

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ ВАРНА
Факултет медицина
Катедра „Инфекциозни болести, паразитология и дерматовенерология“**

Д-Р ИЛИЯН ТОДОРОВ ТОДОРОВ

**ПРОМЕНИ В СЕРУМНИЯ АМИЛОИД А ПРОТЕИН ПРИ НЯКОИ
ИНФЕКЦИОЗНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ С ВИРУСНА ЕТИОЛОГИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане
на образователна и научна степен „Доктор“

**област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт,
професионално направление: 7.1. медицина, научна специалност
„инфекциозни болести“**

Научни ръководители

Проф. д-р Маргарита Господинова, дм

Доц. д-р Яна Бочева, дм

Официални рецензенти

Проф. д-р Марияна Стойчева, дмн

Доц. д-р Диана Радкова, дм

Варна, 2020

Дисертационният труд съдържа 110 страници, 21 фигури и 32 таблици. Библиографията включва 207 литературни източника. Проучването е извършено в Клиника по Инфекциозни болести на УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на катедрен съвет на Катедра по Инфекциозни болести, паразитология и дерматовенерология към Факултет „Медицина“, протокол №76/29.01.2020г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на2020 г. от часа в аудитория на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински Университет „Проф. д-р П. Стоянов“- Варна, както и на официалния сайт на университета.

Съдържание

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	5
I. ВЪВЕДЕНИЕ.....	7
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	9
III. МАТЕРИАЛ.....	10
IV. МЕТОДИ.....	11
V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	14
1. Разпределение на пациентите, включени в проучването според нозологични единици и тежест на протичане.....	14
1.1. Разпределение по нозологични единици.....	14
1.2. Разпределение по тежест.....	15
1.2.1. Подгрупа А.....	15
1.2.2. Подгрупа Б.....	16
2. Контролна група.....	19
3. Промени в серумните нива на SAA при пациенти от подгрупа А.....	20
4. Промени в серумните нива на SAA при пациенти от подгрупа Б.....	24
5. Сравнителен анализ между SAA и други лабораторни маркери за остро възпаление – левкоцитен брой, СУЕ, CRP, сред пациенти от подгрупа А и подгрупа Б.....	31
VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	50
VII. ИЗВОДИ.....	51
VIII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	52
IX. ПУБЛИКАЦИИ, ДОКЛАДИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	53

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ОФП	острофазови протеини
СПИН	синдром на придобита имунна недостатъчност
СУЕ	скорост на утаяване на еритроцитите
ABCA-1	ATP Binding Cassette A Member 1
CLA-1	conjugated linoleic acid-1
CRP	C-reactive protein
ESR	erythrocyte sedimentation rate
FPR	formyl peptide receptor
FPRL1	formyl peptide receptor-like 1
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor
HDL	high-density lipoprotein
IF- γ	interferon-gamma
IL	interleukin
LDL	low-density lipoprotein
LENI	latex-enhanced nephelometric immunoassay
LIMP	lysosomal integral membrane protein
LXA4R	lipoxin A4 receptor
MAPKs	mitogen-activated protein kinases
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MMPs	matrix metalloproteinases
mRNA	Messenger RNA
NF- κ B	nuclear factor kappa B
NK	natural killer
NLRs	NOD-like receptors
NO	nitrogen oxide
Omp	outer membrane protein
PAMPs	pathogen associated molecular patterns
PRRs	pattern recognition receptors

RAGE	receptor for advanced glycation end-products
ROC	Receiver operating characteristic
rSAA	recombinant SAA
SAA	serum amyloid A
SRs	scavenger receptors
sTNFR-II	soluble receptor for tumor necrosis factor type II
Th	T-helpers
TLRs	toll-like receptors
TNF- α	tumor necrosis factor-alpha

I. Въведение

Човешкият организъм е заобиколен и постоянно изложен на микробни атаки, с които трябва да се бори ефективно. Понастоящем са известни над 5000 причинителя на различни инфекциозни заболявания – вируси, бактерии, рикетсии, гъби и др. Попадайки в човешкото тяло, те биват посрещнати от имунната система, която реализира своя ефект чрез действието на вродения и придобит имунитет.

През последните години, все повече автори изследват и анализират промените, които настъпват именно във вродения имунитет и защитата, която той осигурява срещу съответна микробна инвазия. Попадналите в макроорганизма патогени, преодолели действието на анатоמו-физиологичните бариери, активират протичането на редица биологични реакции. Развива се процес наречен възпаление (лат. *inflammatio*-горя, *изгарям*), чиято основна цел е локализиране и елиминиране на вредния агент от тялото, както и възстановяване на инфектираният тъкан и възвръщането и до нормалното или близко до нормалното състояние. В този смисъл възпалението има защитна функция.

В протичането на възпалителната реакция са въвлечени клетъчните и хуморални фактори на вродения имунитет. Белтъците от системата на комплемента обгръщат патогена и го подлагат на бактерицидното действие на неутрофилните левкоцити. Последните продуцират т.нар. медиатори на възпалението (проинфламаторни цитокини) – интерлевкини (*IL*), тумор некротизиращ фактор алфа (*TNF- α*), интерферон гама (*IFN- γ*) и др, обуславящи местните – *rubor* (зачервяване), *calor* (затопяне), *tumor* (подуване), *dolor* (болка) и *function laesa* (увредена функция) прояви на възпалението.

Попадането на проинфламаторните цитокини в общата циркулация е свързано с развитие на системен отговор срещу инфекцията. Той включва общи прояви на възпаление (треска, отпадналост, безапетитие, сънливост) и промяна в серумната концентрация на определени белтъчни вещества, наречени острофазови протеини (ОФП). Към тях се отнасят С-реактивният протеин (CRP), серумният амилоид А протеин (SAA), церулоплазмин, фибриноген и др. Количество им в серума може да бъде измерено, а отклоненията от базалните им стойности корелират с етиологията на възпалителния процес, тежестта на заболяването и ефекта от проведеното лечение.

Към момента, в клиничната практика най-често се прилага количественото или качествено изследване на CRP. Редица съвременни проучвания се фокусират върху

анализиране ролята във възпалителния процес и на други ОФП, какъвто е SAA. Нови данни сочат, че този показател превъзхожда CRP в ранната диагностика на остри инфекциозни заболявания, особено онези от тях, с вирусна етиология. Динамиката в стойностите му позволява своевременна и прецизна оценка по отношение тежестта на протичане, ефект от проведеното лечение и прогноза за изхода от болестта. През последните години, все повече автори проучват ролята на SAA за избора на оптимална етиологична терапия и нейната продължителност. Анализира се още клиничната му стойност в оптимизирането на болничния престой и профилактиката на вътреболничните инфекции.

Представените по-горе положителни страни от изследването на SAA, паралелно с факта, че у нас, при пациенти с инфекциозни заболявания, показателят не е проучван до момента, обосновават **актуалността на настоящия дисертационен труд**. Изведена е идеята за включването му като част от задължителния лабораторен минимум, предоставяйки своевременна, обективна и мащабна информация, както за диагностичния, така и за терапевтичния процес при всеки конкретен болен.

II. Цел и задачи:

Целта на настоящата работа е да се *проучат промените в стойностите на SAA при пациенти с някои вирусни инфекциозни заболявания и да се оцени значението му като диагностичен и прогностичен маркер за тежест на болестта и ефект от проведеното лечение.*

За реализиране на горепосочената цел си поставихме следните *задачи*:

1. Да се проучат промените в стойностите на SAA в динамика, в хода на някои инфекциозни заболявания с вирусна етиология;
2. Да се проведе сравнителен анализ между промените в стойностите на SAA и други лабораторни показатели, отчитащи остро възпаление – левкоцити, СУЕ и CRP, при болни с някои инфекциозни заболявания от вирусен произход;
3. Да се потърси корелация между нивата на SAA и тежестта на съответното инфекциозно заболяване;
4. Да се анализира клиничната значимост на SAA като маркер за ефективност на проведеното лечение;
5. Да се анализира възможността за приложение на SAA в клиничната практика като маркер, отчитащ ранната прогноза и изходът от заболяването;

III. Материал:

Настоящото проучване е извършено в периода октомври 2017-декември 2018 година.

1. Изследвани пациенти:

Проспективно са обследвани 102 пациента, на възраст между 1-60 години, хоспитализирани през посочения период в Инфекциозна клиника при УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна. Включващите критерии са посочени на табл. 1. Изключени са всички лица на възраст под 1 година и над 60 години. В тези случаи, серумните нива на SAA се влияят значително от допълнителни фактори като имunosупресия и коморбидитет, а това би довело до статистическа недостоверност на получените резултати.

Включващи критерии	Изключващи критерии
Възраст между 1-60 години;	Възраст под 1 или над 60 години;
Клинични данни за остро инфекциозно заболяване с вирусна етиология: <ul style="list-style-type: none">• Грип;• Варицела;• Инфекциозна мононуклеоза;• Вирусни менингити/менингоенцефалити/вирусна енцефалопатия, вкл. тежки и усложнени форми на протичане, с давност не повече от 48 часа и без провеждано амбулаторно лечение вкл. с антибиотик;	Клинични данни за остри инфекциозни заболявания, извън посочените като включващи, или същите, но с давност повече от 48 часа и/или проведено амбулаторно лечение, вкл. с антибиотик. ;
Липса на придружаващи хронични неинфекциозни заболявания, влияещи значително върху серумната концентрация на SAA – ХОББ*, ХБ**, ИБС***, ЗД****, нефропатия, колагенози, хипоалбуминемия под 30г/л и др;	Данни за придружаващи хронични неинфекциозни заболявания, влияещи значително върху серумната концентрация на SAA - ХОББ, ХБ, ИБС, ЗД, нефропатия, колагенози, хипоалбуминемия под 30г/л и др;
Ваксинация, извършена повече от 30 дни преди поява на настоящите оплаквания;	Ваксинация, извършена по – малко от 30 дни преди поява на настоящите оплаквания;
Пациенти, подписали информирано съгласие;	Пациенти, не подписали информирано съгласие;

Табл. 1. Критерии за включване и изключване на пациентите в проучването: ХОББ* – хронична обструктивна белодробна болест; ХБ - хипертонична болест; ИБС*** - исхемична болест на сърцето, ЗД**** - захарен диабет;**

Контролната група включва 30 здрави лица, насочени от различни медицински специалисти или директно от членовете на екипа. От тях, 50,00% (15/30) са от мъжки пол, а 50,00% (15/30) са от женски пол. На табл. 2 са посочени критериите за включване и изключване на участниците от контролната група.

Включващи критерии	Изключващи критерии
Възраст между 1-60 години;	Възраст под 1 или над 60 години;
Здрави лица, без клинични данни за остро инфекциозно заболяване към момента на изследването;	Болни лица, с клинични данни за остро инфекциозно заболяване към момента на изследването;
Лица без установени хронични заболявания към момента на изследването;	Лица с установени хронични заболявания, към момента на изследването;
Ваксинирани преди повече от месец спрямо началото на изследването;	Ваксинирани преди по-малко от месец спрямо началото на изследването;
Лица, подписали информирано съгласие;	Лица, неподписали информирано съгласие;

Табл. 2. Критерии за включване и изключване на участниците в контролната група

Всички участници са включени в проучването след предварително информирано съгласие, потвърдено чрез собственоръчно поставен подпис в специално разработен за тази цел документ. В случаите, когато се касае за деца/юноши/младежи на възраст под 18 години, съгласието за участие е дадено от техен родител/настойник.

IV. Методи:

1. Анкетно проучване:

Към момента на хоспитализацията, всеки участник в проучването /негов родител или настойник/ е попълнил анкетна карта, оценяваща преморбидния му статус. За изработването ѝ са използвани образци към документи по клинични пътеки. Резултатите са обработени своевременно, а въз основа на тях е оценена изпълнимостта на включващите критерии.

2. Клинико-лабораторни методи:

Серумният амилоид А протеин, както и останалите лабораторни показатели, включени в настоящото проучване – общ брой левкоцити, CRP, СУЕ (включително общ белтък и албумин) са изследвани в динамика в Централна Клинична Лаборатория при УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна. При всички болни е осъществено двукратно пробонабиране – в деня на хоспитализацията и $4,73 \pm 1,33$ дни по-късно. Необходимото

количество венозна кръв – 5 мл е взето посредством венепункция на периферна вена, чрез стерилни еднократни системи тип *Vacutainer*, *Vecton – Dickinson* или други лицензирани марки. Пробите са центрофугирани на 3500 об/мин за период от 10 мин, на центрофуга *HERAEUS*, *Kendro*, *Германия*, която се намира в лабораторията на Инфекциозна клиника. Отделеното количество серум е съхранявано в хладилник в същата сграда, при $t^0 -20^{\circ}\text{C}$, до 6 месеца или до изработване на резултата за SAA. Всички останали параметри са изработени в деня на пробовземането.

Нивата на SAA при всички пациенти и в групата на здравите контроли са определени по имунотурбидиметрична методика с реагенти на *MEDICON*, на автоматичен биохимичен анализатор ‘*OLYMPUS*’ *AU 400*. Референтните стойности са до 10 мг/л.

Острофазовият протеин CRP е изследван в серума на пациентите по имунотурбидиметрична методика с реагенти на *SIEMENS*, на автоматичен биохимичен анализатор *ÄDVIA 1800*. Референтните стойности са до 5 мг/л.

Показателят СУЕ е отчетен по автоматизирана технология, чрез апарат *Roller20PN* на фирма *ALIFAX*. Технологичният процес включва работа в микрокапилярка, където след хомогенизиране при температура 37°C е определен агрегационният капацитет на изследваната проба на база 1000 измервания на оптичната плътност за 20 секунди и в последствие, по математически модели, електронно е изчислена стойността на СУЕ в мм/ч. Референтните стойности са посочени по-долу:

Деца:

до 14г.: (2-34 мм/ч)

Възрастни:

Под 50г.: мъже (2 – 28 мм/ч);
жени (2 -37 мм/ч)

Над 50г.: мъже (2 – 37 мм/ч);
жени (2 -39 мм/ч)

Над 70г.: (3-46 мм/ч)

Нивата на общ белтък и албумин са определени на фотометричен принцип с реагенти на *SIEMENS* на автоматичен биохимичен анализатор *ÄDVIA 1800*. Референтните стойности са съответно от 32 г/л до 48 г/л за албумин и от 57 г/л до 82 г/л за общ белтък.

