалционна зависимост на НА с APRI (r= 0,599, p =0,001), GAPRI (r= 0,680; p= 0,001) и AST (r=0,475, p = 0,003). Установи се значителна корелационна зависимост между НА и FIB-4 (r=0,701, p = 0,001). Hepascore не показа значима корелация. При пациените, при които TIMP-1 се понижава (n= 29) стойностите на AST са по- високи (p=0,033), а тези на албумин са по-ниски (p=0,02) в сравнение с тези, при които се повишава (n=56).



Pairwise Comparisons of варици			
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.[a]
Не-Да	6,400	,011	,034
Не-3,0	3,252	,071	,214
Да-3,0	,268	,605	1,000

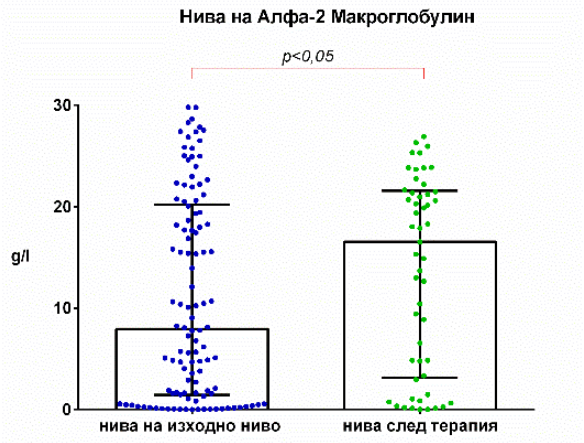
Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same. Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,050.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Фиг. 24 Стойности на НА при пациентите спрямо наличието на варици; Усложнени - след ЕВЛ, след кървене

След постигане на ТВО, НА се покачи при 15 души, при които са по- високи стойностите на INR ((p=0,001), MELD (p=0,001), ALAT (p=0,019); ASAT (p=0,001). При останалите 33 с понижена НА, се наблюдаваше обртната динамика в определените стойности.

Средните стойности ***на α2МГ*** преди началото на лечението (n=114) бяха 8,19 g/l (Min-Max: 0,01– 30,59 g/ml), а след успешната ерадикация на вируса (n=54) са 15,94 g/m (Min-Max: 0–30,6 g/l) p = 0,001. При α2МГ се установи разлика на изходно ниво в стойностите между групите с хроничен хепатит и с цироза (p= 0,044).



Фигура 25 Разлика в стойностите на алфа-2МГ на изходно ниво и след ерадикация на HCV

Пациентите с портална хипертония показаха по- високи стойности на α2МГ, спрямо тези с нормодинамичен портален кръвоток (p=0,033). При проследяване тази зависимост се обърна (с портална хипертония бяха с по- ниски средни стойности на

α2МГ), без да достигне статистическа значимост. Освен това стойностите при пациените без варици, с варици и с варици след кървене или ЕВЛ не достигнаха статистическа значимост.

По подгрупи α2МГ значимо се покачва при пациентите без циротично преустройство (p=0,001) и пациентите в стадий на чернодробна цироза (p=0,039), но тази значимост не се запази при пациентите с декомпенсирана чернодробна цироза.

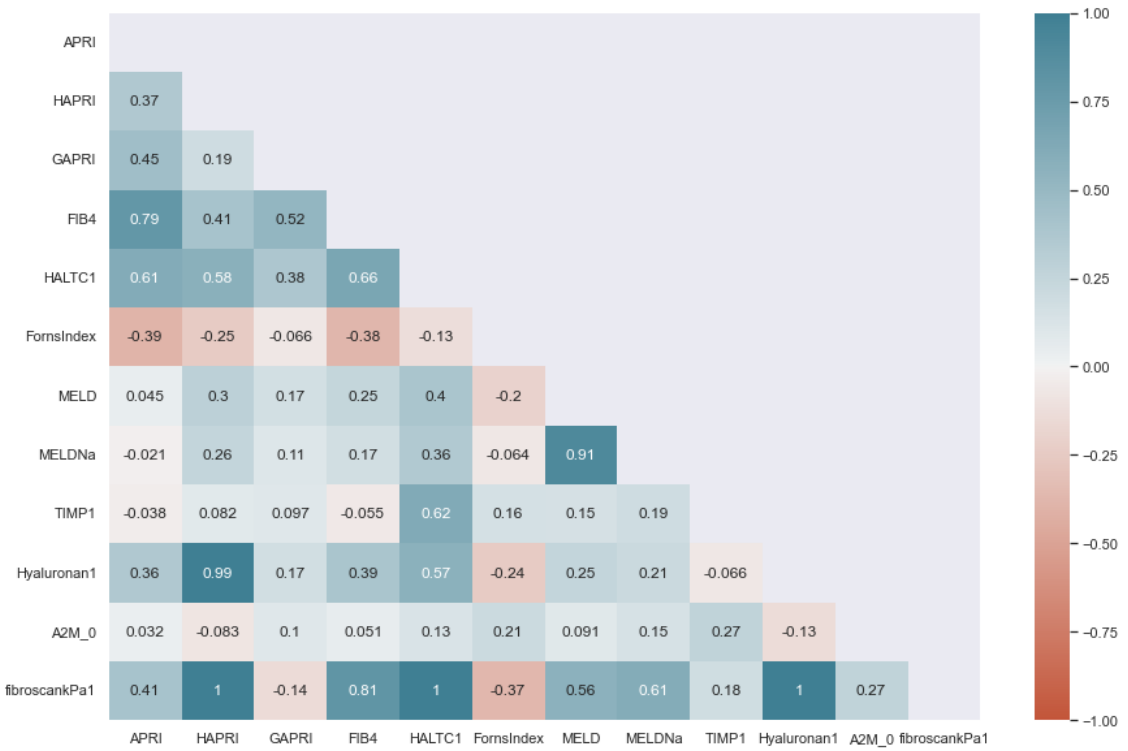
α2МГ достигна

В болните в изследваната група достигнаха достоверна, но слаба корелация между стойностите на TIMP-1 и α2МГ (ρ=0,277; p=0,001), както и умерена корелация на TIMP-1 при проследяване и алфа-МГ (ρ=0,345, p=0,011). α2МГ корелира умерено с ALT при проследяване (r= 0,355, p=0,023).

При пациентите с излекувана инфекция, α2МГ се покачи при 45 болни и спадна при 9. Установи се, че при тези с покачил се α2МГ, стойностите на ALT спадат и се качват при тези, с понижение в стойностите на маркера (p= 0,007).

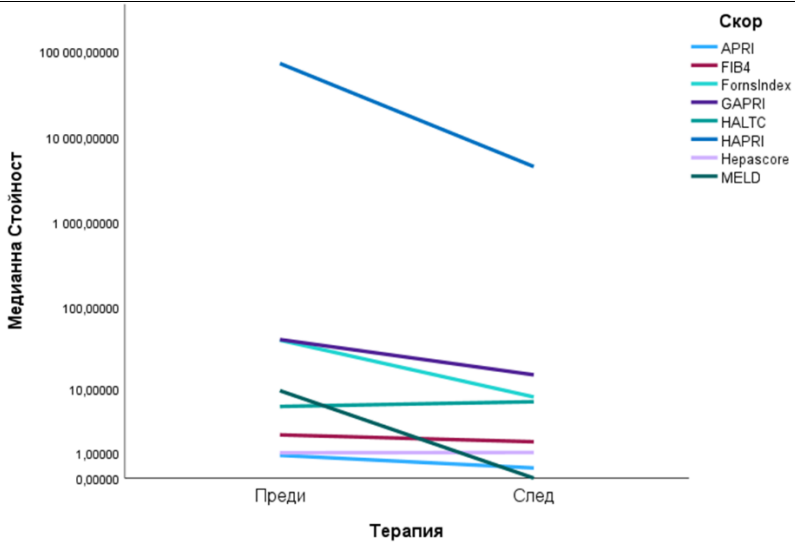
Корелационни зависимости между показателите при проследяване.

Изходно и след лечение изследвахме връзката (съответно таб 10, таб. 12) между скорове за неинвазивна оценка на чернодробната фиброза, използващи биологични маркери както и тяхната динамика фиг. 24.



Таб. 10 Корелации на изходно ниво при неинвазивните скорове

На таб. 10 и таб. 12 в гамата на синия цвят са положителните, а в гамата на червения отрицателните корелации, като интензитета се увеличава с корелационната зависимост.



Фиг. 24 Динамика в скоровете, изградени на базата на биологични параметри

Всички маркери показват сигнификантна динамика в стойностите, показани на таб. Всички показаха и подобрение във фиброзата, освен HALT-C (медиана изх. 5,92 [Min-Max: 3,75-9,48]) , а при проследяване медиана: 6,86 [Min-Max: 2,97-10,72], p= 0,05.

	APRI	APRI 2	HAPRI	HAPRI2	GAPRI	GAPRI2	FIB4	FIB4 2	HALTC1	HALTC2
Mean	1,60	0,60	115 706	8 485	63,15	31,86	3,74	3,00	6,09	6,66
Median	0,85	0,32	72 563	4 486	41,12	15,25	2,21	1,67	5,92	6,86
Std. Deviation	2,02	0,65	157 158	9 334	92,51	41,38	3,95	3,84	1,40	1,66
Range	14,54	4,48	1 149 870	47 381	925,00	239,71	21,53	32,18	5,73	7,74
Minimum	0,17	0,07	6 376	824	0,00	0,79	0,00	0,36	3,75	2,97
Maximum	14,71	4,55	1 156 246	48 205	925,00	240,50	21,53	32,54	9,48	10,72
25th Percentiles	0,52	0,22	37 299	2 285	17,59	9,34	1,00	1,01	4,91	5,16
50th Percentile	0,85	0,32	72 563	4 486	41,12	15,25	2,21	1,67	5,92	6,86
75th Percentile	1,84	0,81	159 612	12 608	80,30	37,47	5,55	3,95	7,08	7,83
p-value (2-1)	0,000		0,000		0,000		0,000		0,050	

