



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ - ВАРНА**

ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА
Втора катедра по вътрешни болести
УС по гастроентерология, хепатология, хранене

Д-р Йоана Светлозарова Стоянова

**АНТИВИРУСНА ТЕРАПИЯ ПРИ ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ В-
ДИНАМИКА НА ВИРУСНИТЕ МАРКЕРИ И ДЪЛГОСРОЧНИ
РЕЗУЛТАТИ**

АВТОРЕФЕРАТ

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

Научна специалност: гастроентерология

Научен ръководител:

Доц. д-р Ирина Иванова Иванова, д.м.

Варна, 2024 г.

Дисертационният труд съдържа 106 страници и е онагледен с 47 фигури и 15 таблици. Цитираната литература включва 176 източника, от които 2 на кирилица и 174 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от катедрен съвет на Втора катедра по вътрешни болести на Медицински университет- Варна на 14.02.2024 г.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 15.05.2024 г. на открито заседание на Научно жури в състав:

Външни членове:

Проф. д-р Искрен Андреев Коцев, д.м.н.

Доц. д-р Радин Цонев Цонев, д.м.

Полк. Проф. д-р Ивайло Петров Въжаров, д.м.

Резервен външен член:

Проф. д-р Владимир Николов Андонов, д.м.

Вътрешни членове:

Доц. д-р Антония Йорданова Атанасова, д.м.н.

Доц. д-р Диана Тодорова Ганчева-Томова, д.м.

Резервен вътрешен член:

Доц. д-р Лили Славчева Грудева-Трифенова, д.м.

Съдържание

Използвани съкращения	4
Въведение	6
Цел	7
Задачи	7
Пациенти и методи	9
Резултати и обсъждане	26
Изводи	83
Приноси	85
Публикации и участия, свързани с дисертационния труд	86

Използвани съкращения

HBV-	хепатит В вирус
CHB-	хроничен хепатит В
HDV-	хепатит D вирус
HCV-	хепатит С вирус
HCC-	хепатоцелуларен карцином
HBsAg-	HB повърхностен антиген
qHBsAg-	количествен HBsAg
HBeAg-	HB „envelope“ антиген
HBcrAg-	HB „сърцевинен“ антиген
Anti HBs-	антитела срещу HBsAg
Anti HBe-	антитела срещу HBeAg
Anti HBc-	антитела срещу HBcrAg
NA-	нуклеозидни/ нуклеотидни аналози
IFN-alpha-	интерферон алфа
PEG-IFN-alpha-	пегилиран интерферон алфа
ALT-	аланин аминотрансфераза
AST-	аспартат аминотрансфераза
GGT-	гама глутамил трансфераза
ULN-	горна референтна граница
cccDNA-	ковалентно затворена кръгла ДНК
rcDNA-	релаксирана кръгова ДНК
pgRNA-	прегеномна РНК
mRNA-	информационна РНК
NITs-	неинвазивни тестове
TE-	транзиентна еластография
2D- SWE-	2D shear wave еластография/ ултразвукова еластография
УЗ-	ултразвук

EASL-	европейска асоциация за изучаване на черния дроб
LAM-	ламивудин
TBV-	телбивудин
ETV-	ентекавир
ADF-	адефовир дипивоксил
TDF-	тенофовир дизопроксил фумарат
TAF-	тенофовир алафенамид
NAFLD-	неалкохолна мастна чернодробна болест
MAFLD-	метаболитно- асоциирана мастна чернодробна болест
LS-	чернодробна плътност
ФГДС-	фиброгастродуоденоскопия
ПХГ-	портална хипертензивна гастропатия
ЗД-	захарен диабет

Въведение

По данни на СЗО от 2019 година, 296 милиона живеят с хронична инфекция с вируса на хепатит В (HBV) и са изложени на риск от усложнения, основно чернодробна цироза и хепатоцелуларен карцином (HCC), обуславящи ежегодна смъртност от 820 000. Въпреки приетата стратегия от 2016 година за намаляване на последиците от HBV в света, едва 10% от хронично заразените се диагностицират и само 2% от тях провеждат антивирусно лечение. Съвременната терапия с инхибитори на репликацията на HBV подобрява преживяемостта на пациентите и предотвратява прогресията на хроничното чернодробно заболяване. От друга страна, спонтанен или терапевтично индуциран клирънс на HB повърхностния антиген (HBsAg) настъпва рядко, около 1% годишно при хроничната HBV инфекция. Така, кумулационно нарастват пациентите с вирусна супресия в хода на дълготраен прием на нуклеозидни/нуклеотидни аналози (NA). Продължителната терапия води до тежест в здравната система, риск от резистентност на HBV към NA със загуба на ефективността, нар. вирусологичен пробив. Макар и добре поносими медикаменти, свързани странични ефекти е възможно да настъпят, като намаляване на костна плътност и бъбречна тубулна токсичност при лечение с тенофовир. Трудно е мотивирането на пациентите за редовен прием на медикамент и те често споделят за негативно психологическо въздействие и нарушено благополучие. В проследяване на антивирусното лечение стандартно се изследва трансаминазна активност, чернодробни синтетични показатели и креатининов

клирънс; необходимост е абдоминалната ехография за ранно откриване на чернодробни лезии, респективно НСС. Интерес представляват новите възможности на мултипараметричния ултразвук за оценка на традиционно хистопатологични понятия, като възпалителна активност, фиброза и стеатоза. Очаквано, в хода на NA прием е да се постигне неоткриваем с чувствителен полимеразо-верижан тест вирусен товар (HBV DNA). Това поставя нуждата от търсене на нови маркери за мониториране на ефекта от антивирусните медикаменти по отношение на жизнения цикъл на HBV, като синтеза на вирусни протеини (HBsAg, HB core-свързаните антигени). Настоящата дисертация е опит за отговор на част от съвременните предизвикателства в клиничната работа с пациентите с хронична HBV инфекция в хода на антивирусното лечение.

Цел:

Да се направи съвременна оценка на ефективността на антивирусното лечение и активността на хроничната хепатит В-вирусна инфекция при пациенти с дългогодишен прием на нуклеотидни/нуклеозидни аналози.

Задачи:

1. Да се направи характеристика на пациентите с хронична HBV инфекция с показания за антивирусно лечение.
2. Да се изследва вирусологичния отговор при дългогодишно лечение с NA чрез проследяване на вирусния товар (HBV DNA).

3. Да се оцени биохимичния отговор на терапията с НА, чрез проследяване на трансаминазната активност.
4. Да се проследи динамиката на количествения HBsAg и оцени връзката между равнището на HBsAg и вирусния товар, изходния HBeAg статус, продължителността на лечението и стадия на чернодробната болест.
5. Да се изследва нивото на HBcAg и да се оцени ролята на този маркер за проследяване на антивирусното лечение срещу HBV.
6. Да се сравнят резултатите от лечението и динамиката на вирусните маркери между HBeAg (-) и HBeAg (+) СНВ.
7. Да се мониторира чернодробната болест в хода на продължителното лечение с НА, посредством лабораторни показатели за чернодробна синтетична функция, индиректни серумни маркери за фиброза, абдоминална ехография и УЗ-еластография, горна ендоскопия, с оглед ендоскопски критерии за портална хипертония.
8. Да се оцени ролята на ко-фактори, като метаболитните нарушения за динамика на чернодробното заболяване при пациенти с хепатит В, провеждащи терапия с НА.

Пациенти и методи

Пациенти

Изследвани са пациенти с хронична HBV инфекция, провеждащи антивирусно лечение в Клиника по гастроентерология към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна, които отговарят на следните критерии:

Включващи критерии:

- Диагностицирана хронична HBV инфекция в стадий на хроничен хепатит или цироза (на база на позитивен HBsAg с давност поне 6 месеца);
- Изходна оценка на чернодробното заболяване, посредством морфологично изследване и/или комплексни критерии от преглед, лабораторни изследвания, абдоминална ехография и горна ендоскопия за чернодробна цироза;
- Изходни данни за трансаминазна активност, значима HBV репликация или показания, свързани с превенция на HBV активацията в хода на имunosупресивно или биологично лечение на придружаващо заболяване;
- Терапия с NA за поне 6 месеца;
- Проследяване на антивирусното лечение в Клиника по гастроентерология към УМБАЛ “Св. Марина”.

Исключващи критерии:

- Ко-инфекция с HCV, HDV, HIV;
- Лошо съдействие от страна на пациент с прекъсвания на антивирусното лечение;
- Несъгласие на пациента за анализ на данните от лабораторните изследвания.

Пациентите са изследвани в проспективно наблюдение от май 2022 г. до ноември 2023 г. През този период включените болни се намират в различен период от инициране на приема на NA. Събрани са данни за изходните, преди начало на терапията: възраст; пол; давност на HBV инфекцията и възможен рисков път на заразяване; фамилност за HBV; рискови фактори; придружаващи заболявания и медикаменти; провеждано

антивирусно лечение с IFN-alpha или NA в миналото; изходни трансаминази (средна стойност от проследяването), HBV DNA, HBeAg статус, стадий на чернодробната болест. Анализирани са фактори, свързани с актуалния терапевтичен план, като: продължителност на лечението с NA; динамика на чернодробната болест, оценена чрез абдоминална ехография, ТЕ еластография, ендоскопски критерии за портална хипертония, индиректни серумни маркери за фиброза, както и мониториране на чернодробните ензими, HBV DNA, HBsAg, HBcrAg, HBeAg-статуса на фона на лечение.

Спазени са изходните индикации за лечение, както и правилата за мониториране на антивирусната терапия, посочени в консенсуса на БДГЕ за лечение на хронични вирусни хепатити и актуалните критерии на провеждане на антивирусно лечение. Така, лечението е стартирано при случаи с: HBeAg (-) или HBeAg (+) CHB с ниво на HBV DNA > 2000 IU/ml, ALT > ULN (горна референтна граница) и/или данни за поне умерено чернодробно възпаление или фиброза; пациенти с компенсирана или декомпенсирана чернодробна цироза, независимо от нивото на HBV DNA и ALT; пациенти с HBV DNA > 20 000 IU/ml и ALT 2xULN, независимо от степента на фиброза; HBsAg (+) пациенти, които са на имunosупресивна терапия, независимо от нивото на HBV DNA и са с висок риск от реактивация на HBV. Оценена е фазата на хроничната HBV инфекция, според правилата на EASL за поведение при хепатит В (9). Терапията е провеждана с ламивудин (LAM), ентекавир (ETV) или тенофовир (TDF) с реимбурсация с протокол към НЗОК.

Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания към МУ-Варна (КЕНИ). Всички пациенти са подписали информирано съгласие за участие в проучването. С оглед оптимизиране на обработката, резултатите от направените наблюдения и клиничните показатели са систематизирани в табличен вид, в Excel Microsoft.

Методи

1. Анамнеза и физикален преглед

На всички пациенти е снета анамнеза по отношение на настоящите оплаквания, периода от диагнозата на HBV до регистрацията в клиниката по гастроентерология, придружаващите заболявания, приеманите медикаменти, включително провеждане на имunosупресивна терапия, фамилна анамнеза за HBV, вредни навици, ко-инфекции с HCV, HDV, HIV, наличие на онкологични заболявания. Физикалният преглед е проведен с оглед търсене на белезите за хронично напреднало чернодробно заболяване, като иктер на кожа и склери, хиперпигментация на кожата, следи от разчесване по кожата, намалено окосмяване на кожата, телеангиектазии по лице и торс с характер на „съдови звезди“, палмарен еритем, гинекомастия, спленомегалия, хепатомегалия с хипертрофия на левия чернодробен дял, плътен при палпация черен дроб, остър ръб при посрещаша палпация на черния дроб, физикални данни за асцит, колатерали по коремна стена, хипо или атрофия на скелетна мускулатура, отоци по долни крайници.

2. Лабораторни, образни и инвазивни изследвания

2.1. Рутинни лабораторни изследвания

Неотменима част от изходната оценка на пациент с хронично чернодробно заболяване и в хода на антивирусното лечение (през интервал от средно 6 месеца) са провеждани и регистрирани следните лабораторни изследвания: хематологични показатели- пълна кръвна картина с диференциална кръвна картина и СУЕ, биохимични показатели- АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ, кръвна захар, общ и директен билирубин, общ белтък и албумин, креатинин, урея, йонограма, както и коагулационен статус- ПИ %, INR и фибриноген. При пациенти със съмнение за НСС или доказан такъв е изследван алфа-фетопротеин (AFP).

2.2. Вирусни маркери и вирусен товар

- **HBeAg и anti HBe Ab** – изходно и на 6-12 месеца в хода на терапията, в Лаборатория по вирусология към УМБАЛ „Св. Марина“, чрез полуколичествен ELISA анализ на HBe Ag&Ab DIA.PRO в серум или плазма.
- **HBV DNA** – изходно и на 6 месеца в хода на терапията чрез PCR метод в Лаборатория по вирусология на УМБАЛ „Св. Марина“. Тестът за вирусен товар има ниво на детекция 7 IU/ml. Вирусна супресия се дефинира като HBV DNA \leq 10 IU/ml, според препоръките на EASL. (4) Неоткриваема HBV DNA се прие в случаите с трайно, при поне 2 измервания с интервал помежду им поне 6 месеца изследване, при което не се установява вирусен товар с високо-чувствителен PCR метод.

- **Изследване на HBsAg количествен тест** – изходно (при част от пациентите) и в хода на НА приема, чрез кита LIAISON® XL MUREX HBsAg Quant, който прилага технологията на хемилуминисцентен имунен тест (CLIA) и резултатът е отразен в IU/ml с прагова стойност, разграничаваща наличието от липсата на HBsAg при граница от 0,05 IU/mL. Анализираха се серуми на пациентите в деня на вземане на пробата. При всички включени пациенти проспективно се извърши регистриране на поне 2 стойности на концентрацията на HBsAg в интервал от 6 до 12 месеца. Тестовите се проведеха в Лаборатория по вирусология на УМБАЛ „Св. Марина“ със съдействието на доц. д-р Живка Калчева Стойкова и под ръководството на проф. д-р Теменуга Стоева.
- **Изследване на HBcrAg** - чрез кита Lumipulse G HBcrAg IRC set (FujiRebio) с принцип на метода хемилуминисцентен ензимен имуно-анализ, където обхвата на измерване е от $2.0 \log U/ml$ до $7.0 \log U/ml$, с долна граница на откриване $2.0 \log U/ml$. При пациенти в хода на антивирусно лечение с НА, еднократно, бе получена кръвна проба, с последователно центрофугиране (центрофуга ЕВА 200 (Hettich) на 1500 оборота за 15 минути) и отделяне на серум от 5-10 мл. По препоръките на производителя серумите бяха замразени в същия ден и съхранявани на при температура от $-20^{\circ} C$ до деня на транспортиране. Крайното изследване на HBcrAg се проведе в Клинична лаборатория на УМБАЛ „Проф. д-р Ал. Чирков“, гр. София, под ръководството и със съдействието на проф. д-р Маргаритка Бончева. Тестовите за количествен

анализ на HBsAg и HBcAg бяха закупени с финансовата подкрепа и в хода на научен проект към Фонд „Наука“ на МУ-гр. Варна № 21014 „Мониторирание на етиологичната терапия на хепатит В“.

- Anti HCV Ab, anti HDV Ab, HIV – изходно и при съмнение за нова ко-инфекция в Лаборатория по вирусология на УМБАЛ „Св. Марина“.

2.3. Индиректни серумни маркери за фиброза

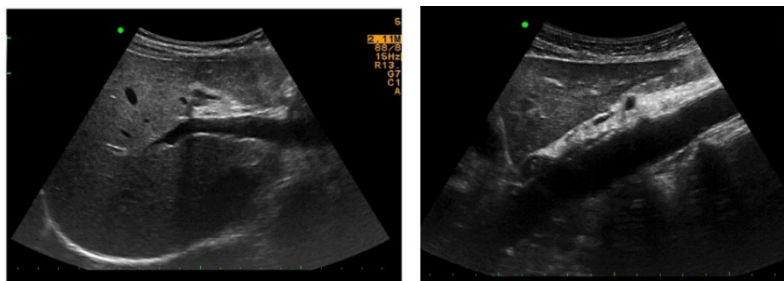
Използваха се два серумни маркера за оценка на фиброзата: APRI и FIB-4. APRI е комбиниран лабораторен индекс, включващ АСАТ, горна референтна граница на АСАТ и брой тромбоцити, а FIB-4 включва параметрите възраст, тромбоцитен брой, АСАТ и АЛАТ (Фигура 1). Изчисленията се правеха с online калкулаторът MDCalc (<https://www.mdcalc.com>). Маркерите са информативни за стадий на болестта при следните приети прагови стойности: APRI <0.5 отхвърля фиброза; >0.7 отговаря на сигнификантна фиброза (F≥2), а >1 на цироза(F4); FIB-4 < 1.3 при пациенти между 36 и 64 години отхвърля напреднала фиброза, а <2.0 изключва такава при пациенти ≥65 години; FIB-4 между 1.3 и 2.67 е сива зона за пациенти между 36 и 64 години, а между 2.0 и 2.67- сива зона за пациенти ≥65 години (118).