3. Вирусологични методи:

Серологичните изследвания за етиологично разшифроване на случаите са извършени във Вирусологична лаборатория при УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна. Титърът на антителата от клас имуноглобулин М срещу причинителите на грип, инфекциозна моноклеуза и варицела е отчетен чрез *ELISA*, като за диагностични, се приемат нива над 1,1. Използвани са тестове на компания *Euroimmun, Lubek, Germany*.

За дефиниция на случай с тежко, усложнено протичане, използвахме определението на Радев М и сътр., *Шокови състояния и интензивно лечение на инфекциозните заболявания, 1982: „клинична форма на инфекциозно заболяване по тежест се определя според степен на обща интоксикация и изразеността на органични увреждания вкл. шок“*.

4. Статистически методи:

4.1. Дескриптивен статистически анализ

Чрез дескриптивен анализ бяха описани основните характеристики на проучените групи и на изследваните клинично-лабораторни показатели. В анализа бяха използвани:

- резултати от средни стойности, стандартна грешка (SD), ранг и минимални-максимални стойности;
- непараметрични тестове като кростабулация и Хи-квадрат (χ^2) при търсене на значими разлики в честотното представяне на категорийни стойности. Статистическа значимост при непараметричните тестове бе приемана при $p \leq 0,05$;
- графично и честотно (таблично) описание и представяне на променливите в извадката. За графичното оформяне на представената информация бе използван *Microsoft Office (Excel)* за *Windows 10*;
- метод на статистическото оценяване – при проверка на хипотезите на изследването, нивото на значимост на нулевата хипотеза бе определяно според установената практика като $\alpha = 0,05$;

Всички анализи в представения научен труд са извършени с помощта на статистически пакет за обработка на информация *IBM SPSS* за *Windows v.25*.

5.2. Вариационен анализ

Стойностите на изследваните непрекъснати и интервални величини са обработени по метода на вариационния анализ. Получените данни са представени като средна аритметична величина и стандартно отклонение за отделните изследвани групи.

Използван е 95% интервал на доверителност. Проведен е *t-тест* по двойки (*Paired T-тест*) и еднофакторен дисперсионен анализ (еднофакторна) *ANOVA (One-Way ANOVA)*.

5.3. Корелационен анализ

Корелационният анализ на *Pierson (r)* бе използван за определяне на зависимости между полуколичествено определените признаци в изследването и определяне на силата на тяхното влияние на основата на тестване на линейни функции за връзки между променливите. Степента на асоциативна зависимост е значителна при $0,5 < r = 0,7$; голяма при $0,7 < r = 0,9$ и изключително голяма при $r > 0,9$. Статистическа значимост беше приемана при $p \leq 0,05$.

5.4. Графичен анализ:

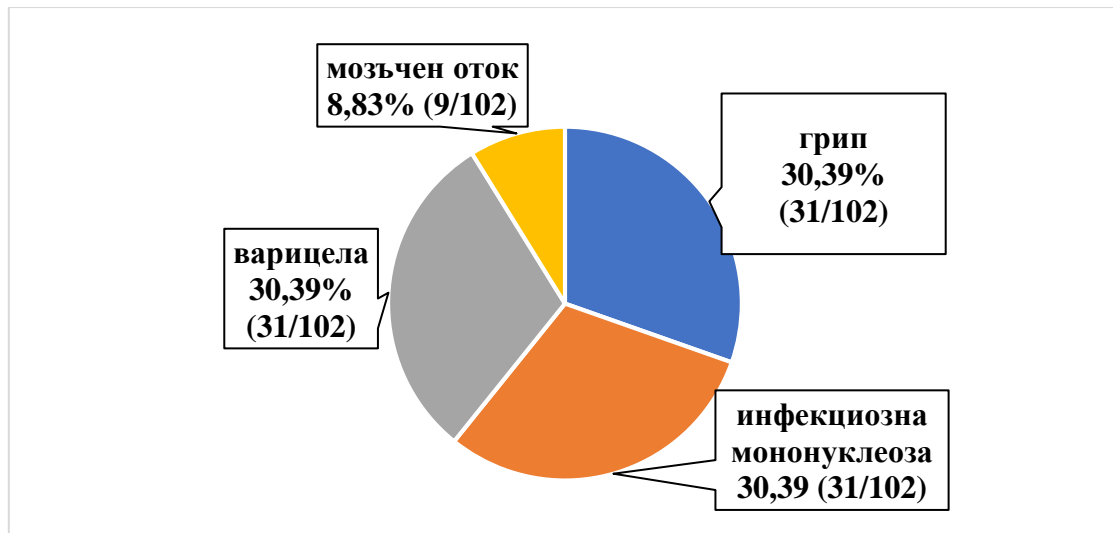
“*ROC*” графичен анализ беше използван за определяне ролята на точността и специфичността на предвидимостта на SAA, ESR, CRP и Leuco спрямо проследените инфекциозни заболявания. Стойността на площта под кривата се движи между 0,5 и 1,0. Пълно разделяне на здравните състояния чрез даден показател да се извърши при резултат над 0,75 или 75%. Статистически значими бяха разликите между групите при $p \leq 0,05$.

V. Резултати и обсъждане:

1. Разпределение на пациентите, включени в проучването според нозологични единици и тежест на протичане:

1.1. Разпределение по нозологични единици

Разпределението на включените в настоящото проучване пациенти, според диагнозата е представено на фиг. 1. Оформиха се четири групи болни: 30,39% (31/102) с грип, 30,39% (31/102) с инфекциозна мононуклеоза, 30,39% (31/102) с варицела и 8,83% (9/102) с мозъчен оток. Диагнозата <мозъчен оток> е синдромна диагноза, която при всички обследвани 9 болни, на по-късен етап, разшифровахме като вирусен менингит или менингоенцефалит. Малкият брой пациенти включени в тази група е резултат от епидемичността на инфекциозните заболявания – за периода, в който е проведено проучването, това са всички хоспитализирани с невроинфекции пациенти, отговарящи на включващите критерии. В бъдеще си поставяме за цел да разширим обхвата на тази група.



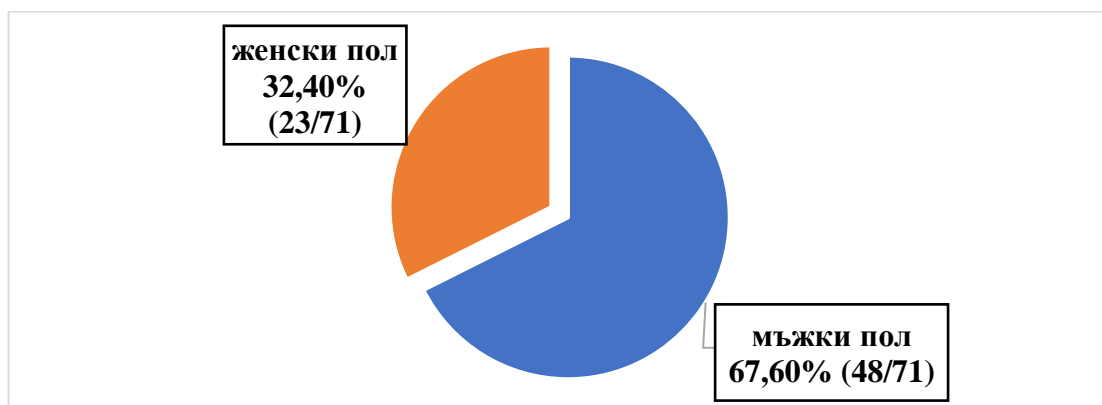
Фиг. 1. Разпределение на обследваните лица по нозологични единици

1.2. Разпределение по тежест на заболяването

За целите на настоящото проучване, обследваните болни разпределихме в две подгрупи – **подгрупа А**, включваща пациенти със средно тежка форма на основното заболяване, протичащо обичайно, без регистрирани усложнения – 69,61% (71/102) и **подгрупа Б** – пациенти, при които са установени компликации от различно естество – 30,39% (31/102). Пациентите с леки клинични форми на заболяванията оставихме на домашно лечение, поради липсата на индикации за хоспитализация. Въз основа на това, те не бяха включени в проучването.

1.2.1. Подгрупа А:

В **подгрупа А**, от всички 71 пациента, мъжете са 67,60% (48/71), а жените са 32,40% (23/71) (фиг. 2). Липсата на еквивалентност по пол отново е вследствие епидемичността на инфекциозните заболявания, а така също и поради ограничения период, в който е проведено проучването.



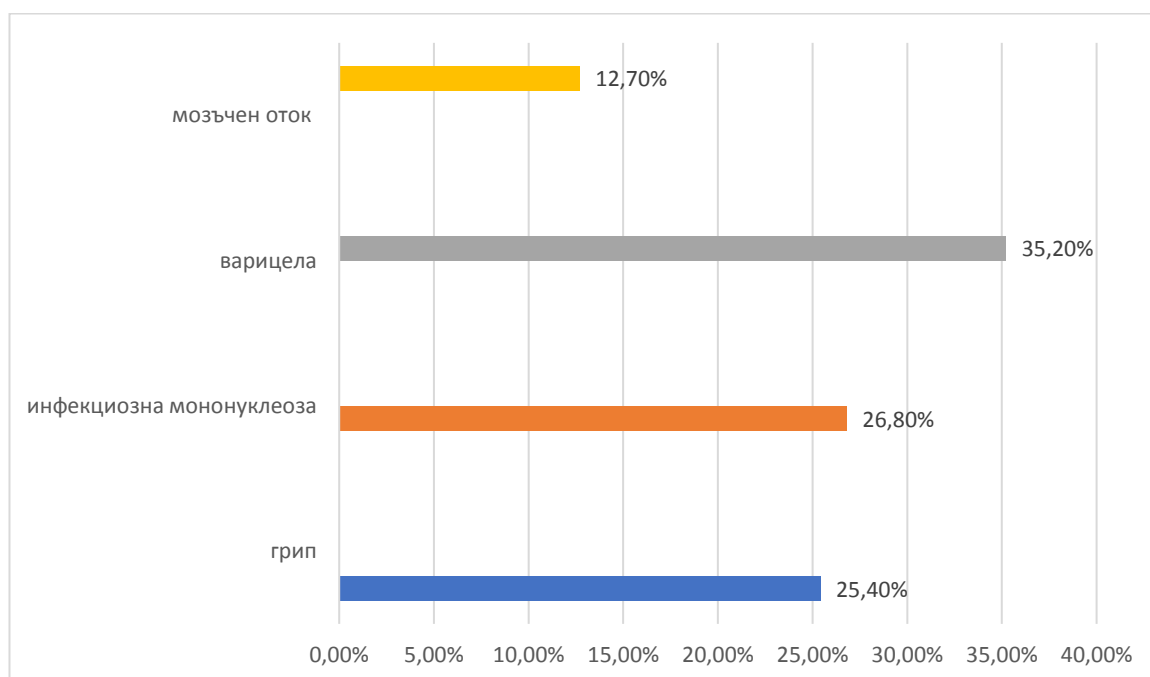
Фиг. 2. Разпределение на пациентите от подгрупа А по пол

Средната възраст на пациентите в тази подгрупа е $14,24 \pm 14,25$ години, като преобладаващата възрастова група е между 1-14 години, следвана от тази между 15-44 години. Най-малък брой пациенти, регистрирахме във възрастта между 45-60 години (табл. 3).

Възраст	Брой	Относителен дял, %
1-14	46	64,79%
15-44	22	30,99%
45-60	3	4,22%

Табл. 3. Разпределение на пациентите по възрастови групи

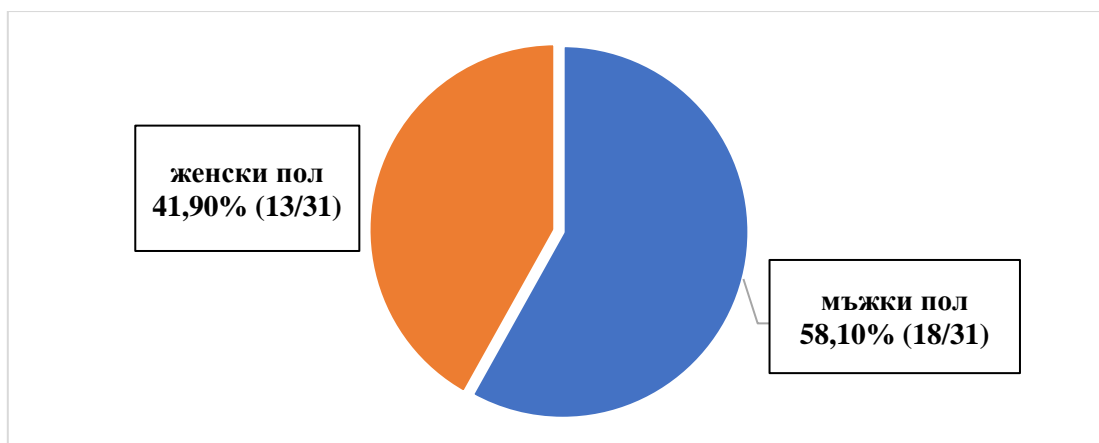
Разпределението по нозологични единици е представено на фиг. 3. Най-голям е процентът пациенти, боледуващи от средно тежка, неусложнена форма на варицела – 35,20% (25/71), следвани от болни с типично протичаща инфекциозна мононуклеоза – 26,80% (19/71). Неусложнени случаи на грип регистрирахме при 25,40% (18/71) пациента, а вирусен менингит/менингоенцефалит, представен клинично с прояви на мозъчен оток – при 12,70% (9/71).