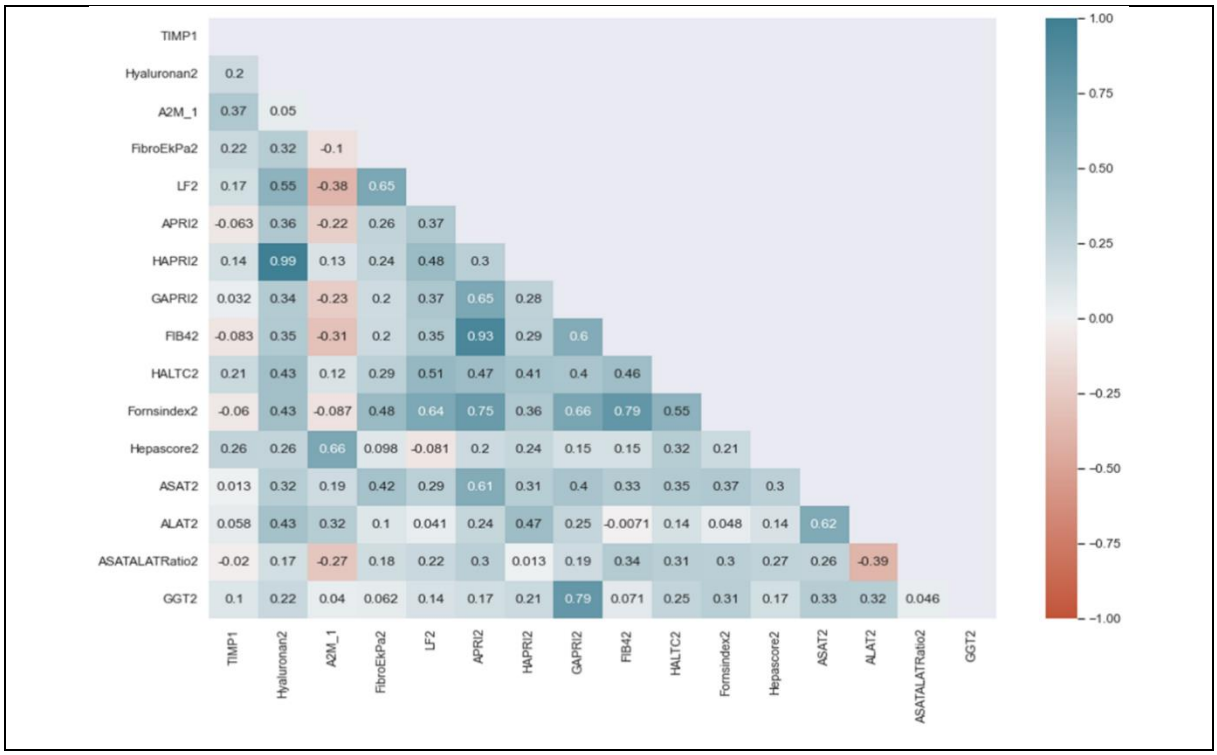
Таб. 11 Сигнификантност на динамика в скорове за нередналост на чернодробното заболяване

Докато зависимостите между GAPRI и FIB-4 (r=0,517; p=0,001), както и между GAPRI и APRI (r=453, p = 0,001) бяха умерени на изходно ниво, установихме, че при проследяване са значими: между GAPRI и FIB-4 (r=0,765; p=0,001), както между GAPRI и APRI (r=0,797; p=0,001). Ананлизът откри, че GAPRI умерено корелира с общ (r= 0,464; p= 0,001), директен билирубин (r=0,478; p=0,001) и INR (r= 520, p=0,001) при проследяване.

HAPRI след терапия показа умерена по сила връка с FIB-4 (r=0,668, p= 0,001) и с APRI (r=550, p=0,001).

Открихме значима корелация между стойностите на HALT-C при излекувани пациенти, APRI (r=0,723; p= 0,001) и FIB-4 (r=0,733; p=0,001).

В разработката не описахме корелациите между скоровете, които имат някоя обща променлива. На таб. 12 са показани корелациите при проследяване, като в червената гама са обратните корелации, а в синята – положителните.



Таб. 12 Корелации на ниво проследяване

Установихме, че след лечение количеството на TIMP-1, α2МГ, НА в серума не се повлиява от вида ДДАС, с което е проведено лечението.

Качество на живот

Анкета за качеството на живота попълниха 66 човека поне 6 месеца след края на лечението. От тях 4.5% отговарят, че биха определили качеството си на живот като отлично, 30,3% като много добро, 39,4% - като добро, 16,7% - приемливо, а като не-добро 9,1% (n=6). При сравнение на здравето си преди и след лечението 47 % отговарят, че здравето им сега е много по-добро, 18,2% -в някои отношения по- добро, 21,2% - без промяна, 12.1% - в някои отношения е по- зле сега, а при един човек отговаря, че е много по- зле сега, като същият пациент отговаря, че му е невъзможно да се самообслужва. Със затруднение са се самообслужвали 6,6% преди терапия, а след нея процентът пада на 5,1% Еднакъв брой пациенти посочиха, че не се е повлияло времето, което прекарват на работното си място от здравословното им състояние и няма разлика с периода преди да се лекуват. 21,7 % от пациентите не очакват здравето им да се влоши в бъдеще, а 14,8 % очакват здравето им да се подобри.

Преди да проведат лечение жизненост през цялото време и през повечето време са чувствали 24,2% през значима част – 29%; 16 ,1% - през малка част от времето, а жизненост не чувстват 6,5 %. След терапия жизненост чувстват жизненост през цялото време 28,3% от анкетираните, 40% - през повечето време, 13,3 през значима част, 16,7 през малка част, а не чувства никаква жизненост 1 човек.

На въпроса през каква част от времето се чувстват подтиснати, че нищо не може да се ги развесели след лечение отговорите са : през цялото време – 4,8%, през повечето време 3,2%; през значима част – 9,5%; през малка част – 28,6%; не се чувстват подтиснати 54 %. За сравнение преди да проведат лечение 1 човек се е чувствал през цялото време подтиснат, 10,7 % - през повечето време, 12,5 % през значима част от времето, 30,4 % - през малка част, 44,6 – не са се чувствали подтиснати.

Промяна в ритъма сън/бодърствуване : 1,7% през цялото време, 6,9 – през повечето време, 8,6 – през значима част, 44,8 % - през малка част, 37,9 не са страдали от безсъние или сънливост.

С асцит са сходен процент болни 18,7% - 20,6 %

Уморен след лечението : през цялото време 3,4 %, през повечето време 16.9%, през значима част от времето 6,8%, през малка част от времето 45,8 %, не са се чувствали – 27,1%.

При отворен въпрос за настоящи заболявания, 5 човека включват в тази група и чернодробното им заболяване.

Беше зададен въпрос за сърбеж с 5 възможни отговора : 1 – нямам; 2.- през малка част от времето; 3 – през значима част от времето; 4- през повечето време; 5- през цялото време. Изходно 33,3 % са отговорили, че нямат сърбеж, срещу 59,4% при проследяване. 16,7% изходно са страдали от оплакването през значима част от времето, 50 % през малка част от времето срещу 32,8%. При проследяване се появява или се усилва сърбежът до „през повечето време“ при 7,8 %.

Сигнификантни връзки между повечето въпроси и CPS или MELD не се установиха, единствено умерена корелация с наличието на оплаквания от асцит, съответно r=548, p= 0,03 и r =0,581, p=0,008.

Скор за предвиждане на смъртност

За изследването на зависимостта между типа отговор към терапията с потенциалното множество от независими фактори (предиктори) проведохме многофакторен логистичен регресионен анализ. Проведохме стъпков регресионен анализ по метода на обратната елиминация (backward), в който бяха включени потенциалното множество от независими предиктори, оценено беше и възможното взаимодействие по мултипликативната скала на независимите предиктори. При всяка стъпка несигнификантите променливи бяха елиминирани при P>0.1 от модела и при всяка следваща стъпка се -2LogLikelihood (-2LL) понижаваше. Тестът на Hosmer-Lemeshow беше несигнификантетен, което определи модела като адекватен. От потенциалното множество от независими предиктори на последна стъпка в анализа останаха следните променливи: INR, GFR, Tb, цироза от ехо и иктер.

Крайния вид на моделът (unconditional) представящ зависимостта между изчислените посредством (B) коефициенти и вероятността (P) за смърт е представен посредством логит функцията на вероятността (P):

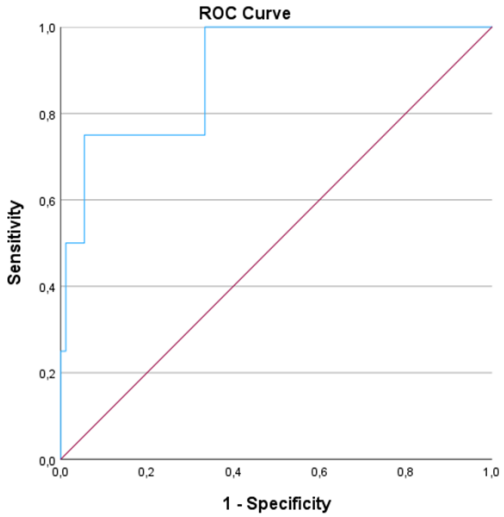
Уравнение 1) logit (P)=ln(P/1-P), Z= -19.2+2.76(Иктер „Да")+ 16.6(Цироза „Да")-1.7xINR-0.001xGFR-0.003xTB

Когато за определено лице, се замести стойността на INR, GFR, Tb, цироза и иктер в уравнението, от него се намира вероятността (P) то да попадне в категорията „ починал" по следната формула:

Уравнение 2) Вероятност (P)= 1/1+e-Z

ROC анализ на предсказаните от модела вероятности беше сигнификантент, p=0,006, AUC=0,9 (95% CI 0,74-1) фиг. 27, а определеният праг за P е 7%. В случай, че искаме да предскажем дали определен пациент ще остане жив до постигане на ТВО, когато се заместят стойностите на променливите в уравнения 1 и 2 се намира вероятност. Ако така изчислената вероятност е по-голяма от определената прагова стойност, може да предскажем, че той ще почине с чувствителност 77% и специфичност 92%; ROC AUC= 0,9 (95% CI 0,74-1). Недостатък е, че от 935 пациента много малък брой са починали, което прави модела небалансиран и логистичната регресия най-вероятно „завишава" точността на класификацията, грешка позната като „овърфитинг". Предложения за по-точна класификация е събирането на по-балансиран сет със данни, където пациентите

са стратифицирани по пол и възраст и терапия и използването на логистична регресия с регуларизация на коефицентите по метода на “Elastic Net” и използване на тренировъчен и тестови сет.



Area Under the Curve

Test Result Variable(s):

Area	Std. Error[a]	Asymptotic Sig.[b]	Asymptotic 95% Lower Bound	Asymptotic 95% Upper Bound
0,900	0,069	0,006	0,764	1,000

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Фиг. 25 ROC анализ на предсказаните вероятности

Дискусия

В настоящия труд потвърдихме диагностичната стойност на неинвазивните методи за оценка на чернодробната фиброза при пациентите с хронична HCV инфекция в българската популация, като те са достъпни, лесно репродуктивни и с голяма достоверност при разграничаване на напредналата болест от началните промени. Установихме, че към скоровете за оценка, включващи цитолитичната активност при проследяване е уместно да се използва рутинно и скор с маркер за холестатична увреда. Скоровите системи с чернодробни ензими на пръв поглед показват намаляване на стойностите основно за сметка на овладяване на цитолитичната активност, но се установи паралелно спадане на стойностите и на скоровете, в които не участват функционални чернодробни проби. В APRI, GAPRI и FIB-4 участват и тромбоцитите, които в изследваната група пациенти също показаха сигнификантно подобрение. Установихме, че стойностите на APRI и FIB-4 при проследяване намаляват в по- голяма степен при пациентите с напреднала фиброза изходно.

Достоверността на установените степени на чернодробно увреждане при използване на биологичните маркери се повишава при съчетаването им с инструментални неинвазивни методи за изследване на чернодробната плътност, каквито са TE, Strain еластография. Strain еластографията позволява оценка на чернодробното увреждане дори при пациенти с иктер, асцит, възпаление, чернодробен застой. При проследяването с инструментални методи като TE, отчитането на подобрение на фиброзата може да бъде отчетено некоректно, поради влияние на метода от ензимна активност, хранене, холестазата и застойния черен дроб. Следователно подобряването в чернодробното увреждане, след постигането на ТВО, проведено чрез неинвазивни методи на изследване подлежи на по- нататъчна верификация, поради наличието на голям брой допълнителни фактори, отрзяващи се върху извършените измервания.

