



Медицински университет -Варна

„Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина”

Катедра “Вътрешни болести”

УС „Гастроентерология, хепатология и хранене”

Д-Р СОНЯ БОРИСОВА БАНОВА-ЧАКЪРОВА

**РИСКОВИ ФАКТОРИ И ПРЕКАНЦЕРОЗИ ЗА
ХЕПАТОЦЕЛУЛАРЕН КАРЦИНОМ**

АФТОРЕФЕРАТ

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

Научен ръководител:

Проф. д-р Искрен Андреев Коцев, дмн

Варна, 2018 г.

Дисертационният труд съдържа 197 страници, включващи 57 таблици и 58 фигури. Цитирани са 250 литературни източници, от които 11 на кирилица и 239 на латиница

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Катедра по Вътрешни болест при МУ „Проф. Параскев Стоянов“ – Варна

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на от часа в на открито заседания на Научното жури. Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на МУ „Проф. Параскев Стоянов“ – Варна

*Посвещавам този труд в памет
на моята майка – д-р Петранка Стойчева*

Соня Банова

СЪДЪРЖАНИЕ

1. Въведение	6
2. Цели и задачи на дисертацията	8
3. Методика и организация на изследването	9
4. Резултати и обсъждане	21
4.1. Ролята на хроничните инфекции с HBV, HDV и HCV вируси в развитие на хепатоцелуларния карцином	25
4.2. Значението на факторите, свързани с начина на живот и хранене за възникване и превенция на хепатоцелуларния карцином	34
4.3. Преканцерозните състояния при пациентите с ХЦК	57
4.4. Значението на антивирусното лечение срещу HBV, HDV и HCV за прогресия до хепатоцелуларния карцином	73
4.5. Методите за диагностика на хепатоцелуларния карцином - лабораторни, образни и морфологични	80
4.6. Клинично значение на модели за предсказване на риска от развитие на хепатоцелуларния карцином и оценка на факторите, влияещи върху преживяемостта	95
4.7. Алгоритъм за проследяване на болните с определени рискови фактори и преканцерозни състояния	115
5. Диагностично-терапевтичен алгоритъм при пациенти с ХЦК	118
6. Заключение	119
7. Изводи	121
8. Приноси на дисертационния труд	122
9. Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд	123

СЪКРАЩЕНИЯ

Използвани съкращения на кирилица:

α-ФП	Алфа фетопротеин
АЛАТ	Аланин аминотрансфераза
АСАТ	Аспартат аминотрансфераза
АФ	Алкална фосфатаза
ГГТ	Гама-глутамилтранспептидаза
КТ	Компютърна томография
КУУЗ	Контрастно усилен ултразвук
МРТ	Магнитно резонансна томография
НАМЧБ	Неалкохолна мастна чернодробна болест
НАСХ	Неалкохолен стеатохепатит
НАСЧБ	Неалкохолна стеатозна чернодробна болест
ПЧР	Първичен чернодробен рак
ТАБ	Тънкоиглена аспирационна биопсия
ХЦК	Хепатоцелуларен карцином

Използвани съкращения на латиница

AASLD	Американска асоциация за изучаване болестите на черния дроб
BCLC	Барселонска класификация на чернодробния карцином
BMI	Индекс на телесната маса
DNA	Дезоксирибонуклеинова киселина
EASL	Европейска асоциация за изучаване на черния дроб
HBV	Хроничен вирусен хепатит В
HCC	Хепатоцелуларен карцином
HCV	Хроничен вирусен хепатит С
HIV	СПИН (синдром на придобитата имунна недостатъчност)
IL-1	Интерлевкин
MWA	Микровълнова аблация
DCP	Дес-гама карбокси протромбин
RFA	Радиофреквентна аблация
ROS	Свободни кислородни частици
TAE	Трансартериална емболизация
TAE	Трансартериална емболизация
TACE	Трансартериална хемоемболизация

1. Въведение

Хепатоцелуларният карцином (ХЦК) е най-честият първичен чернодробен карцином. През последните десетилетия, честота му нараства, като достига до 100/100 000 в ендемичните райони, а в Европа е 10-15/100 000[6]. В България годишно се откриват 540-580 нови случаи с ХЦК, като честота се изчислява на 15-16/100 000 [4].

В основната част от случаите, заболяването се развива върху подлежащо чернодробно увреждане – хроничен вирусен хепатит С и/или В или чернодробна цироза, независимо от нейната етиология – хронични вирусни хепатити, алкохолна, автоимунна, хемохроматоза, първична билиарна цироза, болест на Уилсън. Въпреки че за основни рискови фактори се приемат горните, остава неясно защо ХЦК се развива и в незасегнат черен дроб, както и защо ХЦК не се развива при всички пациенти с подлежащите чернодробни заболявания. В търсене на горните въпроси се провеждат редица проучвания. Не е напълно изяснено значението на вредните навици, като злоупотребата с алкохол и тютюнопушенето; начина на живот – хипокинезията и респективно затлъстяването; някои придружаващи заболявания, като захарния диабет и мястото им в канцерогенезата. Безспорно е значението на масова ваксинация срещу хепатит В за намаляване на честотата на ХЦК в ендемичните райони. Дискутабилно е до каква степен и кога антивирусната терапия намалява риска от ХЦК. Няколко фактора се изследват като вероятно протективни: риба, бяло месо, кафе, чай, някои подправки, но е необходимо още изследвания в тази насока. Всеки един от изброените по горе рискови фактори има свое място в процеса на канцерогенеза. Подробно се изследва микросредата на черния дроб и механизма на канцерогенеза. Основните етапи в нея са хроничното възпаление, клетъчното ремоделиране, промяната на DNA, промяната в клетъчната сигнализация. Търсят се нови фактори „стимулиращи“ или „потискащи“ процеса на трансформация от „доброкачествен“ в „злокачествен“ възел. Този процес минава през междинен етап, при който се развиват т.н. преканцерозни лезии. Тяхното откриване и проследяване е от

изключително значение за ранното поставяне на диагнозата. За това тяхното характеризиране е предмет на много съвременни проучвания.

Късната клинична изява и нехарактерното протичане обясняват защо диагнозата се поставя, предимно, в напредналия стадий на заболяването. Прогнозата при този чернодробен карцином е лоша, не само поради късното диагностициране, а и поради високата честота на рецидиви, дори и след провеждане на радикално лечение.

ХЦК е единственият карцином, който може да се докаже само въз основа на образни методи при пациенти с цироза и с типична характеристика на лезията при контрастиране [30]. Успешната диагноза се обяснява с процеса на канцерогенезата, при който настъпва неоангиогенеза и туморна тъкан има артериално кръвоснабдяване за разлика от околния паренхим, който е с портално. Все повече се усъвършенстват контрастно усилените образни изследвания за откриване на малък и ранен ХЦК. Подобрява се хистологичната диагностика на лезиите с нетипично поведение, след контрастиране и разграничаването им от холангиоцелуларен и смесен – хепато-холангиоцелуларен карцином.

Освен за диагностика образните методи се използват и за определяне стадия на заболяването. Съществуват множество стадиращи системи като в момента за най-адекватна и точна и за това и най-широко използвана е BCLC (Барселонска класификация за чернодробен карцином). Всеки стадий определя и съответния терапевтичен подход. Удължава се живота на нерезектабилните пациенти, подложени на локални методи на лечение - като TAE, TACE, RFA, MWA.

Въпреки големия напредък в диагностиката и лечението на заболяването, все още са малко пациентите, при които може да се постигне пълно излекуване и да се подсигури добро качество на живот.

За откриване на заболяването в ранен стадий е необходимо създаване на адекватни системи за предсказване риска за развитие на ПЧР и определяне на рисковите пациенти. За тази цел се изграждат различни системи за предсказване и се търсят показатели подсказващи бъдещата малигнизация.

Чрез тях може да се направи характеристика на пациентите в съответния регион и да се разделят в групи с различна степен на риск. Това ще спомогне за създаването на по-ефективни и икономически изгодни програми за скрининг. По този начин ще се осигури по-добро качество на живот и по-добра преживяемост на пациентите с ХЦК.

В стремежа си да намерим решение на висящите въпроси, свързани с определяне на рисковите и протективните фактори, характеризирането на преканцерозите, откриване на адекватен алгоритъм за диагностика и проследяване, базиращи се на най-подходящите за нашата популация предсказващи системи определихме целта на настоящата дисертация.

2. Цел и задачи на дисертационния труд

1. Цел на изследването: Да се определят и анализират рисковите фактори и преканцерозните състояние за развитие на хепатоцелуларния карцином и възможностите за ранното му установяване чрез проследяване на предразположените групи пациенти.

2. Задачи:

1. Да се оцени ролята на хроничната инфекция с хепатотропните вируси HBV, HDV и HCV, като основа за развитие на първичния чернодробен карцином.
2. Да се изследва значението на фактори, свързани с начина на живот и хранене, включително и на вредностите алкохол и тютюнопушене за възникване и превенция на хепатоцелуларния карцином.
3. Да се установят преканцерозите у болни с хепатоцелуларен карцином.
4. Да се изследва значението на антивирусното лечение срещу HBV, HDV и HCV за прогресия на болестта до хепатоцелуларен карцином.
5. Да се анализират методите за диагностика (лабораторни, образни и морфологични изследвания) на хепатоцелуларния карцином, включително и на ранния му стадий.

6. Да се оцени клиничното значение на модели за предсказване на риска от развитие на хепатоцелуларен карцином и оценка на факторите, влияещи върху преживяемостта.
7. Да се предложи алгоритъм за проследяване на болните с определени рискови фактори и преканцерозни състояния.

3. Методика и организация на изследването

3.1. Предмет на изследването – анализ на рисковите фактори и преканцерози за развитие на ХЦК и оценка на методите за ранна диагностика на ХЦК.

3.2. Обект на изследването са 358 пациента с хронично чернодробно заболяване, преминали през „Клиниката по гастроентерология, хепатология и хранене“ в МБАЛ “Св. Марина“ – гр. Варна за периода от 01.01.2005 г - 31.12.2016

Изследването има ретроспективна и проспективна компонента. В ретроспективната част на изследването е използвана информация от базата данни на МБАЛ “Св. Марина“. При проспективното изследване освен лабораторни, образни и морфологични изследвания, които са извършени чрез материалната база на МБАЛ “Св. Марина”, част от пациентите са попълнили анкетна карта (специално създадена за целите на изследване), след като доброволно са попълнили информирано съгласия.

Пациентите са разделени в две групи:

Контролна група - 136 човека

Включващи критерии

- Хронично чернодробно заболяване
- Проследявани в клиниката по Гастроентерология с абдоминална ехография и ниво на α -ФП на 3/6 месеца

Исключващи критерии

- Актуално онкологично заболяване

Клинична група - 222 човека

Включващи критерии

- Верифициран хепатоцелуларен карцином, според алгоритъма на EASL/BG с образни методи и/или биопсии

Изключващи критерии

- Друго актуално онкологично заболяване, съмнение за метастатичен черен дроб, холангиоцелуларен карцином, лимфом.

Конкретни проучвания - за постигане на научноизследователските цели и за решаване на предварително формулираните задачи бяха проучени и анализирани данните на пациентите с хронично чернодробно заболяване и на пациентите с доказан хепатоцелуларен карцином по време и след хоспитализация. На пациентите бяха извършени изследвания по стандартния клиничен метод: анамнеза на заболяването и съпътстващите заболявания, физикален преглед, демографски данни, вкл. BMI абдоминална ехография. На пациентите с чернодробни лезии е извършена КУУЗ и/или КТ/МРТ, за потвърждаване на диагнозата допълнително е проведена ТАБ (Тънкоиглена аспирационна биопсия) и/или tru-cut биопсия, хистоморфологично изследване, оценка стадия на заболяването според различни класификации и оценка риска от малигнизация чрез различни модели.

Провеждане и организация на проучването

- Период на проучването 2005 – 2016 г.;
- Проучването се реализира във УМБАЛ “Св. Марина” - гр. Варна.
- След обработка на резултатите и определяне на акцентите е проведено същинското изследване като данните са обработени с пакет за математическо-статистическа обработка SPSS v 20.

3.3. Методи, приложени за реализиране целите и задачите на изследването:

3.3.1. Лабораторни изследвания – проведени в „Лаборатория по Клинична имунология“, „Клинична лаборатория“, „Лаборатория по микробиология и вирусология“ на МБАЛ „Св. Марина

- пълна кръвна картина с ДКК
- чернодробни ензими – АСАТ (10-45 UI/l), АЛАТ (0-40 UI/l), ГГТ (10-38 UI/l), АФ (45-120 UI/l); общ билирубин (5-20 $\mu\text{mol/l}$); и директен билирубин (0-3 $\mu\text{mol/l}$);
- общ белтък (57-82 g/l); албумин (32-48 g/l); триглицериди (45-120 mmol/l); общ холестерол (2.7-5.18 mmol/l);
- коагулационен статус - протромбиново време (70-130sec), INR (0.9-1.15)
- креатинин (44-97 $\mu\text{mol/l}$); урея (3.2-8.2 mmol/l); електролити;
- серологични маркери за HBV, HDV и HCV инфекция – HbsAg, HbeAg, anti-HbeAg, anti-HCV, anti-Hbc, anti-HCV, anti-HDV, а при доказана такава- Real Time PCR за определяне нивото на вирусен товар (HBV DNA, HDV RNA, HCV RNA и генотип)
- туморни маркери – α -ФП (0.6-6.00 ng/ml), СА 19-9 (карбохидратен антиген 19-9)
- серумен глипикан 3 (GPC-3) - анализът използва количествената техника за сандвич ензимен имуноанализ. Антитяло, специфично за GPC-3, е предварително покрито върху микроплатка. Стандартите и пробите се пипетират в гнезда и всеки наличен GPC-3 се свързва с антитяло. След отстраняване на несвързаните вещества, към гнездата се добавя биотин-конюгирано антитяло, специфично за GPC-3. След промиване, за да се отстрани несвързаният авидин-ензимен реагент, към ямките се добавя субстратен разтвор и се оцветява пропорционално на количеството GPC-3, свързано в началния етап. Измерва се интензивността на цвета. Референтни граници: 0.625 ng / ml-40 ng / ml. Анализът има висока чувствителност (минималната доза от човешки GPC-3 е < 0.156 ng / ml) и отлична специфичност за откриване на човешки GPC-3. Не се наблюдава

значителна кръстосана реактивност или интерференция между човешки GPC-3 и негови аналози. Серумът се събира чрез серумната сепараторна тръба и пробите се оставят 2 часа да се съсирват при стайна температура преди центрофугиране за 15 минути при $1000 \times g$. Серумът се отстранява и пробите се съхраняват при $-20^{\circ}C$ или $-80^{\circ}C$.

3.3.2. Образни изследвания – извършени в „Клиниката по гастроентерология, хепатология и хранене“, „Клиника по Образна диагностика“

Абдоминална ехография

При всички пациенти (358), постъпили в клиниката с хронично чернодробно заболяване или съмнение за ХЦК е извършена абдоминална ехография. Изследването е извършено с висок клас ехографски апарат - Aloca alfa7.

Контрастно усилена ехография (КУУЗ)

При 104 пациента с установени чернодробни лезии е извършена контрастно усилена ехография, която дава по-добра информация за васкуларитета на черния дроб и лезии в него, водейки до по-специфичното им охарактеризиране. (фиг. 12.) Изследването се извършва с ехографски апарат - Aloca alfa7 и се прилага венозен контраст – SonoVue/Соновю.

Соновю е в готова опаковка, съдържаща 8 mcl/ml прах и разтворител за инжекционна дисперсия серен хексафлуорид (sulphur hexafluoride). Дисперсията с микромехурчета се приготвя преди употреба като 5 ml натриев хлорид 9 mg/ml (0,9%) инжекционен разтвор се смесва към съдържанието на флакона. След това флаконът се разклаща енергично за няколко секунди, докато лиофилизатът се разтвори напълно. За един пациент се използват 2,4 мл (половин флакон) разтвор, който се инжектира венозно, като непосредствено след него се прави промивка с 5 ml натриев хлорид 9 mg/ml (0,9%). Суспензията Соновю се състои от микромехурчета, пълни с SF₆, инертен газ, стабилизирани с моно слой от фосфолипиди, придаващ много висока стабилност, ниска разтворимост и висока резистентност по отношение

на акустичното налягане. След инжектиране микромехурчетата преминават през пулмоналната бариера и навлизат в артериалната циркулация. Благодарение на високата флексибилност на липидната обвивка, микромехурчетата Соновю са много по-ехогенни от червените кръвни клетки или меките тъкани. Благодарение на физичните си характеристики, микромехурчетата генерират специфичен нелинеен отговор, при ниска акустична сила (механичен индекс $<0,2$) без да се разрушават. Честотата на резониране на Соновю съвпада с диагностичната ултразвукова честота при нисък механичен индекс и позволява генериране на образи в реално време.



Фиг. 1. КУУЗ образи на наш пациент А Wash-in феномен в артериална фаза; Б и Г wash-out феномен, съответно в портална и късна фаза

Компютър томография (КТ)

При 179 пациента с ХЦК е проведена КТ със Siemens Somatom Definition Dual Source CT. Изследването се извършва като се използва следния мултифазов протокол: 4 фази: една без контраст (нативна) и три с контраст (постконтрастни) – артериална (30-35сек), портална (75-90сек) и късна фаза (3 мин). По време на порталната фаза се сканира целия абдомен и малък таз за качествена оценка на порталната хипертензия и за стадиране на заболяването. Гръдният кош се оглежда по време на артериална фаза. Използва се контраст – Ultravist/Ултравист с йодна концентрация 370мг/мл, който се инжектира със скорост 3-5мл/сек за постигане доза между 1 - 1,5 мл/кг.