$\text{FIB-4} = \frac{\text{Age (years)} \times \text{AST (U/L)}}{\text{Platelet Count (10}^9\text{/L)} \times \sqrt{\text{ALT (U/L)}}}$	$\text{APRI} = \frac{\frac{\text{AST Level}}{\text{AST (Upper Limit of Normal)}}}{\text{Platelet Count (10}^9\text{/L)}} \times 100$
--	--

Фигура 1. Формула за определяне на FIB-4 и APRI при пациент с CHB.
Източник: MDCalc (<https://www.mdcalc.com>)

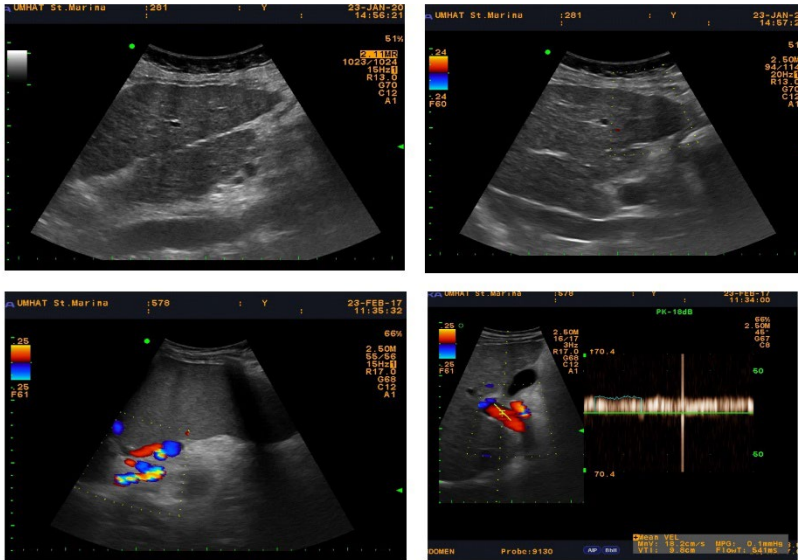
2.4. Абдоминална ехография

При всички пациенти е извършена абдоминална ехография с ултразвукови апарати Prosound alfa7 (Aloka) и след август 2023г. с Aplio i800 (Canon) изходно, преди започване и през 6-месечни интервали в хода на лечението, с приложение на B-mode и Doppler средствата на ултразвука (УЗ). Регистрирани са размери на ляв и десен чернодробен дял (с категориите нормални размери, хепатомегалия, диспропорционално увеличаване/хипертрофия на ляв дял), чернодробна повърхност (в категориите гладка/с нодулираност), чернодробна структура (хомогенност, ехогенност), размери на слезка (надлъжен, напречен, повърхност), портален кръвоток (cm/sec). Фигура 2 показва ехографски образи на пациент с СНВ и изходни данни за начална фиброза.



Фигура 2. B-mode изображения на пациент с начален стадий на СНВ.

Фигура 3 илюстрира пациенти с компенсирана цироза с HBV етиология.



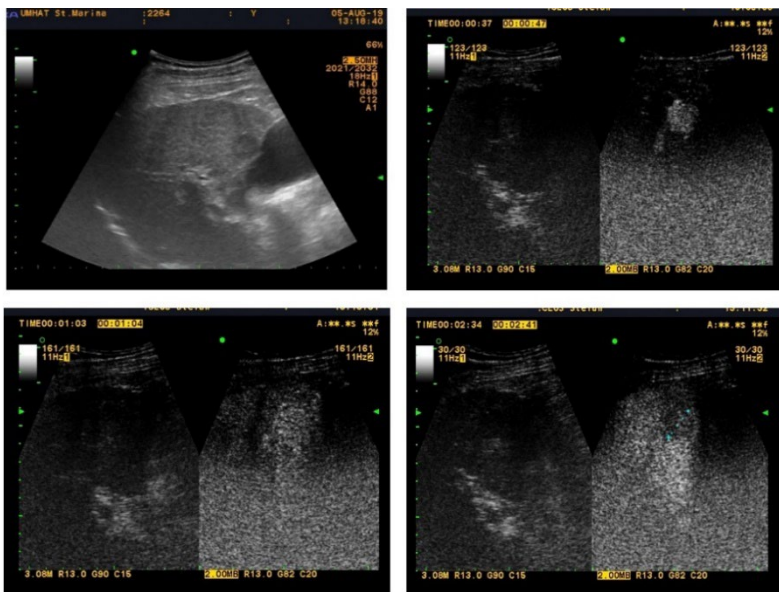
Фигура 3. B-mode и Doppler ехография при пациент с HBV-цироза

При всички пациенти е проведен УЗ анализ на чернодробната стеатоза в 4-степенна скала (липсва/лека/умерена/тежка), следвайки критериите и съпоставяйки чернодробен с бъбречен паренхим, където: степен 0 е нормална хомогенност (липса на стеатоза), степен 1 е леко увеличение на ехогенността на чернодробния паренхим, в сравнение с паренхима на десния бъбрек при ясно изображение на диафрагма и на стените на портална вена (лека стеатоза); степен 2 е умерено увеличение на ехогенността на чернодробния паренхим, при леко нарушено изобразяване на диафрагма и стените на

интрахепаталните чернодробни съдове (умерена стеатоза) и степен 3 е значително увеличение на ехогенността на чернодробния паренхим с лоша до липсваща визуализация на диафрагма и стени на портална вена, както и на задните субдиафрагмални участъци от чернодробния паренхим, заради изразеното отслабване на УЗ вълна в дълбочина (тежка стеатоза).

При наличие на колатерали/портосистемни абдоминални шънтове и асцит информацията е отбелязана допълнително. Установяването на огнищни чернодробни лезии поставя пациента като съмнителен за ХЦК, с последващо уточняване с контрастно-усилен образен метод- КУЕ (контрастно-усилена ехография), КТ (контрастно-усилена компютърна томография) на абдомен, МРТ (контрастно усилена магнитно-резонансна томография) на абдомен.

Пациентите с *de novo* огнищни чернодробни лезии, дефинирани като бенигнени (напр. регенераторни възли) или с размер под 1 см са проследени на 3-6 месеца с образни изследвания с контрастно усилване и допълнително с туморни маркери (AFP, СА 19-9). Фигура 4 показва изображения при ехографски преглед на пациент с компенсирана HBV цироза със солитарна огнищна лезия в близост до жлъчния мехур, установена в хода на лечението с ламивудин; при контрастна ехография се установява хиперусилване в артериална фаза, последвано от забавен и постепен частичен wash-out.



Фигура 4. Ехография, включително с контрастно усилване (артериална, портална и късна венозна фаза след апликация на SonoVue) при пациент с цирроза и огнищна лезия.

2.5. Чернодробна биопсия

Преди започване на антивирусното лечение при част от пациентите (n=53) е извършена чернодробна биопсия с асистенция на УЗ, чрез техниките за аспирационна биопсия (по Menghini) или с режеща игла (тип Tru-cut). Анализирани са материалите при наличие на поне 1 см биопсичен материал. Оценката на стадий на активност и фиброза и наличие на стеатоза е проведена в Клиника по обща и клинична патология към УМБАЛ „Св. Марина“. Степента на възпаление е преценена в 4-степенна скала като липсваща (A0), лека (A1), умерена (A2) и изразена (A3) хистологична активност, според съчетаната оценка на порталното и перипортално възпаление (interface хепатит) и фокусите на

лобуларна некроза. Фиброзният стадий е изследван според 5-степенна скала по METAVIR от патолог на УМБАЛ “Св. Марина”. Съгласно METAVIR класификационната система фиброзата се оценява съответно от F0 до F4, по критерии в таблица 1.

Таблица 1. Оценка на фиброзния стадий по системата METAVIR.

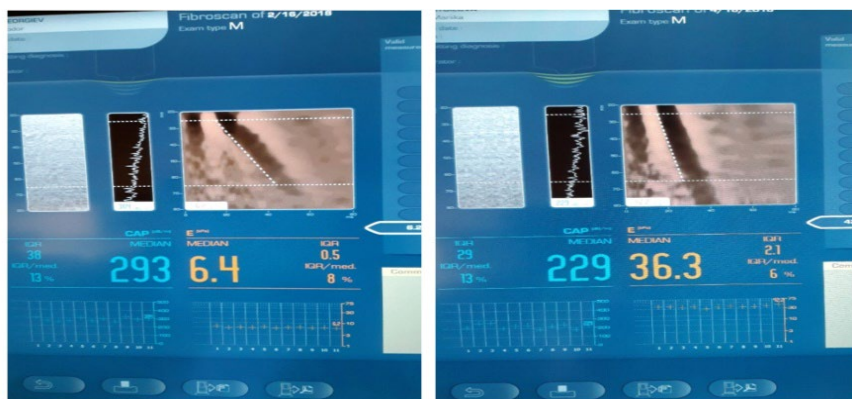
F	Описание
0	Липсва фиброза (F0)
1	Звездовидно разширение на порталните пространства без формиране на септи (F1)
2	Разширени портални пространства с единични септи (F2)
3	Множество фиброзни септи без цироза (F3)
4	Цироза (F4)

При пациентите с категорични данни за чернодробна цироза (клинични, лабораторни, УЗ данни, ендоскопски критерии за портална хипертония) чернодробна биопсия не е извършвана. Морфологично изследване на черния дроб не е проведено и при пациенти с висок риск от усложнения при инвазивното изследване (основно прием на антиагреганти/антикоагуланти) и при индикация за антивирусно лечение: прием на имunosупресори за основно заболяване.

2.6. Транзиентна еластография и УЗ shear-wave еластография

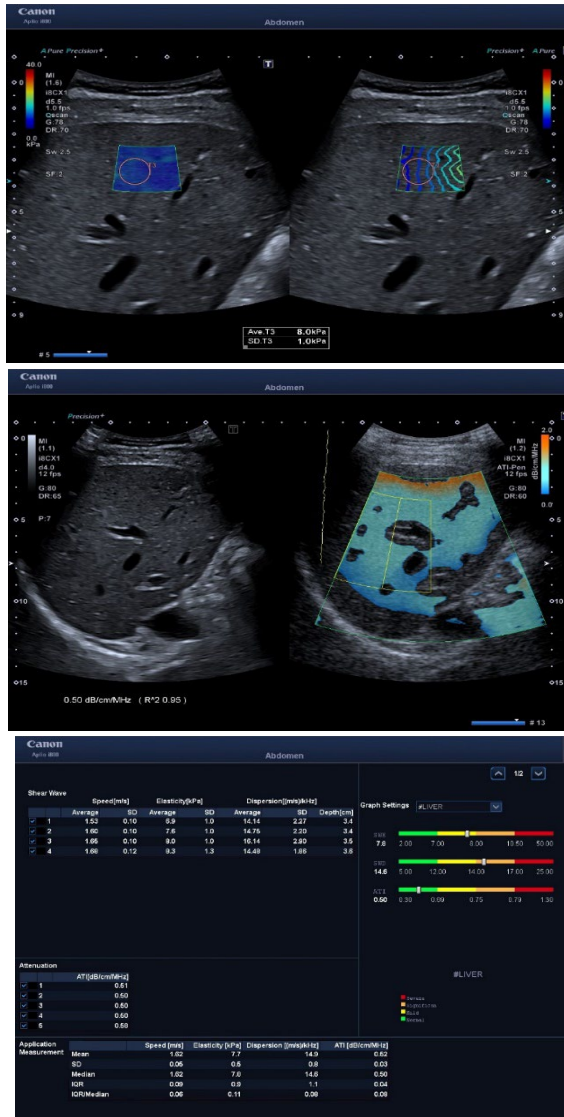
Данни от транзиентна еластография (вибрационно-контролирана транзиентна еластография, VCTE) преди започване на антивирусно лечение са налице при 8 болни. Методът е извършван в клиника по гастроентерология на УМБАЛ „Св.Марина“ чрез апарата FibroScan® 402 или 502 с две сонди M и XL, според хабитуса на пациента, основно с M-

сонда. Чернодробната плътност (LS) е определена като средна стойност (median-a) от поне 10 валидни измервания в единици kPa. Правила за качество на изследването са IQR < 30% или 1/3 от средната стойност. Резултатите от FibroScan® варират от 2,5 kPa до 75 kPa. Между 90–95% от здравите хора, без чернодробно заболяване имат чернодробна плътност <7,0 kPa (медианата е 5,3 kPa). Оценката на стадия на фиброзата F1-F4 е според приетите гранични стойности (cut-offs) и нормална еластичност се приема при стойности 5-5.5 kPa, F1 до 7 kPa, F2 до 10 kPa, F3 до 14 kPa, а цирроза (F4) над 14 kPa (119). Оценка на стеатозата е извършена с CAP (Controlled Attenuation Parameter) в dB/m с обхват на измерването между 100 и 400 dB/m. Оценка на степента на стеатоза S0-S3 е според граничните стойности и S0 при стойности < 238 dB/m, S1 при стойности от 238 до 259 dB/m, S2 при стойности от 260 до 290 dB/m и S3 при стойности > 290 dB/m (120). На фигура 5 е показан резултат от ТЕ при пациент с СНВ и при пациент с HBV-свързана компенсирана цирроза.



Фигура 5. Транзиентна еластография (FibroScan) с оценка на чернодробна плътност и параметър за атенюация, респективно стеатоза.

При 68 пациенти е извършена УЗ 2D shear-wave еластография (2D-SWE) чрез ултразвуковата система Aplio i800 (Canon). Интеркостално, при постигане на оптимален прозорец и добро изображение в B-mode е стартирана УЗ-модалност и при задържане на дишането чрез поне 3 измервания е изчислена чернодробната плътност в kPa, отново като средна стойност (“median-a”) и доверителен интервал, при вариация в IQR до 30%. За контрол на качеството на измерването е използвана схемата на разпространение на вторичните, shear-wave вълни с цел избор на най-оптималния регион на измерване при дълбочина на паренхимата до 5 см от повърхността на трансдюсера. Фигура 6 показва измерване на чернодробната плътност чрез метода 2D-SWE. Най-добрите LS гранични стойности, оценени с 2D-SWE за оценка на стадия на чернодробна фиброза, са: $F \geq 1$ при $LS > 7,1$ kPa; $F \geq 2$ при $LS > 7,8$ kPa; $F \geq 3$ при $LS > 8$ kPa и за $F=4$ при $LS > 11,5$ kPa (121). Допълнително, чрез Aplio i800 бе използвана и възможността за оценка на параметъра за отслабване на УЗ вълна в дълбочина (индекс за атенюация, АТІ) с цел оценка на степента на чернодробна стеатоза. В съответствие с препоръките на производителя, АТІ е получен в числена стойност (единици dB/cm/MHz) и като степен на стеатоза с граници до 0.63 липсваща стеатоза, до 0.72 лека стеатоза, до 0.82 умерена стеатоза и над 0.82 тежка стеатоза.



Фигура 6. 2D-SWE еластография при пациент с СНВ с изчисление на чернодробната плътност (LS, kPa) и допълнително калкулиране на параметър за стеатоза (ATI), като част от мултипараметричната ехография на пациенти с СНВ.

При пациенти с поне 2 измервания на LS е оценена динамиката в чернодробната плътност (n=39).

2.7. Фиброгастродуоденоскопия

Фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) е извършена при пациентите с клинични, лабораторни и образни данни за чернодробна цирроза с оглед оценка на белезите на портална хипертония- наличие на хранопроводни и стомашни варици, наличие на портална хипертензивна гастро и дуоденопатия (ПХГ, ПХД). Изследванията са проведени с ендоскопски системи Fujifilm ED-580XT и Olympus EXERA II CV-180. На фигура 7 са показани снимки от ендоскопския протокол на пациент с HBV-цироза и данни за умерени варици на хранопровода и ПХГ.