Подобно на Tsomidis и съавтори установихме по- високи нива при здрави доброволци, отколкото при пациентите с хронична HCV инфекция в серумните нива на TIMP-1. Отчетената значима динамика в стойностите на TIMP-1 при пациенти, при които е изключен паралелен процес показаха, че показателят неимоверно участва в настъпващите процеси в екстрацелуларното пространство на чернодробния паренхим. Очакваната му роля като индуктор и поддръжник на фиброзата не се оправда при изследваната от нас група пациенти, но получените резултати свидетелстват и за други обсъждани в световната литература функции – хепатопротективна и дегенеративна за патологично натрупаната съединителна тъкан. Върху динамиката на стойностите на TIMP-1 оказва влияние стойностите на креатинин (при пациенти без бъбречно заболяване), но креатининът не може да предвиди посоката на промяната, която се влияе от други фактори. Статистически значима корелация на изходните стойности на TIMP-1 с тези на пикочната киселина е слаба, при което има твърде голяма вероятност да е случайна и не е достатъчно релевантно да се включва в анализа на представената група от пациенти. В заключение различни фактори определят стойностите на TIMP-1. TIMP-1 има място в етиопатогенезата на чернодробните заболявания, но не служи като фактор за активност и напредналост на чернодробната болест. TIMP-1 може да отдиференцира здрави, неинфектирани пациенти от такива с хронична HCV инфекция, независимо от стадия на чернодробното увреждане.

Въпреки, че установихме променливи, които влияят на стойностите на TIMP-1, тяхното влияние не е определящо. В образуването и разграждането на фиброзата участват сложни имунологични процеси. Неоднозначните резултати в литературата, както и получените в настоящата разработка говорят за дуалистична роля на маркера. Чрез серумните нива на свободна фракция на TIMP-1 ние съдим индиректно за неговата динамика в чернодробния паренхим, където той взаимодейства с различни цитокини, ензими, рецептори и други молекули.

TIMP-1 самостоятелно е с по- малка информативност, отколкото при изследване в контекста с колагеназите. Получените резултати предполагат, че все пак при голяма част от постигналите ТВО, следствие на фини имунни механизми (най- вероятно свързани с Treg) отношението MMP/TIMP-1 може да остане неблагоприятно, тоест фиброзните промени да персистират. За да се увеличи MMP/TIMP-1 отношението трябва да се получат две неща – първо да се увеличи количеството на MMP (което не е обект на настоящата дисертация) и второ да намалеят стойностите на TIMP-1, което се оказва процес, вероятно изискващ дълъг период от време. Необходими са по- задълбочени проучвания на изброените маркери, за дълъг период на проследяване, като в комбинация допълнителни маркери могат да съставят панел от лабораторни показатели, предсказващ напредналостта, възможностите за реверзибилността на патологичните процеси, не само при чернодробните заболявания Вероятно стойностите на HALT-C се определя от динамиката на TIMP-1, в по- голяма степен, отколкото от останалите съставни елементи на скора.

Нашето проучване доказа, че ролята на α-2 МГ при пациентите с излекувана HCV инфекция също с ограничена информативна стойност. Най- вероятно върху стойностите и на този маркер се отразяват антагонистични, паралелно протичащи процеса – фиброобразуване и възпаление от едната страна и възстановяване на протеосинтетичната функция - от другата. Сигнификантните разлики при портална хипертония на α-2 МГ и НА показаха за пореден път, че развитието на повишено портално налягане е значимо събитие, което лесно може да бъде регистрирано с достъпен метод като Doppler.

Чрез анкетата за самооценка на пациентите относно качеството им на живот, беше получена обратна връзка относно реалните ефекти върху ежедневието им от лечението. Установихме положителна динамика върху самочувствието, взаимоотношението им с близките и оплакванията, които най- често се свързват с хронични чернодробни заболявания. От последните голям интерес представляваше субективното чувство за сърбеж, включено в критериите за чернодробна трансплантация. Имаше и пациенти, при които оплакванията не претърпяха значима положителна динамика, както и такива, при които се влошаваше качеството им на живот. Пациентите, при които се откриха данни сочещи към депресия се нуждаеха и от психо-емоционална подкрепа от съответните специалисти освен от стриктно проследяване на чернодробната функция.

Изводи

1 От проведените голям брой клинико- лабораторни и инструментални методи за неинвазивна оценка на чернодробното увреждане (възпаление и фиброза) се установи подобряване на степента на чернодробното увреждане при хроничен хепатит и компенсирана цироза, с изключение на HALT-C. Тази динамика най- добре се отчита при използването на GAPRI, корелиращ по – добре с APRI и FIB-4 при проследяване на пациентите с ТВО.

2 Стойностите на TIMP-1, α2-МГ и НА при проследяване, след постигане на ТВО, показват статистически значима разлика, с покачване на TIMP-1 и α2- МГ, при спадане на НА. Корелацията между TIMP-1 и α2-MG е по-добра при проследяване на пациентите с ТВО, отколкото изходно.

3 При пациентите с тенденция към спад в TIMP-1 се наблюдават по- високи стойности на AST и по – ниски стойности на албумин, по- често кървене от варици на хранопровода, отколкото при тези, при които TIMP-1 се покачва. Тези факти сочат, че при нашата група от пациенти повишаването на TIMP-1 е признак за намаляване на чернодробното увреждане.

4 Установи се значима разлика в стойностите на НА между пациентите без цироза и с цироза (компенсирана или декомпенсирана) преди лечението с ДДАС. Пациентите постигнали ТВО, но със по-високи стойности на AST, ALT, INR, билирубин, MELD, варици на хранопровода, при проследяване след лечение с ДДАС показват значимо по-високи стойности на НА, тоест НА служи като индикатор за персистиращо чернодробно увреждане.

5 α2-MG е с по-ниски стойности при чернодробна цироза отколкото при хроничен хепатит. α2-MG не показа по-значима динамика в стойностите си при проследяване на пациентите с декомпенсирана чернодробна цироза и ТВО и не може да се използва като маркер за оценка на промени от чернодробното увреждане.

6 Доказа се, че TIMP-1 е маркер свързан предимно с фибринолиза, отклокото с фиброобразуване и HALT-C е подходяща скорова система за оценка на оздравителните процеси в черния дроб.

Принос

5.1 Доказахме предиктивна сила на TIMP-1 за оценка на оздравителните процеси в черния дроб.

5.2 Установихме, че скоровата система HALT-C е тази, която показва покачване на стойностите си след успешна ерадикация на HCV инфекцията.

5.3 Предложихме модел за предикция на смъртността от чернодробна болест.

5.4 Установихме, че според пациентите асцитът определя качеството им на живот.

1. Библиография

1. Kupfer B. HCV Virology. 2014. 93–116 p.
2. Andre P, Komurian-Pradel F, Deforges S, Perret M, Berland JL, Sodoyer M, et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. J Virol. 2002 Jul;76(14):6919–28.
3. Simmonds P. The origin of hepatitis C virus. Curr Top Microbiol Immunol. 2013;369:1–15.
4. Vázquez-Morón S, Ardizone Jiménez B, Jiménez-Sousa MA, Bellón JM, Ryan P, Resino S. Evaluation of the diagnostic accuracy of laboratory-based screening for hepatitis C in dried blood spot samples: A systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2019 May;9(1):7316.
5. Petrunov B, M Kojouharova PT e. EU project Interreg II: Seroepidemiology study on Hepatitis C and B viral infections prevalence in Bulgaria and Nothern Greece. J Hepatol. 2002;5(36):138–9.
6. Sperle I, Nielsen S, Gassowski M, Naneva Z, Perchemlieva T, Amato-Gauci A, et al. Prevalence of hepatitis C in the adult population of Bulgaria: a pilot study. BMC Res Notes [Internet]. 2020;13(1):326. Available from: https://doi.org/10.1186/s13104-020-05158-3
7. Антонов К. Хронична HCV инфекция - характеристика и особености на лечението. 2014.
8. Pentchev CPMA V. Up-to-date epidemiology of chronic Hepatitis C Virus infection among Bulgarian patients: a single center experience. Comptes rendus l'Académie Bulg des Sci.
9. Розалина Б. Чернодробна стеатоза и хеалкохолен стеатохепатит - клинична оценка и приложение на транзиентната еластография (FibroScan). 2021.
10. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, Fitzmaurice C, Vos T, Abubakar I, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet (London, England). 2016 Sep;388(10049):1081–8.
11. Manns MP, Buti M, Gane E, Pawlotsky J-M, Razavi H, Terrault N, et al. Hepatitis C virus infection. Nat Rev Dis Prim [Internet]. 2017;3(1):17006. Available from: https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.6
12. Boyer, T. D., Manns, M. P. & Sanyal AJ. Zakim and Boyer's Hepatology, A Textbook of Liver Disease. 2012.
13. Bischoff J, Boesecke C, Wasmuth J-C. Hepaitis C. In: Hepatology. 2020. p. 53–67.
14. Ghany MG, Morgan TR. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases-Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. Hepatology. 2020 Feb;71(2):686–721.
15. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Lancet (London, England). 1997 Mar;349(9055):825–32.
16. Planas R, Ballesté B, Alvarez MA, Rivera M, Montoliu S, Galeras JA, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. J Hepatol. 2004 May;40(5):823–30.
17. Park H, Wang W, Henry L, Nelson DR. Impact of All-Oral Direct-Acting Antivirals on Clinical and Economic Outcomes in Patients With Chronic Hepatitis C in the United States. Hepatology. 2019 Mar;69(3):1032–45.

18. Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. J Hepatol [Internet]. 2018 Aug 1;69(2):461–511. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026

19. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. J Hepatol [Internet]. 2020;73:1170–218. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.08.018

20. Ioannou GN, Green PK, Berry K. HCV eradication induced by direct-acting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma. J Hepatol. 2017 Sep;

21. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. J Hepatol. 2006 Jan;44(1):217–31.

22. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour J-F, Lammert F, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. JAMA. 2012 Dec;308(24):2584–93.

23. Wörns M-A, Galle PR, Zeuzem S, Schirmacher P, Manns M, Vogel A. Drug Treatment for Chronic Hepatitis C Infection and Cancer Risk. Dtsch Arztebl Int [Internet]. 2017 Sep 4;114(35–36):597–602. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28927498

24. Rinaldi L, Nevola R, Franci G, Perrella A, Corvino G, Marrone A, et al. Risk of Hepatocellular Carcinoma after HCV Clearance by Direct-Acting Antivirals Treatment Predictive Factors and Role of Epigenetics. Cancers (Basel). 2020 May;12(6).

25. Alberti A, Piovesan S. Increased incidence of liver cancer after successful DAA treatment of chronic hepatitis C: Fact or fiction? Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2017 Jun;37(6):802–8.

26. Kanwal F, Kramer J, Asch SM, Chayanupatkul M, Cao Y, El-Serag HB. Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. Gastroenterology. 2017 Oct;153(4):996-1005.e1.