Магнитно резонансна томография (МРТ)

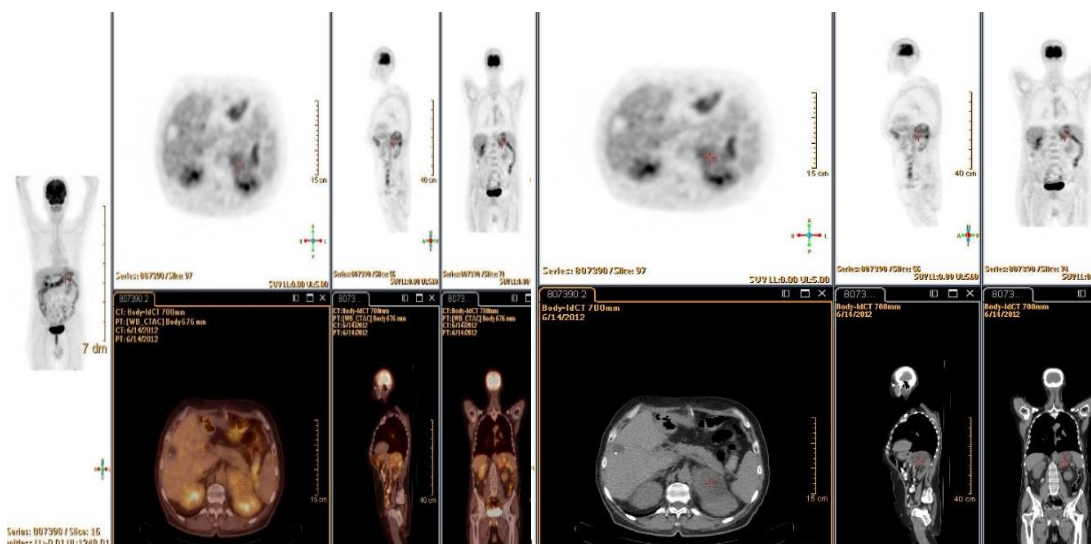
При 22 пациента е проведен МРТ с апарат за магнитно резонансна томография General Electric 1.5 Tesla. При всяко от изследванията е използвано контрастно вещество - Гадобутрол гадолиний. При трима пациента е извършен МРТ с Primovist (Гадоксетова киселина). При използване на гадолиний базирани контрастни вещества принципът на контрастиране на хепатоцелуларния карцином съответства на този при контраст-усилената компютърна томография (вкл. броят и закъснението на постконтрастните фази). Около 95% от гадолиния се отделя непроменен с гломерулна филтрация.

Хепато-билиарните контрастни вещества освен с интерстициално разпределение се характеризират и с поемане от хепатоцитите и последваща билиарна екскреция - съотношението на гломерулна към билиарна екскреция около 50:50%. Това позволява ранно динамично изследване на черния дроб, последвано от фаза (20мин след инжектирането), в която черният дроб е хиперинтенсен, а лезиите, несъдържащи хепатоцити са хипоинтенсни. Концентрацията на хепатобилиарните агенти варира от 0.025ммол/кг до 0.05ммол/кг (по-често използвана), като дори с оптималната концентрация, пациента ще получи половината от дозата гадолиний в сравнение със стандартно контрастно вещество. Този образен метод е много добър за откриване на ранен хепатоцелуларен карцином, притежава висока специфичност и чувствителност. Въпреки предимствата си, той остава трудно достъпен, поради високата си цена и ограниченото разпространение.

ПЕТ/КТ

При 6 пациента е проведена FDG ПЕТ/КТ с апарат Phillips Gemini TF PET/CT. При разглежданите случаи ПЕТ/КТ е извършен след като е проведено оперативно лечение. Ако FDG се натрупва в първичния хепатоцелуларен карцином ПЕТ/КТ може да бъде приложен за стадиране. FDG ПЕТ/КТ има предимство при мониторинга на проведеното лечение (химеотерапия, радиофреквентна аблация, артериална хемоемболизация). Чувствителността и

специфичността на метода са значително по-високи при рецидив на хепатоцелуларния карцином. Интензивността на натрупване на FDG в хепатоцелуларния карцином може да има прогностична стойност, както и да определи клиничния изход при тези пациенти. (фиг. 2)



Фиг. 2. Постоперативен ПЕТ/СТ. В левия лоб на черния дроб е изцяло ангажиран от Ту-формация с единични зони на некроза SUV 5,0-5,4. В VII чернодробен сегмент – единична хиподенсна лезия не натрупваща радионуклеотида с метални клипс.

4.1. Хистологични изследвания – материалът за изследването е взет чрез ТАБ или Tru-cut биопсии, под ехографски или скенеграфски контрол. Изследванията са извършени в „Клиниката по гастроентерология, хепатология и хранене“ и „Образна диагностика“, а получените материали са изследвани в Клиниката по обща и клинична патология.

При 110 пациента е извършена морфологична верификация на чернодробните лезии чрез ТАБ с игли на Cook с размер 20-22G и/или Coaxial Tru-cut биопсии с игли на Cook с размер 16-20G, под ехографски или КТ контрол. По време на манипулацията се вземат от 1 до 5-6 биопсии, които се поставени в контейнер с формалин.

При ТАБ аспирирания материал се фиксира в метанол за 3 мин, след което се пристъпва към оцветяване по Гимза :

- 7,5 мл от основния разтвор на Гимза се разтваря в 100 мл чешмяна вода;

- стъклата с аспирирания материал се заливат с така получения разтвор за 20 мин;
- сушене на стайна температура.

При Tru cut биопсията за целите на хистологичен анализ материалът се фиксира в неутрален формалин, следва включване в парафинови блокчета, стандартно оцветяване с хематоксилин-еозин и оцветяване по Gomori и Азан за определяне степента на фиброза.

Имунохистохимични методи Използван бе индиректен имунопероксидазен метод за имунохистохимичен анализ с помощта на mini KIT high Ph DAKO K8024.

Антителата - използвано е рекомбинантно моноклонално мише антитяло (recombinant monoclonal Mouse antibody) Glypican-3 (GPC3) clone 1G12, на фирмата ScyTek laboratories, Utah, USA.

Оценка на резултатите с 4 степенна скала: 0 – негативна експресия; 1 – слаба експресия на цитоплазмата; 2 - умерена експресия на цитоплазмата; 3 – силна експресия на цитоплазмата

Подготовка на биопсичните материали за имунохистохимично изследване - използвано разреждане 1:100.

- Биопсичните материали (фиксиран в неутрален формалин и включени в парафинови блокчета) бяха нарязани на срези с дебелина 5µm и поставени върху силанизирани стъкла.
- Депарафинизацията се осъществи в низходяща редица от алкохоли, както следва: Ethanol 100% 3 мин., Ethanol 90% 3 мин., Ethanol 80% 3 мин., Ethanol 70% 3 мин., Xylol 3 x 10 мин. След това срезите се измива с течаща вода и се поставиха в дестилирана вода.
- Антигенно разкриване: разкриването на антигените се осъществи с предварително загрят до 65°C En Vision FLEX Target Retrieval Solution (работен разтвор) в PT Link контейнер, като срезите бяха инкубирани за 20 мин. при температура 97°C и pH=9. След охлаждане пробите бяха

промита на стайна температура с измиващ буфер FLEX Wash Buffer (20x)
за 1-5 минути

Имунохистохимичен протокол

Срезите бяха оцветени по FLEX протокол, като за всички стъпки се използва влажна камера.

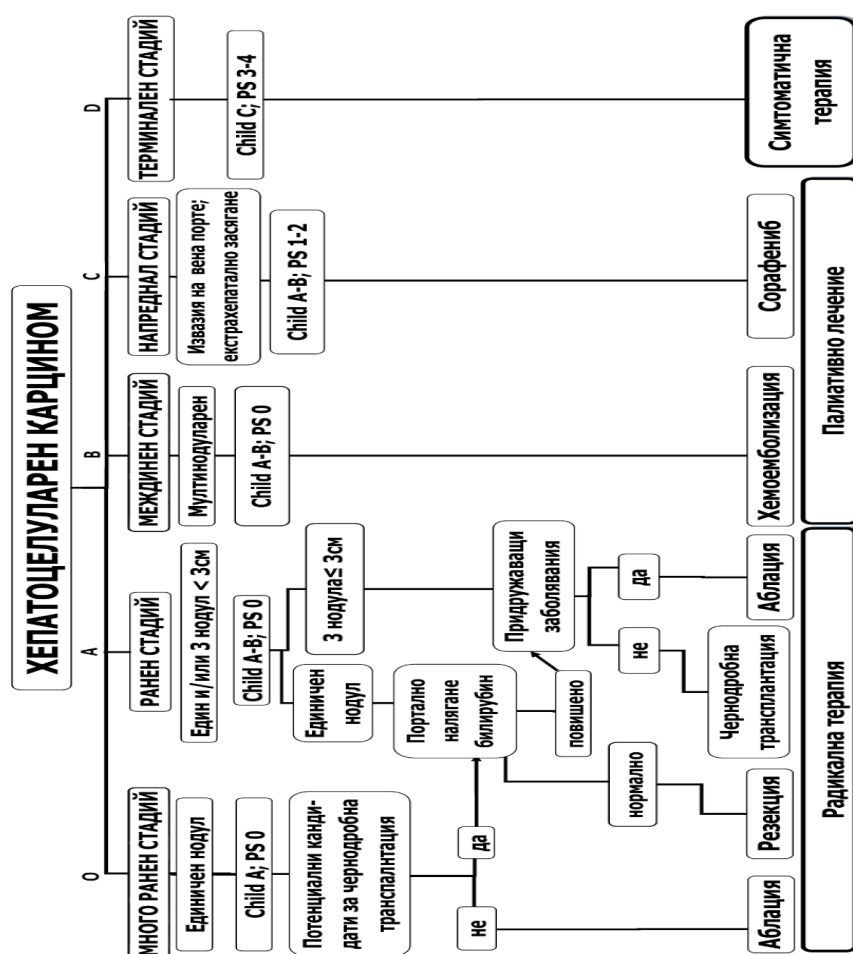
- Инкубация с пероксидазен блокиращ разтвор (3% H₂O₂) за 5 минути на стайна температура за блокиране на ендогенната пероксидазна активност.
- Изплакване с измиващ буфер за 5 мин.
- Инкубация с първичното антитяло с разреждане за 20 мин. на стайна температура
- Промиване с измиващ буфер за 2 x 5 мин. на стайна температура
- Инкубация с маркиран полимер HRP за 20 мин. на стайна температура
- Промиване с измиващ буфер за 3 x 5 мин. на стайна температура
- Инкубация на срезове с хромоген DAB пероксидазен разтвор за 2x 5 мин., при непрекъснато микроскопиране
- Промиване с буфер за 2 мин
- Изплакване с дестилирана вода за 2 мин.
- Контраоцветяване с Mayer's hematoxylin за 5 мин.
- Изплакване на пробите с дестилирана вода за 5 мин.
- Дехидриране в обратен възходящ ред етанол 70%, етанол 80%, етанол 90%, етанол 100% със същата продължителност както при депарафинизацията.
- Поставяне в монтираща среда.

4.2. Стадиране

Барселонска класификация за чернодробен рак (BCLC)

Всички 222 пациента с установен ХЦК са класифицирани според BCLC (фиг. 3.). Тази класификация разделя пациентите в 4 стадия, според размера и броя на чернодробните лезии, общото състояние на пациента или така наречения performance

status и чернодробната функция, определена чрез Child Pugh класификацията. За всеки стадий се препоръчва и най-подходящия лечебен подход.



Фиг. 3. Барселонска класификация за чернодробен карцином.

Класификации за определяне стадия на чернодробната цироза

При всички 223 пациента с чернодробна цироза – контролна група 51 (27 жени, 24 мъже) и 172 пациента с ХЦК (43 жени и 129 мъже) е определен стадия на заболяването спрямо класификацията по Child Pugh.(таблица 1)

Табл. 1. Класификация на Child Pugh адаптирано от Sleisenger[195]

ЧАЙЛД / ПАРАМЕТРИ	ТОЧКИ		
	1	2	3
Билирубин	<35	35-51	>52
Албумин	35	28-35	<28
Протромбиново време (сек. над нормата)INR	<4 <1,7	4-6 1,7-2,3	>6 2,3
Асцит	няма	умерен	голям
Чернодробна енцефалопатия	липсва	1-2 степен	3-4 степен
Child A 5-6; Child B 7-9; Child C 10-15;			

4.3. Предсказващи модели и прогностични маркери

ADRESS модел

ADRESS моделът се използва за оценка шанса за развитие на ХЦК в рамките на 1 година. Той включва сбора от пол, възраст, раса, захарен диабет, етиология на цирозата, тежест според Child Pugh като използва следната зависимост: $100 \times (1 - S_0(t)) \times \exp(\text{ADRESS-HCC Score})$

Посоченият модел е признат от AASLD и се използва в програмите за проследяване на рисковете за ХЦК групи.

APRI

APRI или аспартат аминотрансфераза/тромбоцитен индексът се използва за неинвазивна оценка на степента на фиброза при лица с хроничен вирусен хепатит. Освен това той се използва като предиктор за смърт, свързана с чернодробно заболяване, при пациенти с хронична вирусна инфекция и алкохолна болест. Показателя се изчислява по формулата:

$$\text{APRI} = \frac{\frac{\text{АСАТ(UI/L)}}{\text{Горна референтна граница}}}{\frac{\text{Тромбоцити (10}^9\text{/L)}}{\text{Горна референтна граница}}} \times 100$$

За горна референтна граница се приема 40 UI/L.

NLratio

NL ratio (съотношението на неутрофили към лимфоцити) и се приема, че повишаването му корелира с прогресията на тумора, поява на метастази и по-лоша преживяемост.

3.3.3. Статистически методи – за анализ и интерпретация на данните и с оглед установяване на връзките и взаимодействията между явленията, обект на настоящия дисертационен труд:

- Дисперсионен анализ (ANOVA) за оценка доколко влиянието на даден фактор е статистически значимо или не
- Вариационен анализ за изследване на количествените характеристики на показателите

- Корелационен анализ за оценка на зависимостта между изследваните показатели. Оценката на силата на зависимостта между променливите се базира на резултатите от коефициента на Пиърсън (r) и на Спирман (ρ)
- Регресионен анализ за оценка на възможните функционални зависимости между изследваните показатели. Изследване на причинно-следствените връзки.
- Оценка на риска (HR и RR) за доказване на настъпването на дадено събитие при наличието на рисков фактор.
- ROC curve анализ за определяне на cut-off стойността, за разграничаване на ниска и висока стойност на изследваните показатели
- Анализ на преживяемостта – Kaplan-Meier test, Cox regression, за изследване на преживяемостта на пациентите с ХЦК според влиянието на ниската и високата стойност на показателите и изследваните клинично-патологични характеристики
- Прогностичен анализ – Positive predictive value (PPV) за определяне на прогностичната стойност за настъпване на дадено събитие според конкретната извадка

$$PPV = \frac{\text{Броя на истински положителните отговори}}{\text{Броя на истински положителните отговори} + \text{Броя на фалшиво положителните отговори}}$$

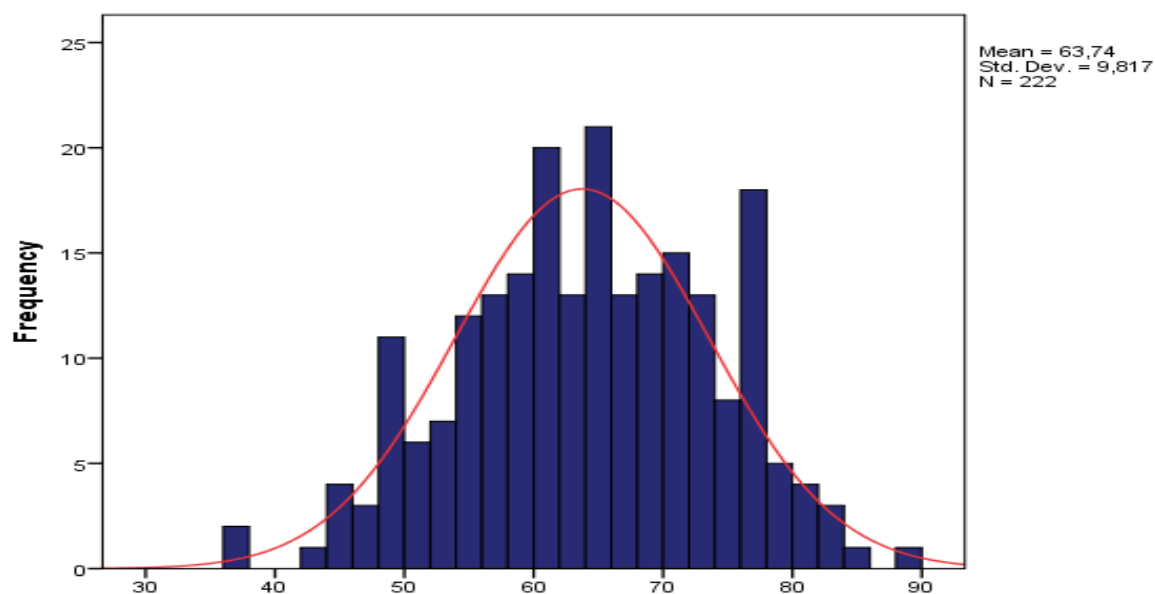
- Сравнителен анализ (оценка на хипотези) – χ^2 , t-test Student's за сравняване на количествени и качествени показатели и изследване на разликата между тях
- Графичен и табличен метод на изобразяване на получените резултати
- При обработка на данните е използван статистическия софтуерен пакет – IBM SPSS for Windows, v.20.0.

При всички проведени анализи се приема допустимо ниво на значимост $p < 0,05$ при доверителен интервал 95%.

4. Резултати и обсъждане

Характеристика на изследваните пациенти

За период от 11 години (2005-2016г.) са проследени, чрез абдоминална ехография, ниво на трансаминази и ниво на α -ФП, 358 пациента с хронично чернодробно заболяване на средна възраст $59,2 \text{ г.} \pm 12,5 \text{ г.}$, минимална възраст 22 г., а максимална 89 г. (фиг. 4).