Фигура 7. Ендоскопски критерии за портална хипертония при пациент с HBV-цироза.

3. Статистически методи

Данните от изходната характеристика на включената група пациенти и тяхното проследяване в хода на лечението се регистрираха в табличен документ (формат .xls), където с помощта на софтуера на Microsoft Excel се извършиха и статистическите аналитични методи и представянето на данните в графики. Приложиха са следните методи на статистически анализ:

3.1. Определяне на статистически величини: средна стойност; минимална (min) и максимална (max) стойност; стандартно отклонение (SD) при класификация на данните, представяне на обобщените им характеристики, както и тяхното честотно разпределение.

3.2. Статистическо оценяване (статистически изводи и заключения):

- Независим Т-тест при нормално (Гаусово) разпределение на данните при двойка параметри за оценка на динамиката в дадена непрекъсната величина и при сравняване на количествени средни стойности на две извадки.
- Непараметрични методи – в случаите, когато значението на признака е представено в номиналната, рангова или ординална скала: Mann-Whitney и Wilcoxon тест;
- Еднофакторен вариационен анализ (ANOVA) за сравняване на средните стойности на повече от две извадки; използван е post-hoc теста на Tukey.

3.3. Статистическо изследване на зависимости и проверка на хипотези:

- хи-квадрат (χ^2 -) метод – когато и двете променливи са в номиналната или ординалната скала с изчисляване на коефициенти на контингенцията и за търсене на значими разлики в честотното представяне на категорийни стойности.
- корелационен анализ за изследване на силата на връзката между две променливи с изчисляване на коефициент на корелация, (r, коефициент на

Pearson); единични и множествени корелационни зависимости;

Получените корелационни коефициенти интерпретирахме на база: $r=0$ (липсва връзка); $r=0.0-0.1$ (много слаба връзка); $r=0.1-0.3$ (слаба връзка); $r=0.3-0.5$ (умерена връзка); $r=0.5-0.7$ (значителна връзка); $r=0.7-0.9$ (силна връзка); $r=0.9-1.0$ (много силна връзка).

- непараметричен (бисериален) корелационен анализ при променливи с характеристика на категории;
- многофакторен (множествен) регресионен анализ – при изследване общото влияние на 2 или повече показателя върху даден резултат; изчисляване на регресионни коефициенти (β_1); коефициент на множествена детерминация (R^2); моделиране на връзките чрез създаване на регресионен модел.

3.4. Графичен анализ – графично изобразяване на статистическите данни

Статистически значима разлика се отчете при стандартното равнище на значимост, т.е. при $p \leq 0.05$. Анализите се извършиха от докторанта.

Резултати и обсъждане

1. Изходни характеристики на пациентите с хронична HBV инфекция

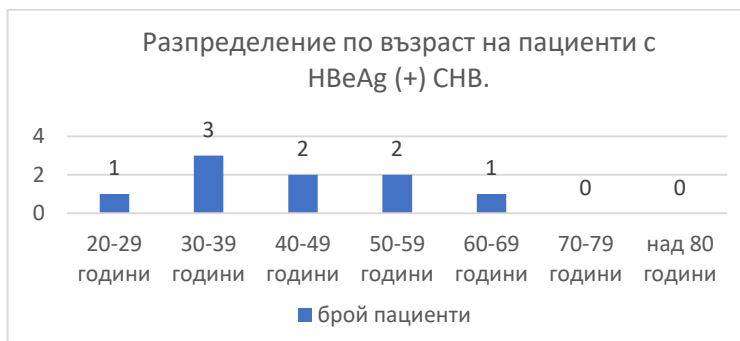
1.1. Обща характеристика

В проучването са включени 84 последователни пациента с хронична HBV инфекция от регистъра на Клиниката по гастроентерология: 29 жени и 55 мъже, на средна възраст 57 години (min 29, max 81 години, SD 12.8

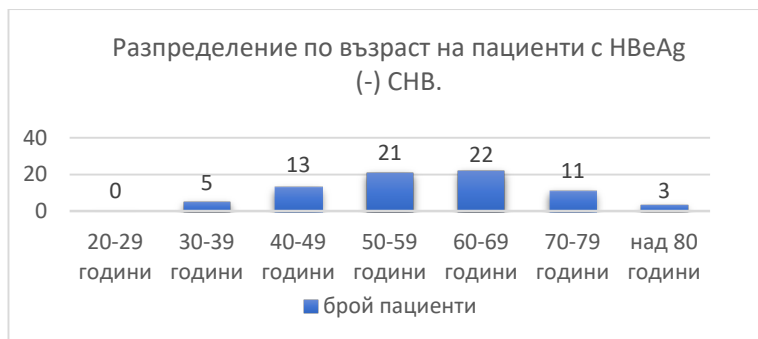
години). **Честотата на HBeAg-негативният СНВ доминира, $n=75$ (89.3%), като останалите 9 болни (10.7%) са с изходни данни за HBeAg-позитивен СНВ.**

Средната възраст на HBeAg-позитивните пациенти е 43.1 години (min 29, max 62, SD 12.1). Разпределението, спрямо възрастта при HBeAg (+) СНВ е: 1 пациент в групата 20-29 години, 3 пациенти в групата 30-39 години, 2 пациенти в групата 40-49 години, 2 пациенти в групата 50-59 години и 1 пациент в групата 60-69 години (Фигура 8).

Средната възраст на HBeAg- негативните пациенти е 58.1 години (min 33, max 81, SD 12.04). Разпределението, спрямо възрастта при HBeAg (-) СНВ е: 5 пациенти в групата 30-39 години, 13 пациенти в групата 40-49 години, 21 пациенти в групата 50-59 години, 22 пациенти в групата 60-69 години, 11 пациенти в групата 70-79 години и 3 пациенти в групата над 80 години (Фигура 9). **Открива се статистически значима разлика във възрастта на пациентите, спрямо изходния HBeAg, в полза на по-млада възраст на пациентите с HBeAg (+) СНВ ($p=0.00003$).**



Фигура 8. Разпределение по възраст на пациенти с HBeAg (+) СНВ.



Фигура 9. Разпределение по възраст на пациенти с HBeAg (-) CHB.

Данни за преболедуван остър хепатит В има при 5 пациенти (5.8%) и всички те са в групата на HBeAg (-) CHB. Така, давността на инфекцията в повечето болни е неизвестна, но времето от диагностициране на HBsAg (+) е средно 12.5 години (между 1 и 25 години). Поводът за установяване на HBsAg (+) са най-често завишени стойности на AST и ALT при рутинни или профилактични лабораторни изследвания, назначени от общопрактикуващ лекар, скрининг за вирусни хепатити в хода на стартиране на имunosупресивна терапия или анамнеза за остър вирусен хепатит В.

Перинатално заразяване може да се предположи при 4 пациенти (4.7%).

Фамилност на HBV инфекцията (близки в семейството с HBV) е налице при 9 пациенти (10.7%).

Четири пациенти (4.7%) съобщават за системна консумация на повече от 1 или 2 питиета/дневно по време на антивирусното лечение, от които 2 мъже и 2 жени.

Изходни данни за наднормено тегло или обездитас е налице при 13 пациенти (15.4%).

1.2. Данни от анамнезата и физикалния преглед

Повечето пациенти (n=60, 71.4%) имат безсимптомно протичане на СНВ. В 28.5% от случаите болните описват непостоянна, епизодична тежест в дясно подребрие. В проучването включихме и 1 пациентка с хоспитализация по повод тежък епизод на остра чернодробна декомпенсация, с иктер, плътна значима хепатомегалия и напрегнат асцит, която в следствие загина от усложненията на чернодробната цироза – остра тромбоза на v.portae, спонтанен бактериален перитонит, чернодробна енцефалопатия, остро бъбречно увреждане. Неколкократните хоспитализации в Клиника по ГЕ при тази пациентка изключиха вирусологичен пробив в хода на терапията с ламивудин и нова вирусна ко-инфекция и малигнизация на цирозата.

1.3. Придружаващи заболявания

По отношение на придружаващите заболявания, такива се регистрираха при 44.4% от пациентите с HBeAg (+) СНВ и при 73.6% от пациентите с HBeAg (-) СНВ. В групата на HBeAg (+) СНВ се описаха следните заболявания: гастроезофагеална рефлуксна болест (n=1); язвена болест (n=1); ЗД тип 2 (n=1); хипертонична болест (n=1). Интерес представлява съчетанието на HBeAg (+) СНВ и автоимунна патология: 1 пациентка е с тиреоидит на Хашимото, а друга е с автоимунен васкулит, протичащ подобно на пурпура на Шьонлайн-Хенох и провежда поддържаща имunosупресивна стероидна терапия. При болните с HBeAg (+) СНВ липсва анамнеза за онкологично заболяване.

В групата на пациентите с HBeAg (-) CHB: 37.3% са с хипертонична болест (n=28); 10.6% са с дислипидемия (n=8); 1.3% са с язвена болест (n=1), 13.3% са с ревматоиден артрит (n=10), 2.6% са с псориазис (n=2), 1.3% с дифузен мембранозен гломерулонефрит (n=1), 1.3% с тиреоидит на Хашимото (n=1), 1.3% с болест на Крон (n=1), 1.3% с доброкачествена простатна хиперплазия (n=1), 1.3% с подагра (n=1), 1 пациент 1.3% с Паркинсонова болест (n=1), 1.3% с умерена умствена изостаналост (n=1), 1.3% с параноидна шизофрения (n=1), 1.3% с епилепсия (n=1), 1.3% с бронхиална астма (n=1) и 1.3% с терминална бъбречна недостатъчност, провеждащ хроничен диализ (n=1).

Анамнеза за онкологично заболяване имат 5 пациенти (6.6%) с HBeAg (-) CHB:

ендометриален карцином в комбинация с Неходжкинов В-клетъчен лимфом (n=1); карцином на млечната жлеза (n=1); карцином на дебелото черво (n=1); синоназален карцином (n=1); феохромоцитом (n=1). По време на лечението се регистрират три неоплазми с извънчернодробна локализация- Неходжкинов В-клетъчен лимфом, феохромоцитом и синоназален карцином. Допълнително, в проучването участва и пациент с хепатоцелуларен карцином, диагностициран при първоначалното уточняване преди антивирусното лечение.

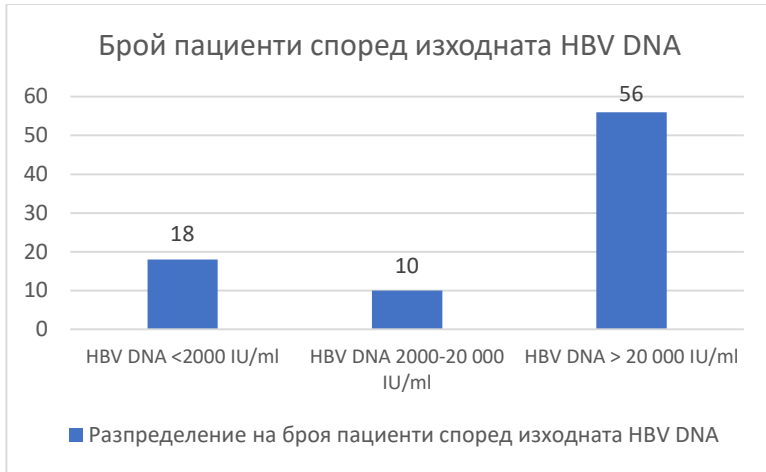
Честотата на ЗД в наблюдаваната група от 84 пациенти е 15.4% (n=13), като всички пациенти са със ЗД тип 2.

1.4. Индикации за антивирусно лечение

В изследваната група пациенти, индикациите за антивирусно лечение включват HBeAg (-) активен CHB, HBeAg (+) активен CHB, изходна чернодробна цироза и имunosупресивно или биологично лечение при хронична HBV инфекция. Съответно, HBeAg (+) активен CHB бе налице при n= 8 (9.5%); HBeAg (-) активен CHB при n=41 (48.8%); чернодробна цироза при n= 24 (28.5%) и имunosупресивно или биологично лечение при хронична HBV инфекция при n=11 (13%). Пациентите с превантивен прием на NA са с HBeAg (-) хронична HBV инфекция. В групата болни с цироза не се регистрираха случаи с изходни данни за позитивен HBeAg.

1.5. Изходен вирусен товар

Средната изходна стойност на HBV DNA е 55 427 912 IU/ml (min 7 IU/ml, max 955 112 640 IU/ml, SD 191 415 874 IU/ml). Пациентите с изходна HBV DNA < 2000 IU/ml са 18 (21.4%), тези с HBV DNA между 2000-20 000 IU/ml са 10 (12%), а тези с **HBV DNA > 20 000 IU/ml представляват най-големия дял от лекуваните - 56 (66.6%)** (Фигура 10).



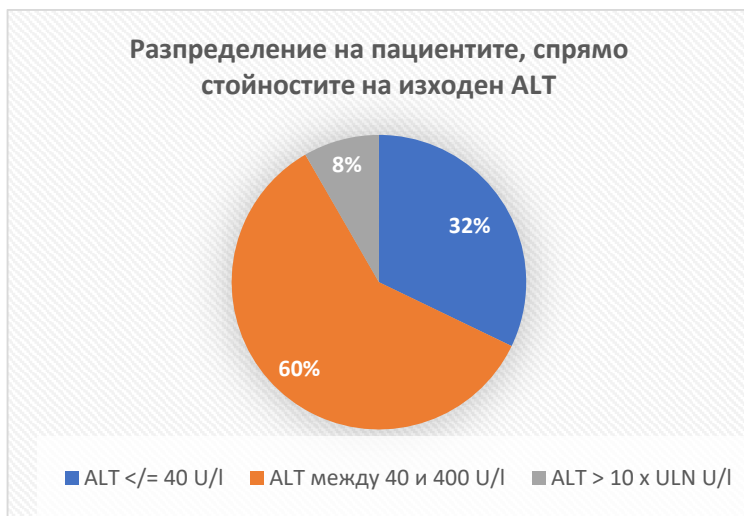
Фигура 10. Разпределение на броя пациенти, според категориите вирусен товар.

Средната изходна стойност на HBV DNA при пациенти с HBeAg (+) е 240 135 294 IU/ml (min 267 IU/ml, max 955 112 640 IU/ml, SD=397 152 669 IU/ml), а при пациенти с HBeAg (-) е 33 554 670 IU/ml (min 7 IU/ml, max 867 000 000 IU/ml, SD=140 119 400 IU/ml). **Открива се статистически значима разлика в изходната HBV DNA, според изходния HBeAg, като по-висок вирусен товар се открива преди стартиране на терапията в групата с HBeAg (+) СНВ (p=0.0008) (Таблица 2).**

1.6. Изходна биохимична активност

Средната изходна стойност на ALT е 67 U/l (SD 158.4 U/L, min 10 U/L, max 958 U/L). С ALT ≤ 40 U/l са 32% (n=27), а 60% (n=50) са с биохимична активност и ALT между 40 и 400 U/l. Делът на пациентите с изразена трансаминазна активност, ALT > 400 U/l (10xULN) е 8% (n=7) (Фигура 11). Тежният цитолитичен тласък не е свързан с иктер при нито един от пациентите. **Корелационният анализ не показва**

връзка между равнището на изходен ALT и изходната HBV DNA ($r=0.02$).



Фигура 11. Разпределение на пациентите, според изходната ТА активност.

Средната изходна стойност на ALT при пациенти с HBeAg (+) е 189 U/l (min 56 U/l, max 530 U/l, SD 154 U/l, а при пациенти с HBeAg (-) е 128 U/l (min 10.3, max 958 U/l, SD 174 U/l. Въпреки тенденцията за по-висока биохимична активност при HBeAg (+) СНВ, статистическият анализ не установи значима разлика в изходната стойност на ALT, спрямо HBeAg статуса ($p=0.15$) (Таблица 7).