27. Friedman SL. The Cellular Basis of Hepatic Fibrosis -- Mechanisms and Treatment Strategies. N Engl J Med [Internet]. 1993 Jun 24;328(25):1828–35. Available from: https://doi.org/10.1056/NEJM199306243282508

28. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. Physiol Rev [Internet]. 2008 Jan;88(1):125–72. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18195085

29. Mak KM, Kee D, Shin DW. Alcohol-associated capillarization of sinusoids: A critique since the discovery by Schaffner and Popper in 1963. Anat Rec [Internet]. 2022 Jul 1;305(7):1592–610. Available from: https://doi.org/10.1002/ar.24829

30. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. Fibrogenesis Tissue Repair [Internet]. 2012 Jun 6;5(Suppl 1):S26–S26. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23259590

31. Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic fibrosis. Curr Opin Gastroenterol [Internet]. 2009 May;25(3):223–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19396960

32. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. Semin Liver Dis. 2001 Aug;21(3):373–84.

33. Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):258–89.

34. Чернев, К НС. Консенсус за диагностика и лечение на инфекция с Хеликобактер пилори

(Helicobacter pylori) [Internet]. 2011. Available from: https://www.hapche.bg/konsensusi/konsensus-za-diagnostika-i-lechenie-na-infektsiya-s-helicobacter-pylori

35. Würtz SØ, Würtz SØ, Schrohl A-S, Mouridsen H, Brünner N. TIMP-1 as a tumor marker in breast cancer – An update. Acta Oncol (Madr) [Internet]. 2008 Jan 1;47(4):580–90. Available from: https://doi.org/10.1080/02841860802022976

36. Zurac S, Neagu M, Constantin C, Cioplea M, Nedelcu R, Bastian A, et al. Variations in the expression of TIMP1, TIMP2 and TIMP3 in cutaneous melanoma with regression and their possible function as prognostic predictors. Oncol Lett. 2016 May;11(5):3354–60.

37. Hawthorn L, Stein L, Varma R, Wiseman S, Loree T, Tan D. TIMP1 and SERPIN-A overexpression and TFF3 and CRABP1 underexpression as biomarkers for papillary thyroid carcinoma. Head Neck [Internet]. 2004 Dec 1;26(12):1069–83. Available from: https://doi.org/10.1002/hed.20099

38. Wang Y-Y, Li L, Zhao Z-S, Wang H-J. Clinical utility of measuring expression levels of KAP1, TIMP1 and STC2 in peripheral blood of patients with gastric cancer. World J Surg Oncol [Internet]. 2013;11(1):81. Available from: https://doi.org/10.1186/1477-7819-11-81

39. Song G, Xu S, Zhang H, Wang Y, Xiao C, Jiang T, et al. TIMP1 is a prognostic marker for the progression and metastasis of colon cancer through FAK-PI3K/AKT and MAPK pathway. J Exp Clin Cancer Res [Internet]. 2016;35(1):148. Available from: https://doi.org/10.1186/s13046-016-0427-7

40. Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. Biochim Biophys Acta [Internet]. 2010/01/15. 2010 Jan;1803(1):55–71. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20080133

41. Kim J, Elias A, Lee T, Maurel P, Kim HA. Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-3 Promotes Schwann Cell Myelination. ASN Neuro [Internet]. 2017 Dec 1;9(6):1759091417745425. Available from: https://doi.org/10.1177/1759091417745425

42. Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. Ann Hepatol. 2009;8(4):283–91.

43. Iredale JP, Thompson A, Henderson NC. Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: Biochemistry and regulation. Biochim Biophys Acta. 2013 Jul;1832(7):876–83.

44. Woolley DE, Roberts DR, Evanson JM. Inhibition of human collagenase activity by a small molecular weight serum protein. Biochem Biophys Res Commun. 1975 Sep;66(2):747–54.

45. Bao W, Fu H-J, Jia L-T, Zhang Y, Li W, Jin B-Q, et al. HER2-mediated upregulation of MMP-1 is involved in gastric cancer cell invasion. Arch Biochem Biophys [Internet]. 2010;499(1):49–55. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986110001761

46. Cawston TE, Galloway WA, Mercer E, Murphy G, Reynolds JJ. Purification of rabbit bone inhibitor of collagenase. Biochem J. 1981 Apr;195(1):159–65.

47. Pavloff N, Staskus PW, Kishnani NS, Hawkes SP. A new inhibitor of metalloproteinases from chicken: ChIMP-3. A third member of the TIMP family. J Biol Chem. 1992 Aug;267(24):17321–6.

48. Yoshiji H, Kuriyama S, Miyamoto Y, Thorgeirsson UP, Gomez DE, Kawata M, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 promotes liver fibrosis development in a transgenic mouse model. Hepatology. 2000 Dec;32(6):1248–54.

49. Benyon RC, Iredale JP, Goddard S, Winwood PJ, Arthur MJ. Expression of tissue inhibitor of

metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver. Gastroenterology. 1996 Mar;110(3):821–31.

50. Busk TM, Bendtsen F, Nielsen HJ, Jensen V, Brünner N, Møller S. TIMP-1 in patients with cirrhosis: relation to liver dysfunction, portal hypertension, and hemodynamic changes. Scand J Gastroenterol. 2014 Sep;49(9):1103–10.

51. Elseidy SA, Awad AK, Mandal D, Elbadawy MA, Iqbal A. Stauffer syndrome: a comprehensive review of the disease and diagnostic plan proposal. Egypt J Intern Med [Internet]. 2022;34(1):39. Available from: https://doi.org/10.1186/s43162-022-00128-6

52. Roeb E, Graeve L, Hoffmann R, Decker K, Edwards DR, Heinrich PC. Regulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 gene expression by cytokines and dexamethasone in rat hepatocyte primary cultures. Hepatology. 1993 Dec;18(6):1437–42.

53. Wang H, Lafdil F, Wang L, Yin S, Feng D, Gao B. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) deficiency exacerbates carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis in mice: involvement of hepatocyte STAT3 in TIMP-1 production. Cell Biosci. 2011 Apr;1(1):14.

54. Zhao J, Qi Y-F, Yu Y-R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis. Ann Hepatol [Internet]. 2021;21:100224. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268120300715

55. Tsomidis I, Notas G, Xidakis C, Voumvouraki A, Samonakis DN, Koulentaki M, et al. Enzymes of Fibrosis in Chronic Liver Disease. Vol. 10, Biomedicines. 2022.

56. Zhang X, Feng M, Liu X, Bai L, Kong M, Chen Y, et al. Persistence of cirrhosis is maintained by intrahepatic regulatory T cells that inhibit fibrosis resolution by regulating the balance of tissue inhibitors of metalloproteinases and matrix metalloproteinases. Transl Res [Internet]. 2016 Mar 1;169:67-79.e2. Available from: https://doi.org/10.1016/j.trsl.2015.10.008

57. Dunham RM, Thapa M, Velazquez VM, Elrod EJ, Denning TL, Pulendran B, et al. Hepatic stellate cells preferentially induce Foxp3+ regulatory T cells by production of retinoic acid. J Immunol. 2013 Mar;190(5):2009–16.

58. Castera L. Non-ivasive Diagnosis of Cirrhosis. In: Therapy of liver diseases. 2019. p. 199–204.

59. Васил Василев ДЦ. Нарушения в обмяната на натрия и водата. In: Водно-електролитна и киселинно-алкална обмяна Нарушения, диагностика, лечение. 2015. p. 17–172.

60. Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: Data from three ANRS cohorts. J Hepatol. 2016 Oct;65(4):734–40.

61. Wei W, Pu Y-S, Wang X-K, Jiang A, Zhou R, Li Y, et al. Wall shear stress in portal vein of cirrhotic patients with portal hypertension. World J Gastroenterol. 2017 May;23(18):3279–86.

62. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. J Hepatol. 2018 Aug;69(2):406–60.

63. Jalan R, Yurdaydin C, Bajaj JS, Acharya SK, Arroyo V, Lin H-C, et al. Toward an improved definition of acute-on-chronic liver failure. Vol. 147, Gastroenterology. United States; 2014. p. 4–10.

64. Bernardi M, Moreau R, Angeli P, Schnabl B, Arroyo V. Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. J Hepatol. 2015 Nov;63(5):1272–84.

65. DiBona GF, Sawin LL. Role of renal nerves in sodium retention of cirrhosis and congestive heart failure. Am J Physiol. 1991 Feb;260(2 Pt 2):R298-305.

66. Fickert P, Rosenkranz AR. Bile Acids Are Important Contributors to AKI Associated with Liver Disease: PRO. Kidney360 [Internet]. 2022;3(1). Available from: https://journals.lww.com/kidney360/Fulltext/2022/01000/Bile_Acids_Are_Important_Contributors_to_AKI.7.aspx

67. Al MF et. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management. 11th ed. 2020.

68. Ferreira PP, Camara EJN, Paula RLP de, Zollinger CC, Cavalcanti AR, Bittencourt PL. Prevalence of hepatopulmonary syndrome in patients with decompensated chronic liver disease and its impact on short-term survival. Arq Gastroenterol. 2008;45(1):34–7.

69. Ma C, Crippin JS, Chapman WC, Korenblat K, Vachharajani N, Gunter KL, et al. Parenchymal alterations in cirrhotic livers in patients with hepatopulmonary syndrome or portopulmonary hypertension. Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc. 2013 Jul;19(7):741–50.

70. Abrams GA, Jaffe CC, Hoffer PB, Binder HJ, Fallon MB. Diagnostic utility of contrast echocardiography and lung perfusion scan in patients with hepatopulmonary syndrome. Gastroenterology. 1995 Oct;109(4):1283–8.

71. Arroyo V. The liver and the kidney: mutual clearance or mixed intoxication. Contrib Nephrol. 2007;156:17–23.

72. Moreau R, Lebrec D. Diagnosis and treatment of acute renal failure in patients with cirrhosis. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2007;21(1):111–23.

73. Fida S, Khurshid SMS, Mansoor H. Frequency of Hepatorenal Syndrome Among Patients With Cirrhosis and Outcome After Treatment. Cureus. 2020 Aug;12(8):e10016.

74. Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, Navasa M, Cirera I, Reggiardo V, et al. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. J Hepatol. 1999 May;30(5):890–5.

75. Trifan A, Chiriac S, Stanciu C. Update on adrenal insufficiency in patients with liver cirrhosis. World J Gastroenterol. 2013 Jan;19(4):445–56.

76. Adinolfi LE, Nevola R, Rinaldi L, Romano C, Giordano M. Chronic Hepatitis C Virus Infection and Depression. Clin Liver Dis [Internet]. 2017;21(3):517–34. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089326117300247

77. Carta MG, Hardoy MC, Garofalo A, Pisano E, Nonnoi V, Intilla G, et al. Association of chronic hepatitis C with major depressive disorders: irrespective of interferon-alpha therapy. Clin Pract Epidemiol Ment Health. 2007 Oct;3:22.

78. Berzigotti A, Tsochatzis E, Boursier J, Castera L, Cazzagon N, Friedrich-Rust M, et al. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. J Hepatol [Internet]. 2021 Jun 25; Available from: https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025

79. Bedossa P, Carrat F. Liver biopsy: The best, not the gold standard. J Hepatol. 2008 Dec 1;50:1–3.

80. Chelliah AR, Radhi JM. Hepatocellular Carcinoma with Prominent Intracytoplasmic Inclusions: A Report of Two Cases. Lin Z-Y, editor. Case Reports Hepatol [Internet]. 2016;2016:2032714. Available from: https://doi.org/10.1155/2016/2032714

81. Brunt EM, Olynyk JK, Britton RS, Janney CG, Di Bisceglie AM, Bacon BR. Histological evaluation

of iron in liver biopsies: relationship to HFE mutations. Am J Gastroenterol. 2000 Jul;95(7):1788–93.