Фиг. 3. Разпределение на пациентите от подгрупа А по нозологични единици

1.2.2. Подгрупа Б:

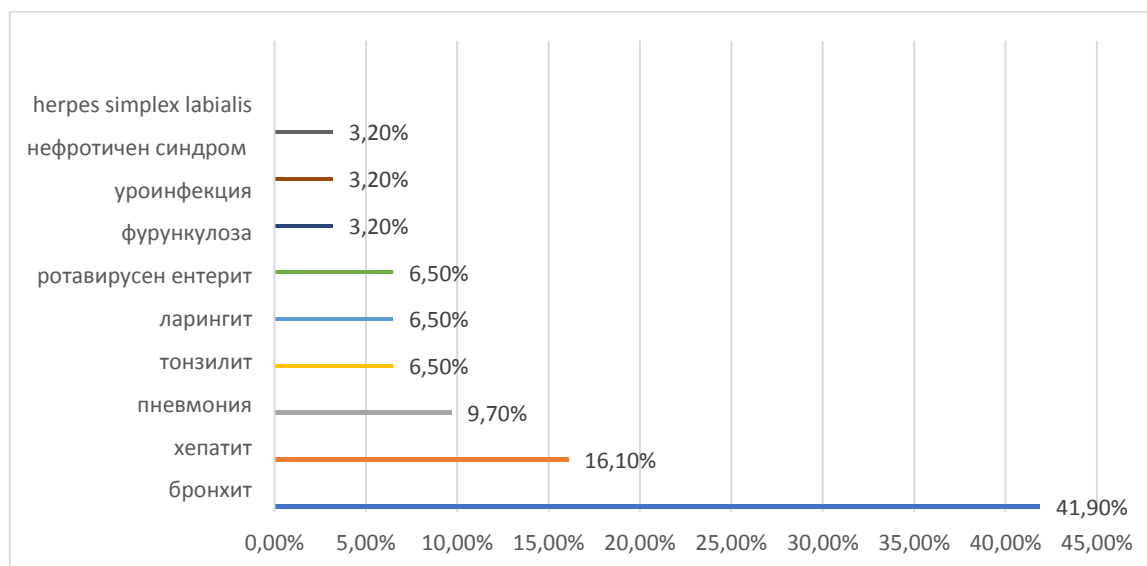
В *подгрупа Б* са включени 31 пациента с остри вирусни инфекциозни заболявания, при които към момента на хоспитализацията са регистрирани усложнения от различно естество, утежняващи в клиничното протичане на основното заболяване. 58,10% (18/31) са от мъжки пол, а 41,90% (13/31) са от женски (фиг. 4).



Фиг. 4. Разпределение на пациентите от подгрупа Б по пол

Средната възраст на наблюдаваните болни е $10,61 \pm 12,30$ години, а разпределението по нозологични единици е както следва: 41,90% (13/31) пациента с грип, 38,70% (12/31) с инфекциозна мононуклеоза и 19,40% (6/31) с варицела. При пациентите с вирусен менингоенцефалит не установихме усложнения в клиничното протичане и заболяването протече благоприятно.

Разпределението на болните според регистрираните усложнения е отразено на фиг. 5. При 41,90% (13/31) регистрирахме остър бронхит като най-честа компликация на острите вирусни инфекциозни заболявания. Второ място по честота заемат случаите, протичащи с полиорганно засягане – ангина+хепатит при 16,10% (5/31) болни с инфекциозна мононуклеоза.



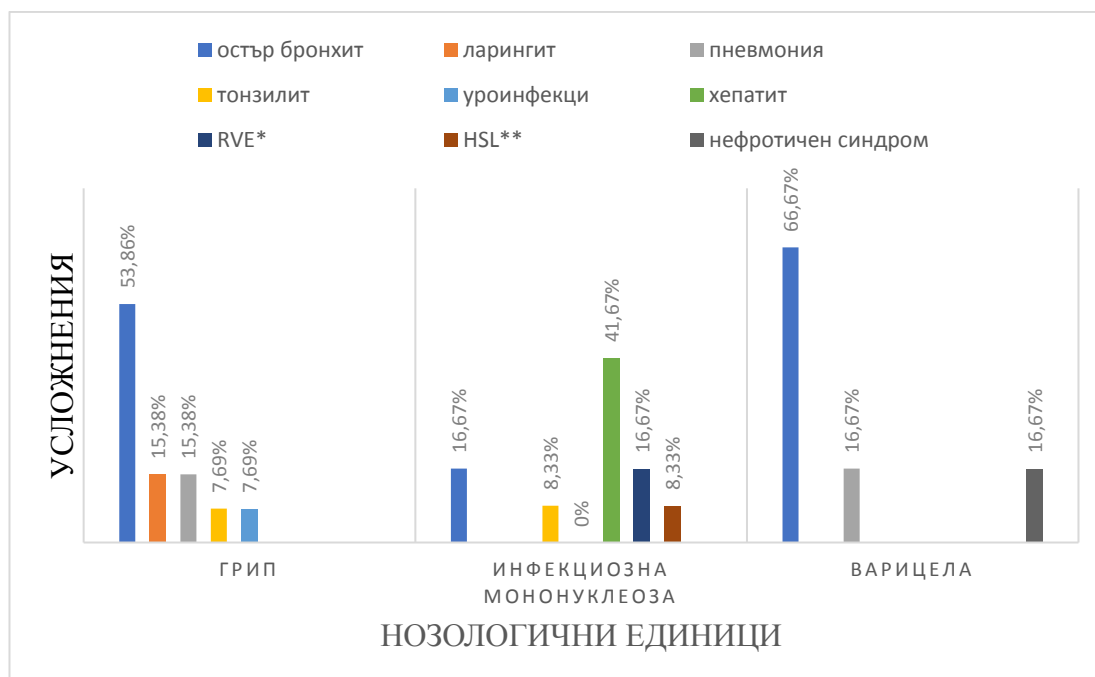
Фиг. 5. Разпределение на пациентите от подгрупа Б според регистрираните усложнения

Сред всички 13 болни с грип, включени в **подгрупа Б**, най-честото регистрирано усложнение беше остър бронхит – при 53,86% (7/13). Следват остър ларингит – 15,38% (2/13) и пневмония – 15,38% (2/13). При 7,69% (1/13) установихме бактериален тонзилит, а при 7,69% (1/13) – уроинфекция.

Сред пациентите с тежка форма на инфекциозна мононуклеоза, допълнително засягане на черния дроб наблюдавахме при 41,67% (5/12) от тях. При 16,67% (2/12) доказахме смесена вирусно-вирусна инфекция с ротавирус, а при 8,33% (1/12) с *herpes simplex* type 1. 16,67% (2/12) бяха с клинични и аускултаторни данни за остър бронхит. Бактериален тонзилит регистрирахме при 8,33% (1/12), а фурункулоза, също при 8,33% (1/12).

Сред пациентите с усложнена варицела, установихме че най-честата причина за утежняване клиничния ход на болестта е острият бронхит – 66,67% (4/6). При 16,67% (1/6) доказахме бактериална пневмония, а нефротичен синдром установихме с честота 16,67% (1/6).

Разпределението на болните от **подгрупа Б** по нозологични единици и регистрирани усложнения/коинфекции е представено на фиг. 6.



Фиг. 6. Разпределение на пациентите от подгрупа Б по нозологични единици и усложнения

***RVE – rotaviral enteritis; **HSL – herpes simplex labialis**

2. Контролна група:

Серумните нива на SAA сред лицата от контролната група са изследвани еднократно, при стандартизирани условия, от квалифициран медицински персонал, с цел избягване на преданалитична грешка. Резултатите са сравнени с получените в подгрупа А и подгрупа Б.

Средните стойности на SAA в контролната група са $3,08 \pm 1,93$ мг/л. Те са съизмерими, с получените резултати в хода на други големи проучвания (табл. 4).

Проучване/зdravi контроли/брой	Средни стойности на SAA, мг/л
Настоящо проучване, n=30	$3,08 \pm 1,93$
d'Eril G et al, n=24	$2,36 \pm 1,28$
Cetinkaya M et al, n=40	$3,2 \pm 3,4$
Esmat S et al, n=15	$4,08 \pm 1,14$

Табл. 4. Средни стойности ($x \pm SD$) на SAA в мг/л при контролната група лица от настоящото проучване и здрави контроли в други проучвания

Сравнителният анализ между средните стойности на SAA сред мъжете и жените от настоящото проучване показва, че полът е демографски показател, който не влияе върху нивата на SAA в серума. Пробите на лицата от мъжки пол, реагираха със средни стойности на SAA от порядъка на $2,95 \pm 1,82$ мг/л, а при жените установихме серумни концентрации, средно $3,21 \pm 1,96$ мг/л. Получените резултати са съизмерими по между си, а разликата е статистически незначима. Средните стойности на SAA при 24 здрави мъже и жени, съответно $2,35$ мг/л и $2,37$ мг/л, представени от d'Eril G и колектив, се доближават в максимална степен с установените в настоящото проучване, като разликите също са несигнификантни.

Използвайки методите на дескриптивния анализ, установихме, че при 90,00% (27/30) от участниците, серумните концентрации на SAA остават под 5 мг/л, а при 10,00% (3/30) те са над 5 мг/л (табл. 5). Минималните стойности достигат 0,4 мг/л, а максималните 9,20 мг/л. Въз основа на това, за горна референтна граница на показателя в нашето проучване, приехме стойност на показателя 10 мг/л.

Пол	Дескриминативен показател	SAA		Общо
		<5 мг/л	>5 мг/л	
Мъже	Брой	13	2	15
	Относителен дял, %	43,3	6,7	50,0
Жени	Брой	14	1	15
	Относителен дял, %	46,7	3,3	50,0
Общо	Брой	27	3	30
	Относителен дял, %	90,0	10,0	100,0

Табл. 5. Серумни нива на SAA при участниците в контролната група

3. Промени в серумните нива на SAA при пациенти от подгрупа А:

При дескриптивен анализ на 71 серумни проби на болни, хоспитализирани в Инфекциозна клиника – Варна, с остри инфекциозни заболявания от вирусен произход, протичащи без усложнения (*подгрупа А*), установихме средна стойност на SAA равна на $195,97 \pm 217,99$ мг/л. Посочените серумни нива надвишават многократно средните стойности на показателя, регистрирани в контролната група – $3,08 \pm 1,93$ мг/л. Непараметричните тестове като кростабулация и χ^2 показаха, че установената разлика е статистически значима, както за цялата група, така и спрямо отделните нозологични единици ($p=0,0001$) (табл. 6). Получените резултати насочват към хипотезата, че серумните концентрации на показателя нарастват сигнификантно дори в случаи на заболявания, протичащи със слаба възпалителна активност, каквито са неусложнените вирусни инфекции.

Важно доказателство за високата чувствителност на SAA в хода на вирусни инфекции е фактът, че при 84,51% (60/71) от нашите болни наблюдавахме завишени стойности, средно $230,00 \pm 218,30$ мг/л. Тези резултати потвърждават гореописаното твърдение, според което SAA е изключително чувствителен острофазов протеин, дори и при инфекции, протичащи със слаба възпалителна активност, каквито са острите вирусни.

При 15,49% (11/71) серумни проби, SAA бе в референтни граници, средно $6,60 \pm 2,54$ мг/л. Този резултат може да бъде обяснен с факта, че посочените пациентите са заболяли 2-3 часа преди пробонабирането. Следователно, промените в SAA следва да се анализират критично и нормалните стойности не бива да се възприемат като негативен прогностичен маркер за остро възпаление от вирусен произход. Това

потвърждава едно от основните правила в медицината, според което ”който добре разпитва, добре диагностицира“.

Подгрупа А n=71, SAA, мг/л	Нозологични единици SAA, мг/л	Контролна група n=30, SAA, мг/л	Ниво на значимост, p
195,97±217,99	Грип n=18 212,45±260,40	3,08±1,93	0,0001
	Инфекциозна мононуклеоза n=19 252,58±216,76		
	Варицела n=25 141,68±160,63		
	Мозъчен оток n=9 194,31±266,69		

Табл. 6. Средни стойности на SAA ($x \pm SD$) при пациентите от подгрупа А (вкл. по нозологични единици), първа серумна проба

От таблица 6 е видно, че показателят е с най-чувствително нарастване при пациентите с инфекциозна мононуклеоза, следвани от болните с грип, невроинфекции и варицела. Следователно бихме могли да приемем, че *influenza*, *varicella – zoster* и *Epstein – Barr* вирусите водят до изразени промени в серумните концентрации на SAA. Вътрегрупови сравнения, извършени чрез корелационен анализ, показаха че разликите в стойностите на SAA между отделните нозологични единици са статистически незначими ($p > 0,01$). Въз основа на това, би могло да се приеме, че показателят не корелира с конкретен етиологичен агент, а единствено насочва към възпаление от вирусен произход.

След хоспитализацията, при всички пациенти от **подгрупа А** е назначено комплексно лечение, според правилата на инфектологията. Емпирична антимикробна терапия е проведена единствено в случаите на невроинфекции, до етапа на етиологично

разшифроване, както и като ”чадър“ при употреба на системни кортикостероиди. Прилагани са препаратите амикацин или цефтриаксон в стандартни дозировки, съответно 10-15 мг/кг дневно и 100-150 мг/кг дневно. Пациентите с грип са лекувани етиологично чрез перорален прием на оселтамивир в доза 2x75 мг на ден за възрастни или 2x2 мг/кг дневно за деца, като терапевтичният курс бе с продължителност 5 дни. При болните с варицела, проведохме 5 дневен курс с ацикловир, в доза 20 мг/кг дневно, разпределена на 4 приема пер ос при деца или 5x800 мг на ден пер ос за възрастни. Патогенетичното лечение включва флуидотерапия с глюкозо-солеви разтвори, в количество равно на дневните нужди + патологичните загуби, а при пациентите с вирусен менингит/менингоенцефалит, проведохме рехидратиращо – дехидратираща терапия, като освен дексаметазон (4x0,16 мг/кг за 5 дни), бе използван и разтвор на манитол (10-15 мг/кг дневно, в 3-4 приема за 5 дни). Прилагани са още антипиретици като парацетамол, метамизол, локални антисептици и витамини.

При всички болни от *подгрупа А*, средно $4,73 \pm 1,33$ дни след хоспитализацията, паралелно с овладяването на острата симптоматика и навлизането в периода на ранна реконвалесценция, проведохме повторно изследване на SAA. Статистическата обработка на резултатите показва значително понижаване в серумните концентрации на изследвания показател (от $195,97 \pm 217,99$ мг/л до $33,88 \pm 120,51$ мг/л при втора проба), като разликата е статистически значима ($p=0,0001$). На табл. 7 са изложени сравнения между стойностите на показателя при проучените пациенти.

Подгрупа А	Средни стойности, мг/л	Брой пациенти, n	Стнд. откл.	Стнд. грешка	Ниво на значимост, p
SAA – първа проба	195,97	71	217,98	25,87	0,0001
SAA – втора проба	33,88	71	120,51	14,30	

Табл. 7. Сравнение между средни стойности на SAA ($x \pm SD$) от първа и втора проба при пациентите от подгрупа А

Въз основа на получените резултати, представени в табл. 7, би могло да се приеме, че SAA е важен за клиничната практика лабораторен маркер, който в условия на динамично изследване, корелира с ефективността от проведеното лечение и отчита началото на оздравителните процеси при пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания, протичащи без усложнения. Това е свързано от една страна с възможност

за ранна прогноза по отношение изхода от заболяването, а от друга, с оптимизиране продължителността и вида на провежданата медикаментозна терапия.

При 64,79% (46/71) от обследваните пациенти, резултатите от втората проба достигнаха референтни граници, средно $4,59 \pm 3,27$ мг/л, съизмерими с концентрациите на SAA при лицата от контролната група. Подобна динамика предоставя максимална информативност по отношение стадия, в който се намира заболяването.