Таблица 2 обобщава изходната характеристика на включените пациенти, включително и типа на настоящото НА лечение, със съпоставяне според HBeAg – статуса. Нашите данни са в съзвучие с докладваните от други български колективи. Желев Д. докладва по-висок дял на пациенти с HBeAg (-), по-ниска виремия при HBeAg, по-

млада възраст на пациентите с HBeAg (+), но сходна трансаминазна активност при HBeAg (+) и HBeAg (-). Пациентите с HBeAg (-) са с по-напреднала фиброза, което затвърждава тезата, че HBeAg (-) СНВ настъпва на по-късен етап в хода на хроничната инфекция с HBV, след сероконверсия на HBeAg (122). Герджикова К. също докладва по-малък процент на HBeAg (+) сред разгледаната от нея група пациенти с СНВ-асоциирана цирроза (123).

Таблица 2. Изходни характеристики на пациентите с HBeAg (+) и HBeAg (-) СНВ

Параметър	HBeAg (+) статус	HBeAg (-) статус	p value
Брой включени пациенти, n (%)	9 (10.7%)	75 (89.3%)	
Възраст (години)*	43.1 +/- 12.1	58.1 +/- 12.04	p=0.00003
Изходна HBV DNA (IU/ml)*	240 135 294 +/- 397 152 669	33 554 670 +/- 140 119 400	p=0.0008
Изходен ALT (U/l)*	189 +/- 154	128 +/- 174	p=0.15
Фаза на хронична HBV инфекция, n (%)			
- хроничен активен хепатит			
- хронична HBV инфекция	8 (89%) 1 (11%)	41 (54.7%) 10 (13.3%)	
- чернодробна цирроза		24 (32%)	
Изходен стадий на болестта, n (%)			
F<2		24 (32%)	
F≥2	5 (56%)	27 (36%)	
F4	4 (44%)	24 (32%)	
Вид NA прием, n (%)			
LAM	1 (11%)	21 (28%)	
ETV		2 (3%)	
TDF	8 (89%)	52 (69%)	

*Данните са представени като **средна стойност +/- стандартно отклонение**

1.7. Изходен стадий на чернодробното заболяване

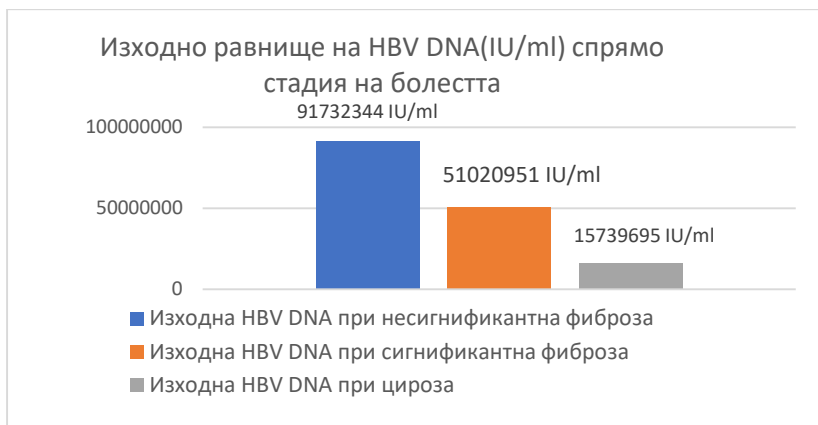
Пациентите с начален стадий на болестта (липсва или начална фиброза) ($F < 2$) са 29 (34%), тези със сигнификантна / септална или мостова фиброза ($F \geq 2$) са 31 (37%) и тези с цироза ($F4$) са 24 (29%) (Фигура 12). Болните в стадий на цироза са с HBeAg (-) статус.



Фигура 12. Изходен стадий на чернодробната болест.

При изходни данни за цироза се изчисли класът на напреднало чернодробно заболяване, според Child-Turcotte-Pugh системата. Установи се, че в повечето случаи болните са с компенсирана, клас „А“ цироза ($n=16$, 67%). Декомпенсирана цироза изходно, преди започване на НА лечение с клас В по СТВ е налице при 21% ($n=5$) и клас „С“ при 12% ($n=3$). За по-добра прогностична оценка се изчисли и MELD Na скор, чрез онлайн калкулатор (MDCalc). При половината от пациентите с цироза ($n=12$) MELD Na скорът е ≤ 9 точки, в 42% ($n=10$) MELD Na е между 10 и 19 точки и при 2 болни (8%) MELD-Na е с висока стойност, съответно между 20 и 29 точки.

Извърши се сравнителен анализ на изходния вирусен товар, според стадия на болестта. Така, средната изходна стойност на HBV DNA при пациентите с несигнификантна фиброза е 91 732 344 IU/ml (min 7 IU/ml, max 955 112 640 IU/ml, SD 273 721 340 IU/ml), при пациентите със сигнификантна фиброза е 51 020 951 IU/ml (min 169 IU/ml, max 777 622 784 IU/ml, SD 152 509 205 IU/ml) и при пациентите с цирроза е 15 739 695 IU/ml (min 7 IU/ml, max 135 969 024 IU/ml, SD 35 989 024 IU/ml). **Следователно, пациентите с начален стадий на болестта имат статистически значим по-висок вирусен товар. В стадий на цирроза, обратно, изходното равнище на HBV DNA е най-ниско ($p=0.04$, ANOVA тест) (Фигура 13).**



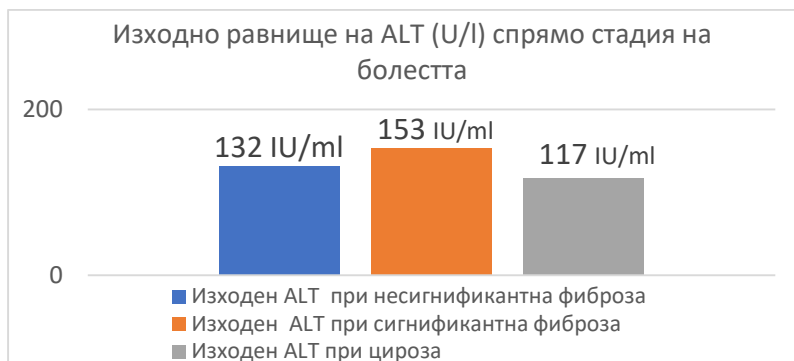
Фигура 13. Изходно равнище на HBV DNA, според стадия на чернодробната болест.

Равнището на HBV DNA е много различно във фазите на хроничната HBV инфекция. От друга страна, данните в литературата са противоречиви, относно връзката между степента на HBV репликация и стадия на болестта. HBV DNA нивото не се асоциира с хистологично доказани

стадий на фиброза, включително при HBeAg (-) CHB (124). При HBeAg (-) CHB има и данни за повишаване на вирусния товар при нарастване на фиброзния стадий (125). Високият вирусен товар е един от най-силните предиктори за прогресия на чернодробната болест и развитието на усложнения, включително HCC. Приема се, че HBV DNA нивото е фактор за HCC, независимо от HBeAg статуса, активността на ALT и данните за цироза (126). От друга страна е възможно при напредване на чернодробната цироза с развитие на декомпенсация равнището на HBV DNA да намалее, поради недостатъчни ресурси за подкрепяне на HBV репликацията или повишен клирънс на HBV в кръвообращението. В нашето проучване установихме сигнификантно по-нисък изходен вирусен товар в групата с цироза, което може да се дължи на малкия брой включени пациенти с напреднало чернодробно заболяване, както и поради инициране на антивирусно лечение при всеки болен с цироза, независимо от равнището на HBV DNA. За сравнение, в проучването на Герджикова К., средното ниво на HBV DNA при пациенти с цироза, предимно компенсирани, е 7 489 304 IU/ml и честотата на случаите с HBV DNA < 2000 IU/ml е само 25%, но отново анализът е при малка група болни (123). Оценката на динамиката в равнището на HBV DNA в спонтанната еволюция на хроничната HBV инфекция е затруднена, поради хетерогенността на популациите пациенти в различните динамични фази на инфекцията, влиянието на генотипа на HBV и нуждата от инициране на антивирусно лечение.

Извърши се оценка на биохимичната активност при пациенти с различен стадий на болестта. Така, средната изходна стойност на ALT е 132 U/l при пациенти с F<2 (min

14 U/l, max 958 U/l, SD 202 U/l), 153 U/l в групата на $F \geq 2$ (min 12 U/l, max 615 U/l, SD 134 U/l) и 117 U/l (min 10.3 U/L, max 559 U/l, SD 115 U/l) при пациенти с цироза. Следователно, липсва статистически значима разлика между изходните стойности на биохимична активност при пациентите с начален, интермедиерен и напреднал стадий на болестта при анализиранияте болни ($f=0.4$, $p=0.6$, ANOVA анализ с Post Hoc теста на Tukey) (Фигура 14). Общо, индицираните за лечение са с умерена трансаминазна активност.

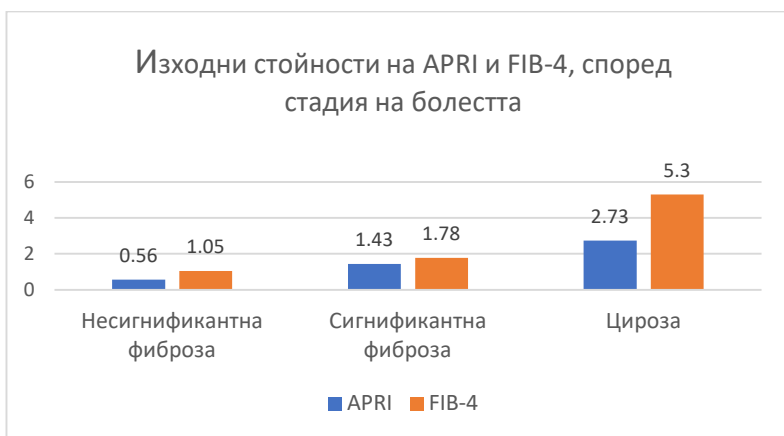


Фигура 14. Изходно равнище на ALT, според стадия на болестта

1.8. Неинвазивни, индиректни маркери за фиброза (NITs) преди лечение

Изходно, преди стартиране на антивирусната терапия, при ретроспективен анализ, се изчислиха индиректните параметри за фиброза APRI и FIB-4. Средната стойност на APRI за цялата група ($n=85$) е 1.49 (min 0.10, max 13.5, SD 2.3). Средната стойност на FIB-4 е 2.54 (min 0.4, max 14.6, SD 3.02). Стадият на болестта (F0-F4) се асоциира със стойността на APRI (умерена положителна връзка, $r=0.5$) и FIB-4 (умерена положителна връзка, $r=0.6$,

непараметричен корелационен анализ). Допълнително, в категориите за фиброза пациентите имат статистически значима разлика в индиректните серумни маркери: средната стойност на APRI при пациентите с $F < 2$ е 0.56 (min 0.2, max 4.1, SD 0.69), при $F \geq 2$ е 1.43 (min 0.2, max 9, SD 1.9) и при $F4$ е 2.73 (min 0.1, max 13.5, SD 3.32); средната стойност на FIB-4 при пациентите с $F < 2$ е 1.05 (min 0.4, max 2.15, SD 0.57), при $F \geq 2$ е 1.78 (min 0.46, max 10.5, SD 1.79) и при $F4$ е 5.3 (min 0.52, max 14.8, SD 3.9). Фигура 15 показва равнището на биомаркерите за фиброза, според изходната инвазивна оценка на пациентите с HBV инфекция чрез чернодробна биопсия или при категорични данни за портална хипертония/цироза. Макар и в малка извадка на наблюдение, този анализ показва, че **широко достъпните и лесни за калкулиране показатели APRI и FIB-4 са полезни за изходна оценка на пациентите с хронично заболяване при HBV инфекция, с по-добра информативност за маркера FIB-4.**



Фигура 15. Изходни стойности на APRI и FIB-4, според стадия на болестта.

Приложението на индиректните серумни маркери за фиброза (NITs) APRI или FIB-4 в оценката на хепатит В е спорно, за разлика от обширните данни при пациенти с HCV инфекция. Общо, за потвърждаване на цироза могат да се приложат прагови стойности от APRI >2.0 и FIB-4 > 3.25, а за изключване на цироза съответно APRI < 1.0 и FIB-4 < 1.45. При HBV инфекция, обаче, посочените стойности за FIB-4 и APRI поставят съответно 23% и 24% от пациентите в т.нар. „сива зона“, в която не могат да бъдат класифицирани: 41% и 45% от случаите с цироза са неправилно определени като „без данни за цироза“ посредством приложението на рутинните гранични стойности на FIB-4 и APRI (127, 128). В дисертационния труд на Герджикова К. е посочено, че стойността на FIB-4 при пациенти с HBV цироза в над 70% е под 3.25 (123). Следователно, други правила за приложението на NITs трябва да се разработят при хепатит В и едно от предложенията е да се използва FIB-4 в стойност ≤ 0.70 за изключване на цироза при пациенти с HBV инфекция и възраст над 30 години, по данни от SONIC-B проучването (127). Причина за субоптималната диагностична точност на APRI и FIB-4 за класифициране на пациентите със септална, напреднала фиброза или цироза е изходно високата трансаминазна активност, респективно и AST. Следващи проучвания са необходими да дефинират прагови стойности на NITs в различните фази на HBV хроничната инфекция.

1.9. Антивирусно лечение

Настоящата терапия с NA е първи курс на лечение при 54 пациенти (63.5%) – „NA наивни“.

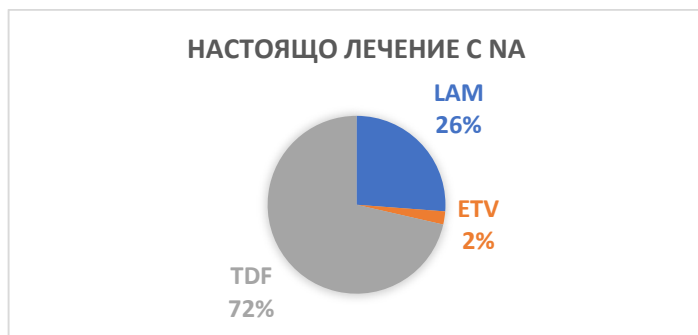
Предшестващо антивирусно лечение са провели:

- 14 пациенти (16.6%) с конвенционален или PEG-IFN-alpha, в рамките на 6 месеца (n=2), с прекъсване поради липса на биохимичен и/или вирусологичен отговор) или 12 месеца (n=12), с постигане на ремисия за период от 3 месеца до 10 години.
- 4 пациенти с TBV, като първи курс на противовирусна терапия, като медикаментът е преустановен, поради липса в аптечна мрежа при 3 болни и поради вирусологичен пробив и доказана медикаментозна резистентност към нуклеозидни аналози при 1 болен. При 3 пациенти TBV е втори курс на антивирусно лечение, след неуспешен режим с PEG-IFN-alpha или след замяна на LAM; отново при тези случаи TBV е преустановен, заради липса на медикамент (n=2) или резистентност (n=1). Обобщено, вирусологичен пробив при предшестващо лечение с TBV се регистрира при 2 от 7 пациенти в проучването (28%).
- 12 пациенти с lamivudine (LAM), преустановен, поради вирусологичен пробив и доказана резистентност към нуклеозидни аналози чрез молекулярно-биологично изследване (най-чести L180M, M204V, I80L, I204M мутации) при n=11 или в хода на обсъждане на лекарски колегиум за замяна на медикамента с TBV при n=1.

Така, предшестваща експозиция на НА имат 16 пациента (19%), като 13 от тях са с данни за генетична резистентност към нуклеозидни аналози.

Настоящият курс на лечение се провежда с Lamivudine (LAM) 100 mg при 26% (n=22), Entecavir (ETV) 0.5 mg при 2% (n=2) и Tenofovir (TDF) 245 mg при 72% (n=60). Фигура 16 показва типа на провежданото НА

лечение. Мотивация за стартиране на антивирусно лечение с първо поколение NA – LAM е: необходимост от бързо инхибиране на вирусната репликация при пациенти с напреднало заболяване и нисък вирусен товар и при терапия за профилактика на тласък на хепатит В в хода на имunosупресивно, биологично или цитостатично лечение.



Фигура 16. Актуално лечение с NA

Клиниката по гастроентерология към УМБАЛ „Св. Марина“ е реферативен център за проследяване и лечение на пациенти с хронични вирусни хепатити с традиции от началото на антивирусното лечение през 90-те години на ХХ-ти век. Добре създадения регистър е основа за натрупан опит и предпоставка за правилни решения. Настоящата извадка от 84 последователни пациенти, провеждащи NA терапия е малка част от общия брой случаи в центъра. Трябва да се отбележи липсата на клиничен опит в нашата страна с приложение на TAF.