82. Shiha G, Zalata K. Ishak versus METAVIR: Terminology, Convertibility and Correlation with Laboratory Changes in Chronic Hepatitis C. In: Takahashi H, editor. Rijeka: IntechOpen; 2011. p. Ch. 10. Available from: https://doi.org/10.5772/20110

83. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, et al. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. Clin Chem. 2004 Aug;50(8):1344–55.

84. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology [Internet]. 2003 Dec 1;38(6):1449–57. Available from: https://doi.org/10.1016/j.hep.2003.09.022

85. Saldarriaga OA, Dye B, Pham J, Wanninger TG, Millian D, Kueht M, et al. Comparison of liver biopsies before and after direct-acting antiviral therapy for hepatitis C and correlation with clinical outcome. Sci Rep. 2021 Jul;11(1):14506.

86. Chin JL, Pavlides M, Moolla A, Ryan JD. Non-invasive Markers of Liver Fibrosis: Adjuncts or Alternatives to Liver Biopsy? Front Pharmacol [Internet]. 2016 Jun 20;7:159. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27378924

87. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. Am J Gastroenterol. 2002 Oct;97(10):2614–8.

88. Mehta SH, Lau B, Afdhal NH, Thomas DL. Exceeding the limits of liver histology markers. J Hepatol [Internet]. 2009;50(1):36–41. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168827808006272

89. Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. Gastroenterology. 2008 May;134(6):1670–81.

90. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Gastroenterology. 2019 Apr;156(5):1264-1281.e4.

91. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Gastroenterology. 2019 May;156(6):1717–30.

92. Vuppalanchi R, Siddiqui MS, Van Natta ML, Hallinan E, Brandman D, Kowdley K, et al. Performance characteristics of vibration-controlled transient elastography for evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2018 Jan;67(1):134–44.

93. Григоров Н. Соноеластография. Диагностичен и терапевтичен ултразвук. 2007;2:27.

94. Coco B, Oliveri F, Maina AM, Ciccorossi P, Sacco R, Colombatto P, et al. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. J Viral Hepat. 2007 May;14(5):360–9.

95. Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, Douvin C, Poupon R, de Lédinghen V, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis B. Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2009 Feb;29(2):242–7.

96. Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in

chronic hepatitis C. Gastroenterology. 2005 Feb;128(2):343–50.

97. Chang PE, Goh GB-B, Ngu JH, Tan HK, Tan CK. Clinical applications, limitations and future role of transient elastography in the management of liver disease. World J Gastrointest Pharmacol Ther [Internet]. 2016 Feb 6;7(1):91–106. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26855815

98. Yashima Y, Tsujino T, Masuzaki R, Nakai Y, Hirano K, Tateishi R, et al. Increased liver elasticity in patients with biliary obstruction. J Gastroenterol [Internet]. 2011;46(1):86–91. Available from: https://doi.org/10.1007/s00535-010-0290-9

99. Carrión JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilabert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. Liver Transplant [Internet]. 2006 Dec 1;12(12):1791–8. Available from: https://doi.org/10.1002/lt.20857

100. Цонев Р. Оценка на чернодробната фиброза и на качеството на живот при пациенти с хроничен вирусен С-хепатит и цироза. 2019.

101. Bourliere M, Penaranda G, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal I, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis prediction in chronic hepatitis C patients: proposal for a pragmatic approach classification without liver biopsies. J Viral Hepat. 2006 Oct;13(10):659–70.

102. Snyder N, Gajula L, Xiao S-Y, Grady J, Luxon B, Lau DT-Y, et al. APRI: an easy and validated predictor of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. J Clin Gastroenterol. 2006 Jul;40(6):535–42.

103. Liu C-H, Lin J-W, Tsai F-C, Yang P-M, Lai M-Y, Chen J-H, et al. Noninvasive tests for the prediction of significant hepatic fibrosis in hepatitis C virus carriers with persistently normal alanine aminotransferases. Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2006 Nov;26(9):1087–94.

104. Косева О. СЕРУМНИ МАРКЕРИ ЗА ЧЕРНОДРОБНА ФИБРОЗА И ФИБРОГЕНЕЗА (КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ). 2007.

105. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. Hepatology. 2006 Jun;43(6):1317–25.

106. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. Hepatology. 2007 Jul;46(1):32–6.

107. Usluer G, Erben N, Aykin N, Dagli O, Aydogdu O, Barut S, et al. Comparison of non-invasive fibrosis markers and classical liver biopsy in chronic hepatitis C. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. 2012 Aug;31(8):1873–8.

108. Ozel, Banu D. 1 ; Poyrazoğlu, Orhan K. 2 ; Karaman, Ahmet 3 ; Karaman, Hatice 4 ; Altinkaya, Engin 1 ; Sevinç, Eylem 5 ; Zararsiz G 6 ; The PAPAS index: a novel index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis Title. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2015;27(8):895-900(6).

109. Moorman AC, Gordon SC, Rupp LB, Spradling PR, Teshale EH, Lu M, et al. Baseline characteristics and mortality among people in care for chronic viral hepatitis: the chronic hepatitis cohort study. Clin Infect Dis an Off Publ Infect Dis Soc Am. 2013 Jan;56(1):40–50.

110. Комитова Т. Физични методи за стадиране на хроничните чернодробни заболявания. 2020.

111. Moussavian SN, Becker RC, Piepmeyer JL, Mezey E, Bozian RC. Serum gamma-glutamyl

transpeptidase and chronic alcoholism. Influence of alcohol ingestion and liver disease. Dig Dis Sci. 1985 Mar;30(3):211–4.

112. Silva ISS, Ferraz MLCG, Perez RM, Lanzoni VP, Figueiredo VM, Silva AEB. Role of gamma-glutamyl transferase activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. J Gastroenterol Hepatol. 2004 Mar;19(3):314–8.

113. Lemoine M, Shimakawa Y, Nayagam S, Khalil M, Suso P, Lloyd J, et al. The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) predicts significant liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic HBV infection in West Africa. Gut. 2016 Aug;65(8):1369–76.

114. Boyd A, Bottero J, Lacombe K. The γ-glutamyl transpeptidase-to-platelet ratio as a predictor of liver fibrosis in patients co-infected with HBV and HIV. Vol. 65, Gut. England; 2016. p. 718–20.

115. Li Q, Lu C, Li W, Huang Y, Chen L. The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio for non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B and non-alcoholic fatty liver disease. Oncotarget. 2017 Apr;8(17):28641–9.

116. Przekop D, Klapaczynski J, Grytczuk A, Gruszewska E, Gietka A, Panasiuk A, et al. Non-Invasive Indirect Markers of Liver Fibrosis after Interferon-Free Treatment for Hepatitis C. Vol. 10, Journal of Clinical Medicine. 2021.

117. Wang Z, Huang Y, Nossent H, Chan JJ, Adams LA, Joseph J, et al. Hepascore predicts liver outcomes and all-cause mortality in long-term methotrexate users: A retrospective cohort study. JGH open an open access J Gastroenterol Hepatol. 2020 Dec;4(6):1211–6.

118. NICE. Psoriasis: assessment and management. 2012; Available from: https://www.nice.org.uk/guidance/cg153

119. Zachariae H, Heickendorff L, Søgaard H. The value of amino-terminal propeptide of type III procollagen in routine screening for methotrexate-induced liver fibrosis: a 10-year follow-up. Br J Dermatol. 2001 Jan;144(1):100–3.

120. Vandooren J, Itoh Y. Alpha-2-Macroglobulin in Inflammation, Immunity and Infections [Internet]. Vol. 12, Frontiers in Immunology . 2021. Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.803244

121. Gressner AM, Rizk M, Gao C, Gressner OA. Review. Arab J Gastroenterol. 2010;10(4 Supplement):S12–6.

122. Guéchot J, Loria A, Serfaty L, Giral P, Giboudeau J, Poupon R. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of alpha-interferon therapy. J Hepatol. 1995 Jan;22(1):22–6.

123. Crisan D, Radu C, Grigorescu M, Lupsor M, Feier D, Grigorescu M. Prospective Non-Invasive Follow-up of Liver Fibrosis in Patients with Chronic hepatitis C. J Gastrointest Liver Dis [Internet]. 2012 Dec 1;21(4 SE-Original Article). Available from: https://www.jgld.ro/jgld/index.php/jgld/article/view/2012.4.10

124. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. Physiol Rev. 2011 Jan;91(1):221–64.

125. Иванова И. Чернодробна фиброза при хронична хепатит С-вирусна инфекция: диагностика, динамика и клинично значение. 2003.

126. Боянова Я. Методи за проследяване на чернодробното увреждане. 2017.

127. Parkes J, Guha IN, Roderick P, Harris S, Cross R, Manos MM, et al. Enhanced Liver Fibrosis (ELF)

test accurately identifies liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. J Viral Hepat. 2011 Jan;18(1):23–31.

128. Rosenberg WMC, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. Gastroenterology. 2004 Dec;127(6):1704–13.

129. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. Hepatology. 2008 Feb;47(2):455–60.

130. Nobili V, Parkes J, Bottazzo G, Marcellini M, Cross R, Newman D, et al. Performance of ELF serum markers in predicting fibrosis stage in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2009 Jan;136(1):160–7.

131. Friedrich-Rust M, Rosenberg W, Parkes J, Herrmann E, Zeuzem S, Sarrazin C. Comparison of ELF, FibroTest and FibroScan for the non-invasive assessment of liver fibrosis. BMC Gastroenterol. 2010 Sep;10:103.

132. Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace ND, Burroughs AK, Planas R, et al. Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis. N Engl J Med. 2005 Nov;353(21):2254–61.

133. Hobolth L, Bendtsen F, Møller S. Indications for portal pressure measurement in chronic liver disease. Scand J Gastroenterol. 2012 Sep;47(8–9):887–92.

134. Feig DI, Kang D-H, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. N Engl J Med. 2008 Oct;359(17):1811–21.

135. Chinnaratha MA, Jeffrey GP, MacQuillan G, Rossi E, de Boer BW, Speers DJ, et al. Prediction of morbidity and mortality in patients with chronic hepatitis C by non-invasive liver fibrosis models. Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2014 May;34(5):720–7.

136. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. Clin Chem. 2005 Oct;51(10):1867–73.

137. Seto W-K, Lee C-F, Lai C-L, Ip PPC, Fong DY-T, Fung J, et al. A New Model Using Routinely Available Clinical Parameters to Predict Significant Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis B. PLoS One [Internet]. 2011 Aug 11;6(8):e23077. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023077

138. El-Sherif O, Jiang ZG, Tapper EB, Huang KC, Zhong A, Osinusi A, et al. Baseline Factors Associated With Improvements in Decompensated Cirrhosis After Direct-Acting Antiviral Therapy for Hepatitis C Virus Infection. Gastroenterology. 2018 Jun;154(8):2111-2121.e8.

139. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. Hepatology. 2000 Apr;31(4):864–71.

140. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. Gastroenterology. 2003 Jan;124(1):91–6.

141. Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). Hepatology. 2007 Mar;45(3):797–805.

142. Edwards NL. The role of hyperuricemia in vascular disorders. Curr Opin Rheumatol. 2009 Mar;21(2):132–7.

143. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, et al. Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. N Engl J Med. 1986 Dec;315(25):1575–8.

144. Ingmar Mederacke MPM. The Future of Hepatology After Hepatitis C. In: Colmenero, Jordi Forner, Alejandro Londoño, Maria C. Bruix, Jordi Forns Xavier, Garcia-Pagan Navasa, Miquel Ginés P, editor. Therapy in Liver Diseases. Therapy in. 2019. p. 159–63.

145. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon Alfa-2b Alone or in Combination with Ribavirin as Initial Treatment for Chronic Hepatitis C. N Engl J Med [Internet]. 1998 Nov 19;339(21):1485–92. Available from: https://doi.org/10.1056/NEJM199811193392101

146. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon α2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon α2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. Lancet [Internet]. 1998 Oct 31;352(9138):1426–32. Available from: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)07124-4

147. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. Lancet [Internet]. 2001 Sep 22;358(9286):958–65. Available from: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06102-5

148. Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N, et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase III study. Hepatology. 2015 Apr;61(4):1127–35.

149. Петкова М. Хронични вирусни хепатити при пациенти с краен стадий на хронична бъбречна недостатъчност и бъбречна трансплантация. 2023.

150. Axley P, Mudumbi S, Sarker S, Kuo Y-F, Singal AK. Patients with stage 3 compared to stage 4 liver fibrosis have lower frequency of and longer time to liver disease complications. PLoS One. 2018;13(5):e0197117.

151. Krastev Z, Jelev D, Antonov K, Petkova T, Atanasova E, Zheleva N, et al. Ombitasvir, paritaprevir, ritonavir, dasabuvir and ribavirin in cirrhosis after complete destruction of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2016 Feb;22(8):2630–5.

152. Lin W-C, Lin Y-S, Chang C-W, Chang C-W, Wang T-E, Wang H-Y, et al. Impact of direct-acting antiviral therapy for hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. PLoS One. 2020;15(5):e0233212.

153. Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, et al. Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. Hepatology. 2003 Oct;38(4):820–8.

154. Koike K. Hepatitis C virus contributes to hepatocarcinogenesis by modulating metabolic and intracellular signaling pathways. J Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2007 Aug 25;22 Suppl 1:S108-11. Available from: https://neuro.unboundmedicine.com/medline/citation/17567457/Hepatitis_C_virus_contributes_to_hepatocarcinogenesis_by_modulating_metabolic_and_intracellular_signaling_pathways_

155. Bruno S, Crosignani A, Maisonneuve P, Rossi S, Silini E, Mondelli MU. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: A

seventeen-year prospective cohort study. Hepatology [Internet]. 2007 Nov 1;46(5):1350–6. Available from: https://doi.org/10.1002/hep.21826

156. Kogiso T, Sagawa T, Kodama K, Taniai M, Katagiri S, Egawa H, et al. Hepatocellular carcinoma after direct-acting antiviral drug treatment in patients with hepatitis C virus. JGH open an open access J Gastroenterol Hepatol. 2019 Feb;3(1):52–60.

157. Kanda T, Lau GKK, Wei L, Moriyama M, Yu M-L, Chuang W-L, et al. APASL HCV guidelines of virus-eradicated patients by DAA on how to monitor HCC occurrence and HBV reactivation. Hepatol Int. 2019 Nov;13(6):649–61.

158. Ioannou GN, Splan MF, Weiss NS, McDonald GB, Beretta L, Lee SP. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc. 2007 Aug;5(8):938–45, 945.e1-4.

159. Gao X, Zhan M, Wang L, Ding Y, Niu J. Timing of DAA Initiation After Curative Treatment and Its Relationship with the Recurrence of HCV-Related HCC. J Hepatocell carcinoma. 2020;7:347–60.

160. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. Gastroenterology. 2009 Jan;136(1):138–48.

161. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Yoshida H, Sato S, Kato N, et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients by transient elastography. J Clin Gastroenterol. 2008 Aug;42(7):839–43.

162. Nkontchou G, Ziol M, Aout M, Lhabadie M, Baazia Y, Mahmoudi A, et al. HCV genotype 3 is associated with a higher hepatocellular carcinoma incidence in patients with ongoing viral C cirrhosis. J Viral Hepat [Internet]. 2011 Oct 1;18(10):e516–22. Available from: https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01441.x

163. Petruzziello A, Marigliano S, Loquercio G, Coppola N, Piccirillo M, Leongito M, et al. Hepatitis C Virus (HCV) genotypes distribution among hepatocellular carcinoma patients in Southern Italy: a three year retrospective study. Infect Agent Cancer [Internet]. 2017;12(1):52. Available from: https://doi.org/10.1186/s13027-017-0162-5

164. Kiyosawa K, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Gad A, et al. Hepatocellular carcinoma: recent trends in Japan. Gastroenterology. 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S17-26.

165. Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma: long-term results of treatment and prognostic factors. Ann Surg. 1999 Feb;229(2):216–22.

166. Cabibbo G, Petta S, Barbàra M, Missale G, Virdone R, Caturelli E, et al. A meta-analysis of single HCV-untreated arm of studies evaluating outcomes after curative treatments of HCV-related hepatocellular carcinoma. Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2017 Aug;37(8):1157–66.

167. Singal AG, Lim JK, Kanwal F. AGA Clinical Practice Update on Interaction Between Oral Direct-Acting Antivirals for Chronic Hepatitis C Infection and Hepatocellular Carcinoma: Expert Review. Gastroenterology. 2019 Jun;156(8):2149–57.

168. Tsai P-C, Huang C-F, Yu M-L. Unexpected early tumor recurrence in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma undergoing interferon-free therapy: Issue of the interval between HCC treatment and antiviral therapy. Vol. 66, Journal of hepatology. Netherlands; 2017. p. 464.

169. Singal AG, Rich NE, Mehta N, Branch A, Pillai A, Hoteit M, et al. Direct-Acting Antiviral Therapy Not Associated With Recurrence of Hepatocellular Carcinoma in a Multicenter North American Cohort Study. Gastroenterology. 2019 May;156(6):1683-1692.e1.

170. Ogawa E, Furusyo N, Nomura H, Dohmen K, Higashi N, Takahashi K, et al. Short-term risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication following direct-acting anti-viral treatment. Aliment Pharmacol Ther. 2018 Jan;47(1):104–13.

171. Kolly P, Waidmann O, Vermehren J, Moreno C, Vögeli I, Berg T, et al. Hepatocellular carcinoma recurrence after direct antiviral agent treatment: A European multicentre study. Vol. 67, Journal of hepatology. Netherlands; 2017. p. 876–8.

172. Frazzoni L, Sikandar U, Metelli F, Sadalla S, Mazzella G, Bazzoli F, et al. Hepatocellular Carcinoma Recurrence after Hepatitis C Virus Therapy with Direct-Acting Antivirals. A Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Med. 2021 Apr;10(8).

173. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, Crespi C, Bolondi L, Caraceni P, et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. J Hepatol. 2016 Oct;65(4):727–33.

174. Warzyszyńska K, Jonas M, Wasiak D, Kosieradzki M, Małkowski P. Accelerated hepatocellular carcinoma recurrence rate after postoperative direct-acting antivirals treatment - preliminary report. Clin Exp Hepatol. 2017 Dec;3(4):194–7.

175. Cabibbo G, Celsa C, Calvaruso V, Petta S, Cacciola I, Cannavò MR, et al. Direct-acting antivirals after successful treatment of early hepatocellular carcinoma improve survival in HCV-cirrhotic patients. J Hepatol. 2019 Aug;71(2):265–73.

176. Mashiba T, Joko K, Kurosaki M, Ochi H, Osaki Y, Kojima Y, et al. Does interferon-free direct-acting antiviral therapy for hepatitis C after curative treatment for hepatocellular carcinoma lead to unexpected recurrences of HCC? A multicenter study by the Japanese Red Cross Hospital Liver Study Group. PLoS One. 2018;13(4):e0194704.

177. Miuma S, Miyamoto J, Taura N, Fukushima M, Sasaki R, Haraguchi M, et al. Influence of Interferon-free Direct-acting Antiviral Therapy on Primary Hepatocellular Carcinoma Recurrence: A Landmark Time Analysis and Time-dependent Extended Cox Proportional Hazards Model Analysis. Intern Med. 2020;59(7):901–7.

178. Nagata H, Nakagawa M, Asahina Y, Sato A, Asano Y, Tsunoda T, et al. Effect of interferon-based and -free therapy on early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. J Hepatol. 2017 Nov;67(5):933–9.

179. Waziry R, Hajarizadeh B, Grebely J, Amin J, Law M, Danta M, et al. Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: A systematic review, meta-analyses, and meta-regression. J Hepatol. 2017 Dec;67(6):1204–12.

180. Kikuchi L, Chagas AL, Alencar RSSM, Tani C, Diniz MA, D'Albuquerque LAC, et al. Adherence to BCLC recommendations for the treatment of hepatocellular carcinoma: impact on survival according to stage. Clinics (Sao Paulo). 2017 Aug;72(8):454–60.

181. Zavaglia C, Okolicsanyi S, Cesarini L, Mazzarelli C, Pontecorvi V, Ciaccio A, et al. Is the risk of neoplastic recurrence increased after prescribing direct-acting antivirals for HCV patients whose HCC was previously cured? Vol. 66, Journal of hepatology. Netherlands; 2017. p. 236–7.

182. Ikeda K, Kawamura Y, Kobayashi M, Kominami Y, Fujiyama S, Sezaki H, et al. Direct-Acting Antivirals Decreased Tumor Recurrence After Initial Treatment of Hepatitis C Virus-Related Hepatocellular Carcinoma. Dig Dis Sci. 2017 Oct;62(10):2932–42.

183. Ji J, Wang H, Li Y, Zheng L, Yin Y, Zou Z, et al. Diagnostic Evaluation of Des-Gamma-Carboxy Prothrombin versus α-Fetoprotein for Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma in China: A Large-Scale, Multicentre Study. PLoS One. 2016;11(4):e0153227.

184. Manns M, Samuel D, Gane EJ, Mutimer D, McCaughan G, Buti M, et al. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. Lancet Infect Dis [Internet]. 2016 Jun 1;16(6):685–97. Available from: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00052-9

185. Meng F, Yin X, Ma X, Guo X-D, Jin B, Li H. Assessment of the value of serum cholinesterase as a liver function test for cirrhotic patients. Biomed reports. 2013 Mar;1(2):265–8.

186. Deterding K, Höner Zu Siederdissen C, Port K, Solbach P, Sollik L, Kirschner J, et al. Improvement of liver function parameters in advanced HCV-associated liver cirrhosis by IFN-free antiviral therapies. Aliment Pharmacol Ther. 2015 Oct;42(7):889–901.

187. Герджикова К. Антивирусна терапия при пациенти с хепатоцелуларен карцином. 2021.

188. Ferrarese A, Germani G, Gambato M, Russo FP, Senzolo M, Zanetto A, et al. Hepatitis C virus related cirrhosis decreased as indication to liver transplantation since the introduction of direct-acting antivirals: A single-center study. World J Gastroenterol. 2018 Oct;24(38):4403–11.