При 35,21% (25/71) от нашите болни, показателят остана извън референтни граници. Средните стойности са $87,81 \pm 190,16$ мг/л, многократно надвишаващи средните стойности в контролната група. Причината вероятно е свързана с факта, че при посочените болни, най-вече онези от тях с диагноза грип, към момента на повторното пробонабиране, не бе регистрирана пълна реконвалесценция и те съобщаваха за оплаквания като фебрилитет, мускулно-ставни болки, главоболие или кашлица. При един пациент с инфлуенца тип А, наблюдавахме нарастване на SAA във втората серумна проба до стойности $982,70$ мг/л, което отново показва, че грипният вирус е мощен индуктор на острофазов отговор. Посочените резултати насочват към хипотезата, че случаите, при които SAA остава завишен или показва тенденция към нарастване, се асоциират с по-дълъг болничен престой, вследствие непълно оздравяване. Тук е налице необходимостта от продължаване на провеждания терапевтичен план, отлагане на дехоспитализацията и ново изследване на показателя след около 4 дни.

На табл. 8 са посочени стойностите на SAA по нозологични единици при пациентите от *подгрупа А*, втора серумна проба. Резултатите отчитат най-чувствителен спад (сравнено с първа проба) в групата на пациентите с невроинфекции, където след средно $3,79 \pm 1,54$ дни, показателят достига горна референтна граница. При болните с инфекциозна мононуклеоза и варицела, SAA е значително по-нисък, в сравнение с изходните нива, но остава над средните стойности, получени сред здравите контроли. Най-слабо е повлияването сред пациентите с грип – SAA е спаднал средно 2,5-3,0 пъти при повторното изследване, което потвърждава горепосоченото твърдение, че *influenza virus* притежава значителен проинфламаторен потенциал и отключва тежък инфекциозен процес, ограничаването на който изисква по-дълъг период от време. На този фон обаче, тенденцията към понижаване на SAA се свързва с ограничавашата се в хода на лечението цитокинова буря – патогенетичен момент, който е в основата на своевременно стартирания, но все още непълно развит оздравителен процес. В тези

случаи, би могло да се предположи, че изходът от заболяването би бил благоприятен, без последващо развитие на усложнения.

Заболяване	SAA±SD, мг/л
Грип	74,22±223,23
Инфекциозна мононуклеоза	24,04±35,94
Варицела	20,61±46,10
Мозъчен оток	10,88±13,55

Табл. 8. Средни стойности на SAA ($x \pm SD$) при пациентите от подгрупа А, по нозологични единици, втора серумна проба

За да докажем твърдението, че SAA би могъл да се използва в практиката като маркер за ефективност от проведеното лечение и съответно като индикатор за отчитане периода на ранна реконвалесценция, сравнихме регистрираните стойности от първа и втора проба при пациентите от *подгрупа А*, чрез *paired t-test* (табл. 9). Установихме средна разлика между двете проби 162,08±179,46 мг/л, (при стандартна грешка от 21,30), която в рамките на 95% интервал на доверителност (между 119,60 и 204,56) е с ниво на значимост $p=0,0001$, тоест статистически значима. Резултатите потвърждават, че понижаването в серумните нива на SAA при втора проба, корелира с клиничното подобрене на пациента и със съответна терапевтична успеваемост от приложеното лечение. Следователно показателят би бил от голяма полза в клиничната практика. Динамичното му изследване позволява адекватна оценка по отношение етапа от развитието на съответния инфекциозен процес при болните с вирусни инфекциозни заболявания, протичащи без усложнения.

Подгрупа А	Подвойкови разлики					t	df	Ниво на значимост, p
	Средна разлика	Стнд. откл.	Стнд. грешка	95% интервал на доверие				
				долен	горен			
SAA първа – втора проба	162,08	179,46	21,29	119,60	204,56	7,61	70	0,0001

Табл. 9. Сравнение между първа и втора проба при пациенти от подгрупа А, чрез *paired t-test*

4. Промени в серумните нива на SAA при пациенти от подгрупа Б:

Използвайки методите на дескриптивната статистика и вариационния анализ, проучихме дали SAA има отношение към лабораторната диагностика на тежките и усложнени случаи на вирусни инфекциозни заболявания. В *подгрупа Б* обследвахме 31

пациента, отговарящи на посочените в раздела материал и методи включващи критерии (табл. 1). Всички регистрирани компликации са ранни, развили се не по-късно от 48 часа след началото на заболяването. По отношение на проведеното лечение до деня на срещата с главния изследовател, болните са приемали единствено антипиретици. Изключени са всички онези лица, лекувани предварително с противовирусни или антибактериални средства, независимо от продължителността на терапевтичния процес. Отчетени са случаите с всякакъв тип усложнения, включително смесени вирусно-вирусни инфекции (фиг. 5).

На табл. 10 са посочени резултатите от средни стойности, стандартна грешка, минимални и максимални стойности за SAA от първата серумна проба, взета при постъпването на пациентите в клиниката.

Показател / Група	Брой пациенти, n	Мин. ст-ти	Макс. ст-ти	Средни ст-ти	Стнд. откл.	Ниво на значимост, p
Подгрупа Б SAA, мг/л	31	2,10	663,20	158,97	212,68	0,0001
Контролна група SAA, мг/л	30	0,4	9,20	3,08	1,93	

Табл. 10. Средни стойности на SAA ($x \pm SD$) при пациентите от подгрупа Б и при здрави контроли, първа проба

От таблицата 10 е видно, че средната стойност на SAA от първа серумна проба при пациенти от **подгрупа Б** възлиза на $158,98 \pm 212,69$ мг/л. В сравнение с контролната група, където нивата му достигат $3,08 \pm 1,93$ мг/л, разликата е статистически значима ($p=0,0001$), което потвърждава факта, че SAA има място в лабораторната диагностика на тежките и усложнени случаи на остри вирусни инфекциозни заболявания.

Сред пациентите от **подгрупа Б**, дескриптивният анализ на резултатите от първата серумна проба посочва, че SAA е абнормно завишен при 90,32% (28/31). Средните стойности достигат $175,40 \pm 213,73$ мг/л, като те са с близо 98 пъти по-високи от регистрираните в контролната група. Наблюдава се значителна реактивност на показателя в тези случаи, което корелира с твърдението, че SAA служи като дискриминативен показател в случаи на тежки инфекции с усложнено протичане. При 9,68% (3/31) болни, SAA е в референтни граници, средно $5,67 \pm 2,58$ мг/л. В хода на

детайлно проучване установихме, че посочените лица са заболели в рамките на последните 6-7 часа. Касае се за пациенти с грип, инфекциозна мононуклеоза и варицела, които при постъпването в Инфекциозна клиника – гр. Варна се представят с клинични данни за съответно остър катарален тонзилит, лекостепенна хепатоцитоза (АлАТ=78 МЕ) и нефротичен синдром. Вероятно краткият период на вирусна експозиция, свързан с първа развиващия се острофазов отговор, е причина за нормалните стойности на SAA в тези случаи.

Според нашите данни, най-често регистрираните компликации сред пациентите от *подгрупа Б* са от страна на дихателната система – 64,52% (20/31). Наблюдавахме остър бронхит при 65,00% (13/31), рентгенографски доказана инфилтративна пневмония при 15,00% (3/31), остър ларингит при 10,00% (2/31) и остър катарален тонзилит, етиологично разшифрован като стрептококов при 10,00% (2/31). Лабораторният анализ на кръвните проби показва висока чувствителност на SAA към такъв тип усложнения. Серумните му концентрации нарастват близо 100 пъти над нормата и достигат средни стойности $115,34 \pm 185,85$ мг/л. В сравнение с контролната група, разликата е статистически значима, което показва, че показателят има отношение в диагностиката на острите вирусни инфекциозни заболявания, протичащи с усложнения от страна на дихателната система.

По-горе се изтъкна, че грипните вируси са най-значими индуктори на острофазов отговор, отчитан с нарастване серумните концентрации на SAA. Що се отнася до тежките, усложнени случаи на грип, SAA достигна максимални стойности от 655,90 мг/л, при мъж на 44 години, с рентгенографски доказан инфилтрат в дясна белодробна основа. Базирайки се на това считаме, че SAA намира място в клиничната практика като лабораторен маркер, отчитащ тежките случаи на грипна инфекция, протичащи с компликации от страна на дихателната система. Интерес представлява фактът, според който средните серумни нива на показателя сред пациентите от *подгрупа Б*, страдащи от остри вирусни инфекции, усложнени с пневмония достигнаха $260,6 \pm 281,27$ мг/л, докато при болните с остър бронхит, те бяха една $59,21 \pm 45,39$ мг/л. Разликата е статистически значима ($p=0,0001$), въз основа на което, би могло да се приеме, че SAA може да служи като лабораторен показател, подпомагащ диференциалната диагноза между остър бронхит и пневмония, при болни от грип и прояви на ”влажна“ кашлица и слuzно-гнойна експекторация.

Литературните данни за преимуществена хепатална секреция на SAA, предполагат високи серумни концентрации на показателя, в случаи на остра чернодробна увреда. Представените от нас данни са в противовес на подобно твърдение. Резултатите от дескриптивния анализ на серумни проби от пациенти с мононуклеозен хепатит, отчитат средни стойности на SAA равни на $56,26 \pm 39,67$ мг/л. При анализ на международната медицинска периодика, към момента на изготвяне на настоящия дисертационен труд, не открихме проучвания, касаещи динамиката в стойностите на SAA при пациенти с инфекциозна мононуклеоза, протичаща и с чернодробно засягане.

В случаите на бактериален тонзилит, фурункулоза, инфекции на пикочните пътища, както и сред болните с вирусно-вирусни асоциации, установихме сигнификантно по-високи нива на SAA, в сравнение с контролната група, както и в сравнение с неусложнените случаи от подгрупа А ($p=0,0001$). Средните стойности на показателя са равни на $467,62 \pm 115,48$ мг/л, многократно над горна референтна граница. Високата серумна концентрация тук е резултат от масивния острофазов отговор, който възниква под едновременното влияние на два различни микробни щама, в условия на ко- или суперинфекция. Следователно, стойностите на SAA корелират с тежестта на инфекцията и високите серумни концентрации (над 200 мг/л) налагат насочен клиничен преглед и провеждане на допълнителни лабораторни и/или инструментални изследвания за откриване на усложнения, предимно случаи на смесени инфекции.

При всички обследвани пациенти от *подгрупа Б*, своевременно след диагностициране и хоспитализация, проведохме комплексно лечение с етиологични, патогенетични и симптоматични средства. Назначен бе диетичен режим в зависимост от основното заболяване, както и в съответствие с наличните усложнения. При болните с грип и варицела, освен терапия с оселтамивир/ацикловир в стандартни дозировки и продължителност (виж по-горе), приложихме интравенозно антибактериален препарат – амоксиклав в доза 3×25 мг/кг дневно като емпирична терапия, в случаите с клинични или инструментални данни за бронхит, тонзилит, пневмония или уроинфекция. Препарат от групата на цефалоспорините – цефуроксим, в доза 80-100 мг/кг дневно използвахме при пациентите с инфекциозна мононуклеоза, протичаща като ангинозна форма, при която се подозира насложена вторична бактериална инфекция, с вероятна кокова (стрепто- или стафилококова) етиология. Кортикостероиди – метилпреднизолон, в начална дозировка 1 мг/кг дневно и постепенно титриране на дозата за около 4-5 дни, приложени парентерално, назначихме в случаите на инфекциозна мононуклеоза, при

които бе наблюдавано силно увеличение на лимфните възли (над 2 см в диаметър) и хипертрофия на тонзилите ("целуващи" се тонзили), изразен перинодуларен оток с нарушение на дишането и развиващ се инспираторен стридор, поражение на вътрешните органи – предимно черен дроб, независимо от тежестта на хепатоцитолізата, както и при всички останали случаи (с изключение на болните от варицела, където употребата на кортикостероиди е противопоказана), при които бяха налице токсични прояви – хиперпирексия, отпадналост, безапетитие, синдром на бронхообструкция и ларингит.

При всички болни, през първите 48 часа от болничния престой проведехме интравенозна флуидотерапия с глюкозо-солеви разтвори, в количество равно на дневните нужди + патологичните загуби. Към общия терапевтичен план, при съответна необходимост добавихме муколитици, инхалации с вентолин или натриев бикарбонат, витамин С, ментолова пудра.

Основно място в лечението на болните с инфекциозна моноклеоза усложнена с развитие на остър хепатит, заемаха хепатопротективните средства. Използвахме силимарин в доза 5 мг/кг на ден, разделена на 3 приема (максимална дневна доза 3x90 мг), както и адеметионин – дневна доза 2x5 мг/кг, максимално 2x500 мг. В тези случаи, бяха назначени още постелен режим и млечно-въглехидратна диета.

Серумният амилоид А протеин, би могъл да се прилага в клиничната практика като лабораторен маркер, отчитащ ефект от проведеното лечение сред пациентите с тежко протичащи остри вирусни инфекциозни заболявания, при които се регистрират усложнения от различен характер. За да докажем това твърдение, при всички болни от *подгрупа Б*, средно $4,73 \pm 1,33$ дни след хоспитализацията, изследвахме повторно серумните нива на SAA. След статистическа обработка на получените резултати, установихме значителен спад в концентрациите му, които намаляват приблизително 9 пъти, в сравнение с първата проба. Получените средни стойности са равни на $19,43 \pm 37,45$ мг/л, при стандартна грешка 6,73. В сравнение с контролната група, разликата е статистически значима ($p=0,020$).

Сравнения между регистрираните стойности на SAA от първа и втора проба сред пациентите от подгрупа Б, са представени на табл. 11.

Подгрупа Б	Средни стойности, мг/л	Брой пациенти, n	Стнд. откл.	Стнд. грешка	Ниво на значимост, p
SAA – първа проба	158,97	31	212,68	38,19	0,020
SAA – втора проба	19,43	31	37,45	6,72	

Табл. 11. Сравнение между средна стойност на SAA ($x \pm SD$) от първа и втора проба, сред пациентите от подгрупа Б

Paired t-test бе използван за паралелно сравнение между установените средни серумни концентрации на SAA от първа и втора проба, сред пациентите от подгрупа Б. Целта на подобно изследване, бе да проучим дали разликите в измерванията са статистически значими и съответно да докажем основният извод, според който SAA е лабораторен маркер, който корелира максимално добре с ефективност от проведеното лечение при болни с усложнено протичане на остри вирусни инфекции.