Фиг. 4. Разпределение на пациентите според възрастта при поставяне на диагнозата

При 222 от изследваните лица е установен ХЦК. В контролната група (136) са включени пациенти, които са проследявани в клиниката по гастроентерология средно $6,93 \pm 3,75$ години (между 1 и 20 години), като за този период не са развили ХЦК, въпреки, че при тях са налице фактори увеличаващи риска от малигнизация – хронична вирусна инфекция с голяма давност, висока вирусна репликация или трансаминазна активност или наличие на чернодробна цироза. На таблица 2 е представена характеристиката на пациентите с ХЦК (клинична група) – 222 и тези от контролната група - 136. Според проведените сравнителни анализи съществена разлика ($p < 0,001$) беше установена по възраст, пол, причина за ХЦК, проведена противовирусна терапия и наличието на цироза. **Средната възраст при поставяне на диагнозата ХЦК е $63,7 \pm 9,8$ години, а средната възраст в контролната група е $51,7 \pm 12,9$ години.** Пациентите са разпределени и според

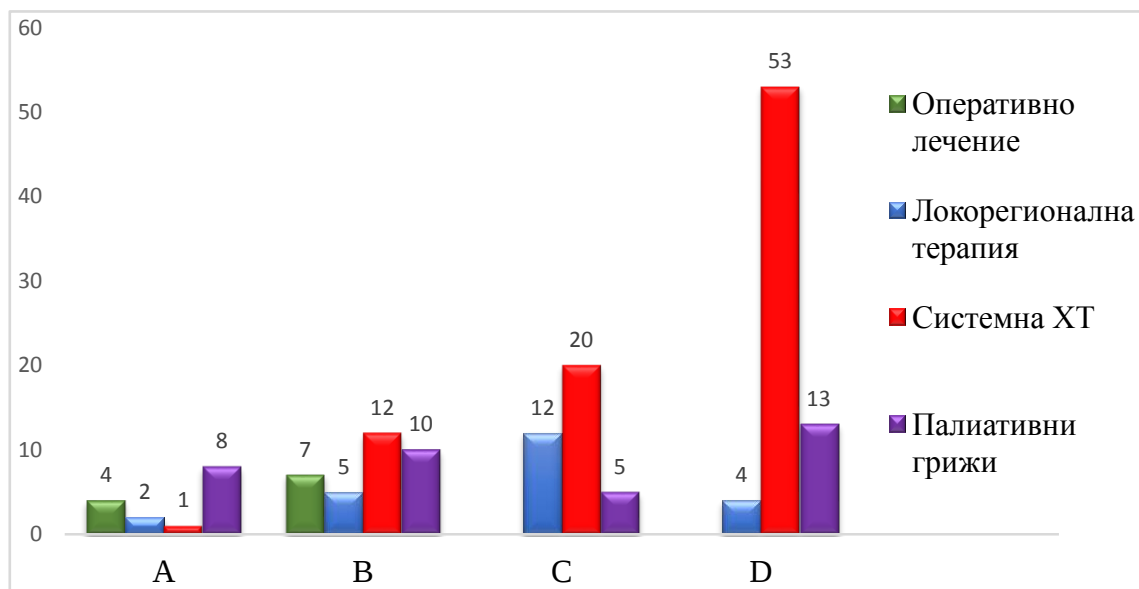
възрастовите групи на СЗО: 0-14 г. – детска възраст; 15-44 г. – млада възраст; 45-59 г. – средна (зряла) възраст; 60-74 г. – възрастни хора; 75-89 г. – стари хора (старческа възраст); над 90 г. – дълголетие. При това разпределени пациентите не се установи сигнификантна разлика, като прави впечатление, **че основната част от пациентите в двете групи попадат във възрастовата група – 60-74 години.** Проведените изследвания от други автори показват, подобна зависимост - **честота на заболяването достига своя пик след 70 годишна възраст.** [70, 85] [85] Разпределението по пол доказва, че **ХЦК се среща по-често при мъжете (71,20 % от клиничната група),** докато в контролната група почти не се намира разлика в заболяемостта от чернодробно заболяване при мъжете и жените ($p = 0,006$). Мъжкият пол преобладава и в проучването на К. Попов и съавтори (2017), където мъжете са 73% от всички пациенти с ХЦК.[11] При нашето изследване основната част от изследваните лица са с наднормено тегло, като средната стойност на BMI за клиничната група е $27,4 \pm 4,0$, а за пациентите от контролната група е $28,0 \pm 6,2$. При сравняване на хранителните навици на двете групи пациенти се забелязва значима разлика между пациентите с ХЦК и пациентите с хронично чернодробно заболяване. **По-голямата част от пациентите с малигнизация консумират алкохол, съответно 88,70% (197) от пациентите с ХЦК и 66.90% (91) от контролната група.** В групата с ХЦК има значително повече пушачи , отколкото в контролната група - 26,6% (59) и 11.00% (15). При сравняване етиологията на подлежащото чернодробно заболяване се установява значително по-висока честота на вирусната етиология ($< 0,001$), съответно 64,40 % (143) за клиничната група и 97,80 % (133) за контролната група. Високият дял на хроничната вирусна инфекция в контролната група е резултат на подбора – това са високо рискови пациенти. Съществена разлика се установява и при сравняване на чернодробната цироза. **По-голямата част от пациентите с ХЦК са достигнали стадий на чернодробна цироза - 80,00 % (172),** докато в контролната група по-голяма част от изследваните лица нямат цироза - 62,50 % (85). Статистическа значима разлика се установява и във вида на чернодробната цироза, **като в групата на ХЦК повечето**

пациенти са в декомпенсиран стадий на чернодробната цироза - 63.80 % (113) към 36.20 % (64), докато в контролната група преобладава компенсиранията чернодробна цироза - 81.80 % (36) към 18.20 % (8).

Табл. 2 Характеристика на пациентите в клиничната и контролната група

Показател		Клинична група (n=222)	Контролна група (n=136)	P
Възраст	Mean ± SD	63,7± 9,8	51,7 ± 12,9	< 0,001
	15-44 г.	22/ 9,90 %	23/ 16,90 %	> 0,05
	45-59 г.	81/ 36,50 %	48/ 35,30 %	
	60-74 г.	97/ 43,70 %	52/ 38,20 %	
	75-89 г.	22/ 9,90 %	13/ 9,60 %	
Пол	Мъже	159/ 71,20 %	79/58,10 %	0,006
	Жени	63/ 28,80 %	57/ 41,90 %	
BMI	Mean ± SD	7,4±4,0	28,0±6,2	> 0,05
Алкохолна употреба	Да	197/ 88.70%	91/66.90%	< 0.001
Тютюнопушене	Да	59/26.60 %	15/11.00%	< 0.001
Етиология на чернодробното заболяване	Вирусни	143/ 64,40 %	133/ 97,80 %	< 0,001
	Невирусни	79/ 35,60 %	3/ 2,20 %	
Цироза	Не	43/ 20,00 %	85/ 62,50 %	< 0,001
	Да	172/ 80,00 %	51/ 37,50 %	
	Компенсирана	64/36.20 %	36/81.80 %	< 0.001
	Декомпенсирана	113/63.80 %	8/18.20 %	
BCLC	A	14/ 7.30 %		
	B	44/23.00 %		
	C	76/ 39.80 %		
	D	57/ 29.80 %		
Лечение	Оперативно	13/5.80 %		
	Локорегионална терапия	27/12.20 %		
	Сорафениб	139/62.60 %		
	Палиативни грижи	43/19.40 %		

Всички пациенти с малигнизация са стадириани според Барселонската класификация за чернодробен карцином, като най-голямата част от тях са в стадий С - 39,80% (76), а най-малко са в стадий А - 7,3% (14). Според стадия се определя терапевтичният метод, който да се приложи, за това и радикално оперативно лечение е приложено само при 5,8% (13). От друга страна при основната част на пациентите е проведено лечение с мултикиназния инхибитор Сорафениб 62.60 % (139). Разпределението на различните терапевтични методи, според BCLC, в който са пациентите при поставяне на диагнозата е показано на фигура 5. В хода на проследяването, при част от пациентите са приложени няколко метода за лечение, това обяснява прилагането на палиативни грижи при пациенти в стадий А и В. На фиг. 5. се вижда, че оперативно лечение е приложено при пациентите в стадий А и В по BCLC. Локорегионалната терапия, която включва TACE, RFA, TAE е приложена основно при пациентите в стадий С – 32,43% от лицата в този стадий, а системната химиотерапия е проведена основно при пациентите в стадий D.



Фиг. 5. Разпределението на различните терапевтични методи, според стадия по BCLC

4.1.Оценка на ролята на хроничната инфекция с хепатотропните вируси HBV, HDV и HCV, като основа за развитие на първичния чернодробен карцином.

При 77,09% (276) от изследваните лица е установена вирусна инфекция. От таблица 3 се вижда, че **пациентите от клиничната група са по-възрастни от тези в контролната, съответно $63,74 \pm 9,82$ към $51,74 \pm 12,90$.** Статистически значима умерена зависимост се установява и по половия признак – в клиничната група мъжете са по-голям дял, отколкото в контролната група, съответно **71,6% за групата с ХЦК и 58,1% за контролната група.** HBV инфекция е установена при 182 (65,94%) – при 39,63% (88) от пациента с ХЦК, 69,11% (94) от контролната група, HCV инфекция е установена при 101 (36,59%) случая – 26,12% (58) от клиничната и в 31,61% (43) в контролната група, ко-инфекция е установена при 8 (2,89%) от пациентите – 5 с ко-инфекция на HBV+HCV хепатит и трима с ко-инфекция HBV+HDV хепатит. (таблица 10) **Впечатление прави, че преобладават пациентите с хроничен HBV хепатит и в двете групи (съответно 55,90 % в клинична група и 64,90 % в контролна група), следван от хроничен HCV хепатит (съответно 39,20 % в клинична група и 29,40 % в контролна група).** Ко-инфекциите представляват относително нисък дял.

Не се установи разлика между двете разглеждани групи по отношение на вредните навици – алкохолна злоупотреба и тютюнопушене, като прави впечатление, че и в двете групи преобладават лицата, консумиращи алкохол и употребяващи цигари. Съществена разлика не показва и изследването на изходната вирусната репликация - преобладава относителния дял на високата вирусна репликация (HBV DNA ≥ 2000 IU/mL – 74,20 % за клинична група и 73,90 % за контролна група; HCV RNA $\geq 400\,000$ IU/mL – 66,70 % за клинична група и 69,20 % за контролна група). Основната част от изследваните лица са HbeAg негативни **Статистически значима разлика се установи по отношение на трансаминази (АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ), като основната**

част от пациентите с ХЦК са с повишени ТА - 91,80 %, докато в контролната група са значително по-малко 60,70 % ($p < 0,001$).

Съществена разлика се установи и по отношение на проведената противовирусна терапия ($p < 0,001$) - само 23 пациента (10,80 %) от клиничната група са провели антивирусно лечение, докато в контролната група са 122 пациента (89,70 %). Това се дължи на факта, че **основната част от пациентите в клиничната група – 83,78% (186) не са проследявани преди малигнизацията и съответно не са лекувани**, докато при пациентите включени в контролната група е прието, че са с висок риск от развитие на чернодробен карцином и са проследявани чрез абдоминална ехография и ниво на α -ФП и съответно е провеждана противовирусна терапия.

. Табл. 3. Характеристика на пациентите с хронична вирусна инфекция в клиничната и контролната група.

Показател			Клинична група с НСС (n=143)	Контролна група (n=133)	P
Възраст	Mean $\pm$ SD		63,74 $\pm$ 9,82	51,74 $\pm$ 12,90	<0,001
Пол	Мъже		159/71,6%	79/58,1%	=0,006
	Жени		63/28,4%	57/41,9%	
Етиология на чернодробното заболяване	HCV		55/ 39,20 %	39/ 29,40 %	> 0,05
	HBV		80/ 55,90 %	86/ 64,60 %	
	HCV+HBV		5/ 3,50 %	2/ 1,50 %	
	HDV+HBV		3/ 1,40 %	6/ 4,50 %	
Алкохолна консумация	Да	HBV	64	20	> 0,05
		HCV	35	10	
Тютюнопушене	Да	HBV	23	11	> 0,05
		HCV	4	4	
HBV DNA (IU/mL)	< 2000 IU/mL		8/ 25,80 %	24/ 26,10 %	> 0,05
	$\geq$ 2000 IU/mL		23/ 74,20 %	68/ 73,90 %	
HCV RNA (IU/mL)	< 400 000 IU/mL		4/ 33,30 %	12/ 30,80 %	> 0,05
	$\geq$ 400 000 IU/mL		8/ 66,70 %	27/ 69,20 %	
Hbe Ag	Положителни		3/1,4%	5/3,7%	> 0,05
	Отрицателен		216/98,60%	131/96,30%	
Болни с повишени трансаминази	Нормални ТА		18/ 8,20 %	53/ 39,30 %	< 0,001
	Повишени ТА		202/ 91,80 %	82/ 60,70 %	
	Не		189/ 89,20 %	14/ 10,30 %	< 0,001

Противовирусна терапия	Да	23/ 10,80 %	122/ 89,70 %	
Цироза	Не	43/ 20,00 %	85/ 62,50 %	< 0,001
	Да	172/ 80,00 %	51/ 37,50 %	
Стадий А по Чайлд	HBV	27	21	> 0,05
	HCV	19	13	
Стадий В по Чайлд	HBV	20	24	> 0,05
	HCV	16	19	
Стадий С по Чайлд	HBV	22	23	> 0,05
	HCV	17	17	
Захарен диабет	Да	HBV	10	> 0,05
		HCV	16	

Наличието на чернодробна цироза също показва статистически значима разлика при пациентите с ХЦК и контролната група ($p < 0,001$), като 80,00 % от пациентите в клиничната група са с цироза, а от контролната 37,50 %. Редица проучвания показват, че основната част от пациентите с ХЦК са с чернодробна цироза.[40, 57, 234, 238]

Табл. 4. Сравнителна характеристика на пациенти с ХЦК [2, 220]

Показатели		Собствено изследване, 2017 (n=222)	M. Watanabe et al., 2017 (n=103)	Й. Генов, 2008 (n=63)
Възраст	Средна възраст	63 (37-89)	72 (38-99)	61,17(44-80)
	≥ 75 г.	35/ 15,80 %	46 / 44,70 %	
Пол	Мъже	158/ 71,20 %	68 / 66,00 %	44(69,8,8%)
	Жени	64/ 28,80 %	35/ 34,00 %	19(30,2%)
Етиология на чернодробното заболяване	Вирусни	143/ 64,40 %	49/ 47,60 %	58(92,06%)
	Невирусни	79/ 35,60 %	54/ 52,40 %	-
	HCV	55/ 39,20 %	42/ 85,70 %	19(30,2%)
	HBV	80/ 55,90 %	6/ 12,20 %	32(50,8%)
	HCV+HBV	5/ 3,50 %	1/ 2,10 %	3(4,8%)
	HDV+HBV	3/ 1,40 %	-	4(6,3%)

След като сравнихме пациентите от двете групи разгледахме особеностите на лицата с хронична вирусна инфекция в клиничната група. На табл. 4 е направена сравнителна характеристика на нашите пациенти с ХЦК и

тези на други автори. [220] Впечатление прави, че в нашето изследване пациентите са сравнително по-млади отколкото в изследването на М. Watanabe et al. (2017), съответно 63 г. към 72 г, а са близки с тези на Й. Генов (2008) 63 г. /61,17 г. При изследването на относителният дял на пациентите над 75 г. установихме значима разлика в резултатите от нашата извадка и тази на другите автори ($p < 0,01$), като може да се каже, че при нас тези пациенти съставляват приблизително 1/6 от извадката, докато в проучването на М. Watanabe et al. е около половината от изследваните им пациенти. От гледна точка на половия признак не установихме съществена разлика в трите проучвания, като преобладаващи са мъжете.

Установихме статистически значима разлика в причината за развитие на ХЦК ($p < 0,01$), като в нашето изследване и в това на Й. Генов (2008) преобладава вирусната етиология (64,40 %), докато в проучването на М. Watanabe et al причината е невирусна (52,40 %).[2] Освен това разлика беше намерена и във вида на подлежащата вирусна инфекция ($p < 0,01$), като **в нашето изследване и в това на Й. Генов преобладават пациентите с хроничен HBV хепатит (55,90 %), докато в проучването на М. Watanabe et al. преобладават пациентите с хроничен HCV хепатит (40,80 %).** Установените различия могат се обяснят с различното местоположение на сравняваните изследвания. Проучването на М. Watanabe et al е проведено в района с висока честотата на ХЦК, като Източна и Североизточна Азия и Северна Африка.[205] Ко-инфекциите в нашата извадка са значително повече отколкото в изследването на М. Watanabe et al., където има само един случай на HCV + HBV.

Освен като цяло пациентите с ХЦК с вирусна етиология бяха сравнени и по вида на инфекцията, като нашите резултати са сравнени с тези на други автори. На табл. 5 е представен сравнителен анализ на резултатите от нашето изследване и резултатите на R. Zampino et al. (2015).[247]

Табл. 5. Сравнителна характеристика на пациенти с ХЦК с HBV и HCV[247]

Показател		Собствено изследване, 2017		R. Zampino et al., 2015	
		HBV (n=80)	HCV (n=55)	HBV (n=46)	HCV(n=166)
Възраст	Mean (range)	61,1 (44-78)	67,4 (37-83)	47 (23-65)	53,5 (21-80)
Пол	Мъже	71 / 88,70 %	29 / 52,70 %	33 / 71,70 %	95 / 57,20 %
	Жени	9 / 11,30 %	26 / 47,30 %	13 / 28,30 %	71 / 42,80 %
АСАТ (IU/L)	mean±SD	100,7 ± 104,9	111,5 ± 76,6	83 ± 84	62 ± 50
АЛАТ (IU/L)	mean±SD	61,5 ± 52,3	67,8 ± 53,8	124.95 ± 92	89 ± 73

Представени са четири показателя, първият от които е възрастта. Според данните се вижда, че нашите пациенти са значително по-възрастни със средна възраст над 60 г., докато пациентите в изследването на R. Zampino et al. са със средна възраст над 45 г. При HBsAg позитивни пациентите с ХЦК по отношение на възрастта в изследването на R. Zampino et al. се наблюдава ниска долна граница 23 г., докато при нашите пациенти тази граница е 44 г., а горната граница е 65 г. за Непалското изследване и 78 г. за нашата извадка. От друга страна при пациентите с ХЦК позитивни на anti-HCV установихме сравнително ниска долна граница (37 г.) в нашата извадка и много ниска (21 г.) в изследването на другите автори, но горната граница и за двете изследвания е почти една и съща (83 г. към 80 г.). Възрастовите различия в изследванията може да се обясни с по-ниската средна възраст на пациентите с ХЦК в Италия.[34] Резултатите относно възрастовия показател в нашето изследване потвърждават тези от световната литература, **че честотата на злокачествените заболявания е по-висока при пациентите над 60 г.** [25, 221]

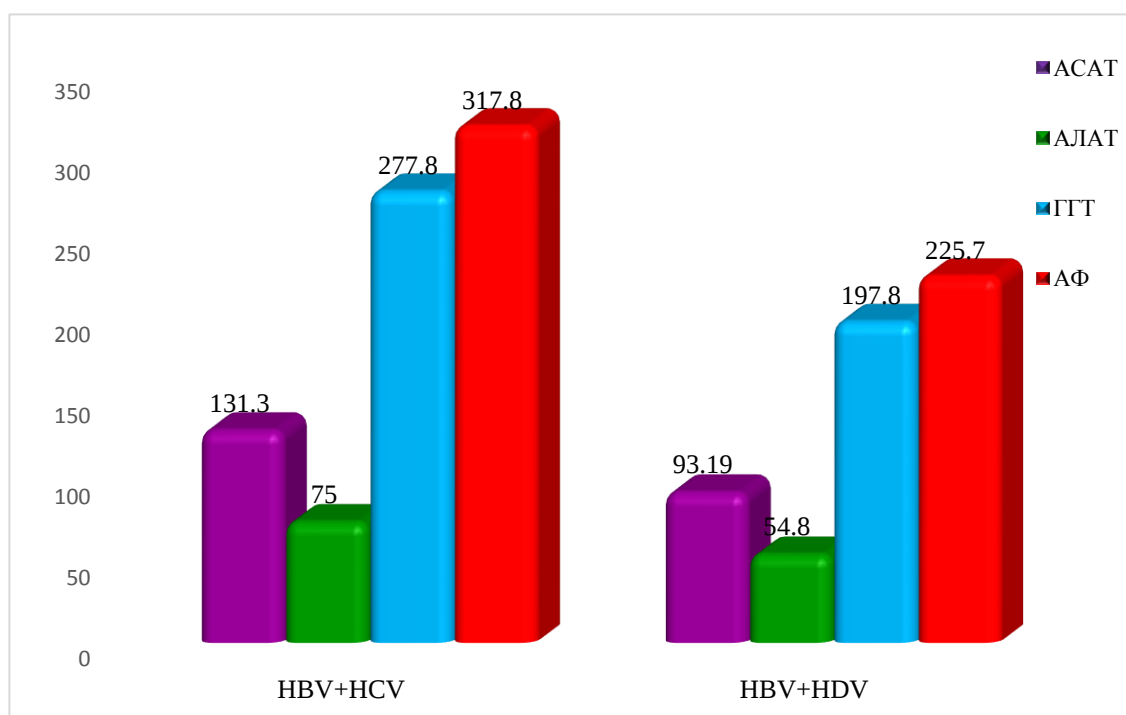
И в двете изследвания се установява една и съща тенденция относно половия признак, **като при пациентите с ХЦК позитивни на HBsAg се**

наблюдава значителен превес на мъжете (съответно 88,70 % в нашата извадка и 71,70 % за изследването на R. Zampino et al.). В своите проучвания Томов и Желев докладват, че мъжкия пол преобладава и при окултната HBV инфекция[5, 8]. От друга страна при **пациентите с ХЦК позитивни на anti-HCV разликата в пола е несъществена** и за двете изследвания.