Продължителността на терапията с NA в обхванатите пациенти е различна, варира между 1 и 20 години, средно 8.2 години. За систематизирането на болните,

според давността на НА приема те се категоризираха в групите:

- Терапия с НА с продължителност от 1 до 3 години: 11% (n=9);
- Терапия с НА над 3 години: 89% (n=75); от тях 39 % (n=29) провеждат лечение с НА \geq 10 години.

Следователно, настоящото проучване обхваща пациенти с дълготраен прием на НА, с висок дял, над 1/3 случаи с НА супресия повече от 10 години.

На този етап, в България липсва наблюдение на пациенти с НА дълготрайна терапия над 5 години.

Все още не разполагаме с достатъчно литературни данни, относно ефекта на дългогодишния прием на НА и т.нар. „доживотна“ терапия с НА не е добре проучена. Възможно е, удължаването на НА терапията след 10-та година да не води до значително повишаване на честотата на негативиране на HBsAg. Така, Yao-Chun и колектив докладват за загуба на HBsAg от 2.1% при 10-годишна терапия с високобарьерен НА, спрямо честота от 1.2% на 5-та година от приема на НА. От друга страна, с удължаване на лечението възникват проблеми с комплайънса от страна на пациента, описва се загуба на болни от проследяване и не на последно място кумулират финансовите разходи с отражение в здравните системи (39, 41, 129). Поради тези причини, съвременен проблем е разработването на критерии за безопасно спиране на НА. Появиха се много съобщения, в полза на краткотрайна терапия с НА и доказателства за покачване на процента на сероклирънс на HBsAg при кратък срок на приложение на НА. Остава обаче висок риска от вирусологичен и биохимичен пробив при

спиране на NA (108, 109, 110, 111). С този мотив, хепатолозите се обединяват в концепцията за продължително, доживотно лечение при напреднал стадий на хепатит В и цироза и продължава научния спор възможно ли е безопасното преустановяване на NA при подбрани пациенти (9).

2. Анализ на вирусологичния отговор чрез динамика в HBV DNA при пациенти с HBeAg (-) CHB

2.1. Начален вирусологичен отговор, след 6-12 месец от започването на антивирусно лечение

Вирусна супресия (дефинирана като HBV DNA < 10 IU/ml, според препоръките на EASL) на 6-12-ти месец от текущото лечение се отчита при 68% (n= 51) от пациентите с HBeAg (-) CHB. Според типа на приложения медикамент „ранния“ вирусологичен отговор се различава, като вирусна супресия постигат 80.9% (n=17) от лекуваните с LMV и 63.0% от лекуваните с NA с висока генетична бариера за резистентност TDF/ETV (n=34). Важно е да се има предвид, че 76.1% (n=16) от пациентите, на лечение с LAM са с изходна HBV DNA < 20 000 IU/ml, в сравнение с 20.3% (n=11) от пациентите на лечение с TDF или ETV. Таблица 3 показва честотата на начална вирусна супресия, дефинирана като HBV DNA < 10 IU/ml, според типа на приложения медикамент.

Таблица 3. Вирусна супресия на 6-12 месец, според прилагания NA

Вирусна супресия на 6-12 месец от NA: общо при 51/75 (68%)	
LAM (n=21)	80.9% (n=17)
TDF/ETV (n=54)	63% (n=34)

Неоткриваема HBV DNA на 6-12 месец от лечението се регистрира при 65% (n=49) от пациентите с HBeAg (-) CHB. Отново, по-висок дял на негативиране на HBV DNA се открива в групата на приемащите LAM: 76.1% (n=16), спрямо 61.1% (n=33) от лекуваните с мощните TDF/ETV, като данните са показани в таблица 4.

Таблица 4. Неоткриваема HBV DNA на 6-12 месец, според прилагания NA

Неоткриваема HBV DNA на 6-12 месец, според прилагания NA. 49/75 (65%)	
LAM (n=21)	76.1% (n=16)
172	61.1 % (n=33)

Обобщено, данните от литературата показват начален вирусологичен отговор при 72-73% и 90-93% от пациентите с HBeAg (-) CHB след 52 седмици лечение с LAM или TDF/ETV (130-148). По-високият начален вирусологичен отговор, наблюдаван с LAM при нас, свързваме със значително по-ниския изходен вирусен товар и включването на превантивен прием на LAM при на хроничен неактивен хепатит В, както и в терапията на пациенти с чернодробна цироза и минимална HBV репликация.

2.2. Вирусологичен отговор в хода на проследяване при продължителен прием на NA

При оценка на пациентите в хода на лечение се установи вирусна супресия (HBV DNA < 10 IU/ml) при общо 92% (n=69: съответно 85.7% (n=18) и 94.4% (n=51) от лекуваните с LAM или TDF/ETV. Данните за вирусна супресия при продължителна терапия са обобщени в таблица 5.

Таблица 5. Вирусна супресия в края на проследяването, според прилагания NA.

Вирусна супресия в края на проследяването, според прилагания NA. 69/75 (92%)	
LAM (n=21)	85.7% (n=18)
TDF/ETV (n=54)	94.4 % (n=51)

Честотата на негативиране на HBV DNA при последната визита в ГЕ клиника за оценка на антивирусното лечение е 87% (n=65). Неоткриваема (под ниво на детекция) HBV DNA се установява, с по-висока честота при приемащите TDF/ETV, спрямо пациентите с прием на LAM, съответно 89% vs. 80.9%. Следователно, първоначалната благоприятна динамика по отношение на инхибиране на вирусна репликация от LAM се загубва при продължителна терапия и става предпоставка за развитие на медикаментозна резистентност. Редица автори докладват предимството на високобарьерните NA пред нискобарьерните в посока на по-висок вирусологичен отговор, предвид нарастващата медикаментозна резистентнос. Герджикова К. също докладва най-слаба антивирусна активност на LAM (70.7%), спрямо оптималната на ETV/TDF (80-100%). Редица изследователи изтъкват предимството на високобарьерните NA, а именно че лечението с TDF за 3-4 години води до вирусна супресия при 92-100% от пациентите, а 99% са с вирусна супресия след 8 години лечение с TDF (135-139).

Таблица 6 показва вирусологичния отговор, оценен като трайно негативиране на HBV DNA в хода на терапията с NA.

Таблица 6. Неоткриваема HBV DNA в края на проследяването, според прилагания NA.

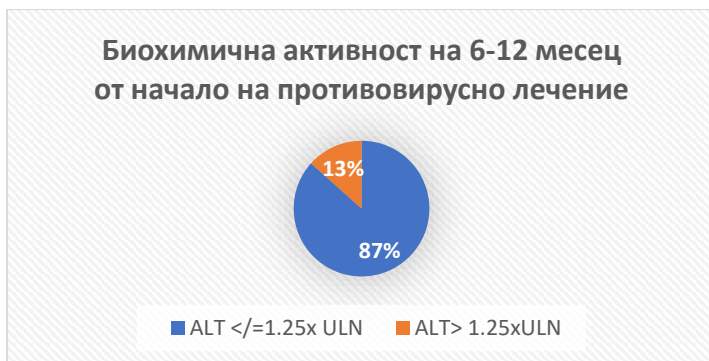
Неоткриваема HBV DNA в края на проследяването, според прилагания NA. 65/75 (87%)	
LAM (n=21)	80.9% (n=17)
TDF/ETV (n=54)	89 % (n=48)

3. Анализ на биохимичния отговор (активност на ALT) при пациенти с HBeAg (-) CHB

3.1. Биохимичен отговор от 6 до 12-ти месец от започване на антивирусното лечение

В периода 6-ти до 12-ти месец от началото на NA лечението 87% от пациентите са с начален биохимичен отговор (оценен като $ALT \leq 1.25 \times ULN$, според препоръките на EASL), фигура 26. Разликата в средната стойност на ALT изходно и на 6-12 месец от старта на лечение е статистически значима ($p=0.00001$). При останалите 13% от лекуваните персистира биохимична активност ($ALT > 1.25 \times ULN$) в първата година от приема на NA (Фигура 17).

Корелационният анализ на Pearson показва умерена връзка между нивото на HBV DNA и ALT на 6-12 месец ($r=0.54$, $p < 0.00001$).



Фигура 17. Биохимична активност на 6-12 месец от начало на противовирусно лечение

Анализът, според приложения медикамент показва, че съответно 90.4% (n=19) и 85.1% (n=46) от пациентите на лечение с LAM или TDF/ETV постигат начален биохимичен отговор и резултатите са показани в таблица 7.

Таблица 7. Биохимичен отговор (ALT <math>< 1.25 \times \text{ULN}</math>) на 6-12 месец, според прилагания NA

Биохимичен отговор на 6-12 месец, според прилагания NA. 65/75 (87%)	
LAM (n=21)	90.4% (n=19)
TDF/ETV (n=54)	85.1% (n=46)

Нашите данни показват висок процент на начален биохимичен отговор, който е по-висок в групата с LAM, което отново обясняваме с факта, че повечето пациенти, получаващи LAM са с хроничен неактивен хепатит или чернодробна цироза и тяхната изходна биохимична активност е значително по-ниска от тази на пациентите с хроничен активен хепатит, които предимно стартират с високобарьерен NA. Данните на водещи изследователи

показват сходен биохимичен отговор, независимо от вида на НА: 71-79% и 76-78% от пациентите с HBeAg (-) CHB са с начален вирусологичен отговор, на фона на 52-седмично лечение с LAM или TDF/ETV, съответно (130-148).

3.2. Биохимичен отговор в хода на продължителната терапия с НА при (-) HBeAg

В хода на антивирусното лечение с НА от средно 8 години честотата на биохимичен отговор леко се повишава, спрямо първоначалния дял от 87%, като достига 91%, фигура 18. Динамиката на активността на ALT изходно и в края на проследяването е статистически значима в посока редуциране ($p=0.00001$). Липсва асоциираност между равнището на ALT и това на вирусния товар при последната визита на пациентите в хода на терапията (Pearson $r=-0.04$, $p=0.7$). При анализиране на причините за липса на биохимичен отговор се установи стеатозно чернодробно увреждане при пациенти с метаболитни фактори, MAFLD (при 7 болни) и чернодробна инфилтрация при хепатоцелуларен карцином при 1 пациент.



Фигура 18. Биохимична активност на фона на лечение

В обхванатата група пациенти биохимичният отговор при лечение с ламивудин и при първа линия NA (TDF/ETV) е съответно 95% (n=20) и 89% (n=48) (таблица 8).

Таблица 8. Биохимичен отговор в хода на проследяване, според прилагания NA.

Биохимичен отговор в хода на проследяване, според прилагания NA. 68/75 (91%)	
LAM (n=21)	95% (n=20)
TDF/ETV (n=54)	89% (n=48)

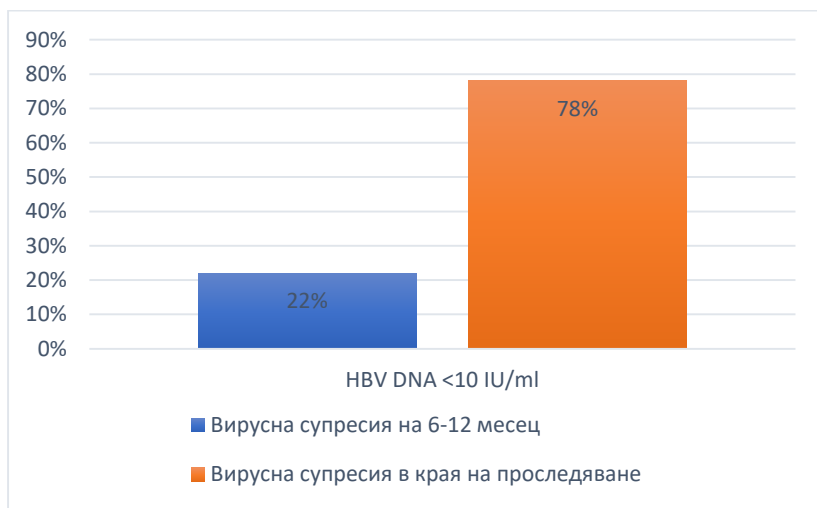
Запазва се предимството на по-висок биохимичен отговор в хода на продължителна терапия, в групата на LAM, но процентът на биохимичен отговор в групата на TDF/ETV също се покачва. Отчитаме сходен с данните, изнесени в литературата процент на биохимичен отговор в края на проследяването. Дългогодишното лечение с TDF води до нормализиране на ALT в 88% от случаите (134). В случаите на персистираща биохимична активност, на фона на вирусна супресия трябва активно да се търсят ко-фактори за чернодробна увреда, като ко-инфекция с друг хепатотропен вирус, съпътстваща MAFLD, алкохолна консумация. Пациентите, които не нормализират ALT са с по-висок риск от чернодробни усложнения и повишен риск от НСС. Кумулативната честота на чернодробни усложнения след шест години е 3.51% при пациенти с нормален ALT и 5.70% в групата без нормален ALT (35).

4. Анализ на вирусологичния отговор чрез HBV DNA при пациенти с HBeAg (+) CHB

4.1. Вирусологичен отговор на 6-12 месец от започване на антивирусното лечение и в хода на продължителна терапия

Вирусна супресия (HBV DNA < 10 IU/ml) на 6-12 месец от лечението се отчита само при 22% (n= 2) от пациентите с HBeAg (+) CHB. HBV DNA е неоткриваема на 6-12 месец аналогично при същите 2 болни - 22%.

Продължаване на NA терапията повишава честотата на вирусна супресия до 78% (n=7), а при 6 болни (66%) HBV DNA е под нивото на детекция в при последната визита в хода на лечението. Фигура 19 съпоставя ранния вирусологичен отговор с честотата на инхибиране на вирусната репликация при продължително лечение.



Фигура 19. Вирусна супресия на 6-12 месец и в края на проследяване при пациенти с HBeAg (+) CHB.

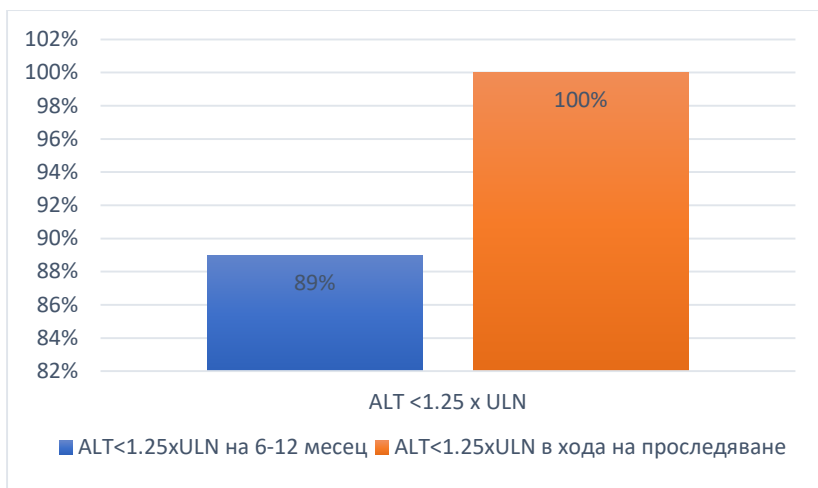
Отчитаме значително нарастване на дела пациенти с вирусна супресия на фона на продължително лечение с NA. 36-44% и 76% от пациентите с HBeAg (+) CHB са с HBV DNA <60-80 IU/ml след 52 седмици лечение с LAM или TDF, съответно (140, 149-155). 97% от пациентите с HBeAg (+) CHB са с вирусна супресия (HBV DNA <10 IU/ml), на фона на 5-годишно лечение с TDF (140, 141, 156). Началният вирусологичен отговор е по-нисък при пациенти с HBeAg (+) CHB, предвид по-високият изходен вирусен товар, в сравнение с HBeAg (-) CHB, което се потвърди и в изследваната от нас група. Продължителното лечение с високобарьерен NA показва оптимална вирусна супресия както при HBeAg (-), така и при HBeAg (+) CHB. Тук трябва да се има предвид значително по-малкия брой пациенти с HBeAg (+) CHB, разгледани от нас.