Анализът изчисли разликите между средните стойности на SAA от първа и втора проба и тества дали те се различават от 0, тоест дали има разлика при сравнението или не и дали тази разлика е статистически значима (приемана при $p \leq 0,05$). Използван е 95% интервал на доверителност. Резултатите са представени на табл. 12.

Подгрупа Б	Подвойкови разлики					t	df	Ниво на значимост, p
	Средна разлика	Стнд. откл.	Стнд. грешка	95% интервал на доверие				
				долен	горен			
SAA (първа - втора проба)	139,55	187,98	33,76	70,59	208,50	4,13	30	0,020

Табл. 12. Разлика в измерванията между стойностите на SAA от първа и втора проба, при пациенти от подгрупа Б, сравнени чрез *paired t-test*

Видно е, че при средна разлика между първа и втора проба на SAA при пациенти с усложнено протичане на грип, инфекциозна мононуклеоза и варицела, равна на $139,55 \pm 187,98$ мг/л, нивото на значимост попада под 0,05, което означава, че в съответствие с 95% интервал на доверителност, установената разлика е статистически значима и потвърждава твърдението, че SAA е лабораторен показател, отразяващ тежест на протичане и ефект от лечение при усложнени остри вирусни инфекциозни заболявания.

Дескриптивният анализ на втората серумна проба, установи, че SAA е в референтни граници при 61,19% (19/31) от обследваните лица. На табл. 13 са представени резултатите от средните (минимални и максимални) стойности и стандартно отклонение.

Подгрупа Б, втора проба	Средно артм.	Стнд. откл.	Мин. ст-ти	Макс. ст-ти
SAA, мг/л	3,12	1,85	1,70	10,00

Табл. 13. Средни стойности, стандартно отклонение ($x \pm SD$), минимални и максимални серумни концентрации на SAA сред пациенти от подгрупа Б, при които показателят е в референтни граници

Видно е, че при повече от 50% от пациентите, на фона на проведеното лечение, показателят спада до нормални стойности, които са съизмерими с нивата му сред лицата от контролната група – $3,08 \pm 1,93$ мг/л. Клиничният преглед на тези пациенти, осъществен към деня на пробонабирането, отчита начална, но все още непълна реконвалесценция – болните са трайно афебрилни, но съответно с катарални прояви, хепатоцитолита, нестабилна дефекация или дизурични смущения. Отчетеното подобрене в клиничното състояние и нормалните серумни концентрации на SAA (които отразяват стихнал острофазов отговор), ни дадоха основание да преустановим терапевтичния план и да дехоспитализираме пациентите. При катамнестичното проследяване, извършено на 7- и 14-ти ден, липсваха анамнестични данни за каквито и да било отклонения от нормалното здравословно състояние на обследваните лица. Бихме могли да приемем, че бързото спадане в серумните концентрации на SAA, дори и при тежко болни, корелира с ефективност от проведеното лечение, благоприятен изход от заболяването и съответно по-кратки терапевтични курсове и болничен престой. Последните две характеристики, са свързани с понижаване на финансовите разходи за болнично лечение на пациентите, а също така и с оптимизиране продължителността на антибиотичната терапия, с основна цел – профилактика на бактериалната резистентност.

Останалите 38,71% (12/31) серумни проби на пациенти от **подгрупа Б**, при повторното изследване, реагираха с абнормни стойности на SAA, вариращи между 10,7 мг/л и 179,6 мг/л, средно $45,24 \pm 49,14$ мг/л. Тези резултати надвишават неколккратно средните стойности в контролната група, но същевременно са близо 3 пъти по-ниски, в сравнение с първа проба. Не бяха отчетени случаи, при които SAA нараства спрямо

резултатите от първоначалното изследване. Причината за абнормните концентрации на SAA в тези случаи е свързана с факта, че към деня на повторното пробонабиране, липсваше значимо подобрене в общото състояние на болните. Те съобщаваха за фебрилитет, безапетитие, кашлица, експекторация. Физикалният преглед установи персистираща белодробна находка в случаите на остър бронхит и пневмония, задържащ се диаричен синдром при пациентите със смесена инфекция – инфекциозна мононуклеоза и ротавирусен ентерит, както и нарастваща хепатоцитоза при болните с мононуклеозен хепатит. Следователно, като най-чувствителен маркер за остро възпаление, SAA служи и за преценка на ефективността от проведеното лечение. Същевременно, корелира максимално добре с необходимостта от продължаване на терапевтичния процес и удължаване на болничния престой в ситуации, при които клиничното подобрене на болния, настъпва на по-късен етап. Обратната динамика в стойностите му обаче, насочва към вероятно благоприятен изход от заболяването, вследствие адекватен подбор на терапевтичния план. Въпреки персистиращата клинична симптоматика, в тези случаи не се налага смяна на етиологичното (антибиотичното) лечение, а единствено неговото удължаване, както и повторно изследване на SAA, средно 4 дни по-късно. Периодът на хоспитализация при посочените 12 болни, удължихме с около 5 дни, в сравнение с пациентите, при които SAA бе в референтни граници от втората серумна проба, без промяна в лечението. При дехоспитализацията, всички бяха афебрилни, а по време на контролния преглед след седмица, липсваха както анамнестични оплаквания, така и отклонения в обективния статус.

5. Сравнителен анализ между SAA и други лабораторни маркери за остро възпаление – левкоцитен брой, СУЕ, CRP, сред пациенти от подгрупа А и подгрупа Б:

За решаване на втората от научно-изследователските задачи проведохме сравнителен анализ между SAA при болни с вирусни инфекциозни заболявания и някои от рутинно назначаваните към момента лабораторни маркери за остро възпаление като левкоцити, СУЕ и CRP. За целта, при всички 102 болни (включени в подгрупа А и в подгрупа Б) изследвахме двукратно общ брой на левкоцити, стойност на СУЕ и серумна концентрация на CRP. Получените резултати сравнихме със SAA, а данните обработихме чрез дескриптивни и аналитични методи.

На табл. 14 са посочени резултатите от средни стойности, стандартна грешка, минимални и максимални стойности на левкоцити, СУЕ и CRP, установени след

лабораторно изследване на първата кръвна проба, взета при хоспитализацията на пациентите, включени в *подгрупа А*.

Подгрупа А, I проба				Ниво на значимост, p
Показател	Левкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	СУЕ, мм/ч	CRP, мг/л	0,0001
	8,35 \pm 4,55	35,16 \pm 24,39	29,71 \pm 38,75	
SAA, мг/л	195,97 \pm 217,99			

Табл. 14. Сравнителен анализ между стойностите на SAA и левкоцити, СУЕ, CRP при болни от подгрупа А, първа проба

От табл. 14 е видно, че средните стойности на показателите левкоцити и СУЕ, съответно $8,35\pm 4,55 \times 10^9/\text{л}$ и $35,17\pm 24,40$ мм/ч, при пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания, протичащи без усложнение, остават в референтни граници. При сравнение със SAA, чиито серумни концентрации в този случай нарастват близо 20 пъти над референтните ($195,97\pm 217,99$ мг/л) и над установените в контролната група ($3,08\pm 1,93$ мг/л), разликата е статистически значима ($p=0,0001$). Следователно можем да приемем, че левкоцитният брой и СУЕ не превъзхождат SAA като маркер за възпаление от вирусен произход. Изследването на SAA в подобни ситуации е от особена полза за клиничната практика, предвид значително по-високата му чувствителност към възпалителни процеси, протичащи с по-ниска инфламаторна активност, каквито са заболяванията с вирусна етиология.

Резултатите от анализа на първата серумна проба посочват още, че средните концентрации на CRP при пациентите без усложнения достигат $29,71\pm 38,75$ мг/л. Показателят е нарастнал близо 5 пъти над горна граница, но същевременно остава около 6 пъти по-нисък от SAA, чиито средни стойности възлизат на $195,97\pm 217,99$ мг/л. Това показва, че SAA е значително по-чувствителен острофазов протеин. Серумните му концентрации варират между 0,80-1041,00 мг/л, при стойности на CRP между 0,25-208,19 мг/л. Разликата е статистически значима ($p=0,0001$) и насочва към твърдението, че комплексният анализ на SAA и CRP при всеки конкретен пациент, дава максимално добра информация по отношение на вероятния етиологичен агент.

Важно е да се отбележи, че при 14,08% (10/71) от пациентите включени в *подгрупа А*, наблюдавахме завишени стойности на SAA, при нормални серумни

концентрации на CRP (табл. 15). Подобна динамика, отчита по-високата чувствителност на SAA в диагностиката на вирусните инфекции над CRP, въпреки че установената от нас разлика, в този случай не е статистически значима. От всички изследвани серумни проби, 71,83% (51/71) реагираха с абнормно завишени нива едновременно на SAA и CRP, което корелира с литературните данни, според които CRP би могъл да нарастне дори до 100 мг/л в случаи на грип или други неусложнени вирусни инфекции, затруднявайки значително диференциалната диагноза с някои бактериално-обусловени заболявания. В тази ситуация обаче, съотношението SAA/CRP остава сравнително високо (концентрациите на SAA нерядко достигат 900-1000 мг/л), предполагайки с голяма вероятност и то в рамките на първите 24 часа от срещата с пациента, вирусна генеза на заболяването.

Подгрупа А	SAA \geq 10 мг/л	SAA<10 мг/л
CRP \geq 5 мг/л	51 (71,83%)	1 (1,41%)
CRP<5 мг/л	10 (14,08%)	9 (12,68%)

Табл. 15. Сравнителен анализ между промените в SAA и CRP при пациенти от подгрупа А, първа серумна проба

Дескриптивният анализ на получените от нас резултати върху серумните проби, които реагираха със завишени концентрации едновременно на SAA и CRP, отчете средни стойности на SAA, сигнификантно по-високи ($p=0,0001$), над средните за CRP, съответно $262,12\pm 221,28$ мг/л срещу $40,22\pm 40,81$ мг/л, а съотношението SAA/CRP в този случай е равно на 6,52 (табл. 15). Следователно, изследването на SAA в комбинация с CRP, би могло да се използва в клиничната практика за потвърждаване на възпаление от вирусен произход, в случаите когато CRP също нараства, затруднявайки диференциално-диагностичния процес.

При втората серумна проба на пациентите от *подгрупа А*, не установихме съществени изменения в нивата на СУЕ и общ брой левкоцити, спрямо регистрираните стойности при първият етап от пробонабирането. Средните им стойности, отново бяха в референтни граници, съответно $27,13\pm 18,35$ мм/ч и $6,80\pm 2,45 \times 10^9$ /л. Що се отнася до CRP, динамиката в серумните му концентрации следваше тази на SAA, като и двата показателя спаднаха средно 5 пъти в сравнение с първата серумна проба, достигайки

средни стойности, съответно $6,77 \pm 22,67$ мг/л за CRP срещу $33,89 \pm 120,51$ мг/л за SAA (табл. 16).

Подгрупа А	Мин. ст-ти	Макс. ст-ти	Средни ст-ти	Стнд. откл.
Левкоцити, x10 ⁹ /л	2,53	13,93	6,79	2,44
СУЕ, мм/ч	2,00	120,00	27,12	18,34
CRP, мг/л	0,04	185,63	6,77	22,67

Табл. 16. Средни стойности, стандартно отклонение, минимални и максимални стойности на левкоцити, СУЕ и CRP при болни от подгрупа А, втора проба

При сравнителен анализ на резултатите от втората серумна проба на пациенти от *подгрупа А* установихме, че CRP е в референтни граници при 80,28% (57/71) от изследваните лица. Средните му стойности са $1,94 \pm 1,93$ мг/л. Същевременно, при 21,13% (15/71) от тях SAA остана завишен, средно $32,63 \pm 35,13$ мг/л. Всички те, към деня на пробонабирането бяха клинично подобрени, но все още съобщаваха за оплаквания от различно естество, насочващи към непълна реконвалесценция. Този факт, потвърждава по-високата чувствителност и специфичност на SAA над CRP по отношение активността на острофазовия отговор. Винаги, когато SAA е извън референтни граници, следва да се има предвид, че инфекциозния процес все още не е стихнал изцяло. Това изисква удължаване на терапевтичния процес и последващ лабораторен контрол, след минимум 72 часа.

Сравнението между резултатите от първа и втора проба при пациентите от *подгрупа А*, извършено чрез *paired t-test*, показва, че разликите в стойностите са статистически значими единствено за SAA и CRP. Статистически незначими се оказаха разликите между първа и втора проба за СУЕ и общ брой левкоцити (табл. 17). Следователно, както SAA така и CRP са индикатори за клинично подобрение и положителен ефект от проведеното лечение при пациенти с неусложнено протичащи остри вирусни инфекции, в случаите когато предварително и за двата показателя са регистрирани абнормни стойности. Ранната обратна динамика в серумните концентрации, маркира началото на оздравителните процеси и позволява адекватна прогноза по отношение изходът от заболяването.

Подгрупа А	Подвойкови разлики					t	df	Ниво на значимост, p
	Средна разлика	Стнд. откл.	Стнд. грешка	95% интервал на доверие				
				Долен	Горен			
SAA първа – втора проба	162,08	179,46	21,29	119,60	204,56	7,61	70	0,0001
СУЕ първа – втора проба	8,04	18,71	2,22	3,61	12,47	3,62	70	0,001
CRP първа – втора проба	22,93	41,16	4,88	13,19	32,68	4,69	70	0,0001
Левкоцити първа – втора проба	1,55	4,11	0,48	0,58	2,52	3,18	70	0,002

Табл. 17. Сравнение между първа и втора проба при пациенти от подгрупа А, чрез paired t-test

Известен факт е, че както SAA, така CRP, левкоцити и СУЕ, нарастват значително в хода на тежки инфекции, особено в случаите, когато етиологичният агент е от бактериален произход. Според съвременни автори обаче, SAA е сигнификантно по-чувствителен лабораторен показател, отчитащ както тежестта на протичане, така и ефекта от приложеното лечение, особено при лица с бактериални инфекции на урогениталния тракт, белия дроб или кожата. Въз основа на тези литературни данни, проучихме какви промени настъпват в стойностите на CRP, левкоцити и СУЕ сред пациенти с усложнено протичащи остри вирусни инфекции. Получените резултати сравнихме с регистрираните за SAA, следвайки основната цел на настоящия дисертационен труд, свързана с въвеждането на SAA в практика на инфекциониста, като показател, корелиращ в най-висока степен с диагнозата и клиничния ход на острите вирусни инфекциозни заболявания.