Изследването на двата лабораторни показателя АСАТ и АЛАТ показва разлика в средните стойности в двете изследвания, като средната стойност на АСАТ в нашето изследване е значително по-висока и за двете групи пациенти, в сравнение с изследването на R. Zampino et al. От друга страна средните стойности на АЛАТ в нашата извадка е значително по-ниска от тази в проучването на другите автори.

Ко-инфекция

Ко-инфекция се открива при 8 от нашите пациенти, като при петима е налице HBV+HCV инфекция, а при трима е HBV-HDV. **Всички лица с HBV+HCV ко-инфекция са мъже, на средна възраст 62 години, като при 4/5 са достигнали стадий на чернодробна цироза.** На фигура 6 се вижда, че всички пациенти са с повишени ТА, като холестазата по-силно изразена от цитолизата. **В нашата извадка ко-инфекция HBV-HDV е установена при трима мъже на средна възраст 64,8 години, като всички са с чернодробна цироза.** При разглеждане на лабораторните показатели (фигура 6) прави впечатление, че ТА са повишени в по-малка степен в сравнение с ТА при пациентите с HBV+HCV ко-инфекция, като и при тях преобладава холестазата. Пациентите и от двете групи са били в стадий С и D по BCLC при откриване на малигненото заболяване. **Средната преживяемост на тези пациенти е значително по-ниска от средната за извадката – 9,4 месеца към 13 месеца.**



Фиг. 6. Трансаминазна активност на пациентите с ХЦК и ко-инфекция HBV-HCV и HBV-HDV

Въз основа на представените резултати направихме профил на пациента с висок риск от ХЦК - мъж над 60 години с HBV цироза, при който не е провеждана противовирусна терапия.

Преживяемост

На табл. 6 е изследвана връзката между клиничните характеристики на пациентите с ХЦК и преживяемостта, като е оценен риска. В нашата извадка се откриха четири фактора, които имат отношение към понижаването на преживяемостта на пациентите с ХЦК – α -ФП, АСАТ, общ билирубин и албумин. **Повишените чернодробни показатели (АСАТ, общ билирубин)** са индикатор за увредена чернодробна функция, като при нашето изследване се установява, че **повишаването им корелира с по-лоша преживяемост. Високите стойности на α -ФП също се свързва с по-кратък живот при пациентите.** Албумин е рисков фактор с противоречив характер, тъй като стойностите са на границата между определянето му като рисков фактор или фактор с протективно влияние.

Табл. 6. Връзката между клиничните характеристики на пациентите с ХЦК и преживяемостта - универсален Сох регресионен анализ[45]

Показател	Собствено изследване, 2017 (n=222)		JL. Chen et al., 2016	
	HR	P	HR	P
Възраст	1,004	0,685	1,320	0,101
Пол	0,806	0,169	0,951	0,845
HBeAg	0,522	0,266	1,582	0,020
HBV DNA (IU/mL)	1,118	0,786	1,580	0,009
Размер на тумора (см)	1,051	0,083	1,745	0,001
Брой на туморите	1,071	0,752	2,347	<0,001
α -ФП(ng/mL)	1,098	0,015	1,181	0,335
АЛАТ (IU/L)	1,308	0,062	1,249	0,188
АСАТ (IU/L)	1,631	0,003	1,510	0,023
Албумин (g/L)	0,531	< 0,001	0,358	0,008
Общ билирубин (μ mol/L)	1,004	< 0,001	1,407	0,097
Протромбиново време (сек.)	1,010	0,175	1,051	0,799
Проведено лечение	1,123	0,525	0,672	0,024

В изследването на JL. Chen et al. (2016) се открояват две групи фактори. В групата на рисковите фактори за преживяемостта са наличие на HBeAg, високите нива HBV DNA, размер и броя на тумора и високите стойности на АСАТ. С протективен характер са ниските нива на албумин и проведеното антивирусно лечение. Малкият брой пациенти с ХЦК, провели антивирално лечение в нашата извадка не са достатъчно за оценка на показателя спрямо преживяемостта.

На табл. 7 е представено влиянието на различни фактори върху преживяемостта при пациентите с ХЦК и високи нива на HBV DNA (≥ 2000 IU/mL). В нашето изследване статистически значими са само два рискови фактора – **високите стойности на АСАТ и албумин са предиктор за лоша преживяемост при пациентите с хроничен HBV хепатит и ниво на HBV DNA ≥ 2000 IU/mL /ml, развили ХЦК.**

Табл. 7. Преживяемост при пациентите с ХЦК и високи нива на HBV DNA (≥ 2000 IU/mL)– унивариантен Cox регресионен анализ [45]

Показател	Собствено изследване, 2017		JL. Chen et al., 2016	
	HR	P	HR	p
Възраст	0,944	0,107	1,329	0,186
Пол	1,132	0,871	1,087	0,795
HbeAg	1,458	0,718	1,407	0,132
Размер на тумора (см)	0,918	0,661	1,618	0,024
Брой на туморите	0,198	0,234	2,175	0,010
α-ФП (ng/mL)	1,002	0,230	1,291	0,240
АЛАТ (IU/L)	1,010	0,097	1,064	0,774
АСАТ (IU/L)	1,010	0,013	1,657	0,018
Албумин (g/L)	0,970	0,366	0,294	0,008
Общ билирубин (μmol/L)	1,010	0,013	1,566	0,077
Протромбиново време (сек.)	1,014	0,915	0,867	0,557
Проведено лечение	0,779	0,600	0,499	0,001

В изследването на JL. Chen et al. (2016) се открояват три рискови фактора за преживяемостта на пациентите – размер и брой на туморите и високите стойности на АСАТ. Високите стойности на албумин и проведеното антивирусно лечение се открояват като протективни фактори за преживяемостта на пациентите с ХЦК с високи нива на HBV DNA (≥ 2000 IU/mL). Подобни резултатите описват и други автори.

На табл. 8 са представена на връзката между клиничните характеристики на пациентите с ХЦК и ниски нива на HBV DNA (< 2000 IU/mL) и преживяемостта. В нашето изследване не беше установена статистическа значимост на разглежданите показатели, докато в изследването на JL. Chen et al. рискови фактори в тази група са броя и размера на туморите. Липсата на статистически значима разлика би могла да се дължи на много малкия брой пациенти с ХЦК с ниска вирусна репликация.

Табл. 8. Преживяемост при пациентите с ХЦК и ниски нива на HBV DNA (< 2000 IU/mL) – унивариантен Cox регресионен анализ [45]

Показатели	Собствено изследване, 2017		JL. Chen et al., 2016	
	HR	P	HR	p
Възраст	1,017	0,741	1,173	0,566
Пол	0,855	0,887	0,819	0,645
HbeAg	0,046	0,732	1,321	0,554
Размер на тумора (см)	1,160	0,564	2,013	0,013
Брой на туморите	1,371	0,388	2,612	0,013
α -ФП (ng/mL)	0,996	0,243	1,084	0,777
АЛАТ (IU/L)	1,014	0,110	1,219	0,487
АСАТ (IU/L)	1,007	0,318	0,820	0,626
Албумин (g/L)	0,907	0,076	0,490	0,324
Общ билирубин (μ mol/L)	1,008	0,141	1,167	0,66
Протромбиново време (сек.)	0,646	0,342	1,296	0,432
Проведено лечение	4,622	0,153	0,641	0,206

4.2. Значение на факторите, свързани с начина на живот и хранене, включително и на вредностите алкохол и тютюнопушене за възникване и превенция на хепатоцелуларния карцином

За оценка на хранителните навици на пациентите се създаде анкетна карта, която е представена в приложението. Въз основа на проспективно събраните данни се направи характеристика на хранителните навици на изследваните лица. На табл. 9 е направен сравнителен анализ на начина на живот и храненето на пациентите в контролната и клинична група и е оценена важността на всеки един от факторите като рисков за развитие на ХЦК. Захарният диабет е установен при 111 (50%) от пациентите с ХЦК и при 65 (47,80%) от лицата от контролната група.

Табл. 9. Характеристика на начина на живот и храненето на изследваните пациенти (брой пациенти)

Показател		Контролна група	Клинична група	P	OR за развитие на ХЦК
Захарен диабет		11	65	<0.05	
BMI	Mean ± SD	28,0 ± 6,2	27,4 ± 4,0	0,592	-
	≥ 25 kg/m ²	15	47	< 0,05	1,04 (0,38-2,81)
Консумация на алкохол	Не	14	-	< 0,001	3,16 (2,67-3,75)
	Да	91	197		
Тютюнопушене	Не	13	2	< 0,001	25,57(5,19-125,74)
	Да	15	59		
Консумация на кафе	Не	6	17	< 0,001	2,96 (1,59-5,47)
	Да	27	9		
	Рядко	-	-	> 0,05	-
	Няколко пъти седмично	4	3		
	Ежедневно	23	6		
Плодове	Не	-	1	0,500	2,05 (1,52-2,76)
	Да	23	22		
	Рядко	5	8	0,332	-
	Няколко пъти седмично	7	8		
	Ежедневно	11	6		
Зеленчуци	Не	2	1	0,453	2,38 (0,20-28,14)
	Да	21	25		
	Рядко	2	5	0,436	-
	Няколко пъти седмично	7	10		
	Ежедневно	12	10		
Червено месо	Не	5	2	0,170	3,28 (0,56-19,15)
	Да	16	21		
	Рядко	1	-	0,007	-
	Няколко пъти седмично	11	5		
	Ежедневно	4	16		

Бяло месо	Не	8	10	0,518	0,86 (0,26-2,79)
	Да	14	15		
	Рядко	4	1	0,193	-
	Няколко пъти седмично	8	13		
	Ежедневно	2	1		
Риба и рибни продукти	Не	2	2	0,697	1,00 (0,13-7,81)
	Да	20	20		
	Рядко	14	16	0,537	-
	Няколко пъти седмично	5	4		
	Ежедневно	1	-		
Мляко и млечни продукти	Не	-	2	0,255	2,05 (1,52-2,76)
	Да	23	22		
Сладки изделия	Не	-	1	0,512	2,00 (1,47-2,71)
	Да	21	22		
Тестени изделия	Не	1	-	0,478	2,14 (1,57-2,93)
	Да	21	24		

Не беше намерена съществена разлика в средната стойност на BMI в изследваните групи. Впечатление прави, че по-голямата част от пациенти със средна телесна маса в рамките на наднорменото тегло, попадат в клиничната група (лица с ХЦК). В нашето изследване **наднорменото тегло се оказва рисков фактор за развитието на ХЦК (OR=1,04 (0,38-2,81))**. Това се потвърждава и от мета-анализ на 26 проспективни проучвания, включващи 25 337 лица, което доказва, че наднормено тегло повишава риска за поява на ХЦК с 18%. То повишава вероятността за развитие на чернодробни заболявания, като цяло.[47]

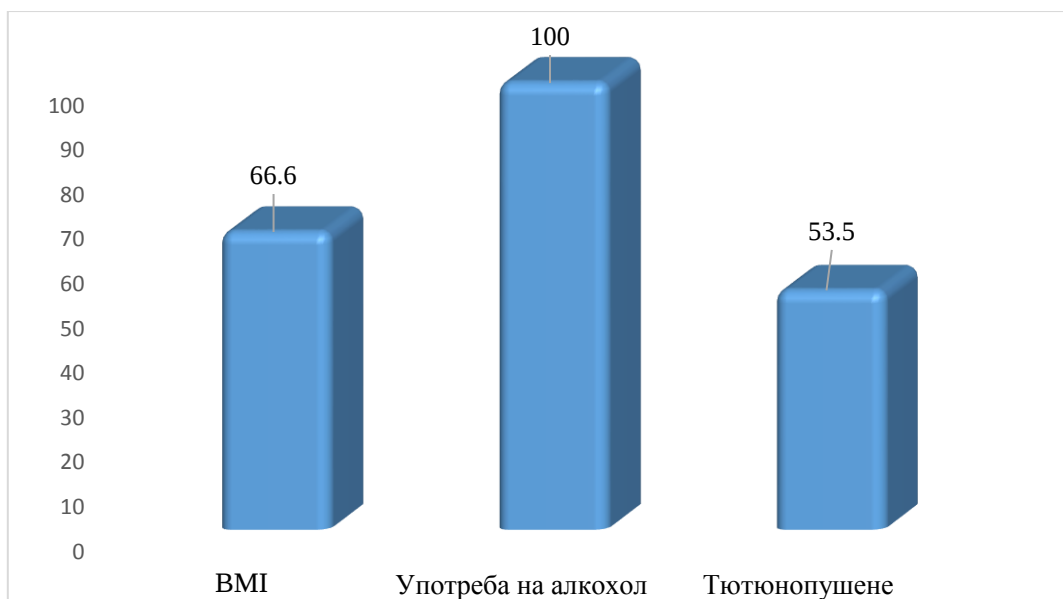
Изследването на консумацията на алкохол показва тревожната тенденция - **всички пациенти от клиничната група употребяват алкохолни напитки**, въпреки доказания риск за тяхното здраве. **В нашето изследване консумацията на алкохол носи висок риск за развитие на ХЦК (OR=3,16 (2,67-3,75))**. Алкохолните напитки, съдържат етанол, който заедно

със своите метаболити нарушава функцията на хепатоцитите, пролиферацията и апоптозата. Оксидативният стрес, до който води приема на алкохол, заема основна роля в развитието на алкохолно чернодробно увреждане и в канцерогенеза.[23, 174]

Следващият фактор с негативно влияние върху качеството на живот е тютюнопушенето, където се доказва, че значителната част от пациентите в клиничната група са пушачи. **В нашата извадка тютюнопушенето се оказва най-рисковия фактор за развитие на ХЦК (OR=25,57 (5,19-125,74)).** Това се дължи на факта, че съставките на цигарения дим, като винил хлорида имат доказан канцерогенен ефект.[131]

Разпределението на тези рискови фактори при нашите пациенти е показано графично на фигура 7, от която се вижда, че 100% от пациентите употребяват алкохол, 53,5% са пушачи, а повече от половината са със наднормено телесно тегло BMI > 25 kg/m².

Предвид литературните данни и спорната роля на кафето в превенцията на чернодробните заболявания интерес представляваше да изследваме как употребата на кафе оказва влияние върху развитието на ХЦК, като установихме, че повечето пациенти от клиничната група не консумират тази напитка, с което се установи рисковия характер на този показател. **В нашето изследване липсата на консумация на кафе се оказва рисков фактор за развитието на ХЦК (OR= 2,96 (1,59-5,47)).** От друга страна значителната част от пациентите в контролната група консумират кафе ежедневно, като по литературни данни и тези на други автори, се предпазват от прогресия на чернодробното заболяване.[190] Няколко епидемиологични проучвания приемат, че ежедневния прием на > 3 чаши кафе, има хепатопротективен ефект и предлагат консумацията му да се включи като алтернативен метод на лечение на най-честите чернодробни заболявания.[182]



Фиг. 7. Разпределение на тютюнопушенето, алкохолната консумация и ВМІ в % при нашите пациенти

В някои изследвания консумацията на плодове и зеленчуци се коментира като протективен фактор за развитието на ХЦК. В нашето изследване общата консумация на плодове и зеленчуци се определя като рисков фактор, но разгледана по честота се доказва, че **честата употреба на плодове (>3 пъти седмично) има рисков характер за развитието на ХЦК, докато честата употреба на зеленчуци се явява фактор с протективен характер за развитие на болестта.** Плодове и зеленчуци са източник на полезни хранителни вещества, като витамини, фибри и минерали, заедно с това са бедни на мазнини и калории. От друга страна плодовете съдържат фруктоза.

Резултатите от нашето изследване доказват тези на други автори, че **употребата на червено месо е рисков фактор за развитието на ХЦК,** като в нашата извадка пациентите предпочитат консумацията на този вид месо пред консумацията на бяло месо и риба. В повечето случаи червеното месо се консумира често, особено под формата на полуфабрикати, като различни видове колбаси.

Бялото месо от друга страна се разглежда като протективен фактор за развитието и прогреса на чернодробните заболявания, включително цироза и ХЦК, като тази му роля се доказва и в нашето изследване.

Въпреки това резултатите показват, че този вид месо е по-малко консумиран в сравнение с червеното месо, не само от пациентите в контролната, но и от клиничната група.

Ролята на консумацията на риба се разглежда като спорна от различните автори, подобен резултат отчетохме и ние[151]. Интересен е факта, че рибата не е сред най-предпочитаните храни на пациентите с чернодробни заболявания, въпреки местоположението им на брега на море, осигуряващо богат избор на риба и рибни продукти.

Консумацията на мляко и млечни продукти в нашата извадка се определя като рисков фактор - 2,05. Малкият брой на извадката и факта, че почти всички изследвани пациенти консумират млечните продукти може да се приеме като недостатък на изследването. Повишеният прием на млечни продукти покачва нивото на инсулиноподомния растежен фактор I, който участва в карциногенезата, включително и в малигнената трансформация на хепатоцитите, това може да обясни по-високият риск от малигнени заболявания при лицата консумиращи големи количества млечни продукти. Необходимо е допълнително изследване на този показател за потвърждение на рисковият му ефект за развитието на ХЦК.