5. Анализ на биохимичния отговор при пациенти с HBeAg (+) CHB

5.1. Биохимичен отговор на 6-12 месец от започване на антивирусното лечение при HBeAg (+) CHB и в хода на продължителен прием на NA

Всички пациенти с HBeAg (+) статус имат трансaminaзна активност (ALT >1.25x ULN) преди инициране на антивирусното лечение. Ранен биохимичен отговор се регистрира при 89% (n=8). Открива се статистически значима разлика в динамиката на активността на ALT изходно и на 6-12 месец от начало на лечението в посока подобрене (p=0.004). Установи се умерена зависимост между равнището на HBV DNA и активността на ALT на 6-12 месец от началото на лечението (Pearson r=0.56). В хода на продължителното лечение всички пациенти

нормализират ALT. Открива се статистически значима разлика в средната стойност на ALT изходно и в края на проследяването ($p=0.003$) ($n=9$). Фигура 20 обобщава честотата на биохимичен отговор в първата година и при продължителна NA терапия.



Фигура 20. Разлика в дела пациенти с биохимична активност на 6-12 месец и в края на проследяването при HBeAg (+) СНВ

Отчитаме нарастване на дела пациенти без биохимична активност по време на лечение с NA. Водещи изследователи докладват, че 68% от пациентите с HBeAg (+) СНВ нормализират ALT след 52-седмично лечение с TDF, а 73% са без биохимична активност на фона на 5-годишно лечение с TDF (140, 141, 156).

6. Анализ на вирусологичния отговор при HBeAg (+) СНВ, чрез динамика на HBeAg.

Честотата на пълна HBeAg сероконверсия (трайно негативиране на HBeAg с поява на anti HBe Ab) се регистрира при 67% (n=6) от лекуваните. Този благоприятен изход се отчете след **средно 4.3 години приложение на NA** (min 1 година, max 12 години, SD 4.17 години). Останалите 3 пациенти не постигат негативиране на HBeAg и това налага продължаване на NA лечението, като то се явява дългогодишно, над 3 години. Фигура 21 показва честотата на HBeAg сероконверсия при лекуваните с NA.



Фигура 21. Сероклирънс на HBeAg с формиране на antiHBe, на фона на лечение с NA.

Сероклирънсът на HBeAg е една от целите на терапията с NA при пациентите с HBeAg (+) СНВ. Процентът на сероклирънс на HBeAg при приложение на високобариерен NA е нисък по време на първата година, но нараства в хода на лечението. Обобщено, по литературни данни, 5-годишното лечение с TDF води до загуба на HBeAg при

близо половината от пациентите и формиране на anti HBe антитела при 40% (138, 156).

7. Анализ на вирусологичния отговор чрез равнището на qHBsAg

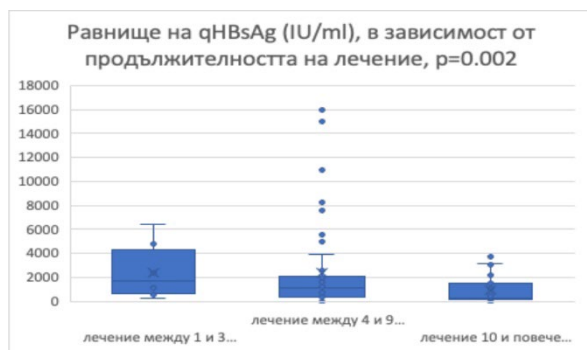
В проспективно наблюдение чрез поне двукратно, през интервал от 6 месеца измерване, се оцени динамиката в концентрацията на qHBsAg в хода на приложението на NA. **Общо, продължителната терапия с NA от средно 8 години постига пълна HBsAg сероконверсия (с поява на anti-HBs Ab) в 4.8% от пациентите (n=4). Загубата на HBsAg е оптимална крайна цел на лечението с NA, но това се случва рядко-10 % и 1% от пациентите с HBeAg (+) и HBeAg (-) СНВ губят HBsAg след 5-годишно лечение с TDF (9).**

Тенденция за намаляване на HBsAg със средно 397 IU/ml се регистрира при повечето от лекуваните, 90%. Динамика в посока на повишаване (със средно 430 IU/ml) на qHBsAg или стационариране се отчита само при 9 пациента. Терапията с NA води до спад на qHBsAg при повечето пациенти. Nikolova и колектив докладват данни, относно динамиката на HBsAg изходно и на фона на лечение и отчитат спад в равнището му при 70% от наблюдаваните пациенти (157).

За да се потърсят определящи фактори за промяната в концентрацията на HBsAg се оцени връзката в между qHBsAg и продължителността на лечение, изходния стадий на чернодробната болест, HBeAg статуса и равнището на HBV DNA.

7.1. Анализ на равнището на qHBsAg в зависимост от продължителността на NA лечение

Средната стойност на qHBsAg при пациентите, които провеждат лечение с NA между 1 и 3 години е 2364 IU/ml (min 250 IU/ml, max 6400 IU/ml, SD 2217 IU/ml), при тези, които провеждат лечение над 3, но не повече от 9 години е 2414 IU/ml (min 0.04 IU/ml, max 16 000 IU/ml, SD 3682 IU/ml) и 898 IU/ml (min 0.2 IU/ml, max 3700 IU/ml, SD 1093 IU/ml) при пациентите, провеждащи лечение с NA ≥ 10 години (фигура 22). Статистически значима разлика в средните стойности и разпределението на qHBsAg се открива при пациентите с прием на NA ≥ 10 години (ANOVA анализ, $p=0.002$). Корелационният анализ на Pearson показва умерена негативна връзка между продължителността на лечение и равнището на HBsAg ($r=-0.3$, $p=0.01$). Следователно при голяма част от лекуваните с NA (HBeAg (+) и HBeAg (-) се регистрира благоприятна динамика в концентрацията на HBsAg с най-ниски стойности на qHBsAg след 10-годишен прием на NA.



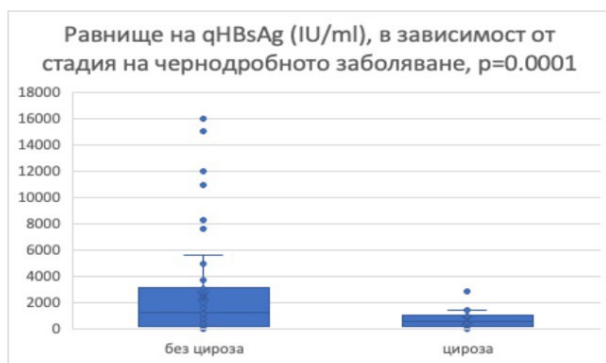
Фигура 22. Равнище на qHBsAg в зависимост от продължителността на лечение.

Тъй като вирусната репликация е инхибирана при повечето приемащи NA пациенти, нивото на HBV DNA не отразява и не е информативно за количеството на вирусната ссс DNA, RNA или HBV антигенната продукция в хепатоцитите. Един от най-добре проучените маркери за активността на HBV при NA-супресирани пациенти е qHBsAg. Продължителното лечение с NA води до постепенен и бавен спад в равнището на qHBsAg при част от пациентите. Математически модели за изчислили, че ще са необходими 30-40 години лечение с NA, за да настъпи загуба на HBsAg (75). Wang и колектив докладват средно ниво на qHBsAg от 2.72 log₁₀ IU/ml, в сравнение с 3.8 log₁₀ IU/ml на изходно ниво, при лечение с NA за период от 8 години. Процентът на пациентите с qHBsAg <1000 IU/ml се увеличава от 14.9% изходно на 55.3% на осма година от лечението. Същият колектив не съобщава връзка между спада на qHBsAg при пациентите с различен изходен вирусен товар или вид на прилагания NA (158). Съществува и схващане, че индуцираният от NA терапевтичен клирънс на HBsAg при HBeAg (-) CHB не надвишава спонтанната честота на HBsAg сероконверсия, като основните причини за това е резистентността на сссDNA към ефекта на NA и липсата на инхибиращ ефект на NA върху интегрираните последователности на HBV в генома на хепатоцитите (159).

7.2. Анализ на qHBsAg в зависимост от стадия на чернодробното заболяване

Средната стойност на qHBsAg при последната регистрирана визита в хода на лечението с NA при пациенти без цирроза е 2520 IU/ml (min 0.05 IU/ml, max 16 000 IU/ml, SD 3571 IU/ml), а при тези с HBV-асоциирана цирроза е 686

IU/ml (min 0.04 IU/ml, max 2900 IU/ml, SD 672 IU/ml). Така, при болните с СНВ се регистрира сигнификантно по-висока концентрация на HBsAg, спрямо случаите, стадираны изходно с чернодробна цирроза ($p=0.0001$). Фигура 23 показва средната стойност и разпределението на qHBsAg според началния стадий на болестта. Бисериалният корелационен анализ установи слаба към умерена негативна връзка между стадия на чернодробната болест и равнището на qHBsAg ($r= -0.31$, $p=0.02$).



Фигура 23. Равнище на qHBsAg в зависимост от стадия на чернодробната болест.

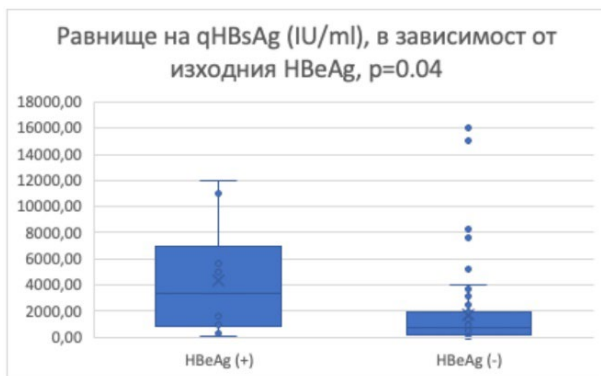
Серумното равнище на HBsAg намалява в следствие на имунна активност и имуно-медирана смърт на инфектираните хепатоцити (160). Този имунен отговор от своя страна е свързан с по-висока степен на чернодробно възпаление и фиброза и е възможно обяснение защо пониското ниво на HBsAg се наблюдава при напреднала фиброза и цирроза. Обратно пропорционалната връзка между qHBsAg и стадия на фиброза не се потвърждава от

европейският колектив на Harkisoen при проучване на пациенти с HBeAg (-) CHB. Резултатите от SONIC-B проучването, публикувано през 2022 г., показват, че ниското равнище на HBsAg се свързва с цироза само при HBeAg (+) пациенти, но не и при HBeAg (-) CHB. Продукцията на HBsAg при пациентите с HBeAg (-) CHB е основно от интегрираните HBV последователности в генома на хепатоцитите и не толкова от ссс DNA. Интегративният стадий на HBV инфекцията се свързва с липса на активен HBV-специфичен имунен отговор, респективно не се индуцират некроинфламаторни промени и фиброгенеза (160, 161, 162).

7.3. Анализ на равнището на qHBsAg в зависимост от изходния HBeAg

Установихме средна стойност на qHBsAg при пациентите с HBeAg (+) е 4302 IU/ml (min 56 IU/ml, max, 12 000 IU/ml, SD 4328 IU/ml), а при HBeAg (-) е 1685 IU/ml (min 0.04, max 16 000 IU/ml, SD 2847 IU/ml) (фигура 24). qHBsAg е по-висок при пациенти с изходен HBeAg (+) и разликата в равнището е статистически значима ($p=0.04$).

Използвайки бисериален корелационен анализ се откри умерена положителна връзка между изходния HBeAg статус и равнището на HBsAg. ($r=0.30$, $p=0.01$).



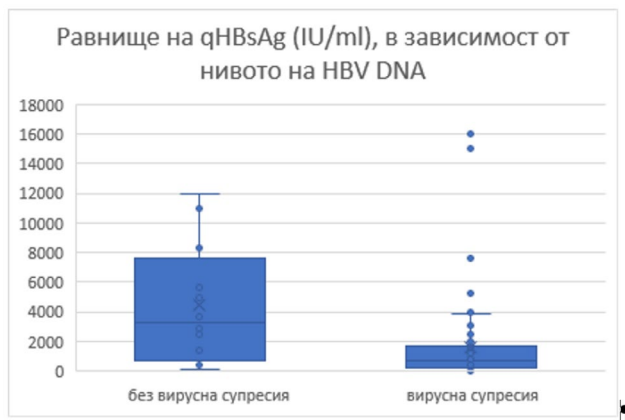
Фигура 24. Равнище на qHBsAg в зависимост от изходния HBeAg

Кинетиката на qHBsAg, докладвана от редица проучвания в Азия и Европа, показва високи нива в хода на фаза 1 на хроничната HBV инфекция, понижаване по време на фазата на имунен клирънс (HBeAg (+) СНВ), най-ниски нива през фаза 3 и известно покачване във фазата на HBeAg (-) СНВ (163).

7.4. Анализ на равнището на qHBsAg спрямо HBV DNA в края на проследяването

HBV DNA е под нивото на детекция при 86% от цялата изследвана група в края на проследяването. Средната стойност на HBsAg е 1600 IU/ml при пациентите със вирусна супресия (min 0.04 IU/ml, max 16 000 IU/ml, SD 2773 IU/ml), фигура 25. Обратно, при 14% от лекуваните без данни за вирусна супресия се установява средна стойност на HBsAg е 4448 IU/ml (min 100 IU/ml, max 12 000 IU/ml, SD 4084 IU/ml). **Следователно, при пациентите, които не постигат инхибиране на HBV репликацията в хода на**

NA терапията се регистрира значимо по-високо равнище на HBsAg ($p=0.01$).



Фигура 25. Равнище на qHBsAg в зависимост от регистрацията на вирусна супресия (HBV DNA < 10 IU/ml).

Проведеният корелационен анализ на Pearson показва умерена положителна връзка между нивото на HBV DNA в края на проследяването и равнището на HBsAg ($r=0.43$, $p<0.05$).

Редица автори докладват положителна асоциираност между нивото на HBsAg и HBV DNA, както при нелекувани пациенти, така и при пациенти на дългогодишно лечение с NA. Zhu и колектив съобщават за силна връзка между qHBsAg и HBV DNA равнището при пациенти, на лечение с NA ($r=0.65$, $p<0.05$), което още веднъж подчертава ролята на qHBsAg като маркер за вирусологичен отговор (164).

Извършихме регресионен анализ по отношение на влиянието на HBV DNA на фона на лечение върху равнището на HBsAg и достигнахме до извода, че

увеличаването на HBV DNA с 1 IU/ml, води до покачване на qHBsAg с 30.5 IU/ml (Таблица 9).

Таблица 9. Регресионен модел за зависимостта между равнището на HBV DNA и qHBsAg в края на проследяването.