При всички пациенти, включени в **подгрупа Б**, изследвахме двукратно CRP, СУЕ и общ брой левкоцити – веднъж към момента на хоспитализацията и средно $4,73 \pm 1,33$ дни по-късно. Получените резултати обработихме чрез методите на дескриптивния анализ. От табл. 18 е видно, че средните стойности на СУЕ и левкоцити достигат

съответно $38,39 \pm 24,53$ мг/л и $9,73 \pm 4,42 \times 10^9$ /л, без да надвишават горната референтна граница. Максималните стойности на СУЕ достигнаха 98,00 мм/ч, при пациент с инфекциозна мононуклеоза, развил кожна фурункулоза в първите 24 часа от началото на заболяването. Абнормно завишени стойности, регистрирахме в 45,16% (14/31), а при 54,84% (17/31) СУЕ остана в референтни граници. Подобни промени наблюдавахме и по отношение на левкоцитния брой. Максималните стойности достигнаха $19,40 \times 10^9$ /л при пациент с варицела и нефротичен синдром, а в 74,19% (23/31) общият брой левкоцити не надвишаваше горна референтна граница. Поради това считаме, че СУЕ и левкоцити, нямат отношение към ранната диагностика на острите вирусни инфекции, протичащи с усложнения от различно естество.

Подгрупа Б, I проба				Ниво на значимост, p
Показател	Левкоцити, $\times 10^9$ /л	СУЕ, мм/ч	CRP, мг/л	0,0001
	9,73±4,42	38,39±24,53	49,11±93,25	
SAA, мг/л	158,97±212,68			

Табл. 18. Сравнителен анализ между стойностите на SAA и левкоцити, СУЕ, CRP при болни от подгрупа Б, първа проба

Серумният амилоид А протеин и CRP са острофазови протеини, чиито серумни концентрации нарастват от 100-1000 пъти над изходните, по време на остри инфекциозни заболявания. Както бе посочено по-горе, разграничаването между вирусни и бактериални инфекции, се оказва изключително трудно, в случаите когато за целта се използва само един от посочените показатели. Причината е свързана със значителната вариация в серумните им концентрации, колебаещи се между 500-1000 мг/л за SAA и 40-100 мг/л за CRP. В подобни ситуации, поставянето на ранна и адекватна диагноза изисква, освен комплексен лабораторен анализ (включващ едновременно изследване на ПКК, СУЕ, SAA и CRP), така също и детайлна анамнеза включително епидемиологични данни и пълен клиничен преглед на пациента.

При болните включени в настоящото проучване, съставляващи **подгрупа Б**, измерихме средни стойности на CRP от първа серумна проба $49,11 \pm 93,26$ мг/л. Въпреки литературните данни, според които показателят има висока чувствителност и специфичност към тежко протичащи инфекции, включително с усложнения от

бактериален произход, установихме, че по тази точка, SAA превъзхожда значително CRP. Двата показателя са сравними, поради сходната им кинетика по време на острофазов отговор, а също така и предвид факта, че в основната си част, те се синтезират от черния дроб. Сравнителният анализ показва, че SAA заема значително по-важно място от CRP в ранната диагностика на тежките и усложнени вирусни инфекции. Към момента на хоспитализацията, SAA е приблизително 16 пъти над нормата, докато CRP е нарастнал едва 7-8 пъти над горна референтна граница, достигайки стойности $49,11 \pm 93,26$ мг/л. Разликата между двата показателя е статистически значима ($p=0,0001$), отчитайки факта че SAA, в сравнение с останалите показатели за остро възпаление като CRP, СУЕ и левкоцити, има най-съществена роля в ранната диагностика на острите вирусни инфекциозни заболявания, включително и онези от тях, които протичат с усложнения от различно естество.

Абнормно завишени стойности на SAA и CRP от първа серумна проба регистрирахме в 67,74% (21/31) от пациентите, съставляващи *подгрупа Б* (табл. 19). Серумният амилоид А протеин достигна средно $221,05 \pm 229,18$ мг/л, докато концентрациите на CRP бяха неколkokратно по-ниски – средно $71,40 \pm 104,32$ мг/л. Разликата в този случай също е статистически значима ($p=0,0001$), а съотношението между SAA/CRP е равно на 3,01 – два пъти по-ниско в сравнение с абсолютната стойност, която отчетохме при тяхното сравнение сред болните, съставляващи *подгрупа А*. Следователно, бихме могли да приемем обратно пропорционална зависимост между съотношението SAA/CRP и тежестта на заболяването – колкото по-ниска е получената стойност, толкова по-тежка е клиничната форма на болестта.

Подгрупа Б	SAA\geq10 мг/л	SAA$<$10 мг/л
CRP\geq5 мг/л	21 (67,75%)	0 (0,00%)
CRP$<$5 мг/л	6 (19,35%)	4 (12,90%)

Табл. 19. Сравнителен анализ между промените в SAA и CRP при пациенти от подгрупа Б, първа серумна проба

Едва в 12,90% (4/31) от обследваните болни и двата сравнявани показателя бяха в референтни граници. Считаме, че това се дължи на факта, че всички те са заболяли остро едва няколко часа преди хоспитализацията. В този случай, липсва необходимият интервал от време, в който проинфламаторните цитокини повлияват синтетичната функция на черния дроб и медиират последващата експресия на острофазови протеини. Още един път се подчертава основното правило в медицината, според което резултатите

от лабораторните изследвания са допълнение към диагностичния процес, който се основава още на данните от анамнезата и клиничния преглед на болния.

Дескриптивният анализ на втората серумна проба сред пациентите от **подгрупа Б**, показва сходна динамика за четирите сравнявани показателя. Паралелно с настъпване на оздравителните процеси, се наблюдава тенденция към спад в серумните им нива. Общият брой левкоцити достига $8,29 \pm 3,25 \times 10^9/\text{л}$, СУЕ – $35,39 \pm 24,44$ мм/ч, а CRP – $10,28 \pm 26,97$ мг/л (табл. 20).

Възниква въпросът, кой от изследваните показатели е най-чувствителен по отношение на ефекта от проведеното лечение при пациенти с тежко протичащи остри вирусни инфекции? Отговорът ще даде важна информация, свързана с ранната прогноза за изхода от заболяването, както и за ефекта от назначеното лечение. Случаите, при които обратната динамика в стойностите от контролното изследване на съответния лабораторен маркер е незадоволителна, насочват към непълна реконвалесценция и изискват удължаване на терапевтичния процес, а в някои случаи и промяна в провежданото до момента лечение.

Подгрупа Б	Мин. ст-ти	Макс. ст-ти	Средни ст-ти	Стнд. откл.
Левкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	4,00	17,28	8,29	3,24
СУЕ, мм/ч	6,00	104,00	35,39	24,44
CRP, мг/л	0,02	112,85	10,28	26,97

Табл. 20. Средни стойности, стандартно отклонение, минимални и максимални стойности на левкоцити, СУЕ и CRP при болни от подгрупа Б, втора проба

В тази връзка, при всички пациенти от **подгрупа Б**, измерихме разликата между средните стойности на показателите SAA, CRP, левкоцити и СУЕ от първа и втора серумна проба. За да установим дали получената стойност е статистически значима, използвахме *paired t-test*. Резултатите са посочени на табл. 21.

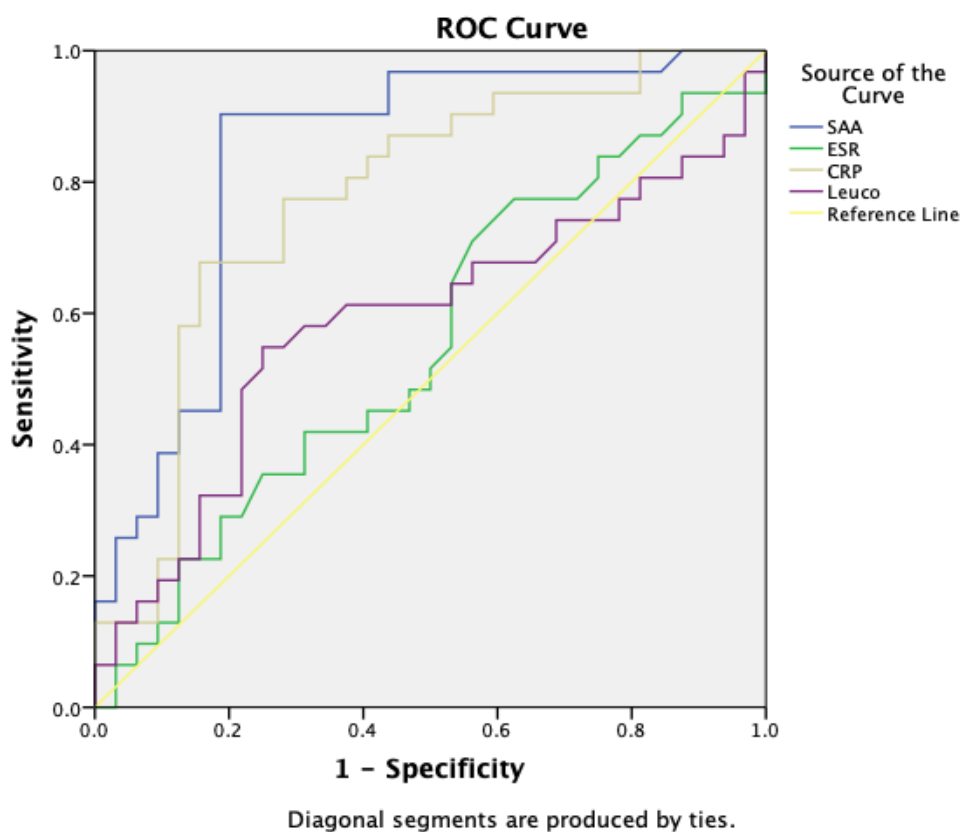
Подгрупа Б	Подвойкови разлики					t	df	Ниво на значимост, p
	Средна разлика	Стнд. откл.	Стнд. грешка	95% интервал на доверие				
				долен	горен			
SAA първа – втора проба	139,55	187,98	33,76	70,59	208,50	4,13	30	0,0001
CUE първа – втора проба	3,00	18,09	3,24	-3,63	9,63	0,92	30	0,363
CRP първа – втора проба	38,83	69,13	12,41	13,47	64,19	3,12	30	0,004
Левкоцити първа – втора проба	1,44	3,47	0,62	0,16	2,71	2,31	30	0,028

Табл. 21. Сравнение между първа и втора проба при пациенти от подгрупа Б, чрез *paired t-test*

От табл. 21 е видно, че използвайки *paired t-test* за сравнение между стойностите на показателите от първа и втора серумна проба, най-големи, включително статистически значими средни разлики отчетохме за SAA и CRP. Статистически незначими се оказаха разликите между първа и втора проба при показателите CUE и левкоцити, при които отчетохме ниво на значимост, съответно 0,363 и 0,028. Това показва, че SAA и CRP имат най-важно значение в лабораторната диагностика при пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания, протичащи с усложнения от различно естество. Бързото нормализиране на техните серумни концентрации корелира в най-висока степен с ефективност от провежданото лечение и насочва към извода, че в случаите когато, контролното изследване показва спад в серумните им концентрации, изходът от болестта ще бъде благоприятен. Така демонстрирахме, че SAA би могъл да се включи в задължителния лабораторен минимум при болни, страдащи от различни инфекциозни заболявания, тъй като заедно с CRP, двата показателя корелират в най-

висока степен с етиологията на болестта, тежестта на клиничното протичане, ефектът от проведеното лечение и изходът от болестта.

Една от основните задачи, които си поставихме в настоящия дисертационен труд, е свързана с отчитане мястото на SAA като лабораторен маркер, корелиращ с тежест на заболяването и риск от развитие на усложнения. За да определим ролята на точността и специфичността на предвидимостта за развитие и тежест на усложнения сред пациентите, използвахме "ROC" (*Receiver operating characteristic*) графичен анализ (фиг. 7). Стойността на площта под кривата се движи между 0,5-1,0. Покритие на кривата над 0,75 или 75% показва силата на предвидимост от утежняване, основана на показателите SAA, СУЕ, CRP и левкоцити. За статистически значими бяха приети разликите между групите при $p \leq 0,05$.



Фиг. 7 „ROC“ графичен анализ за определяне на точността и специфичността на предвидимостта за развитие на тежест и усложнения сред обледваните пациенти

Показател	Cut-off стойности	Чувствителност (Sensitivity – true positive)	Специфичност (Specificity – false positive)	Roc curve площ	Ниво на значимост (p)
SAA	10,30	0,90	0,40	0,85	0,0001
SAA	17,08	0,90	0,22	0,85	0,0001
CRP	6,43	0,67	0,18	0,77	0,0001
CYE	15,30	0,80	0,75	0,55	0,559
Левкоцити	10,20	0,41	0,21	0,58	0,2370

Табл. 22. Зона под кривата за SAA, CRP, CYE и левкоцити и cut – off стойности по отношение предвидимост за развитие на последващи усложнения

Резултатите от този анализ показват, че SAA и CRP имат най-голяма и статистически значима предвидимост за развитие на последващи усложнения (над 70%). От табл. 22 е видно, че при стойност на SAA около 10 мг/л, вероятността да се предвиди последващо усложнение е 90% (true positive), при 40% вероятност за грешка (true negative). По-високите серумни концентрации на SAA обаче, се асоциират с по-голяма вероятност за развитие на усложнение. Така, при стойности на показателя около 17 мг/л, съществува вероятност за развитие на последващо усложнение, изчислена на 90% (true positive), а вероятността за грешка в този случай, спада на 22% (true negative). Същевременно, при стойности на CRP около 6,43 мг/л (около и над горна референтна граница), съществува 67% вероятност да се предвиди развитие на последващо усложнение, като грешка в този случай би могла да се допусне едва в 18% от случаите.

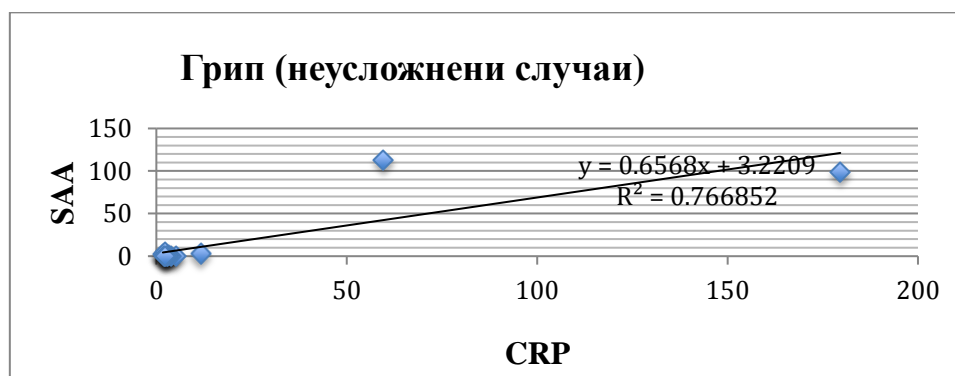
При всички пациенти, включени в настоящото проучване, изследвахме зависимостта между SAA и останалите маркери за остро възпаление – CRP, CYE и левкоцити. За целта използвахме методите на корелационния анализ. Оценката на силата на зависимост между променливите се базираше на резултатите от коефициента на *Pierson (r)* при установяване на линейни връзки между тях.