Подобни резултатите се получават и при изследване влиянието на сладкарските и тестени изделия върху малигнизацията на хроничните чернодробни заболявания. Тези групи храни са богати на въглехидрати и с високо калорични, за това прекомерната им употреба води до повишаване на телесната маса. Ето защо те могат да се разглеждат като свързани фактори с наднорменото телесното тегло при определянето на риска за развитие на ХЦК.

На табл. 10 е представен анализ за оценката на риска от развитието на ХЦК според начина на живот на мъжете в нашето изследване и това на други автори.[150] Резултатите показват, че в нашето изследване с най-висок риск за развитие на ХЦК е тютюнопушенето (2,10), подобен резултат се съобщава и от CF. Wu et al., (2008), докато в това на R. Loomba et al., (2010) е употребата на алкохол.

Табл. 10. Оценка на риска (HR) от развитие на ХЦК при мъже[150]

Показател	Собствено изследване, 2017 (n=238)	R. Loomba et al., 2010 (n=2260)	CF. Wu et al., 2008 (n=1143)
Брой на мъжете с ХЦК	158	135	112
BMI ≥ 30 kg/m ²	1,22 (0,83-1,78)	1.02 (0.97-1.08)	-
Употреба на алкохол	1,55 (1,21-1,98)	1,91 (1,33-2,75)	0,99 (0,62-1,57)
Тютюнопушене	2,10 (1,22-3,61)	1,02 (0,72-1,42)	1,18 (0,78-1,76)

Употребата на алкохол в нашето изследване е вторият най-рисков фактор (1,55), докато в изследването на R. Loomba et al., (2010) тютюнопушенето и BMI ≥ 30 kg/m² имат еднакъв риск.

Интересен е резултата съобщен от CF. Wu et al., (2008) относно риска от употребата на алкохол (0,99), който може да се коментира с ниската консумация на алкохолни напитки или консумацията на слабо алкохолни напитки.

4.2.1. Алкохол

Въпросът за оценка на риска от консумацията на алкохол, според вида на алкохола и броя питиета/дневно, остава спорен в литературата предвид различните особености на нациите и вида консумиран алкохол, тъй като много автори приемат, че ефекта на етанола върху чернодробния метаболизъм е дозо-зависим.[210]

На таблици 11 и 12 е представен риска от употребата на алкохол за развитието на ХЦК. Резултатите от изследването показват, че **дори умерена консумацията на алкохол е рисков фактор за развитие на заболяването, като по-изразен е риска при мъжете в нашата извадка.** (табл. 11.) Това може да се обясни с ефекта, който оказва алкохола и неговите метаболити, след попадането и преработването му в организма. В хода на този процес се образува ацеталдехид и свободни радикали, водещи до оксидативен стрес, който може да увреди DNA и да стимулира развитието на ХЦК.[23, 143]

Табл. 11. RR за развитието на ХЦК при умерена употреба на алкохол[210]

Автор	Година	RR (95 % CI)
CJ. Chen et al.	1996	1.20 (0.21-6.84)
M. Murata et al., мъже	1996	0.51 (0.20-1.28)
JM. Yuan et al., мъже	2006	1.09 (0.76-1.57)
W. Ohishi et al.	2008	1.18 (0.58-2.42)
D. Trichopoulos, мъже	2011	0.41 (0.17-0.98)
D. Trichopoulos, жени	2011	1.08 (0.33-3.54)
Собствено проучване	2017	1.18 (0.71 – 1.97)
Собствено проучване, мъже	2017	1.32 (0.68-2.55)
Собствено проучване, жени	2017	0.98 (0.44-2.22)

Интересен е факта, че някои автори определят умерената консумация на алкохол като протективен фактор за развитието на чернодробен карцином. Тези резултати могат да се дължат на ниската концентрация на алкохол или на количеството изпит алкохол, което не се уточнява от авторите. В нашето изследване приемаме за умерена консумация приема на < 3 питиета седмично, като за едно питие се приема: 100мл вино, 25 мл концентрат (водка, ракия, уиски.), 250 мл бира. Именно това е и вероятната причина в нашата извадка **умерената консумация на алкохол да се определя като фактор с нисък риск при жените.**

Табл. 12. RR за развитието на ХЦК при честа употреба на алкохол[210]

Автор	Година	RR (95 % CI)
CJ. Chen et al.	1996	5.80 (1.20-28.07)
M. Murata et al., мъже	1996	1.50 (0.23-9.98)
JM. Yuan et al., мъже	2006	2.77 (1.49-5.15)
W. Ohishi et al.	2008	4.36 (1.47-12.92)
D. Trichopoulos, мъже	2011	1.17 (0.40-3.41)
Собствено проучване	2017	1.24 (0.62-2.48)
Собствено проучване, мъже	2017	1.33 (0.53-3.32)
Собствено проучване, жени	2017	1.08 (0.37-3.19)

На табл. 12. е представен рисковия профил на пациентите употребяващи често алкохол за развитието на чернодробен карцином. Резултатите на всички автори са категорични, че **честата консумация на алкохол, без значение от вида е рисков фактор за развитието и прогреса на заболяването и при двата пола.**

4.2.2. Кафе

На табл. 13. е представен ефекта от употребата на кафе върху развитието на цироза.

Табл. 13. Изследване на употребата на кафе върху развитието на чернодробна цироза - мултицентриско изследване[182]

Автор	Година	Страна	Клинична група/ Контрола	Ефект
G. Corrao et al.	1994	Италия	115/167	Протективен ефект на употребата на кафе за развитие на алкохолна цироза
G. Corrao et al.	2001	Италия	274/458	Употребата на кафе (без други кофеинови напитки) има протективен ефект в превенцията на алкохолната цироза
S. Gallus et al.	2002	Италия	101/1538	Обратна връзка между употребата на кафе и развитието на цироза
AL. Klatsky et al.	2006	САЩ	125/580	Употребата на кафе протектира развитието на цироза
Собствено изследване	2017	България	223/135	Употребата на кафе протектира развитието на цироза

Резултатите от нашето изследване са сравнени с тези на други автори, като се **доказа протективния ефект на консумацията на кафе върху развитието на цироза.**

Уточнение е, че тук става въпрос за консумацията на чисто кафе, без сметана, захар или други кофеинови напитки. Табл. 14. представя резултатите от изследването на ефекта на кафето върху развитието на ХЦК, като много автори от различни страни доказват, че консумацията на кафе предпазва и от развитие и прогресия на заболяването, като в нашата извадка се доказва, **че ежедневната консумация на кафе ограничава риска от развитие на злокачественото заболяване.**

Табл. 14. Изследване на употребата на кафе върху развитието на ХЦК – мултицентристко изследване[182]

Автор	Година	Страна	Клинична група/ Контрола	Ефект
C. La Vecchia et al.	1989	Италия	151/1944	Не се доказва връзка между употребата на кафе и развитието на ХЦК
H. Kuper et al.	2000	Гърция	333/360	Употребата на кафе има негативна връзка с развитието на ХЦК
S. Gallus et al.	2002	Италия	501/1552	Обратна връзка между употребата на кафе и развитието на ХЦК
U. Gelatti et al.	2005	Италия	250/500	Обратна връзка между употребата на кафе и развитието на ХЦК
S. Ohfuji et al.	2006	Япония	73/253	Обратна връзка между употребата на кафе и развитието на ХЦК
M. Montella et al.	2007	Италия	185/412	Обратна връзка между употребата на кафе и развитието на ХЦК
W. Ohishi et al.	2008	Япония	224/644	Дневната консумация на кафе се свързва с ограничен риск от развитие на ХЦК
WW. Leung et al.	2011	Китай	109/125	Умерената консумация на кафе при пациенти с HBV

				намалява риска от развитие на ХЦК
Собствено изследване	2017	България	222/136	Дневната консумация на кафе се свързва с ограничен риск от развитие на ХЦК

Резултатите на таблици 15 и 16 потвърждават тези описани в табл. 14. **В нашата извадка консумацията на кафе има RR 0,35 (табл. 15, което показва високата му протективна роля.** Подобни резултати се съобщават и от K. Tanaka et al. (2007) и S. Ohfuji et al. (2006). [36]

Табл. 15. RR за развитието на ХЦК при консумация на кафе[36]

Автор	Година	RR (95 % CI)
H. Kuper et al.	2000	0,80 (0,50-1,30)
S. Gallus et al.	2002	0,70 (0,60-1,00)
U. Gelatti et al.	2005	0,53 (0,35-0,80)
S. Ohfuji et al.	2006	0,47 (0,21-1,05)
M. Montella et al.	2007	0,61 (0,45-0,84)
K. Tanaka et al.	2007	0,29 (0,22-0,39)
M. Kanazir et al.	2010	1,00 (0,40-2,70)
WW. Leung et al.	2011	0,54 (0,30-0,97)
Собствено проучване	2017	0.35 (0.17-0.71)

На табл. 16. ясно се вижда разликата в протективната роля на кафето в зависимост от честотата на неговата консумация. **Резултатите показват, че високият прием на кафе увеличава повече от 3 пъти защитния ефект на кафето за развитие на ХЦК.** Данните представени на табл. 16. показват, че намаляването на консумацията на кафе понижава на защитния ефект за развитие и прогресиране на ХЦК с 1,4 до 3,4 пъти.

Табл. 16. RR за развитието на ХЦК при ниската и висока консумация на кафе[36]

Автор	Година	RR (95 % CI) при ниска консумация на кафе	RR (95 % CI) при висока консумация на кафе
H. Kuper et al.	2000	0,86 (0,59-1,27)	0,60 (0,40-1,10)
S. Gallus et al.	2002	0,84 (0,66-1,07)	0,50 (0,40-0,70)
U. Gelatti et al.	2005	0,80 (0,40-1,30)	0,36 (0,21-0,64)
S. Ohfuji et al.	2006	0,61 (0,18-2,03)	0,38 (0,13-1,12)
M. Montella et al.	2007	0,81 (0,53-1,22)	0,41 (0,25-0,67)
K. Tanaka et al.	2007	0,33 (0,22-0,48)	0,25 (0,16-0,39)
WW. Leung et al.	2011	0,58 (0,24-1,36)	0,41 (0,19-0,89)
Собствено проучване	2017	0.95 (0.56-1.47)	0.28 (0.13-0.60)

4.2.3. Зеленчуци

Изследването на честата консумация на зеленчуци в нашето изследване показва, че този фактор има протективна роля за развитието на ХЦК (RR=0.61 (0.12-3.11)).(табл. 17 Нашите резултати потвърждават тези на други автори, като има и такива, които описват консумацията на зеленчуци като рисков фактор - H. Kuper, (200), S.Z .Yu et al. (2002); Y.S. Huang et al, (2003).[240] Протективният ефект на плодовете за развитието на чернодробен карцином се отхвърля и от други автори.[81, 240]

Табл. 17. RR за развитието на ХЦК при честа консумация на зеленчуци[235]

Автор	Година	RR (95 % CI)
P. Srivatanakul	1991	0.20 (0.04-1.00)
E. Negri	1991	0.30 (0.21-0.42)
H. Kuper	2000	1.21 (0.80-1.83)
S.Z .Yu	2002	1.35 (0.55-3.31)
Y.S. Huang	2003	1.24 (0.80-1.93)
R. Talamini	2006	0.72 (0.31-1.66)
M. Kanazir	2010	0.94 (0.65-1.35)
C. Bosetti	2012	0.72 (0.47-1.11)
Собствено проучване	2017	0.61 (0.12-3.11)

4.2.4. Плодове

Противно на превантивния характер на консумацията на зеленчуци за развитието на ХЦК, **в нашата извадка честата консумация на плодове има рисков характер за развитие и прогресия на заболяването (RR = 2.05 (1.52-2.76))** (табл. 18). Въпреки че, в повечето изследвания се обсъжда протективната роля на консумацията на плодове, не липсват и проучвания, които да доказват, че този фактор може да влияе отрицателно. Това се обяснява с по-високата калоричност на плодовете, дължаща се на фруктозата и с антиоксидантите. Някои автори приемат, че прекомерния прием на антиоксиданти увеличава общата смъртност от карцином[29].

Табл. 18. RR за развитието на ХЦК при честа консумация на плодове[235]

Автор	Година	RR (95 % CI)
E. Negri	1991	0.60 (0.40-0.90)
H. Kuper	2000	1.00 (0.71-1.41)
S.Z .Yu	2002	0.73 (0.37-1.45)
Y.S. Huang	2003	1.21 (0.74-1.98)
R. Talamini	2006	0.48 (0.22-1.05)
M. Kanazir	2010	0.69 (0.54-0.88)
Собствено проучване	2017	2.05 (1.52-2.76)

4.2.5. Червено месо

Консумацията на червено месо (основно свинско) е заложена в традициите на нашето население, особено когато това се свързва с честването на някои празници и настъпването на зимния сезон. Свинското присъства почти на всяка трапеза. **В нашето изследване честият прием на червено месо има изключително висок риск за развитие и прогресиране на ХЦК (RR = 3.28 (0.56-19.15))** (табл. 19). Впечатление прави, че това е най-високия коефициент в направения сравнителен анализ с резултатите, докладвани от други автори. Това се дължи и на постоянната употреба на сурово-пушени и малотрайни колбаси, които съдържат и голямо количество холестерол, наситени мастни киселини, сол, адитиви и други продукти, играещи роля в

развитието на захарния диабет тип 2 и затлъстяване.[218] Редица проучвания докладват, че повишената консумация на този вид местни продукти повишават риска от развитие и на други карциноми, като колоректален карцином, карцином на панкреаса, карцином на хранопровода, карцином на стомаха и дори белодробен карцином.[126-127, 151, 237]

Табл. 19. RR за развитие на ХЦК при чест прием на червено месо [151]

Автор	Година	RR (95 % CI)
P. Srivatanakul	1991	0.40 (0.19-0.85)
A. Tavani	2000	0.80 (0.59-1.08)
S.Z .Yu	2002	1.19 (0.53-2.66)
Y.S. Huang	2003	0.92 (0.69-1.23)
Y. Kurozawa	2004	1.15 (0.69-1.93)
R. Talamini	2006	2.07 (0.88-4.84)
M. Kanazir	2010	1.34 (0.89-2.01)
N.D. Freedman	2010	1.74 (1.16-2.61)
V. Fedirko	2013	1.25 (0.68-2.28)
Собствено проучване	2017	3.28 (0.56-19.15)

4.2.6. Бяло месо

Консумацията на бяло месо често се препоръчва при спазването на различни диетични режими, като подходящо за намаляване на телесното тегло и в същото време, осигуряващо необходимите хранителни вещества. За разлика от червеното месо, бялото месо съдържа по-малко наситени мастни киселини и холестерол. От друга страна е източник на ненаситени мастни киселини, като N-3-полиненаситени мастни киселини, които оказват своят анти-инфламаторен ефект, потискайки синтеза на IL-1 и TNF.[69] Това обяснява протективната роля на бялото месо за развитието на ХЦК. Въпреки това в нашата извадка консумацията на бяло месо не е толкова честа, както консумацията на червено месо. Нашите резултати от оценка на риска, както и тези на други автори **потвърждават протективния характер на**

консумацията на бяло месо ($RR = 0.85 (0.26-2.79)$), но се доближават до рисковата граница. (табл. 20)

Табл. 20. RR за развитието на ХЦК при честа консумация на бяло месо[151]

Автор	Година	RR (95 % CI)
S.Z .Yu	2002	0.86 (0.35-2.13)
Y.S. Huang	2003	0.73 (0.47-1.14)
Y. Kurozawa	2004	0.75 (0.45-1.26)
R. Talamini	2006	0.44 (0.20-0.96)
M. Kanazir	2010	0.40 (0.12-1.33)
N.D. Freedman	2010	0.52 (0.36-0.76)
C.R. Daniel	2011	0.75 (0.57-0.99)
V. Fedirko	2013	0.86 (0.54-1.38)
Собствено проучване	2017	0.85 (0.26-2.79)

4.2.7. Рибa

Участието на рибата в канцерогенезата на първичния чернодробен рак все още е не добре проучена. Проведените в тази насока проучвания дават много разнопосочни резултати. Sawada et al, 2012, чието проучване е в Япония, където се консумира голямо количество риба, докладват че богатата на n-3-ненаситени мастни киселини риба, намалява риска за развитие на ХЦК, дори при пациентите с хроничен вирусен хепатит (HBV, HCV инфекция).

Табл. 21. RR за развитието на ХЦК при честа консумация на риба[151]

Автор	Година	RR (95 % CI)
P. Srivatanakul	1991	0.50 (0.22-1.12)
E. Fernandez	1999	1.00 (0.73-1.36)
S.Z .Yu	2002	0.70 (0.25-1.96)
Y. Kurozawa	2004	0.68 (0.32-1.44)
R. Talamini	2006	1.12 (0.52-2.41)
M. Kanazir	2010	0.30 (0.11-0.79)
C.R. Daniel	2011	0.86 (0.65-1.13)
M.P. Wang	2011	0.72 (0.48-1.07)
N. Sawada	2012	0.64 (0.41-1.01)
V. Fedirko	2013	0.59 (0.37-0.95)
Собствено проучване	2017	1.00 (0.35-2.79)

Консумацията риба в нашето изследване е фактор с неопределена роля, тъй като много малко пациенти консумират риба (табл. 21).

4.2.8. Захарен диабет

Захарният диабет тип 2, като следствие от начина на живот на пациентите с чернодробни заболявания, се доказва като рисков фактор за развитието на цироза в нашето изследване (табл. 22). Докато в проучването на M. Balbi et al., (2010), наличието на захарен диабет тип 2 носи по-висок риск за развитие на ХЦК. В нашето изследване този фактор има по-голяма тежест при жените. Тези резултати потвърждават, описаната в литературата връзка между захарния диабет и малигнените заболявания, изразяваща се в следното – инсулиновата резистентност и последващата хиперинсулинемия при пациентите със захарен диабет, повишават нивата на IGF-1, заемащ важно място в процеса на хепатокарциногенеза.

Табл. 22. Изследване на връзката между Захарен диабет тип 2 и развитието на ХЦК и цироза[23]

Показател		Собствено изследване, 2017		M. Balbi et al., 2010	
		OR	P	OR	P
Общо	ХЦК	0,95 (0,6-1,5)	0,500	3,12 (2,2-4,4)	< 0,001
	цироза	2,06 (1,2-3,5)	0,004	2,09 (1,5-2,9)	< 0,001
Мъже	ХЦК	1,19 (0,6-2,4)	0,365	3,14 (2,1-4,6)	< 0,001
	цироза	1,65 (0,8-3,3)	0,107	1,99 (1,3-2,9)	< 0,001
Жени	ХЦК	1,07 (0,5-2,2)	0,458	3,11 (1,3-7,4)	0,002
	цироза	3,36 (1,5-7,6)	0,002	2,59 (1,2-5,9)	0,008

4.2.9. Наднормено тегло

На табл. 23, 24 и 25 е представен RR за развитието на ХЦК при изследване на различни нива на наднормено тегло, като разделихме изследваните на групи, според степента на наднорменото телесно тегло - пациенти с BMI >25 kg/m²; BMI 25÷30 kg/m²; BMI>30 kg/m².