Модели	1	2	3	4	5	6
$Y_i = b_0 + b_1 X_i$	1875.806 30.478	5.419 3.271	27.14	5.763	1,193	1,78
$\hat{Y}_i = b_0 + b_1 \ln X_i$	1635.281 25.257	4.257 2.875	24.14	5.257	1.216	1.75
$\hat{Y}_i = b_0 + b_1 \frac{1}{X_i}$	1456.203 12.231	3.245 1.205	19.25	3.014	2.562	1.69
$\ln \hat{Y}_i = b_0 + b_1 X_i$	256.231 17.154	5.968 1.541	22.05	3.587	1.421	1.71
$\ln \hat{Y}_i = b_0 + b_1 \ln X_i$	234.21 16.258	4.968 1.758	20.96	3,639	1.599	1.72

Легенда:

- 1 - Коэффициенти (b_0, b_1)
- 2 - Емпирични стойности на t-критерия ($t_{\text{емп.}}$)
- 3 - Коэффициент на детерминация ($R^2 \cdot 100$) - %
- 4 - Емпирични стойности на F-критерия
- 5 - Стандартна грешка на модела (σ)
- 6 - Емпирични стойности на критерия на Дърбин-Уатсън (d)

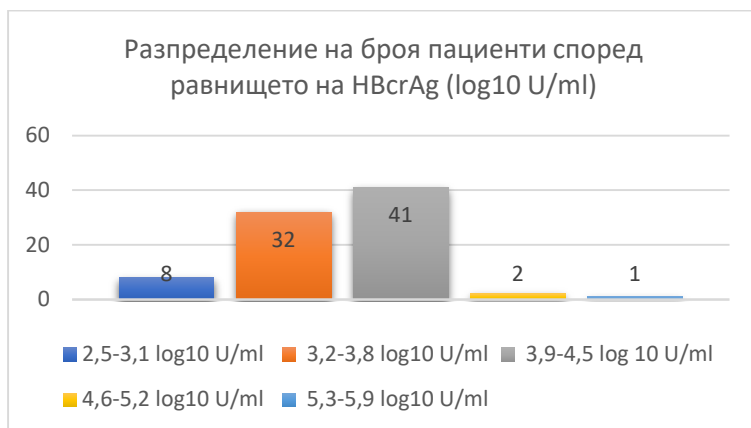
Теоретичните стойности на F, t и DW критерия са:

- 1) $F_{\text{теор.}} = 3.92$
- 2) $t_{\text{теор.}} = 1.66$
- 3) $d_L = 1.62; d_U = 1.67$

8. Анализ на вирусологичния отговор, посредством изследване на равнището на HBcrAg

Равнището на HBcrAg е изследвано при всички 84 пациенти при последна визита в Клиника по гастроентерология. В хода на продължителното, средно 8 години лечение с NA, в цялата група болни (в 100%) в серума се откриват и измерват HBcrAg. **Стойностите на HBcrAg са между $2.5 \log_{10} \text{ U/ml}$ и $5.6 \log_{10} \text{ U/ml}$ (средна**

стойност $3.9 \log_{10} \text{ U/ml}$). В 9.5 % от случаите ($n=8$) концентрацията на HBcrAg е между 2.5 и $3.1 \log_{10} \text{ U/ml}$, 38.1 % ($n=32$) са с HBcrAg между 3.2 и $3.8 \log_{10} \text{ U/ml}$, 48.8% ($n=41$) между 3.9 и $4.5 \log_{10} \text{ U/ml}$, 2.4 % ($n=2$) между 4.6 и $5.2 \log_{10} \text{ U/ml}$ и 1.2% ($n=1$) между 5.3 и $5.9 \log_{10} \text{ U/ml}$ (Фигура 26). **Обобщено, при 2/3 от лекуваните (67%) се открива ниво на HBcrAg между 3.0 и $4.0 \log_{10} \text{ U/ml}$.**



Фигура 26. Разпределение на броя пациенти, според равнището на HBcrAg на фона на NA лечение

Подобни са данните на колектив от Япония, който изследва HBcrAg при HBeAg (-) CHB в хода на дългогодишна супресия с NA и негативна HBV DNA, посредством хемилуминисцентен имуноензимен анализ (iTACT-HBcrAg; Fujirebio, Inc., с долна граница на детекция $< 2.1 \text{ LogU/ml}$) (165). **Въпреки трайно неокриваемата с чувствителен RT-PCR HBV DNA в хода на NA лечението, при повечето изследвани (97%) се установява равнище на HBcrAg. Експериментални и клинични проучвания показват, че нивото на HBcrAg**

отразява концентрацията на интрахепаталната ссс DNA, с най-висок корелационен коефициент 0.7. В хода на NA терапията не се открива значима динамика в равнището на HBcrAg. Освен това, HBcrAg > 3.4 LogU/ml може да предвиди вирусологичен релапс след спиране на NA. Важен факт е, че HBcrAg > 3 LogU/ml при NA-супресирани пациенти е предиктор за развитие на НСС (166).

Корелационният анализ показва много слаба връзка между нивото на HBsAg и HBcrAg, както и между равнището на HBV DNA и HBcrAg в края на проследяването (съответно $r = 0.09$ и $r = 0.05$). **Не се наблюдава връзка между нивото на HBcrAg и продължителността на лечение, стадия на чернодробната болест, както и изходния HBeAg статус.** Възможно обяснение на липсата на зависимост между другите маркери за активност на HBV и HBcrAg е малкият брой изследвани пациенти с недостатъчна сила на статистическия анализ (особено в групата с HBeAg (+) СНВ), както и ретроспективния характер на резултатите за изходен вирусен товар (преди стартиране на NA), което прави невъзможно сравняване с нивото на HBcrAg преди антивирусно лечение.

Интерес представлява наблюдението, че пациентите със сероконверсия на HBsAg също имат откриваеми серумни нива на HBcrAg със средна стойност 3.8 log 10 IU/ml. Безспорно, този факт известен от предшестващи публикации е удивителен и отново се обяснява с жизнения цикъл на HBV. HB core-свързаните антигени са комплекс от HBeAg, HBcrAg и 22-kDa пресоре протеин p22cr, кодирани от пресоре/core региона на вирусния геном, които чрез

серологичен метод съвместно могат да бъдат определени количествено в кръвта на пациенти с HBV инфекция. Тези **3 различни видове протеини са транслационни продукти на mRNA, транскрибирана от своя страна от ccc DNA** в хода на жизнения цикъл на HBV в хепатоцита. HBsAg не може самостоятелно да се определи в серума на пациентите с HBV инфекция, а само като комплекс в състава на HBcAg. Серологичното измерване на HBcAg за първи път е въведено от Kimura и колектив през 2002 г., като метод изследващ продуктите на p-core-core региона на HBV (167). Съвременният метод за детекция на HBcAg е ICT – CLEIA (“Immune complex transfer – Chemiluminescence enzyme immunoassay) с ултра-висока чувствителност за откриване на вирусните протеини. Множество съвременни проучвания показват, че HBcAg се откриват $> 2 \text{ LogU/ml}$ в серума на пациенти при различните фази на HBV хроничната инфекция, включително и фаза 5, при HBV DNA негативни пациенти, при HBeAg (-) CHB включително и при пълна HBeAg сероконверсия, както и при редките случаи на мутации в HBs региона, обуславящи липса на секреция на HBsAg. Така, HBcAg са показателни за продължаваща антигенна експресия и HBV репликация (с транскрипция на p-core/core региона на вирусния геном) и могат да бъдат надежден показател за оценка на хроничната HBV инфекция и бъдещата антивирусна терапия (168, 169, 170).

9. Анализ на резултатите от абдоминална ехография

При проследяване с абдоминална ехография на всеки 6 месеца, при нито един от пациентите с начална или липсваща фиброза ($F < 2$) няма съмнение за малигнизация. В

групата на $F \geq 2$, при 1 пациент (3.2%) се доказва хепатоцелуларен карцином на фона на 1 година лечение с НА. При пациентите с изходни данни за цироза общо при 3 случая (12.5%) се регистрира развитие на НСС, като при 1 от тях заболяването дебютира с малигнитет. Извършен бе χ^2 тест за проверка на значимост между разпределението на НСС сред пациентите с или без цироза, като се установи сигнификантно по-висок риск за малигнизация при пациентите с цироза ($\chi^2 = 4.5$, $p = 0.03$) (Фигура 27).

	HCC	no-HCC	Marginal Row Totals
без цироза	1 (2.87) [1.22]	60 (58.13) [0.06]	61
цироза	3 (1.13) [3.1]	21 (22.87) [0.15]	24
Marginal Column Totals	4	81	85 (Grand Total)

Фигура 27. χ^2 тест за проверка на значимост между разпределението на НСС сред пациентите с или без цироза.

Общо прието е, че дългогодишната терапия с НА намалява, но не премахва риска от развитие на НСС, като той остава по-значим при пациенти с СНВ-свързана цироза, от колкото при тези с СНВ. Годишният риск от НСС по време на терапия с TDF/ETV е между 0.01% и 1.4% при пациенти без цироза и между 0.9% и 5.4% при тези с цироза. Не се открива по-ниска честота на НСС при пациенти, получаващи НА с ниска бариера на резистентност към вирусни мутации, като LAM например, в сравнение с високобариерните TDF/ETV. Известно е, че някои от рисковите фактори за развитие на НСС не се влияят от

антивирусната терапия, а в други случаи карциногенезата е започнала преди старта на лечението (87, 88).

Динамика в степента на стеатоза е оценена при 61 пациента, посредством абдоминална ехография чрез стандартните критерии в хода на В-mode изображенията. На фона на лечение, 49% (n=30) са без динамика в степента на стеатоза, 21% (n=13) са с подобрене на стеатозата, а при приблизително 1/3 от лекуваните (30%) се отчита влошаване на степента на стеатоза (Фигура 28).



Фигура 28. Динамика в степента на стеатоза на фона на лечение.

MAFLD (или според актуализираната терминология MASLD, metabolic-dysfunction associated steatotic liver disease) засяга 1/3 от населението на света и в комбинация с СНВ са едни от водещите причини за прогрес на чернодробната болест и развитие на НСС. Особен интерес в последните няколко години е как HBV влияе на MASLD и как от своя страна стеатозата повлиява жизнения цикъл на HBV. Известно е, че HBx протеина активира гени, свързани с акумулацията на липиди в хепатоцитите, което промотира

липогенезата, пролиферацията на хепатоцити, инхибира апоптозата и стимулира развитието на НСС. В условия на стеатоза е редуцирано нивото на метилирана ДНК, което води до хромозомна нестабилност и е предпоставка за НСС. HBV потиска функцията на NCTP, което повишава секрецията на жлъчни соли, акумулацията на холестерол и води до развитие на стеатоза. От друга страна, при наличие на MASLD, репликацията на HBV се потиска чрез модуляция на имунния отговор, активация на NK и CD8 T-Ly посредством TLR сигналния път, посредством индукция на апоптозата и инхибиране на автофагията при HBV-инфектираните хепатоцити, както и на база на потисната активност на PPAR-gamma при налична инсулинова резистентност. **Следователно, първоначалните данни показват, че съчетанието на MASLD с HBV инфекция може да улесни клирънса на HBsAg (171).** Това е още една интересна разлика в биологията на HBV инфекцията, съпоставено с HCV, където вирусния жизнен цикъл изисква и е улеснен от стеатозното чернодробно увреждане.

На този етап няма убедителни доказателства в публикуваната литература, че продължителното лечение с NA индуцира или засилва чернодробната стеатоза, като страничен ефект на този клас медикаменти. Въпреки това, в клиничната практика наблюдаваме поява или засилване на чернодробната стеатоза, оценена при абдоминална ехография при пациентите с продължителна NA терапия. **В настоящото проучване при 1/3 от лекуваните стеатозата се засилва поне с една степен в хода на дългогодишен прием на NA. Освен потенциална лекарствена токсичност, вероятна роля за това играят ко-факторите**

нарастване на възрастта и телесното тегло, свързани с кумулация на метаболитни нарушения и не на последно място не спазването на препоръките за пълно въздържане от употреба на алкохол. При всички пациенти с поява или задълбочаване на стеатоза в хода на НА терапията трябва да се търсят метаболитни нарушения и други причини, включително и не открита до момента етиология на хронично чернодробно заболяване, като болест на Wilson и алфа-1 антитрипсинов дефицит. Новите методи за количествен анализ на чернодробната стеатоза в хода на мултипараметричната ехография ще направи обективно и по-точно проследяването на този тип хронично чернодробно увреждане. Безспорно е, че заради синергичния ефект SLD-HBV за развитие на НСС, това съчетание трябва да се търси активно и да се търсят начини за повлияването му.

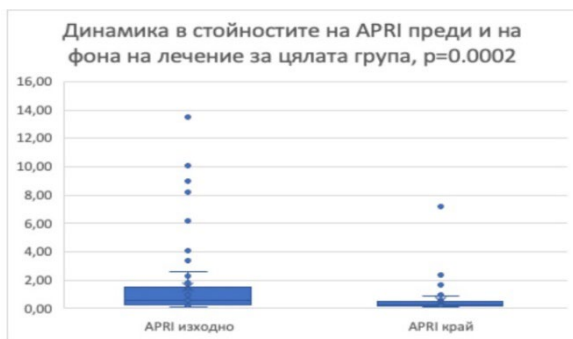
В групата на пациентите с цироза изходни данни за асцит се установиха при 4 случая: от тях на фона на НА лечение **3 пациенти (75%) са с компенсация на цирозата, с трайно изчезване на асцита, а 1 болен продължава да е с минимален асцит.**

В контекста на скорошната концепция за компенсация на чернодробната цироза, трябва да се отбележат публикуваните данни за успешността на НА терапията, която може да подобри степента на декомпенсация при над 50% от лекуваните. Така, Li и колектив докладват за дял на пациенти с регрес на асцит от 77.6%, 81.4%, 70.5%, 93.8% и 80.8, съответно на 12-ти, 24-ти, 36-ти, 48-ми и 60-ти месец от старта на противовирусната терапия. Следователно, тежестта на асцита на фона на лечение се подобрява, като

нараства делът на пациентите без асцит или тези с минимален такъв (86). **В настоящото проучване делът на болните с декомпенсирана цироза е твърде малък, за да бъде основание за достоверни изводи за NA терапията в този стадий на болестта.**

10. Анализ на серумните маркери за фиброза- APRI и FIB-4 на фона на NA лечение

APRI и FIB-4 са изчислени изходно и при последната визита на пациентите в хода на терапията с NA. Средната стойност на APRI в края на проследяването е 0.52 (min 0.10, max 7.2, SD 0.81). Регистрира се статистически значима позитивна динамика в намаляване на стойността на APRI на фона на антивирусното лечение ($p=0.0002$) и това е показано във фигура 29.



Фигура 29. Динамика в стойностите на APRI преди и на фона на лечение за цялата група.

При пациентите с изходни данни за $F<2$, средната стойност на APRI е 0.34 (min 0.1, max 1.3, SD 0.21), при $F\geq 2$ е 0.36 (min 0.2, max 0.9, SD 0.19) и 0.96 (min 0.2, max 7.2, SD 1.39) при F4. Така, **основните категории пациенти с**

начална фиброза, значима фиброза и цироза имат статистически значими различия в стойностите на APRI, както изходно, така и в хода на NA на лечение (съответно с ниво на значимост $p=0.05$ при $F<2$, $p=0.001$ при $F\geq 2$ и $p=0.01$ при $F4$). Фигури 30, 31 и 32 илюстрират динамиката в стойностите на индиректния серумен маркер APRI в хода на продължителния прием на NA, според стадия на болестта.



Фигура 30. Динамика в стойностите на APRI преди и на фона на лечение при пациенти с несигнификантна фиброза



Фигура 31. Динамика в стойностите на APRI преди и на фона на лечение при пациенти със сигнификантна фиброза



Фигура 32. Динамика в стойностите на APRI преди и на фона на лечение при пациенти с цирроза

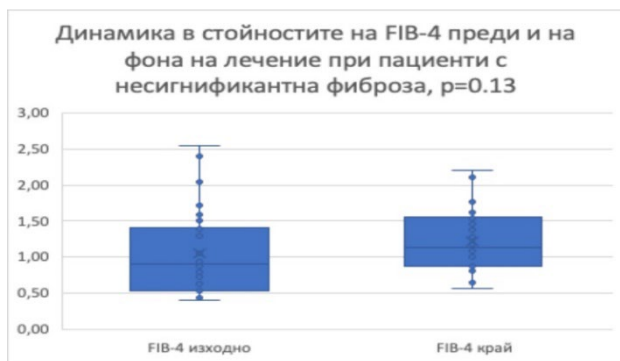
Средната стойност на FIB-4 в края на проследяването е 2.12 за цялата група лекувани (min 0.56, max 18.2, SD 2.72). **Противоположно на промяната в APRI, за показателя FIB-4 не се регистрира значима динамика изходно и при крайната визита на проследяване в хода на лечението с NA ($p=0.1$) (фигура 33).**



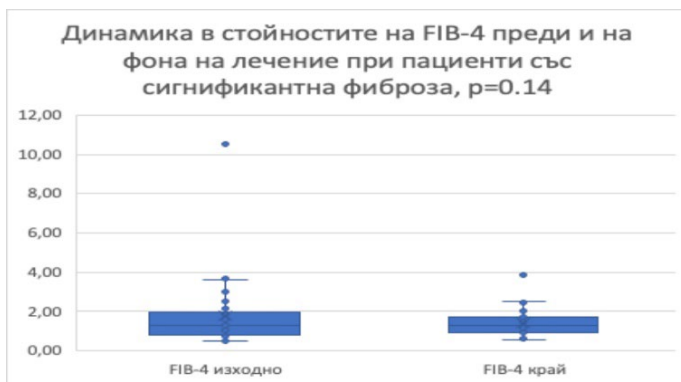
Фигура 33. Динамика в стойностите на FIB-4 изходно и на фона на лечение за цялата група

При допълнителен анализ на стойностите на FIB-4 при пациенти с различни стадии на болестта се установи, че в

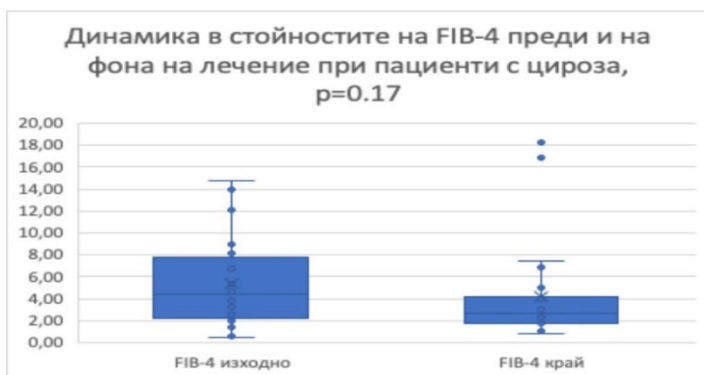
групата с начална фиброза проследяващото ниво на FIB-4 е средно 1.21 (min 0.56, max 2.21, SD 0.43), при значима фиброза FIB-4 средната стойност не се различава - 1.41 (min 0.57, max 3.83, SD 0.67). **Случаите с изходни данни за цирроза в хода на приема на НА имат отново стойности на FIB-4 от средно 4.16 (min 0.8, max 18.2, SD 4.3), показателни за напреднал стадий на заболяването.** Не се открива статистически значима разлика в стойностите на FIB-4 изходно и на фона на лечение при различните групи пациенти, според стадия на болестта (нива на значимост съответно $p=0.13$ при $F<2$, $p=0.14$ при $F\geq 2$ и $p=0.17$ при $F4$). Динамиката на FIB-4 изходно и в хода на лечението с НА, според изходните данни за степен на фиброза е илюстрирана на фигури 34, 35, 36.