Сред пациентите с грип, установихме силна степен на зависимост на SAA с CRP, CYE и левкоцити. Всички корелации са положителни и силни (над 0,5) показващи, че с всяко повишаване на единия показател, настъпва паралелно повишаване/изменение на останалите показатели. Единствената слаба и незначима корелация бе с нивата на левкоцитите ($r=0,16$, $p=0,59$), сред пациентите с неусложнено протичане на заболяването (табл. 23).

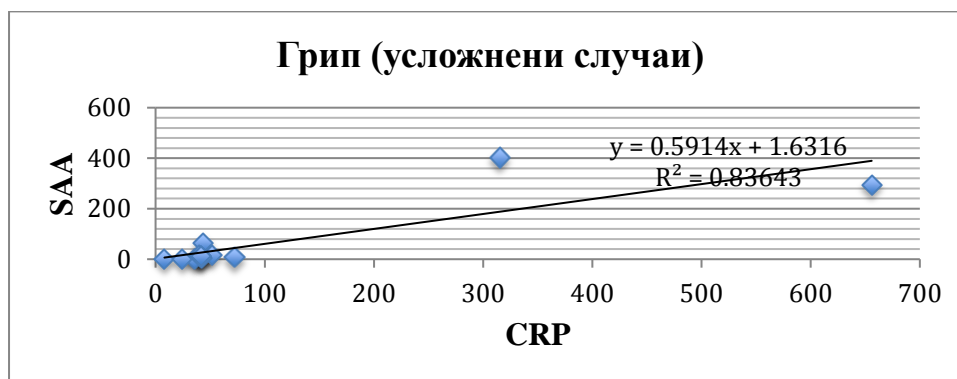
SAA	Грип	Статистически показател	CUE	CRP	Левкоцити
	неусложнени случаи	Коефициент на Pearson (r)	0,796**	0,766**	0,164
		Ниво на значимост, p	0,001	0,0001	0,592
		n	13	13	13
	усложнени случаи	Коефициент на Pearson (r)	0,677*	0,836**	0,775**
		Ниво на значимост, p	0,011	0,0001	0,002
		n	13	13	13

Табл. 23. Корелационна зависимост между SAA, CUE, CRP и левкоцити при пациентите с грип, вкл. тежки, усложнени форми на протичане

Графично, корелациите са изобразени на фигура 8 и фигура 9.



Фиг. 8. Много силна връзка между показателите ($r(2)=0,76, p=0.002$) свидетелстваща за силно повлияване на нивата на SAA върху тежестта на грипната инфекция



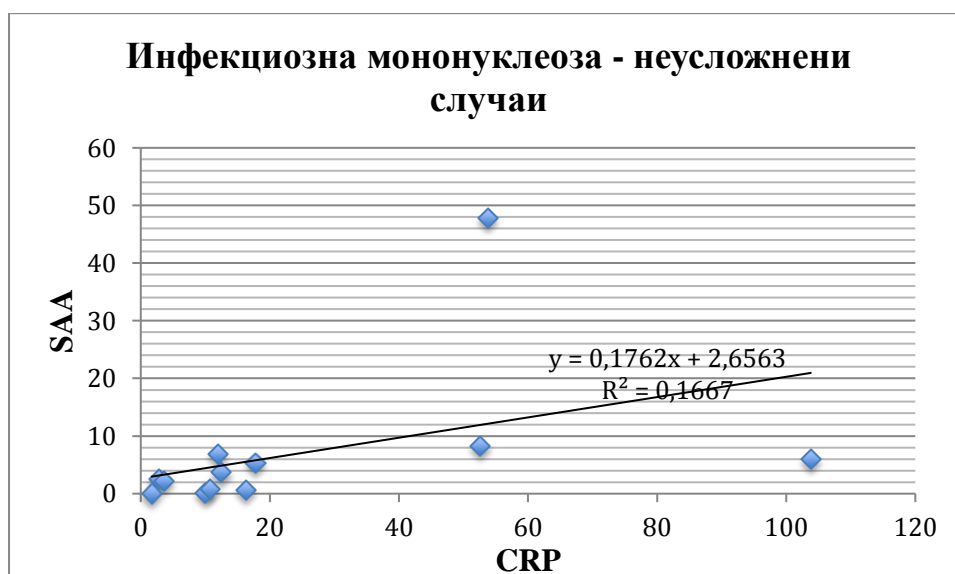
Фиг. 9. Силна връзка между показателите ($r(2)=0,83, p=0.001$) свидетелстваща за силно повлияване на нивата на SAA върху тежестта на грипната инфекция

Сред болните с инфекциозна мононуклеоза, при които наблюдавахме типично, средно тежко протичане на заболяването, корелационният анализ не показва значима асоциативна връзка между променливите SAA и CRP, СУЕ, левкоцити (всички корелации са с $p > 0,05$). Що се отнася до тежките и усложнени случаи, установихме, че съществува статистически значима връзка между SAA и CRP ($r=0,53$, $p=0,007$). Значима и силна е връзката на показателя и със СУЕ ($r=0,68$, $p=0,013$) (табл. 24).

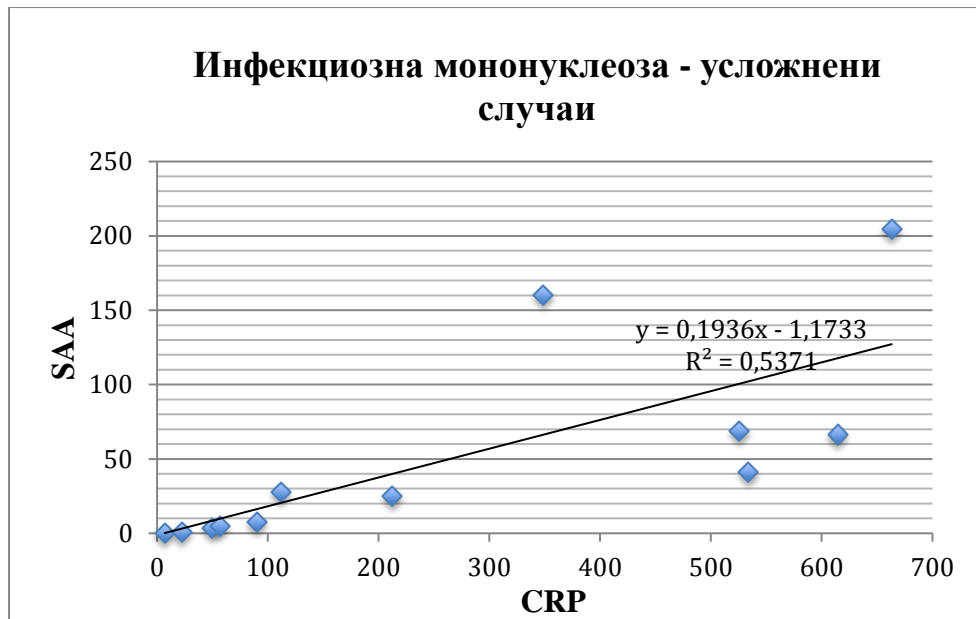
SAA	Инфекциозна мононуклеоза	Статистически показател	СУЕ	CRP	Левкоцити	
	неусложнени случаи	Коефициент на Pearson (r)		0,20	0,17	-0,27
Ниво на значимост, p			0,52	0,18	0,39	
n			12	12	12	
усложнени случаи		Коефициент на Pearson (r)	СУЕ	0,68*	0,53**	0,10
			Левкоцити			0,10
		Ниво на значимост, p	0,01	0,00	0,75	
		n	12	12	12	

Табл. 24. Корелационна зависимост между SAA и останалите лабораторни маркери за възпаление, изследвани при пациентите с инфекциозна мононуклеоза, вкл. тежки, усложнени форми на протичане

Графично, установените в този случай корелации, са изобразени на фигура 10 и на фигура 11.



Фиг. 10. Слаба и незначима връзка между показателите при пациентите с инфекциозна мононуклеоза, протичаща типично, без усложнения ($r(2)=0,17$)



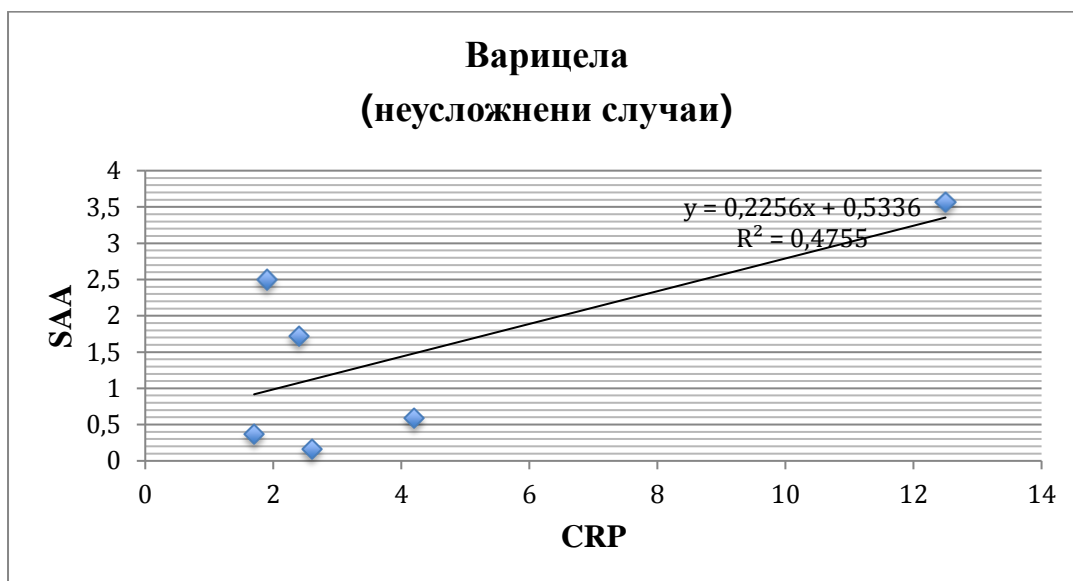
Фиг. 11. Относително силна връзка между показателите ($r(2)=0,53$, при пациентите с инфекциозна мононуклеоза, протичаща с усложнения

Корелационният анализ при болни от варицела, включително страдащи от тежки, усложнени форми не показва значима асоциативна връзка между променливите SAA с CRP, СУЕ, левкоцити (всички корелации са с $p>0,05$) (табл. 25).

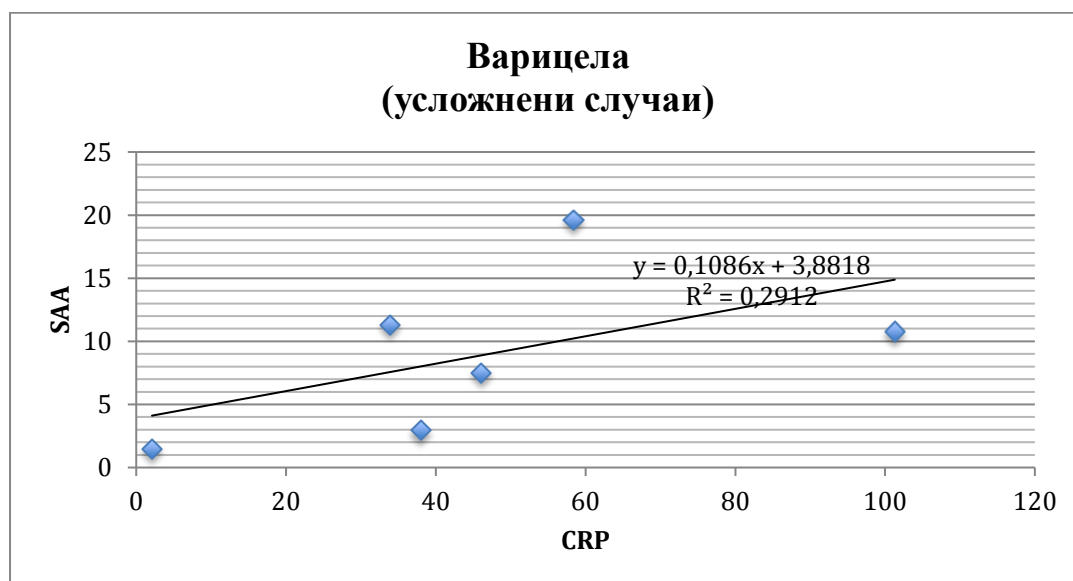
SAA	Варицела	Статистически показател	СУЕ	CRP	Левкоцити	
	Неусложнени случаи	Коефициент на Pearson (r)		0,20	0,45	0,13
Ниво на значимост, p			0,69	0,13	0,79	
			n	6	6	6
			Усложнени случаи	Коефициент на Pearson (r)	СУЕ	CRP
-0,60	0,28	-0,57				
Ниво на значимост, p	0,20	0,26		0,23		
	n	6		6	6	

Табл. 25. Корелационна зависимост между SAA и останалите лабораторни маркери за възпаление, изследвани при пациентите с варицела, вкл. тежки, усложнени форми на протичане

Фигура 12 и фигура 13 отразяват графично посочените по-горе корелации.