Таблица 23 RR за развитието на ХЦК при пациентите с BMI 25-30 kg/m²[47]

Автор	Година	RR (95 % CI)
EE. Calle et al.	2003	1.09 (0.95-1.26)
GD. Batty et al.	2005	0.98 (0.48-2.01)
S. Kuriyama et al.	2005	0.99 (0.64-1.53)
SW. Oh et al.	2005	1.09 (1.00-1.20)
K. Rapp et al.	2005	1.32 (0.73-2.37)
G. N'Kontchou et al.	2006	2.00 (1.40-2.70)
C. Samanic et al.	2006	1.45 (1.06-1.98)
GN. Ioannou et al.	2007	2.80 (1.40-5.40)
CL. Chen et al.	2008	1.31 (0.97-1.76)
SH. Jee et al.	2008	1.07 (1.00-1.15)
S. Joshi et al.	2008	0.98 (0.85-1.12)
T. Ohki et al.	2008	1.86 (1.09-3.16)
CL. Hart et al.	2010	1.09 (0.62-1.90)
Собствено проучване	2017	0.85 (0.68-1.07)

На табл. 23 е изследван RR за развитие на ХЦК при пациенти с BMI 25-30 kg/m² или първа степен на наднорменото тегло. Резултатите показват, че въпреки липсата на затлъстяване, наднорменото тегло се явява рисков за развитие и прогресиране на чернодробния карцином. В нашето проучване рискът не е толкова категоричен, въпреки че се доближава по стойност до границата. Тази тенденция за повишаване на риска с нарастване на BMI се доказва с резултатите описани в табл. 24, където е изследвано влиянието на затлъстяването върху риска от развитие на ХЦК. Всички автори са категорични, че затлъстяването е рисков фактор за малигнизация, включително и в нашето проучване.

Оценката на риска за развитие на ХЦК при пациенти с телесно тегло над нормата не показват категорични резултати (табл. 25.). Резултатите от нашето изследване показват, че **рискът от малигнизация е различен при различните нива на BMI, ето защо смятаме, че различните нивата на наднорменото тегло трябва да се оценяват отделно.**

Табл. 24. RR за развитието на ХЦК при пациенти с BMI ≥ 30 kg/2[47]

Автор	Година	RR (95 % CI)
H. Moller et al.	1994	1.90 (1.50-2.50)
A. Work et al.	2001	2.40 (1.60-3.40)
S. Nair et al.	2002	1.65 (1.22-2.22)
EE. Calle et al.	2003	2.03 (1.69-2.43)
C. Samanic et al.	2004	1.33 (1.19-1.48)
SW. Oh et al.	2005	1.53 (1.06-2.22)
K. Rapp et al.	2005	1.67 (0.75-3.72)
GD. Batty et al.	2005	3.02 (0.80-11.40)
S. Kuriyama et al.	2005	1.04 (0.51-2.11)
G. N'Kontchou et al.	2006	2.80 (2.00-4.00)
C. Samanic et al.	2006	3.13 (2.04-4.79)
GN. Ioannou et al.	2007	2.50 (1.30-4.90)
CL. Chen et al.	2008	2.06 (1.22-3.46)
SH. Jee et al.	2008	1.54 (1.26-1.88)
S. Joshi et al.	2008	1.08 (0.67-1.72)
T. Ohki et al.	2008	3.10 (1.41-6.81)
CS. Wang et al.	2009	1.70 (1.02-2.08)
R. Loomba et al.	2010	1.43 (1.03-1.98)
CL. Hart et al.	2010	2.84 (1.34-6.02)
Собствено проучване	2017	1.24 (0.89-1.74)

Табл. 25. RR за развитието на ХЦК при пациенти с BMI ≥ 25 kg/m2[47]

Автор	Година	RR (95 % CI)
MW. Yu et al.	2001	1.98 (1.05-3.74)
EE. Calle et al.	2003	1.39 (1.24-1.55)
SW. Oh et al.	2005	1.12 (1.02-1.22)
K. Rapp et al.	2005	1.43 (0.89-2.30)
GD. Batty et al.	2005	1.26 (0.67-2.37)
S. Kuriyama et al.	2005	1.00 (0.69-1.46)
G. N'Kontchou et al.	2006	2.35 (1.85-2.98)

C. Samanic et al.	2006	1.90 (1.47-2.44)
GN. Ioannou et al.	2007	2.64 (1.65-4.24)
CL. Chen et al.	2008	1.35 (1.06-1.73)
SH. Jee et al.	2008	1.11 (1.04-1.18)
S. Joshi et al.	2008	0.99 (0.87-1.13)
T. Ohki et al.	2008	2.18 (1.41-3.39)
W. Ohishi et al.	2008	4.57 (1.85-11.30)
GD. Batty et al.	2009	1.24 (1.00-1.52)
M. Inoue et al.	2009	2.09 (1.41-3.09)
M. Inoue et al.	2009	2.34 (1.59-3.47)
R. Loomba et al.	2010	0.90 (0.64-1.27)
CL. Hart et al.	2010	1.53 (0.98-2.39)
LT. Chao et al.	2011	1.58 (1.16-2.17)
CH. Hung et al.	2011	1.31 (0.83-2.05)
Собствено проучване	2017	0.99 (0.77-1.26)

4.2.10. Неалкохолна мастна чернодробна болест

Въпреки че, много автори работят в тази насока, все още не ясно как точно наднорменото тегло увеличава вероятността за развитие на ХЦК. Чернодробната изява на захарния диабет, затлъстяването и метаболитния синдром е НАМЧБ. Инсулиновата резистентност се доказва и при трите заболявания. Тя задейства про-инфламаторна каскада, покачвайки нивата на цитокините в организма, което от своя страна стимулира фиброзата и в последствия канцерогенезата.[72, 103] Този процес може да се опише със следния път НАСБ (Неалкохолна чернодробна болест) – НАСХ - чернодробна цирроза, която след години да малигнизира.[38].

На табл. 26 е направен сравнителен анализ на пациентите с цирроза, с хроничен HCV хепатит и НАМЧБ. Резултатите показват, че в нашето проучване има съществена разлика само по отношение наличието на захарния диабет тип 2 - **всички пациенти с хроничен HCV хепатит имат захарен диабет**. Цялостната характеристика показва, че **при пациентите с цирроза, хроничният HCV хепатит се среща при жени на средна възраст 64,9**

години, с наднормено тегло ($28,5 \text{ kg/m}^2$), употребяващи алкохол и цигари. От друга страна НАМЧБ беше установена при мъже с цироза на средна възраст 56,1 години, със затлъстяване на средна възраст 33,7 години. Тези заболявания често са съчетани помежду си, като за тях е характерна инсулиновата резистентност, чието участие в канцерогенезата описахме по горе и хиперинсулинемията.[47]

Впечатление прави, че при сравнението на нашите резултати с тези на други автори, средната възраст на изследваните лица е по-висока в нашето проучване (64,9 години за нашите пациенти с хроничен HCV хепатит/ 48,2 години за пациентите на М. Ascha et al., (2010)). Половият признак също показва съществена разлика между двете изследвания, като в нашата група при пациентите с хроничен HCV хепатит преобладават жените, докато в изследването на останалите автори преобладават мъже.

Табл. 26 Характеристика на пациентите с цироза и HCV инфекция и НАМЧБ[21]

Показател		Собствено проучване, 2017			М. Ascha et al., 2010		
		HCV (n= 76)	НАМЧБ (n= 12)	P	HCV (n=315)	НАМЧБ (n=195)	P
Възраст	Median	64,9	56,1	> 0,05	48,2	56,6	< 0,001
Пол (брой)	Мъже/ жени	37/39	7/5	> 0,05	241/74	86/109	< 0,001
ВМІ (kg/m^2)	Median	28,5	33,7	> 0,05	28,3	34,6	< 0,001
Диабет тип 2	Брой	75	7	< 0,01	100	141	< 0,001
Тютюнопуш ене (брой)	Не	-	-	> 0,05	61	109	< 0,01
	Да	10	1		251	82	
Консумация на алкохол (брой)	Не	2	1	> 0,05	59	120	< 0,01
	Да	63	8		251	68	

От гледна точка за ВМІ се наблюдава една и съща тенденция в двете изследвания. Сравняването на НАМЧБ при двете изследвания показва почти еднакви резултати по отношение на възрастта и ВМІ, докато по отношение на пола може да се каже, че в нашето проучване преобладават мъже, а в пула на

Ascha et al., (2010) преобладават жени. При сравняването на консумацията на алкохол и тютюнопушенето не беше възможно, поради малкия брой пациенти, които са отговорили на тези показатели, в нашето изследване.

На табл. 27 е направен сравнителен анализ на пациентите с НАМЧБ и ХЦК. Резултатите показват една и съща тенденция по отношение на пола, като и при нас и в изследването на Y. Takuma et al. (2010), преобладават жени. От гледна точка на възрастовия показател беше намерена съществена разлика, като нашите пациенти са по-млади в сравнение с тези на другите автори (съответно 66/73,8). Впечатление прави, че горната възрастова граница в двете проучвания е почти еднаква. Основната разлика е в долната възрастова граница където в нашето изследване е 49 години, а в изследването на Y. Takuma et al. (2010) е 67 години. И в двете проучвания пациентите са с наднормено тегло, като в нашето проучване е по-изразено, т.к. има и пациенти със затлъстяване (31 kg/m^2), докато в това на Y. Takuma et al. пациентите са предимно с нормално и наднормено тегло. Захарен диабет имат 42,8 % от нашите пациенти и 54,5% от изследваните от Y. Takuma et al. Дислипидемията е по-често срещана при нашите пациенти отколкото при проучването на Takuma et al, съответно 61,9% и 27,3%.

Табл. 27. Сравнителен анализ на пациентите с НАМЧБ и ХЦК [199]

Показател	Собствено проучване, 2017 (n=21)	Y. Takuma et al., 2010 (n=11)
Пол (Мъже/жени)	9/12	5/6
Възраст (mean; range)	66,0 (49-89)	73,8 (67-83)
ВМІ (mean; range)	27,8 (24-31)	24,8 (21-28,8)
Захарен диабет	9	6
Дислипидемия	13	3

На табл. 28. е представена е оценката на риска от развитието на ХЦК при пациенти с НАМЧБ. Резултатите показват, че основни рискови фактори в

нашето изследване е консумацията на алкохол и мъжкия пол, като тенденцията е същата на другите автори M. Ascha et al., (2010).

Табл. 28. Оценка на риска от развитието на ХЦК при пациенти с НАМЧБ[21]

Фактор	Собствено проучване, 2017		M. Ascha et al., 2010	
	HR (95%CI)	p	HR (95%CI)	P
Възраст	4,17 (0,71-24,34)	0,017	1,07 (1,02-1,1)	0,012
Пол – мъже	6,18 (1,01-37,97)	< 0,001	2,08 (0,94-4,6)	0,071
BMI	1,79 (0,45-7,21)	0,05	0,94 (0,89-0,99)	0,025
Тютюнопушене	-	-	0,87 (0,39-1,9)	0,73
Консумация на алкохол	6,78 (1,08-42,42)	< 0,001	3,6 (1,5-8,3)	0,003
Наличие на диабет тип 2	3,98 (0,69-23,01)	< 0,001	1,00 (0,40-2,5)	0,99

Сравнени рисковите коефициенти между двете изследвания показват, че разглежданите фактори носят значително по-висок риск в нашата популация, докато в изследването на M. Ascha et al.(2010), тютюнопушенето и BMI са фактори без риск или с изключително нисък риск, т.к. повечето пациенти не пушат и са с нормално телесно тегло. Наличието на захарния диабет тип 2 е фактор, който няма определен рисков модел. Високият риск на факторите в нашето изследване се дължи на напредналата възраст на пациентите, високата консумация на алкохол, наднорменото тегло и затлъстяването, което води и до развитие на Захарен диабет тип 2.

Табл. 29. Сравнителен анализ на пациентите с НАМЧБ и ХЦК [199]

Автор	Брой случаи	Възраст	Пол	Основно заболяване	Чернодробна хистология	Брой на туморите	Размер на тумора (см.)
Powell et al.,	1	57	Ж	Захарен диабет	Цироза	много	-
Zen et al.,	1	72	Ж	Захарен диабет	Цироза	много	1,4
Orikasa et al.,	1	67	Ж	Захарен диабет	Цироза	един	2,6
Cotrim et al.,	1	66	М	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза	един	3,0

Benchegr oun et al.,	1	68	М	Затлъстяване	Без цироза	-	-
Mori et al.,	1	76	М	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза	един	1,9
Bullock et al.,	2	64,74	М	Затлъстяване Захарен диабет	Без цироза	един	-
Cuadrado et al.,	2	69,74	М	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза Без цироза	един	-
Sato et al.,	1	64	М	Затлъстяване Дислипидемия	Без цироза	един	13,0
Ichikawa et al.,	2	60,66	м,ж	Затлъстяване Дислипидемия	Без цироза	един	1,5; 2,5
Ikeda et al.,	1	69	М	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза	един	4,5
Tsutsumi et al.,	2	46,68	м, ж	-	Цироза	един	-
Hashizum e et al.,	9	45-82	М(5), ж(4)	Затлъстяване Захарен диабет Дислипидемия	Цироза Без цироза	един много	1,5-7,0
Hai et al.,	2	65, 72	М	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза Без цироза	един	4,0;6,0
Maeda et al.,	3	52-68	М(2), ж(1)	-	цироза	един	1,3-5,0
Kawada et al.,	6	59-81	М(3), ж(3)	Затлъстяване Захарен диабет Дислипидемия	Без цироза	един	1,3-5,8
Hashimot o et al.,	34	54-89	М(21), ж(13)	Затлъстяване Захарен диабет Дислипидемия	F1-2 F3-4	един много	-
Malik et al.,	17	47-72	М(12), ж(5)	Затлъстяване Захарен диабет	Цироза	един много	1,1-8,0
Chagas et al.,	7	35-77	М(4), ж(3)	Затлъстяване Захарен диабет Дислипидемия	Цироза Без цироза	един много	2,8-5,2
Собствен о проучван е, 2017	21	49-89	м, ж	Затлъстяване Захарен диабет Дислипидемия	Цироза Без цироза	един много	1,5-15,0

На табл. 29 е представена клиничната характеристика на пациенти с ХЦК и НАМЧБ, заедно с тази на 19 други автора. Не се наблюдава съществена разлика във възрастта на пациентите в разгледаните изследвания. От друга страна **в нашата извадка пациенти с НАМЧБ са основно жени - 57,14%** докато при другите автори са основно мъже 62,5%. Както и при описаните от други автори пациентите с НАМЧБ, развили първичен чернодробен карцином имат нарушение в метаболитната обмяна, проявяващо се като Захарен диабет или метаболитен синдром (Дислипидемия с/без затлъстяване). Те заемат важно място в прогресия на НАМЧБ до ХЦК – само трима автори няма пациенти със захарен диабет (Cotrim et al., Bencheqroun et al., Sato et al.), в нашата извадка 42,8% от лицата с малигнизация и НАМЧБ имат захарен диабет. Смята се, че наличието му повишава риска за малигнизация при пациентите с НАМЧБ. [21]

Впечатление прави, че както при нас така и при изследванията на Hashizume et al, Hashimoto et al, Chagas et al преобладават солитарните тумори. При разглеждане на показателя размера на туморите се вижда, че в нашето проучване се докладва най-голям туморен размер – 15см, следвано от това на Sato et al., - 13 см. Посочените на табл. 29 изследвания, основно са проведени с пациенти с чернодробна цироза. В нашата извадка пациентите, които не са достигнали стадий на чернодробна цироза, имат някой друг рисков фактор – алкохолна консумация (на умерени количества алкохол), метаболитен синдром, захарен диабет, вирусна инфекция. Механизмът на развитието на ХЦК при пациенти НАМЧБ, без чернодробна цироза е неясен. Приема се, че е възможно да е налице окултна HBV инфекция.

4.3. Да се установят преканцерозите у болни с хепатоцелуларен карцином

Чернодробната цирозата е най-честото хронично чернодробно заболяване – в 80%-90% от случаите, върху което се развива първичния чернодробен карцином. В нашето изследване е установена при 172 (77,47%) от пациентите

с ХЦК [57, 187, 211]. Много проучвания имат за цел да установят рисковите фактори за малигнизация при пациентите с чернодробна цироза [57, 113, 153, 160, 211]. За това решихме да разгледаме пациенти с чернодробна цироза по-подробно. При 62,23% (223) от изследваните лица е установена чернодробна цироза, като 172 (77,13%) са развили ХЦК – 129 мъже, 43 жени, а 51 пациента не са – 24 мъже, 27 жени. На табл.37 е представена характеристика на пациентите с цироза (независимо дали имат ХЦК или не), като някои данни са сравнение с тези на други автори.[62] **Както в нашето изследване така и в това на R. Velazquez et al., (2003), преобладават мъжете**, като се наблюдава съществена разлика на разпределението на пациентите по пол. Значима разлика беше намерена и по отношение на средната възраст на пациентите в двете изследвания, като пациентите при нас са в по-напреднала възраст – 62,1, като в тези на другите автори средната възраст – 53,6. Позитивни на HbeAg са само двама от нашите пациенти с цироза – 0,9%. **От лабораторните показатели само албуминът е в норма, докато останалите показатели са със стойности значително над горната референтна стойност.** Разпределението на пациентите според тежестта на цирозата показва, че преобладават пациентите в стадий А по Child, както в нашето така и в изследването на R. Velazquez et al съответно (40,7%/71,9%). В стадий В по Child имат приблизително еднакво разпределение в двете изследвания, а пациентите в стадий С по Child се наблюдават само в нашето изследване. Съществена разлика се наблюдава в етиологията на цирозата. В нашето изследване **етиологията на чернодробната цироза в 45,3% е хроничен В хепатит**, докато в извадката на R. Velazquez et al., (2003) става въпрос основно за алкохолна цироза. В нашето проучване пациентите с чернодробен карцином и алкохолна цироза (без вирусна инфекция) са значително по-малко - 18,4%. **79,40% от случаите в нашето изследване, има вирусна инфекция**, докато в изследването на другите автори този вид инфекция е два пъти по ниска. (36,5%) Друга значима разлика при сравнителния анализ на двете проучвания беше установена по отношение на нивото на α -ФП, като в **72,60% от случаите в нашата извадка пациентите са с нива на α -ФП > 20 ng/mL**, докато в

другото проучване 98,10% от случаите имат стойности на показателя до 20 ng/mL.