Фигура 34. Динамика в стойностите на FIB-4 преди и на фона на лечение при пациенти с несигнификантна фиброза



Фигура 35. Динамика в стойностите на FIB-4 преди и на фона на лечение при пациенти със сигнификантна фиброза



Фигура 36. Динамика в стойностите на FIB-4 преди и на фона на лечение при пациенти с цирроза

Редица колективи докладват, че на фона на лечение с мощен NA, стойностите на APRI и FIB-4 се подобряват и те, заедно с оценката на чернодробната плътност, са подходящи неинвазивни методи за оценка и проследяване на фиброзата на фона на лечение. Дискутира се, че използването на серумните маркери за фиброза е по-

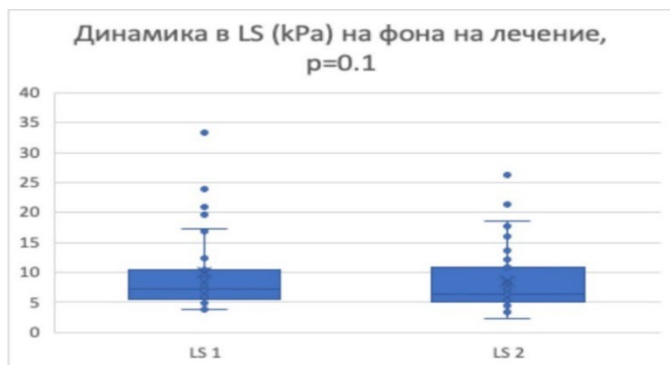
приложимо при пациенти със сигнификантна фиброза и тези с цироза. Liu и колектив установяват, че стойностите на APRI се понижават по-бързо, отколкото стойностите FIB-4 на фона, на 5-годишно лечение с ETV. Значима е динамиката в FIB-4 след 3 и 5 годишно NA лечение при пациенти с изходни данни за напреднало чернодробно заболяване, F3 и F4 (172). Sonneveld и колектив предлагат оптимизация на cut-off стойностите на APRI и FIB-4 за оценка на СНВ-асоциираната цироза, при сравнение на резултатите от чернодробната биопсия и неинвазивните маркери за фиброза. Нова cut-off стойност за изключване на цироза предлагат при $FIB-4 \leq 0.70$ при пациенти с HBV инфекция и възраст над 30 години (127). Moosavy et al. докладват най-силна корелация между стойностите от FibroScan и APRI за оценка на фиброзата при пациенти с СНВ и предлагат APRI като най-добър заместител на FibroScan (173).

Изчислихме FIB-4 при пациенти, които провеждат лечение с NA ≥ 10 години (n=29), които са на средна възраст 60.3 години (min 35, max 81, SD 13.7). Така, FIB-4 в тази група пациенти е средно 2.45 (min 0.56, max 16.8, SD 3.09). Наблюдаваната висока стойност на FIB-4, въпреки дългогодишното лечение с NA, може да се коментира по няколко начина. На първо място в изчислението на показателя FIB-4 се включва възраст и при пациенти с напреднала възраст, би могло да се обсъди, че FIB-4 надценява чернодробната фиброза. Дългогодишната терапия с NA нормализира трансминазите при над 90% от наблюдаваните от нас пациенти, т.е. при нормални трансминази, тяхното съотношение не играе роля за

оценка на фиброзата. Имайки предвид тези факти, FIB-4 не се оказва най-подходящият серумен маркер за оценка динамиката на фиброзата при пациенти над 65 години и нормални трансаминази. Graupera et al. също докладват ниската информативна стойност на FIB-4 за оценка на фиброзата при хепатит В. При над 1/3 от наблюдаваните от тях 5129 пациенти FIB-4 надценява фиброзата, като същият авторски колектив отново намесват ролята на възрастта в изчислението на FIB-4 (174).

11. Динамика в чернодробната плътност (LS) на фона на NA лечение, оценена чрез ултразвукова еластография (2D-SWE)

Оценена е динамиката на чернодробната плътност при 39 пациенти, с поне две измервания на LS в хода на лечението с NA чрез 2D SWE, с интервал между измерванията от 1 до 6 години. Обобщено, значимо различие в чернодробната плътност при проследяващите УЗ еластографии не се установи: средната стойност на LS при първото измерване е 10.02 kPa (min 3.7 kPa, max 34 kPa, SD 7.6 kPa), спрямо 8.54 kPa (min 2.3 kPa, max 26.3 kPa, SD 5.6 kPa) при последващото измерване ($p=0.1$) (Фигура 37). От друга страна, при 64% от лекуваните ($n=25$) са налице данни за подобрение на LS със средно 4 kPa (min 0.1 kPa, max 21.8 kPa, SD 5.8 kPa). При останалите 36% ($n=14$) се регистрира влошаване на LS със средно 3.2 kPa (min 0.3 kPa, max 8.9 kPa, SD 2.7 kPa).



Фигура 37. Динамика в стойностите на LS, на фона на лечение, с интервал между двете измервания от 1 до 6 години

Дългогодишното лечение с NA води до подобрене на чернодробната фиброза и съответно стойностите на LS в по-голяма част от наблюдаваните пациенти. Динамиката на чернодробната плътност е двуфазна, с по-бърза редукция в първите 6 месеца от NA, включително и при изходни данни за цироза. Колкото по-близо до експонента е индивидуалната крива на промяна на LS, толкова това може да предвиди добър ход на болестта (по отношение на хистологичен регрес на фиброзата и дългосрочен риск от усложнения и смърт). Трябва да се отбележи, че този благоприятен изход не е правило, настъпва при 1/3 от лекуваните с ETV на 5-та година (82, 83).

Лонгитудинални проучвания с мониториране на LS, съпоставено с резултати от проследяване и с повторна чернодробна биопсия показват, че редукцията на чернодробната плътност измерена с TE на 78 седмица от NA лечението отразява основно подобрене на чернодробното възпаление и оток (175).

Ramji и колектив проследяват 465 пациента на дългогодишна терапия с NA и докладват подобрене на LS при по-голяма част от пациентите със средно 4.2 kPa при TDF и 1.6 kPa при LAM (86). Следователно, подобренето в чернодробната плътност е по-високо при пациентите, получаващи високобарьерен NA.

Нови проспективни проучвания са необходими за оценка на ролята на мониторирането на LS в хода на антивирусната терапия на хепатит В.

12. Анализ на резултатите от ФГДС при пациенти с цироза

От общо 24 пациенти с изходни данни за цироза, ФГДС преди стартиране на приема на NAe извършена при 22. От тях при 59% се установяват варици на хранопровода (n=13) в следните степени: малки при 84.6% (n=11), умерени при 7.7% (n=1) и големи при 7.7% (n=1). Допълнително, общо 11 пациенти имат ендоскопски критерии за едновременно езофагеални варици и портална хипертензивна гастропатия (ПХГ), при 2 пациенти са налице само хранопроводни варици, а 1 пациент има единствено наличие на ПХГ.

Проследяваща горна ендоскопия е извършена при малка част от включените болни с цироза – 5 случая. Динамиката в ендоскопските критерии за портална хипертензия показва персистиране на хранопроводните варици в 40% (n=2). **При 3 болни (60%) може да се коментира регрес на порталната хипертензия, поради липса на хранопроводни варици и ПХГ в контролната горна ендоскопия.**

Wang et al. докладват 40.4% регрес по отношение на степента на варици на хранопровода на фона на лечение с

NA със средна продължителност от около 3 години. Същият колектив докладва само 13% прогрес на вариците на хранопровода, което се наблюдава предимно при пациенти с умерено-тежки и тежки варици (85). Отново трябва да се отбележи, че поради малкият анализиран дял на пациенти с цироза в настоящото проучване е трудно да се постигнат добри резултати за ролята на NA терапията при клинично значима портална хипертония. Въпреки това, макар и малък, емпиричният опит е важен, за да се подобри наблюдението на пациентите с напреднало чернодробно заболяване в хода на антивирусното лечение и да не се прави компромис в протокола за контролна горна ендоскопия, особено при доказани изходно хранопроводни варици.

13. Динамика в тежестта на чернодробната цироза в хода на продължителната NA терапия, според скоровете СТР и MELD-Na

При последната визита намаляване на тежестта на чернодробната цироза се установи при повечето от лекуваните с NA: 96% (n=23) болни имат подобрене в СТР индекса с поне 1 единица и само при 1 болен не се установява подобрене на СТР на фона на лечение с NA. **По отношение на MELD-Na динамиката, подобрене се установява при 54% (n=13) от лекуваните със средно 5.9 точки (min 1, max 16, SD 5.04).** От друга страна, въпреки продължителното антивирусно лечение при 46% (n=11) от лекуваните не се регистрира подобрене в прогностичния показател MELD-Na, като е налице прогресия в тежестта на цирозата със средно 4.2 точки (min 1, max 12, SD 4.46). В изследваната от нас група, на фона на продължително

лечение с NA, наблюдаваме СТР А при 95.8% (n=23) и MELD-Na < 10 точки при 70.8% (n=17).

Wang et al. предлагат праг за MELD-Na < 10 точки и СТР А, като критерии за стабилно протичане на чернодробната цироза, при пациенти, получаващи високобариерен NA (ETV). Те наблюдават компенсация на СНВ-асоциираната цироза в над 50% от пациентите, които изходно са с декомпенсация; на фона на ETV лечение се установява подобрене на лабораторните показатели за чернодробна функция, оценени чрез СТР и MELD-Na (176). **Така, отново може да се акцентира, че приложението на NA в стадий на декомпенсирана HBV цироза е пример за терапевтичните възможности при постигане на рекомпенсация и обратимост на авансиралата чернодробна болест.**

Изводи:

1. Приложението на нуклеотидни/нуклеозидни аналози при хепатит В е високо ефективно в посока инхибиране на HBV репликацията, като осигурява начален вирусологичен отговор при 63 % и поддържа вирусна супресия, респективно HBV DNA <10 IU/ml при 90.4 % и неоткриваема HBV DNA при 84.5 % от лекуваните.
2. Вирусологичният отговор, оценен с трайно негативиране на HBV DNA е различен при пациентите с изходни данни за HBeAg негативен, спрямо HBeAg позитивен хроничен хепатит В: 87 % спрямо 66 %.
3. Биохимичен отговор, оценен с трайно нормализиране на трансаминазната активност се постига при 91.6 % от лекуваните с нуклеозидни/нуклеотидни аналози.
4. Приложението на ламивудин е субоптимално, защото не осигурява пълна вирусна супресия при 19% от лекуваните, което става предпоставка за медикаментозна резистентност.
5. Пациентите с чернодробна цироза имат значително по-ниска концентрация на HBsAg, но не и на HB core-свързаните антигени.
6. Мониторирането на терапията на хепатит В изисква проследяване на равнището на HBsAg.
7. Дълготрайната терапия с нуклеозидни/нуклеотидни аналози намалява прогресивно равнището на HBsAg, с благоприятна динамика при 90% от лекуваните и най-ниска концентрация на HBsAg от средно 898 IU/ml при приложение на медикаментите от над 10 години.
8. Негативиране на HBsAg с поява на anti HBs антитела, респективно функционално излекуване, се регистрира при 4 пациента в хода на терапията (4.8%).
9. HB core-свързаните протеини се откриват в кръвта на пациентите с дълготрайна антивирусна терапия и супресия на вирусната репликация; 67% от изследваните

пациенти имат равнище между 3 и 4 \log_{10} ; пациентите с клирънс на HBsAg имат откриваемо ниво за HBcrAg.

10. Дълготрайната терапия води до подобрене на индиректните серумни маркери за фиброза, със значително подобрене на APRI при повечето случаи и намаляване на FIB-4 при 56% от лекуваните.
11. Продължителното лечение с нуклеозидни/нуклеотидни аналози намалява чернодробната плътност, оценена с УЗ еластография със средно 4 kPa при 64% от пациентите.
12. В случаите, когато може да се предположи прогресия на чернодробната болест, на база динамиката в индиректни маркери за фиброза и чернодробна плътност трябва да се търсят ко-фактори, като алкохолна консумация и метаболитни нарушения.
13. Проследяването на пациентите с хепатит В в хода на дълготрайна инхибиция на вирусната репликация трябва да включва комплексна оценка от интерпретация на новите вирусни маркери, неинвазивните показатели за оценка на чернодробната болест и данните от абдоминалната ехография.

Приноси:

Извършена е комплексна оценка на резултатите от приложението на нуклеозидни/нуклеотидни аналози за период от средно 8.2 години, като 37% от проучените болни получават медикамент в рамките на повече от 10 години.

Проведеният анализ на HB core-свързани HBV антигени е оригинален и за първи път в България. Равнището на HBsAg е оценено в динамика и в аспектите на стадий на болестта и вирусен товар (HBV DNA).

Събран е начален клиничен опит за приложение на новите вирусни маркери за активност на HBV при пациенти с медикаментозно инхибирана вирусна репликация.

Анализът на дълготрайните резултати от настоящото лечение на хепатит В е предпоставка за поставяне на нови цели за оптимизиране на терапевтичното поведение.

Публикации и участия, свързани с дисертационния труд:

- ▶ Проследяване на ефективността на лечението на хепатоцелуларния карцином-има ли други полезни биомаркери, освен серумния алфа-фетопротеин (клиничен случай)-Й.Стоянова, И.Иванова, С.Банова, М.Мирчев, Я.Бочева- VI Национален конгрес за млади гастроентеролози, 03.2021г.
- ▶ Необходима ли е чернодробната биопсия за мониториране на антивирусното лечение при хепатит В-анализ на клиничен случай-Й.Стоянова, И.Иванова, З.Костадинова, К.Калчев- VIII Национална конференция по хепатология, 11.2022г.
- ▶ Нови серумни биомаркери за отговор на лечението с нуклеозидни/нуклеотидни аналози при пациенти с хроничен хепатит В-литературен обзор- Й.Стоянова, Варненски медицински форум, 12.2023 г.

Благодаря

На моя научен ръководител доц. д-р Ирина Иванова за идеите, критичните бележки, подкрепата и помощта в изготвяването на дисертационния ми труд.

На всички колеги от клиниката по гастроентерология към УМБАЛ „Св.Марина“ за съдействието и куража.

На проф. д-р Яна Бочева, ръководител на Клинична лаборатория, проф. д-р Теменуга Стоева, ръководител на Лаборатория по вирусология и доц. д-р Живка Стойкова към УМБАЛ „Св. Марина“ за прецизността на лабораторните изследвания.

На всички колеги от Клиника по обща и клинична патология към УМБАЛ „Св.Марина“ за помощта при инвазивна оценка на чернодробната болест.

На проф. д-р Маргаритка Бончева, ръководител на Клинична лаборатория към УМБАЛ „Проф. д-р Ал. Чирков“ за съдействието при изследване на HB-core-свързаните антигени.

На семейството ми и всички мои близки за търпението, подкрепата и вярата в мен.