Фиг. 12. Графичният корелационен анализ показва линейна степен на асоциация между показателите SAA и CRP ($r(2)=0,47$, но тя е статистически незначима $p=0,13$)



Фиг. 13. Графичният корелационен анализ показва слаба и незначима връзка между показателите SAA и CRP ($r(2)=0,29$)

Подгрупа Б, първа проба		n	Средно аритм.	Стнд. откл.	Стнд. грешка	95% интервал на доверие		Мин.	Макс.
						Долен	Горен		
SAA	Грип	13	108,64	181,73	50,40	-1,17	218,46	8,10	655,90
	Инфекциозна мононуклеоза	12	269,68	252,20	72,80	109,44	429,92	6,80	663,20
	Варицела	6	46,33	32,70	13,35	12,31	80,95	2,10	101,30
	Общо	31	158,97	212,68	38,19	80,96	236,99	2,10	663,20
CUE	Грип	13	37,84	20,84	5,77	25,25	50,43	11,00	76,00
	Инфекциозна мононуклеоза	13	38,66	28,97	8,36	20,25	57,07	4,00	98,00
	Варицела	6	39,00	26,84	10,96	10,82	67,17	12,0	89,00
	Общо	31	38,38	24,53	4,40	29,38	47,38	4,00	98,00
CRP	Грип	13	65,88	128,61	35,67	-11,83	143,61	0,17	402,87
	Инфекциозна мононуклеоза	12	51,02	66,61	19,22	8,70	93,34	0,25	204,72
	Варицела	6	8,94	6,58	2,68	2,03	15,85	1,50	19,63
	Общо	31	49,11	93,25	16,74	14,90	83,32	0,17	402,87
Левкоцити	Грип	13	7,61	3,60	0,99	5,43	9,79	2,61	16,25
	Инфекциозна мононуклеоза	12	11,63	3,95	1,14	9,12	14,15	4,37	19,13
	Варицела	6	10,51	5,56	2,27	4,67	16,35	4,60	19,40
	Общо	31	9,73	4,42	0,79	8,11	11,35	2,61	19,40

Табл. 26. Сравнителна характеристика между стойностите на SAA, CRP, CUE и левкоцити от първа серумна проба, при пациентите от подгрупа Б, в зависимост от конкретната диагноза

С оглед детайлен анализ върху ролята на SAA и останалите маркери по отношение оценка тежестта на заболяването, проведохме сравнителен анализ между регистрираните серумни концентрации сред пациентите от **подгрупа Б**, в зависимост от конкретното заболяване. В случая, използвахме т.нар. еднофакторна ANOVA. Тестът провери дали промяната в показателите, регистрирани сред пациентите с различни

нозологични единици е статитически значима (тоест дали промените в показателите се дължат на съответното вирусно заболяване и дали установените промени между отделните заболявания са сходни или не). За статистически значими, приехме резултатите, при които $p \leq 0,05$.

От табл. 26 е видно, че при пациентите с различни диагнози, съществуват разлики в серумните концентрации на отделните показатели. Така например сред болните с варицела, средните нива на SAA са $46,63 \pm 32,70$ мг/л, докато в случаите на инфекциозна мононуклеоза, те са значително по-високи, средно $269,68 \pm 252,20$ мг/л. Към момента, в който е изготвен настоящия дисертационен труд, при насочено търсене, не открихме литературни данни, отразяващи право пропорционална зависимост между конкретен вирусен агент и съответно по-високи или по-ниски серумни концентрации на SAA. Както бе посочено по-горе, подобна корелация се наблюдава единствено по отношение тежестта на основното заболяване. Едно възможно обяснение е, че по-високите стойности на SAA в конкретния пример, при болните с инфекциозна мононуклеоза, са резултат от характера на регистрираните усложнения, причиняващи по-тежко протичане на основното заболяване.

Резултатите от ANOVA – *тестът* показаха, че статистически значими разлики в стойностите на показателите има само по отношение на SAA (табл. 27).

Лабораторен маркер	Welch	Стойност	Ниво на значимост „p“
	Brown-Forsythe		
SAA	Welch	4,89	0,021*
	Brown-Forsythe	4,33	0,027*
СУЕ	Welch	0,00	0,994
	Brown-Forsythe	0,00	0,995
CRP	Welch	3,43	0,058
	Brown-Forsythe	1,08	0,359
Левкоцити	Welch	3,44	0,065
	Brown-Forsythe	2,50	0,120

Табл. 27. Сравнение между SAA и останалите маркери за остро възпаление при пациенти от подгрупа А, чрез ANOVA – тест

***статистически значими разлики**

От табл. 27 е видно, че разликите в стойностите на изследваните лабораторни показатели при пациентите с усложнено протичащи остри вирусни инфекциозни заболявания, са значими единствено за показателя SAA ($W=4,89$, $p=0,021$). По отношение на останалите показатели, не се откриха статистически значими разлики между пациентите в отделните нозологични групи. Въз основа на това можем да предположим, че SAA има по-съществено значение за клиничната практика като показател за тежко, усложнено протичащи случаи на варицела, инфекциозна мононуклеоза и грип.

В допълнение, проведохме *post hoc* анализ, чрез който осъществихме вътрегрупово сравнение, тоест в групата пациенти, при които наблюдавахме тежко, усложнено протичане на основното заболяване, сравнихме показателите SAA, CRP, СУЕ и левкоцити. Теста ни помогна да установим, в кои случаи (при кои заболявания) се наблюдават съществени различия ($p \leq 0,05$) по отношение на измерените показатели (табл. 28).

От таблицата на *Post hoc* анализа е видно, че разлики се откриват единствено по отношение на показателя SAA и то само между диагнозите инфекциозна мононуклеоза и варицела. Средната разлика между стойностите на SAA сред пациентите с инфекциозна мононуклеоза и варицела бе 223 единици и статистически значима, $p=0,028$. Статистически значими разлики открихме и за левкоцитите, сред пациентите с грип и инфекциозна мононуклеоза (средна разлика – 4,02, $p=0,037$). Следователно, SAA е лабораторен маркер, който в сравнение с останалите рутинно прилагани в практиката показатели (СУЕ, CRP и левкоцити) заема най-важно място в диагностиката на вирусните инфекциозни заболявания, включително онези от тях, протичащи тежко, с различни по характер усложнения. Що се отнася до конкретна нозологична единица, ползите от изследването на SAA биха били най-големи в случаите на тежко протичаща инфекциозна мононуклеоза и варицела.

Games-Howell							
Показател	Диагноза	Диагноза	Средна разлика	Стнд. грешка	p	95% интервал на доверие	
						Долен	Горен
SAA	Грип	Инфекциозна мононуклеоза	-161,04	88,54	0,189	-385,17	63,09
		Варицела	62,00	52,14	0,479	-74,94	198,96
	Инфекциозна мононуклеоза	Грип	161,04	88,54	0,189	-63,09	385,17
		Варицела	223,05	74,01	0,028*	24,94	421,15
	Варицела	Грип	-62,00	52,14	0,479	-198,96	74,94
		Инфекциозна мононуклеоза	-233,05	74,01	0,028*	-421,15	-24,94
ESR	Грип	Инфекциозна мононуклеоза	-0,82	10,16	0,996	-26,55	24,91
		Варицела	-1,15	12,39	0,995	-36,64	34,33
	Инфекциозна мононуклеоза	Грип	0,82	10,16	0,996	-24,91	26,55
		Варицела	-0,33	13,78	1,000	-37,64	36,98
	Варицела	Грип	1,15	12,39	0,995	-34,33	36,64
		Инфекциозна мононуклеоза	0,33	13,78	1,000	-36,98	37,64
CRP	Грип	Инфекциозна мононуклеоза	14,86	40,52	0,929	-88,41	118,13
		Варицела	56,94	35,77	0,286	-38,35	152,23
	Инфекциозна мононуклеоза	Грип	-14,86	40,52	0,929	-118,13	88,41
		Варицела	42,08	19,41	0,120	-10,07	94,23
	Варицела	Грип	-56,94	35,77	0,286	-152,23	38,35
		Инфекциозна мононуклеоза	-42,08	19,41	0,120	-94,23	10,07
Leuco	Грип	Инфекциозна мононуклеоза	-4,02	1,51	0,037*	-7,82	-0,21
		Варицела	-2,90	2,48	0,506	-10,20	4,40
	Инфекциозна мононуклеоза	Грип	4,02	1,51	0,037*	0,21	7,82
		Варицела	1,12	2,54	0,900	-6,22	8,46
	Варицела	Грип	2,90	2,48	0,506	-4,40	10,20
		Инфекциозна мононуклеоза	-1,12	2,54	0,900	-8,46	6,22

Табл. 28. Сравнения между диагнозите по лабораторни показатели
*статистически значими разлики

VI. Заключение:

Серумният амилоид А протеин представлява плазмен белтък, функциониращ като аполипопротеин на високоплътностните липопротеини, чиято концентрация в серума нараства приблизително 1000 пъти, в отговор на възпалителен стимул. За територията на България, до настоящия момент SAA не е изследван при пациенти с инфекциозни заболявания. Резултатите от настоящото проучване предоставят данни, според които показателят нараства сигнификатно в хода на едни от най-честите остри вирусни заболявания, срещащи се в практиката на инфекциониста, а именно варицела, инфекциозна мононуклеоза, грип и вирусни менингити и менингоенцефалити. Наред с това, динамиката в стойностите му корелира с давност на оплакванията, тежест на заболяването и налични усложнения. Установи се още, че ефективните терапевтични мероприятия водят до бърза обратна динамика в стойностите му, като за период от 3-4 дни (при липса на усложнения) SAA достига референтни граници. Поради това, считаме, че с успех той би могъл да се прилага в мониторирането на ефекта от приложеното лечение. Бързото нормализиране в концентрациите му се свързва и с липса на трайни увреди за болния и съответно със своевременна и адекватна прогноза за изхода от болестта. Серумният амилоид А протеин превъзхожда всички останали острофазови протеини и маркери за остро възпаление, прилагани рутинно към момента в клиничната практика. Следователно, включването му като част от задължителния лабораторен минимум при пациенти с остри инфекциозни заболявания би било от особена полза, както за пациента, така и за лекуващия лекар.

VII. Изводи:

При обследваните от нас пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания установихме следното:

1. SAA нараства сигнификантно в случаи на грип, инфекциозна мононуклеоза, варицела и вирусни менингити/менингоенцефалити.
2. SAA корелира с тежестта на вирусната инфекция.
3. Изследването на SAA в динамика, в хода на заболяването (през интервал от 4 дни) в острия период и ранната реконвалесценция позволява своевременна и адекватна оценка на клиничния ход на болестта.
 - 3.1. Тенденцията към спад в нивата на SAA корелира с положителен ефект от приложеното лечение и благоприятен изход от заболяването.
 - 3.2. Тенденцията към нарастване в нивата на SAA корелира с терапевтичен неуспех, затегнат ход на основното заболяване или развитие на усложнения от различно естество.
4. Изследването на SAA в комплекс с останалите рутинно назначавани лабораторни маркери за остро възпаление – СУЕ, CRP и общ брой левкоцити корелира с максимална информативност по отношение на диференциация между вирусни и бактериални инфекции.
5. В сравнение със СУЕ, CRP и общ брой левкоцити, SAA е значително по-чувствителен лабораторен показател, насочващ към активен възпалителен процес и се отличава с най-голяма и статистически значима предвидимост по отношение последващо развитие на усложнения от различно естество.
6. Съотношението SAA/CRP корелира с тежестта на основното заболяване – колкото по-ниска е регистрираната стойност (cut-off value = 3,01 мг/л), толкова по-тежка е клиничната форма на болестта.
7. Регистрирани са стойности на SAA, съизмерими с установените в хода на различни мащабни интернационални проучвания.

VIII. Приноси на дисертационния труд:

ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН ХАРАКТЕР

1. За първи път в България е проведено клинично проучване върху промените, които настъпват в серумните концентрации на SAA при пациенти, страдащи от остри инфекциозни заболявания с вирусна етиология.
2. За първи път в България са изведени положителните страни от изследването на SAA при пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания.
3. За първи път в България е проведен сравнителен анализ между SAA и рутинно изследваните маркери за остро възпаление – СУЕ, левкоцити и CRP при пациенти с остри вирусни инфекциозни заболявания
4. За целите на проучването е адаптиран съвременен аналитичен метод за изследване на SAA в минимално количество серум, който може да бъде използван при включването на показателя като част от лабораторния минимум сред пациенти с остри инфекциозни заболявания;
5. Доказана е необходимостта от включване на SAA като част от задължителния лабораторен минимум при болни с остри инфекциозни заболявания;

ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН И НАУЧНО-ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР

1. Проведен е актуален анализ върху специализираната медицинска литература относно мястото на SAA в клинично-лабораторната диагностика при болни с остри инфекциозно заболявания с вирусна етиология.
2. Установено е сходство между получените в хода на настоящото проучване резултати относно клиничната стойност на SAA и данните от медицинската периодика.
3. Потвърден е фактът, че в сравнение с CRP, СУЕ и левкоцити, SAA е сигнификатно по-добър лабораторен показател, отчитащ тежест на инфекциозния процес, ефект от приложеното лечение и изход от болестта.

IX. Публикации, доклади и съобщения

ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ПУБЛИКАЦИИ В НАУЧНИ СПИСАНИЯ

1. **Тодоров И**, Господинова М, Серумен амилоид А протеин при остри инфекциозни заболявания - Детски и инфекциозни болести, 10, 2018, №1, 25-36.
2. **Todorov Piyan et al.** Prognostic Value of Serum Amyloid A Protein Compared with C-Reactive protein in Patients with Influenza. Scripta Scientifica Medica, [S.l.], v. 50, n. 1, mar. 2018, 15-19. ISSN 1314-6408.
3. **TODOROV I**, Bocheva Y, Gospodinova M, Popcheva G, Yordanov Y, Changes in the sera levels of amyloid A protein in the course of influenza, chickenpox and infectious mononucleosis. Scripta Scientifica Medica, [S.l.], v. 51, p. 32-35, nov. 2019. ISSN 1314-6408.

НАУЧНИ ДОКЛАДИ И СЪОБЩЕНИЯ

1. **Тодоров И**, Господинова М, Бочева Я, Попчева Г, Изследване на серумен амилоид А протеин при болни с инфекциозна мононуклеоза – постер, XII Годишна национална конференция по инфекциозни болести, 11-13.10.2018г., х-л Сол Несебър Бей, Несебър, България.
2. **Todorov I.**, Bocheva Y., Popcheva G., Gospodinova M., EVALUATION OF BOTH SERUM AMYLOID A PROTEIN AND C - REACTIVE PROTEIN IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH INFLUENZA, IFCC-EFLM EuroMedLab Congress, 11-15 june, 2017, Athens, Greece.
3. **I. Todorov**, Y.Bocheva, M.Gospodinova, G.Popcheva, Serum amyloid A protein as a diagnostic marker for viral infections, W238, 23rd IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine EuromedLab, 19-23 May 2019, Barcelona.

С благодарност към:

- Научните ми ръководители: проф. д-р Маргарита Господинова, дм и доц. д-р Яна Бочева, дм;
- Колектива на Инфекциозна клиника, УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна
- Моето семейство и приятели за безрезервната подкрепа и вяра в мен;
- Д-р Гергана Попчева, Катедра Обща медицина и клинична лаборатория, УС Клинична лаборатория;
- Гл. ас. Силвия Павлова Николова, Катедра Социална медицина и организация на здравеопазването, УС