189. Giannini EG, Crespi M, Demarzo M, Bodini G, Furnari M, Marabotto E, et al. Improvement in hepatitis C virus patients with advanced, compensated liver disease after sustained virological response to direct acting antivirals. Eur J Clin Invest. 2019 Mar;49(3):e13056.

190. Perricone G, Duvoux C, Berenguer M, Cortesi PA, Vinaixa C, Facchetti R, et al. Delisting HCV-infected liver transplant candidates who improved after viral eradication: Outcome 2 years after delisting. Liver Int Off J Int Assoc Study Liver. 2018 Dec;38(12):2170–7.

191. Belli LS, Berenguer M, Cortesi PA, Strazzabosco M, Rockenschaub S-R, Martini S, et al. Delisting of liver transplant candidates with chronic hepatitis C after viral eradication: A European study. J Hepatol. 2016 Sep;65(3):524–31.

192. Pascasio JM, Vinaixa C, Ferrer MT, Colmenero J, Rubin A, Castells L, et al. Clinical outcomes of patients undergoing antiviral therapy while awaiting liver transplantation. J Hepatol. 2017 Dec;67(6):1168–76.

Приложение

Cut off фиброскан и стрейн

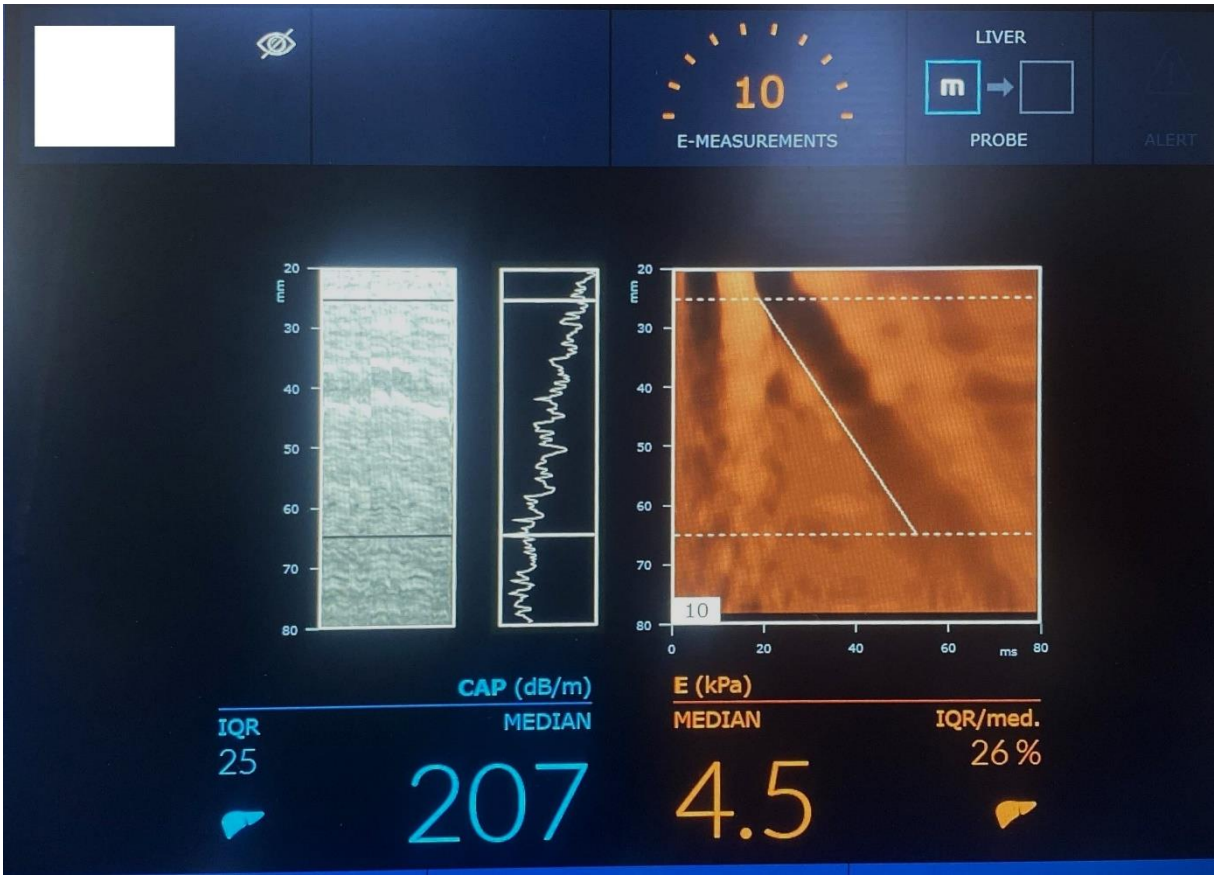


Figure 2Резултат от ТЕ при здрав доброволец проведена в Клиниката

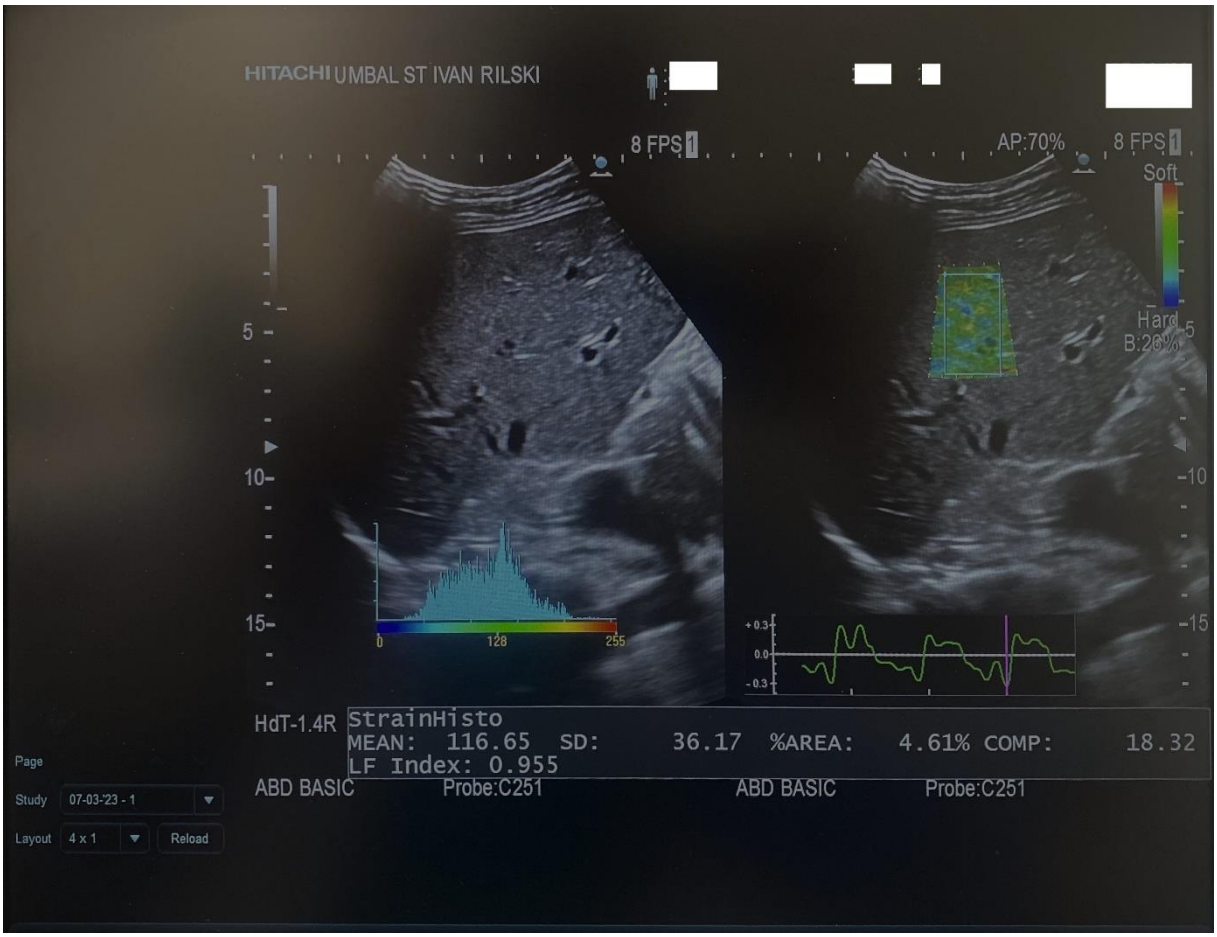
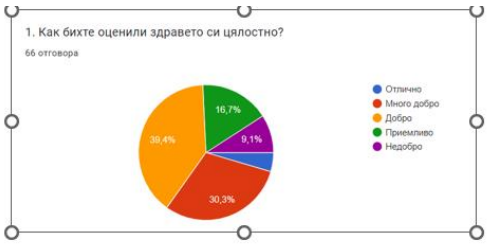
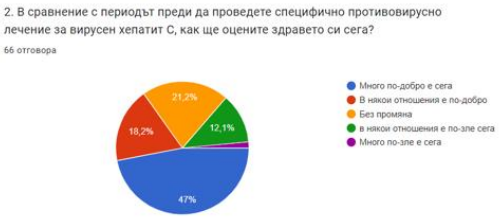
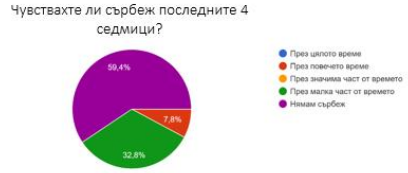


Figure 3Резултат от Strain еластография проведена на здрав доброволец в клиниката.