Табл. 30. Характеристика на пациентите с цироза[62]

Показател		Собствено проучване, 2017 (n= 223)		R. Velazquez et al., 2003 (n=463)
		Стойност	Референтни стойности	Стойност
Пол (%)	Мъже	68.2		80.5
	Жени	31.8		19.5
Възраст (mean±SD)	Общо	62.1 ± 10.7		53.6 ± 7.1
HBeAg (%)	+	0.9		-
	-	99.1		-
Албумин (g/l)	mean±SD	34.9 ± 24.2	34-48	-
Общ билирубин (μmol/l)	mean±SD	50.3 ± 69.5	0-21	-
АФ (U/l)	mean±SD	274.1 ± 326.6	0-130	-
АЛАТ (U/l)	mean±SD	65.6 ± 56.8	0-45	-
АСАТ (U/l)	mean±SD	105.3 ± 92.1	0-35	-
α-ФП (μg/l)	mean±SD	196.2 ± 179.7	0-10	-
Child Pugh класификация (%)	A	40.7		71.9
	B	25.8		28.1
	C	33.5		-
Етиология (%)	Алкохолна цироза	18.4		59.0
	Хепатит С	34.1		29.0
	Хепатит В	45.3		7.5
	Друга	2.2		3.0
АФП (ng/mL) (%)	< 20	27.4		98.1
	> 20	72.6		1.9

След като разграничихме група на пациентите с чернодробна цироза, решихме да разгледахме по отблизо пациентите с ХЦК и чернодробна цироза. Първо потърсихме разлика между пациентите с ХЦК и

чернодробна цироза и тези при които малигнизацията не е се е развила в циротичен черен дроб. (табл. 31.) Чернодробната цироза при пациентите с ХЦК се е развила на базата на: HBV – 32,43% (72); HCV-24,77% (55), етанолова генеза – 18,01% (40), болест на Уилсън – 0,9%(2), неясна етиология 0,9%(2). Статистически значима разлика между двете групи не установихме по възраст – $63,67 \pm 10,14$ за групата с карцином, без чернодробна цироза и $63,97 \pm 9,75$ за групата с карцином и чернодробна цироза. **Съществена разлика се установява по пол, като с карцином и чернодробна цироза – 3 пъти повече от жените.** Подобно разпределение по пол описва и Томов и съавтори мъже 11 (73,3%) и жени 4 (26,7%) [8].

Табл. 31. Сравняване на пациентите с ХЦК с и без чернодробна цироза.

Показател		ХЦК без чернодробна цироза n=43	ХЦК с чернодробна цироза n=172	P
Възраст mean $\pm$ SD		63,67 $\pm$ 10,14	63,97 $\pm$ 9,75	>0,05
Пол	Мъже	26	129	=0,046
	Жени	17	43	
Тромбоцити		232,6 $\pm$ 102,7	160,6 $\pm$ 94,3	<0,001
АСАТ (UI/ml)		63,9 $\pm$ 60,7	118,5 $\pm$ 99,2	=0,001
АЛАТ (UI/ml)		46,2 $\pm$ 39,4	68,6 $\pm$ 58,8	=0,02
ГГТ (UI/ml)		242,45 $\pm$ 255,48	247,53 $\pm$ 298,44	>0,05
АФ (UI/ml)		251,11 $\pm$ 182,5	324,36 $\pm$ 357,36	>0,05
Общ билирубин		20,72 $\pm$ 29,31	57,41 $\pm$ 76,19	=0,012
АСАТ/АЛАТ		1,43 $\pm$ 0,79	2,13 $\pm$ 2,79	=0,110
α -ФП (ng/mL)		165,33 $\pm$ 172,19	207,87 $\pm$ 179,37	=0,012
BCLC	A	6	8	>0,05
	B	10	34	
	C	14	60	
	D	8	44	
Преживяемост		13,81 $\pm$ 16,75	13,15 $\pm$ 17,6	>0,05

Статистически значима разлика има и при сравняване на броя на тромбоцитите, като тези в групата с чернодробна цироза имат по-ниски

стойности - 160,6 към 232,6 ($p < 0.001$). Средните стойностите на чернодробните ензими АСАТ и АЛАТ са значително по-високи при пациентите, при които карцинома се е развил на фона на чернодробна цироза – съответно $118,5 \pm 99,2$ за АСАТ и $68,6 \pm 58,8$ за АЛАТ. Не се установи статистически значима разлика при средните стойностите с холестазиите ензими (ГГТ и АФ) в двете разглеждани групи. От друга страна средната стойност на общи билирубин е по-висока при пациентите с чернодробна цироза $57,41 \pm 76,19$ към $20,72 \pm 29,3$ ($p = 0,012$). Умерена зависимост се установява за средните стойности на α -ФП, като са по-високи за групата с карцином и чернодробна цироза, съответно $207,87$ към $165,33 \text{ ng/mL}$. Разпределението на пациентите според стадия по BCLC в двете групи е сходно. Преживяемостта в двете групи също е близка - 13,81 месеца за групата без цироза и 13,15 месеца за пациентите с карцином и чернодробна цироза.

Сравнителен анализ направихме и на пациентите с цироза, които са развили ХЦК, по възраст и тежест на цирозата, според класификацията на Child Pugh. - табл. 32. Резултатите от нашето изследване са сравнени с други три авторски колектива - M. Watanabe et al., (2017), S. Karageorgos et al., (2017) и R. Mair et al., (2012). [113, 153, 220] Според възрастта се наблюдава съществена разлика в средната стойност на нашата извадка, между пациентите само с цироза и тези които имат карцином (56години/64години).

Резултатите от нашето изследване се различават съществено от тези на други автори, като **пациентите ни с цироза, които са развили ХЦК, са с най-ниска възраст**. Следващите с ниска възраст при пациентите с цироза са в тези проучването на R. Mair et al., (2012) – 53 години. Интерес представлява разликата във възрастовия показател при сравнението на проучването на S. Karageorgos et al., (2017), което е проведено в Гърция, наша съседна държава. Различията в резултатите могат да се обяснят в различните хранителни навици на двете нации. В Гърция се спазва основно средиземноморската диета, имаща протективен ефект за развитието на ХЦК, при лица с хронично чернодробно

заболяване. Докато българите, консумират голямо количество свинско месо, алкохол, чиято честа консумация се приема за рискова за развитие на ХЦК. Хранителните навици на изследваните пациенти са подробно разгледани в задача 2. Според тежестта на цирозата се установи значима разлика между пациентите само с цироза и тези с карцином и цироза, в нашето изследване, като пациентите само с цироза са в стадий А по Child, докато при тези с карцином и цироза преобладава стадий С по Child. Стадий С по Child преобладава и при пациентите от Гръцкото проучване, като там не се установява разлика между двете групи.

Табл. 32. Сравнителен анализ на пациентите с цироза и ХЦК[113, 153, 220]

Показател		Собствено проучване, 2017		M. Watanabe et al., 2017	S. Karageorgos et al., 2017		R. Mair et al., 2012
		LC	ХЦК	ХЦК	LC	ХЦК	LC
Брой пациенти		51	172	103	812	321	379
Възраст	Median (range)	56 (23-78)	64 (37-84)	72 (38-99)	69 (33-86)	70 (46-86)	53 (20-87)
Child Pugh стадий (брой)	A	28	50	66	188	90	144
	B	8	42	28	260	64	136
	C	14	80	9	364	167	99

Нашите резултати за пациентите със стадий А по Child, без малигнизация се потвърждават от изследването на R. Mair et, докато изследването си M. Watanabe et al., 2017 при пациенти с карцином и цироза, установяват, че по-висока честота със стадий А по Child. Противоположните резултати могат да се обяснят с различно подбрана кохорта, генетични или географски различия. Други автори обясняват по-ниската честотата на ХЦК, при пациентите в стадий В и С по Child с ролята на имунният отговор на пациент в хепатоканцерогенезата. Според тази хипотеза напрегнатият имунитет на пациент в напредналият стадий на чернодробната цироза може да потисне/забави развитието на ХЦК.[138, 216]

На таблица 33 разгледахме пациентите с чернодробна цироза (LC) с малигнизация според вирусната инфекцията – хроничен HBV хепатит и хроничен HCV хепатит. Показателите, при които се установи значима разлика

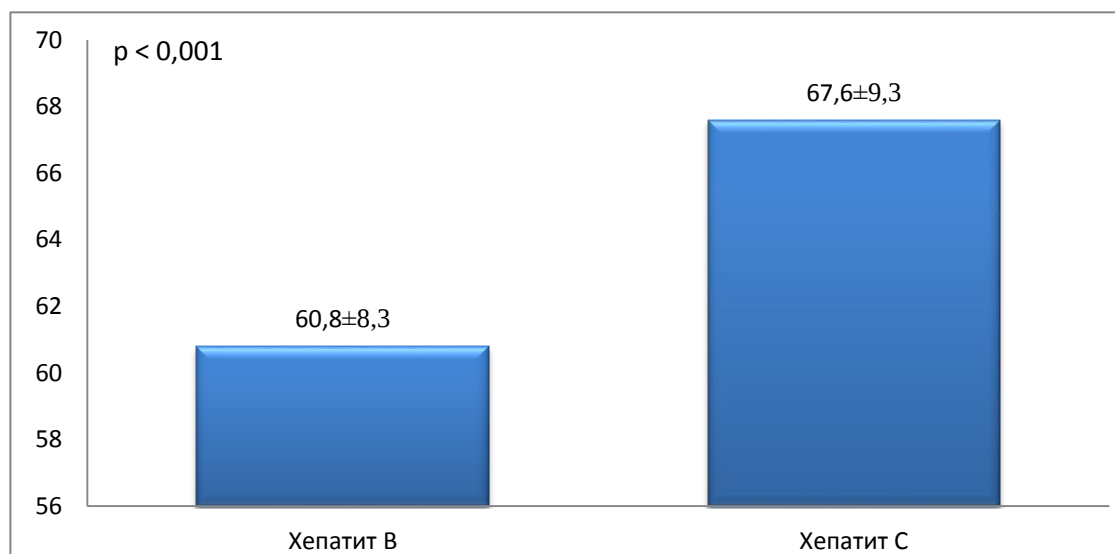
са показани графично на фигури 8,9 и 10. Лицата с HBV инфекция, ХЦК и чернодробна цироза и тези с HCV инфекция, ХЦК и чернодробна цироза със средно телесно тегло над нормата, съответно 27 kg/m² и 27,6 kg/m². Пациентите с малигнизация и чернодробна цироза и вирусна инфекция имат сходни стойности на чернодробните ензими – АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ и на туморния маркер α -ФП.

Табл. 33. Характеристика на пациентите с ХЦК, HBV и HCV и чернодробна цироза

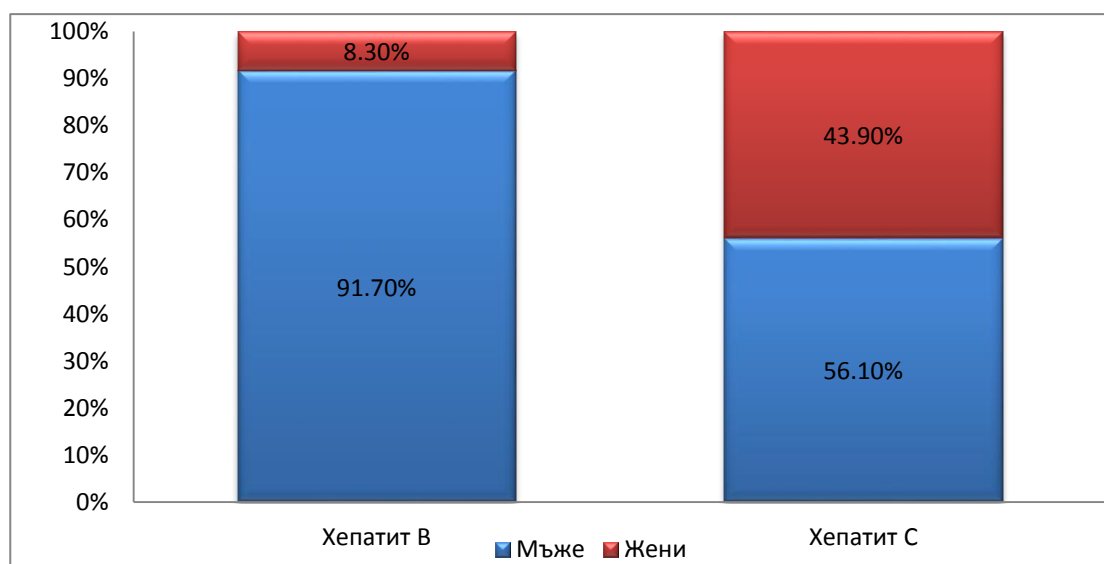
Показател		HBV+ХЦК+LC N=72	HCV+ХЦК+LC N=57	P
Възраст		60,8±8,3	67,6±9,3	<0,001
Пол	Мъже	66	32	<0,01
	Жени	6	25	
BMI (kg/m ²)		27±2,6	27,6±3,5	>0,05
Тромбоцити (10 ⁹)		168,8±98,7	125,9±69,2	<0,01
АСАТ (UI/ml)		114,4±118,9	122,6±95,2	>0,05
АЛАТ (UI/ml)		69,8±64,5	74, ±66,4	>0,05
ГГТ (UI/ml)		211,4±270,2	214,5±326,7	>0,05
АФ (UI/ml)		243,2±162,7	278,5±285,2	>0,05
АФП (UI/ml)		198,6±177,6	202,2±184,1	>0,05
Класификация по Child Pugh	A	25	19	>0,05
	B	19	15	
	C	20	17	
BCLC	A	7	1	>0,05
	B	17	12	
	C	30	21	>0,05
	D	12	11	

От друга страна средната стойност на тромбоцитите е значително по-ниска при пациентите с HCV инфекция, отколкото при тези с HBV инфекция ($p<0.001$) – фигура 10. Разпределението на лицата в двете групи са със сходно разпределение както според тежестта на цирозата така и според стадия на малигненото заболяване според BCLC.

На фигура 8 е представено разпределението на пациентите с ХЦК и цироза, според средна възраст и подлежащата вирусна инфекция, като се забелязва, че **пациентите с хроничен HBV хепатит развиват чернодробен карцином по-рано от тези с хроничен HCV хепатит - 60,8 години към 67,6 години.** При сравняване на тези данни с резултатите докладвани от Б. Томов (2016) – нашите пациенти са HBV инфекция са значително по-възрастни ($p < 0.001$), съответно 67,6 години за нашето проучване и $55,45 \pm 12,25$ години в групата на Томов.[8]

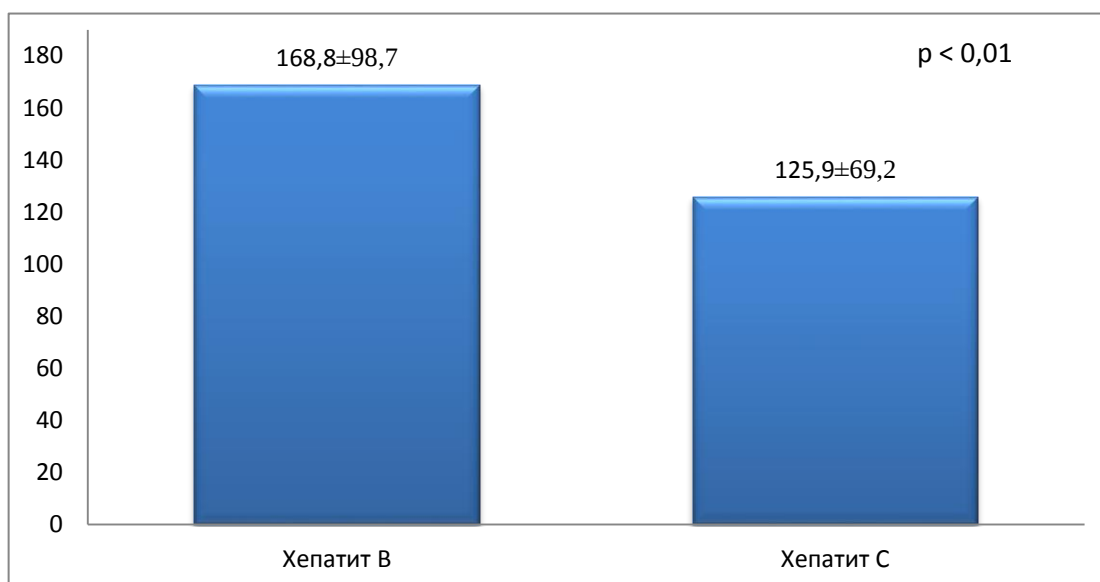


Фиг. 8. Средна възраст при пациенти с ХЦК и цироза



Фиг. 9. Разпределение по пол на пациентите с ХЦК и цироза ($p < 0,01$)

На фигура 9 е представено графично разпределението на ХЦК с цироза, по пол и подлежащата вирусна инфекция. При групата на хроничен НСV хепатит разпределението по пол е почти еднакво – 56,10% за мъжете и 43,90% за жените, докато при лицата с HBV инфекция мъжкият пол преобладава значително 91,70% към 8,30% за женския. Разликата между двете групи е статистически значима.



Фиг. 10. Средна стойност на тромбоцитите при пациентите с ХЦК и цироза

На табл. 34 е представен сравнителен анализ на връзката между хоспитализациите и някои характеристики на пациентите с ХЦК и цироза.[220] Целта на тези изследвания да се установи има ли връзката между стадий, в който се открива ХЦК и дали рисковите групи са проследявани (честота на хоспитализациите в различните отделения), преди поставяне на онкологичната диагноза. В разгледаните проучвания се установява, че няма съществена разлика в изявите на чернодробната цироза, като чернодробна енцефалопатия и наличието на асцит, както в нашето изследване така и в това на другите автори. От гледна точка на тежест на цирозата в нашето изследване не се установи значима разлика, въпреки, че при пациентите от група А (проследявани от гастроентеролог) по-голяма честота има степен на цирозата А, при пациентите от група В (хоспитализирани в не-гастроентерологични клиники) са степените А и В, докато при тези от група С (не хоспитализирани,

реди откриване на малигненото заболяване) преобладават степен С. При повечето от изследваните пациенти в нашето проучване диагнозата „хепатоцелуларен карцином“ е поставена при напреднала цироза (стадий С по Child). Основната част от тях са в група С т.е. не са проследявани от хепатолог или хоспитализирани в специализирана клиника. Трудната диагностика на това малигнено заболяване в ранния стадий се дължи на нехарактерната му клинична изява - наподобяващо декомпенсация на чернодробната цироза, което прави трудно откриването на карцинома от лекар, който не е специалист в областта. Освен това пациентите в група С не са имали регулярни хоспитализации т.е. не са наблюдавани от лекар и са постъпили в клиниката по Хепатогастроентерология едва при клиничната изява на заболяването.