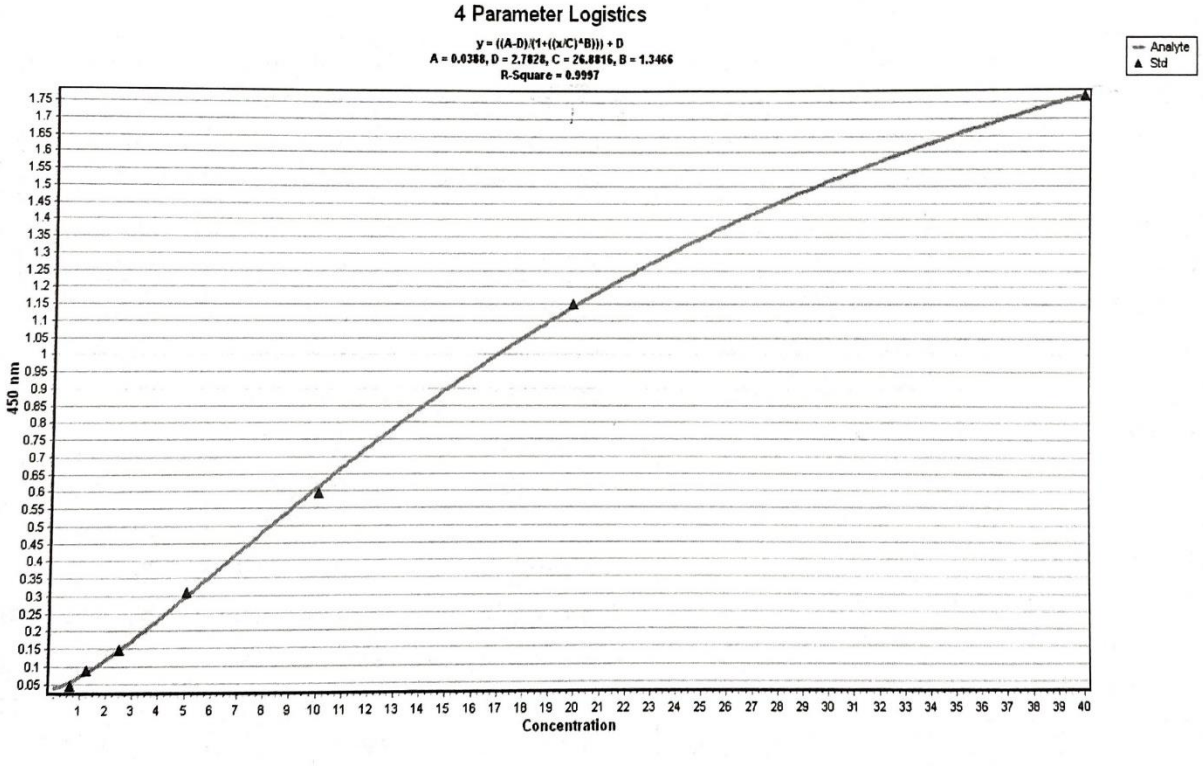




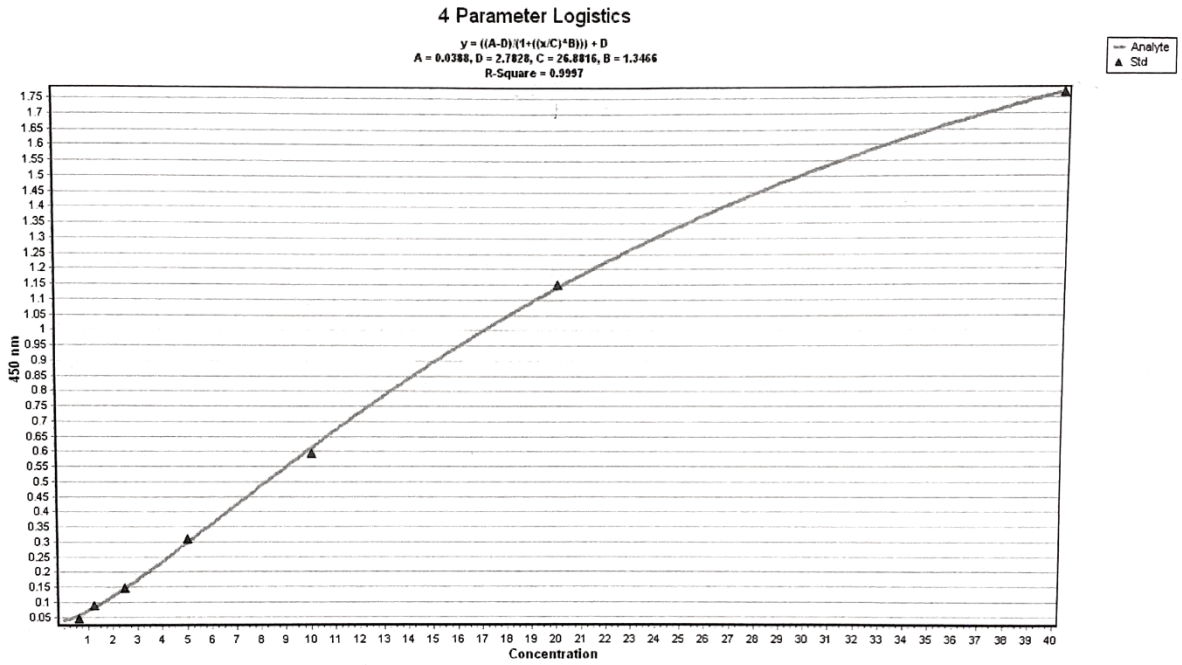
Как бихте оценили здравето си цялостно?
В сравнение с периодът преди да проведете специфично противовирусно лечение за вирусен хепатит С, как ще оцените здравето си сега?
Ограничени ли са по-големи от обичайните физически усилия? (спорт, вдигане на тежки предмети)
Ограничени ли са обичайни физически усилия? (домакинска работа)
Колко етажа можете да изкатерите без да изпитвате затруднение поради умора или недостиг на въздух?
Можете ли да извървите повече от един километър?
Можете ли да се самообслужвате? (къпане, преобличане)
Бяха ли ограничени по-големи от обичайните физически усилия преди да проведете специфичното противовирусно лечение ? (спорт, вдигане на тежки предмети)
Ограничени ли бяха обичайни физически усилия преди да проведете специфичното противовирусно лечение ? (домакинска работа)
Можехте ли да се самообслужвате преди да проведете специфичното противовирусно лечение? (къпане, преобличане)
През последните 4 седмици прекарвали ли сте ограничено време на работното място или в изпълнение на ежедневните Ви дейности?
Преди да проведете специфично противовирусно лечение прекарвали ли сте ограничено време на работното място или в изпълнение на ежедневните Ви дейности?
През последните 4 седмици можете ли да кажете, че сте постигнали по-малко (свършили сте по-малко работа), отколкото бихте желали?
В периода преди да проведете специфичното противовирусно лечение можете ли да кажете, че сте постигнали по-малко (свършили сте по-малко работа), отколкото бихте желали?
През последните 4 седмици изпитвали ли сте допълнителни трудности за да постигнете задачите си?
В периода преди да проведете специфичното противовирусно лечение изпитвали ли сте допълнителни трудности за да постигнете задачите си?
През последните 4 седмици в каква степен вашето физическо здраве и емоционално състояние са попречили на нормалните Ви социални контакти със семейството, приятелите и съседите?
Колко силна болка сте изпитвали през последните 4 седмици?
В периода преди да проведете специфичното противовирусно лечение изпитвали ли сте болка и в каква степен?
В каква степен болката повлиява на вашето ежедневие?

В каква степен болката повлияваше вашето ежедневие преди да проведете специфичното противовирусно лечение?
През последните 4 седмици..... в каква част от времето чувствахте жизненост?
През последните 4 седмици..... в каква част от времето се чувствахте нервен или напрегнат?
През последните 4 седмици..... в каква част от времето се чувствахте толкова подтиснат, че нищо не можеше да Ви развесели ?
През последните 4 седмици..... в каква част от времето се чувствахте уморен?
Преди да проведете специфично противовирусно лечение ....в каква част от времето чувствахте жизненост?
Преди да проведете специфично противовирусно лечение ..... в каква част от времето се чувствахте нервен или напрегнат?
Преди да проведете специфично противовирусно лечение ..... в каква част от времето се чувствахте толкова подтиснат, че нищо не можеше да Ви развесели ?
Преди да проведете специфично противовирусно лечение ..... в каква част от времето се чувствахте уморен?
Разболявате ли се по-често от познатите си?
Разболявахте ли се по-често преди да проведете специфичното противовирусно лечение?
Очаквам здравето ми да се влоши в бъдеще
Очаквам здравето ми да се подобри в бъдеще
Здравето ми е отлично
Здравето ми преди да проведа специфично противовирусно лечение беше отлично
Колко пъти ставате на нощ по малка нужда ?
Имате ли хронично заболяване или заболявания?
Можете ли да посочите органите, които са засегнати?
Можете ли да посочите конкретен симптом, който води до най-голям дискомфорт?
Недостиг на въздух?
Мускулни крампи (болезнени схващания)?
Промяна в ритъма на сън и бодърствуване? (сънливост, безсъние, инверсия на съня)
Еректилна дисфункция или намалено либидо?

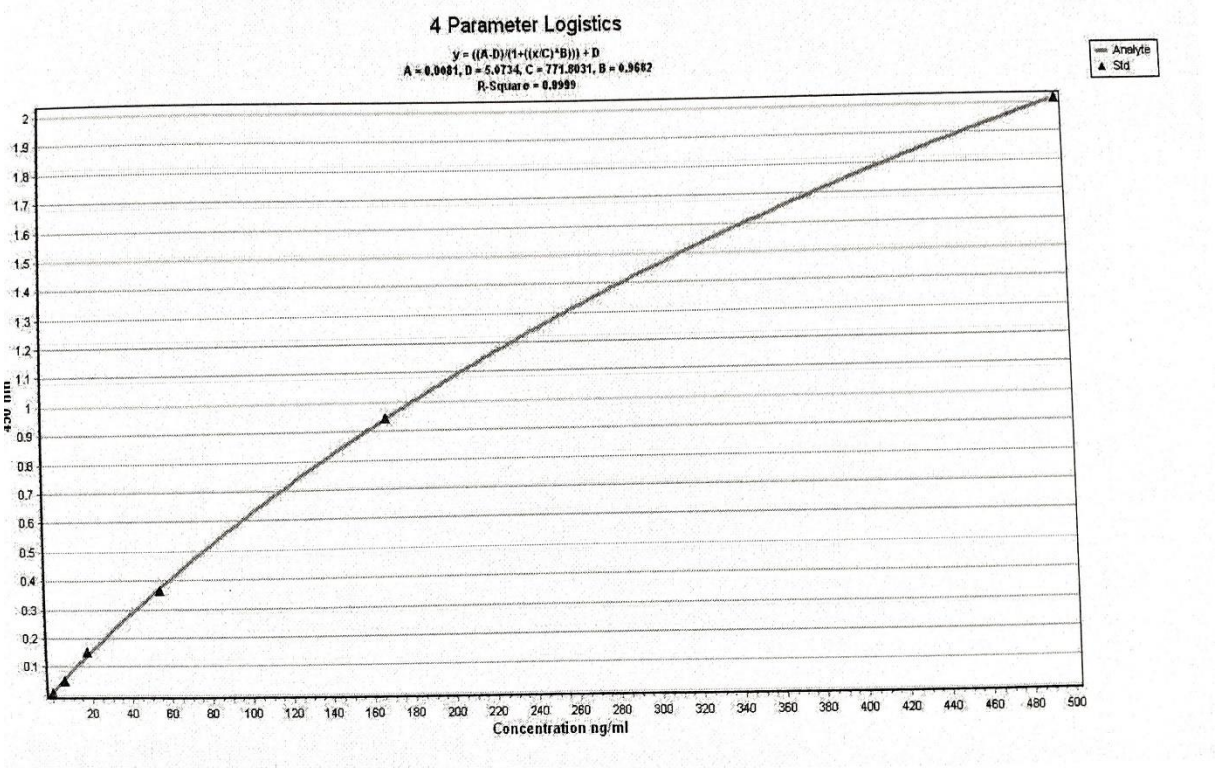
Сърбеж по кожата?
Отоци по краката?
Страдате ли от натрупано количество течност в корема? (асцит)
Облекчават ли се симптомите?
Чувствате ли гадене?
Страдахте ли от натрупано количество течност в корема? (асцит)
Подобряваха ли се оплакванията, свързани с асцита след лечение ?
Чувствахте ли гадене?
Преди да проведете лечение, чувствахте ли сърбеж по кожата?



Стандартна крива за TIMP-1 – кривата на концентрацията следва отделните стандарти



Стандартна крива за НА – кривата на концентрацията следва отделните стандарти



Стандартна крива за алфа-2 макроглобулин