Табл. 34. Сравнителен анализ на връзката между хоспитализациите и някои характеристики на пациентите с ХЦК и цироза[220]

Автор	Група	Чернодробна енцефалопатия (Да/Не)	Асцит (Да/Не)	Child-Pugh класификация		
				А	В	С
Собствено изследване, 2017 (n=222)	Група А	1/22	0/23	9	4	5
	Група В	1/11	0/12	5	5	1
	Група С	12/164	3/174	50	37	60
	Р	0.857	0.740	0.173		
	Р по групи	-	-	-		
M. Watanabe et al., 2017 (n=103)	Група А	10/31	15/26	27	13	1
	Група В	16/34	15/35	36	10	4
	Група С	5/7	8/4	3	5	4
	Р	0.476	0.061	0.003		
	Р по групи	-	-	A/C (p<0.01); B/C (p<0.05)		

Легенда: Група А – пациенти с хоспитализации в клиника преди поставяне на диагнозата ХЦК; Група В – пациенти хоспитализирани в други клиники преди поставяне на диагнозата ХЦК; Група С – пациенти, които не са проследявани преди поставяне на диагнозата ХЦК.

От друга страна M. Watanabe et al., (2017) откриват съществена разлика в поведението на пациентите, според тежестта на цирозата, която основно се дължи на разликата между група А и В с група С. При първите две групи

преобладават пациенти със степен на тежест А, докато в група С, преобладават пациентите със степен на тежест В. Впечатление прави, че пациентите в проучването на другите автори се характеризират с по-ниска степен на цирозата – основно стадий А по Child, докато при нас основно са стадий С по Child при пациентите с ХЦК.

На табл. 35 е направен сравнителен анализи на пациентите с и без проведене лечение на онкологичното заболяване, като сме сравнили резултатите от нашето изследване с тези на други автори. Не беше установена съществена разлика в средната възраст на пациентите между изследванията групи, както в нашето изследване така и в това на С. Самаа et al., (2008). Разлика не бе намерена и по отношение на пола, където и в двете изследвания преобладават мъжете. Изследването на етиологията за чернодробна цироза в нашето проучване, показва несигнификантна разлика между пациентите с и без лечение за ХЦК, като при пациентите с проведено лечение за малигненото заболяване преобладават тези с вирусна етиология, а в тези без терапия за онкологичното заболявания преобладава честотата на пациентите с алкохолна цироза. За разлика от нашето проучване, С. Самаа et al., 2008 докладват, че пациентите са с вирусна етиология - основно това е HCV инфекция и в двете изследвани групи. От гледна точка на лабораторните показатели беше намерена сигнификантна разлика в средната стойност на албумина ($p=0.001$) и общия билирубин ($p=0.001$), като стойностите за общия билирубин са по-високи в групата без лечение, а стойностите с албумин са по-ниски в същата група. С. Самаа et al., 2008 потвърждават нашите резултати, като установяват съществена разлика в двете изследвани и при ПИ, отново в групата на нелекуваните е по-висок (79,2/68,4%). В нашето изследване разликата също е в полза на не лекуваната група пациенти, но не съществена (76.6% /67.6%). За разлика от другите автори средната стойност на INR е по-висока в полза на лекуваните пациенти, докато при тях се установява обратно разпределение – (1.4 за лекуваните пациенти и 1.3 за нелекуваните пациенти).

Табл. 35. сравнителен анализи на пациентите с и без проведене лечение за ХЦК [84]

Показател		Собствено изследване, 2017			C. Comaa et al., 2008		
		С Лечение (n=66)	Без лечение (n=142)	p	С Лечение (n=178)	Без лечение (n=228)	P
Възраст	Mean ± SD	64.3 ± 8.5	63.6 ± 10.4	622	66.3 ± 7.5	67.3 ± 9.2	0.207
Пол (брой)	Мъже	43	105	0.128	125	160	0.991
	Жени	23	37		53	68	
Етиология на цирозата (брой)	Anti – HCV (+)	20	33	0.046	150	170	0.122
	HBsAg (+)	33	46		16	27	
	Алкохолна	29	85		3	19	
Албумин	Mean ± SD	3.5 ± 6.8	3.1 ± 6.8	0.001	3.5 ± 0.5	3.1 ± 0.5	< 0.001
Протромбинова активност (%)	Mean ± SD	76.6 ± 21.3	67.6 ± 25.1	0.023	85.1 ± 16.7	78.4 ± 19.2	0.0002
INR	Mean ± SD	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.5	0.794	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.2	> 0.05
Общ билирубин	Mean ± SD	2.6 ± 2.5	6.4 ± 8.3	0.001	1.3 ± 0.9	2.8 ± 4.6	< 0.001
Тромбоцити	Mean ± SD	176.3 ± 98.6	177.3 ± 101.5	0.947	98.7 ± 46.7	111.7 ± 75.9	0.0351
АФ	Mean ± SD	270.0 ± 256.7	334.6 ± 366.1	0.221	204.1 ± 117.3	263.9 ± 169.3	< 0.001
Креатинин	Mean ± SD	1.01 ± 1.16	9.4 ± 4.04	0.507	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.5	< 0.001
Child-Pugh стадий	Mean ± SD	6.9 ± 2.4	8.6 ± 2.7	< 0.001	5.9 ± 1.2	7.9 ± 2.1	< 0.001
	A	27	35	0.006	140	74	< 0.001
	B	13	29		38	98	
	C	8	37		-	56	
Тромбоза на v. Portae	Брой	11	32	0.217	-	50	-
Размер на	Mean ± SD	3.8 ± 2.2	3.9 ± 3.2	0.886	3.02 ± 1.38	4.84 ± 2.94	< 0.001

тумора (см)							
BCLC	A	4	10	0.002	154	22	< 0.001
	B	18	25		20	54	
	C	29	41		4	73	
	D	7	49		-	79	

Разлика не беше намерена по отношение на тромбоцитите, като стойностите на показателя са почти еднакви в двете групи, докато докладваните от C. Samaa et al., са значително по-ниски в лекуваната за ХЦК група. Креатинин и АФ са с по-високи стойности в пациентите, които са провели лечение на онкологичното заболяване, макар че при нас тази разлика не е статистически значима както описват в своето изследване C. Samaa et al. При определяне тежестта на цирозата по Child-Pugh се установи съществена разлика в двете групи и в двете проучвания като пациентите с ХЦК събират повече точки в нелекуваната група (8.6 в нашето изследване и 7.9 в изследването на другите автори). Разделен по стадий можем да кажем, че както в нашето изследване така и в това на C. Samaa et al групата на лекувани пациенти, преобладават тези със стадий А по Child. От друга страна бе установена разлика между лицата, при които не е проведена терапия за малигненото заболяване - при нас основно са в стадий С по Child, докато в проучването на C. Samaa et al основната група от пациентите са в стадий В по Child. По отношение на съдовата инвазия се установява разлика в двете проучвания, за разлика от изследването на C. Samaa et al, където при всички пациенти с тромбоза на v. portae не е проведено лечение на ХЦК, при нас има и такива, при които са лекуваните. При пациентите в нашето изследване със съдова инвазия е проведена системна химиотерапия с мултикиназия инхибитор Sorafenib. И в двете проучвания се открива значителна разлика в двете групи според BCLC. Интересно е че в нашата група пациенти, които са в стадий А по BCLC I не са провели лечение за малигненото заболяване с повече, от тези които са провели лечение. Съотношението на пациентите в двете проучвания, според останалите стадий по BCLC, не се различава съществено. В заключение може

да кажем, че както при нас така и при пациентите на C. Samaa et al от нелекуваната група са в напредналия стадий D на BCLC.

Табл. 36. OR за развитието на ХЦК при пациенти с хепатит В и цирроза[202]

Автор	Година	OR (95 % CI)
Borzio	1995	10.12 (5.92-14.33)
Mazzella	1996	3.57 (0.13-7.01)
Fattovich	1997	1.67 (0.35-3.00)
Benvegnu	1998	4.86 (1.35-8.37)
Ikeda	1998	3.33 (2.43-4.22)
Zavaglia	2000	7.94 (-6.99-22.86)
Ishikawa	2001	7.72 (5.30-10.15)
Tangkijvanich	2001	5.62 (2.05-9.20)
Ikeda	2003	3.04 (2.20-3.89)
Benvegnu	2004	2.87 (1.33-4.41)
Manolakopoulos	2004	3.70 (-1.33-8.74)
Gheorghe	2005	3.44 (1.96-4.92)
Tong	2006	2.27 (1.29-3.25)
Chen	2007	2.66 (1.54-3.78)
Lin	2007	4.16 (2.17-6.16)
Paul	2007	2.08 (0.28-3.88)
Romeo	2009	1.18 (0.56-1.79)
Tai	2009	0.82 (0.38-1.27)
Tong	2009	3.92 (2.28-5.57)
Das	2010	0.77 (-0.10-1.35)
Trinchet	2011	3.04 (1.70-4.39)
Tseng	2012	3.49 (2.95-4.04)
Wang	2013	5.21 (1.45-8.96)
Собствено проучване	2017	1.15 (0.99-1.34)

На табл. 36 е показан риска за развитието на ХЦК при пациенти с хепатит В и цирроза.[202] Впечатление прави, че след 2001 година се наблюдава спад на риска за малигнизация. Това вероятно се дължи на включването на ваксинацията срещу хепатит В в задължителния имунизационен календар. Освен това през последните години се създават и

национални скринингови програми на рисковия контингент пациенти (към които спадат и тези с хепатит В и цироза), които допълнително подпомагат раното откриване и лечението на заболяването.

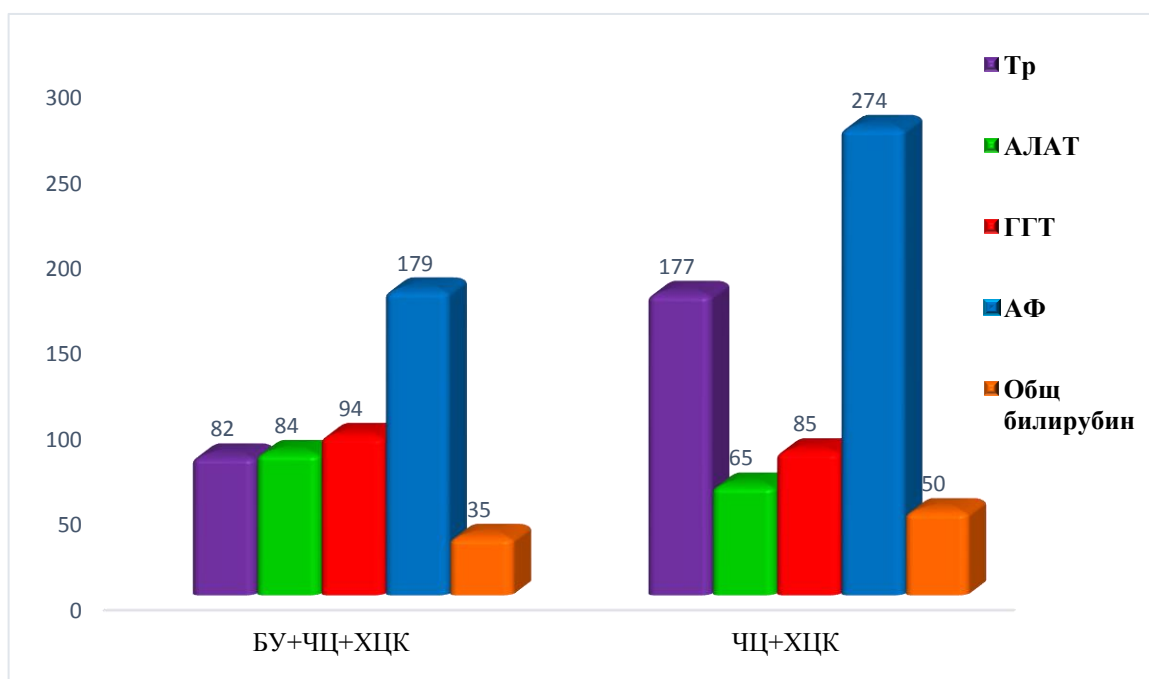
На табл. 37 е сравнена оценката на риска за поява на ХЦК, при пациенти с чернодробна цироза на четири показателя. В своето изследване R. Velazquez et al., (2003) отделя като статистически значими по отношение на риска от ХЦК 4 показателя: възраст, тромбоцити, протромбинова активност и наличие на.[211] **Основен рисков фактор за малигнизация при пациентите с цироза в нашата извадка е възрастта над 55 години**, докато в изследването на R. Velazquez et al., е ПИ под 75%. Хроничния хепатит С е с много по-висока тежест (2,09) в изследването на R. Velazquez et al, отколкото в нашата извадка (0,85). Нашето изследване доказва, че наличието на **HBV инфекция е с по-висок риск**, отколкото наличието на **HCV инфекция**, съответно (0,84, $p=0,350$ за хроничния HCV-хепатит, и 1,57 (1,3-1,8), $p<0.001$ за хроничен HBV-хепатит.

Таблица 37 Оценка на риска от развитие на ХЦК при пациенти с цироза[211]

Рискови фактори	Собствено проучване, 2017 (n= 223)		R. Velazquez et al., 2003 (n=463)	
	OR	P	OR	P
Протромбинова активност $\leq 75\%$	0,33 (0,16-0,67)	0,002	5,21 (1,8-14,9)	0,002
Възраст ≥ 55 г.	3,62 (1,79-7,29)	$< 0,001$	4,09 (1,8-9,0)	0,005
Тромбоцити $< 75 \cdot 10^3/\text{mm}^3$	1,35 (0,60-3,02)	0,298	2,5 (1,3-4,9)	0,007
Хроничен хепатит С	0,84 (0,44-1,60)	0,350	2,09 (1,1-4,2)	0,03

При трима от пациентите с ХЦК, чернодробната цироза се е развила на базата на болест на Уилсън, като всички са мъже на средна възраст 56 год. Хепатоцелуларният карцином се е развил по рано в сравнение с останалите пациенти от клиничната група При един от пациентите малигнизацията се е развила 44 години след откриване на метаболитното чернодробно заболяване, в останалите два случая ХЦК е установен 4 години след поставяне на диагнозата „Болест на Уилсън“. Към момента на установяване на нарушенията

в медната обмяна и тримата пациенти са имали неврологична симптоматика, повишени чернодробни показатели и ехографски, лабораторни и хистологични (в два от случаите) данни за чернодробна цироза. При тримата е започнато своевременно лечение с Купренил, което впоследствие е прекъсвано за различен период от време (по преценка на пациента). При двама от изследваните мъже чернодробната цироза е компенсирана (стадий А по Child), както при диагностициране на заболяването, така и през периода на проследяване. При един от случаите болестта на Уилсън е установена по повод, декомпенсиране на чернодробната цироза, проявило се с остро кървене от варици на хранопровода. Този пациент е с портална хипертония, портала хипертензивна гастропатия, варици на хранопровода II степен т.е. декомпенсирана чернодробна цироза (стадий В по Child).



Фиг. 11. Сравнение на някои от лабораторните показатели при пациентите с БУ+ЧЦ+ХЦК и ЧЦ+ХЦК

При диагностициране на метаболитното чернодробно заболяване и тримата пациенти са били с ниски стойности на серумната мед – $4,8 \div 9,7$ $\mu\text{mol/l}$, серумния церулоплазмин – $0,10-0,13$ g/l и повишена екскреция на мед с урината $> 1,6 \mu\text{mol/l}$. При един пациент е установен пръстен на Kayser Fleischer. На Фигура 11 са съпоставени средните стойности на лабораторните показатели при пациентите с болест на Уилсън, чернодробна цироза и ХЦК с

тези на клиничната група. При всички пациенти с болест на Уилсън, диагнозата „Хепатоцелуларен карцином“ е поставена въз основа на данните от образни изследвания (КУУЗ, КТ с К.м./МРТ с к.м.), повишените стойности на АФП и е потвърден хистологично.

4.4.Значение на антивирусното лечение срещу HBV, HDV и HCV за прогресия на болестта до хепатоцелуларен карцином

Носителите на HCV и/или HBV инфекция са повече от 500 милиона в света. Персистирането им повишава значително риска от развитието на ХЦК [193]. Множество автори докладват, че честотата на ХЦК значително намалява след ерадикиране на хепатотропните вируси [123, 193, 250]. За това проучихме значението на антивирусната терапия за появата и прогресията на ХЦК. На табл. 38 е направена сравнителна характеристика на пациентите с ХЦК и HBV с и без противовирусно лечение. Пациентите с ХЦК и HBV, които са проследени са 88, като при 67,04% (59) от тях е проведено противовирусно лечение. Резултатите от проведения анализ показват, че няма съществена разлика по отношение на показателите възраст и пол, като **пациентите предимно са мъже на средна възраст 64 години**. Нашите резултати потвърждават тези на други автори, при които също не е намерена връзка между лекувани и нелекувани с хроничен хепатит В с тази разлика, че в тяхната извадка средната възраст е значително по-ниска (с около 16 години отколкото при нас). Разлика не беше намерена и по отношение на HbeAg и HBV DNA (IU/mL), като **преобладават предимно HbeAg негативни пациенти и HBV DNA >2000 IU/mL**. По отношение на HbeAg нашите резултати потвърждават тези на JL. Chen et al. (2016), докато другите автори отчитат разлика при HBV DNA между случаите с и без лечение (съответно при пациенти с лечение преобладава HBV DNA >2000 IU/mL – 141, докато в групата без лечение HBV DNA <2000 IU/mL – 154). При нас също е по-голям дялът на пациентите с HBV DNA >2000 IU/mL, при които е проведено противовирусно лечение -15 към 9. За разлика от изследването на JL. Chen et

al пациентите, които не са провели лечение и са с HBV DNA <2000 IU/mL са по-малко от тези, които не са провели лечение. От друга страна интерес представлява разликата, която беше намерена между резултатите в нашето изследване и това на JL. Chen et al., по отношение на АСАТ, албумин и общ билирубин. Резултатите за средната стойност на АСАТ в нашето изследване са над 2 пъти по-високи, отколкото в това на другите автори, като бе намерена статистически значима разлика ($p < 0.05$) в средната стойност на показателя при пациентите в двете групи – по-високата стойност е при пациентите с лечение (118,1 IU/L /92,2 IU/L). Това може да обясни, защо повечето пациентите с ниво на HBV DNA <2000 IU/mL са провели противовирусно лечение – имат повишени стойности на чернодробните ензими, което прави уместно провеждането на антивирусна терапия. АФП >25 ng/mL е установен при повечето пациенти, независимо имат или не лечение и в двете сравнявани проучвания. **Албуминът** от друга страна е по-нисък в сравнение с резултатите докладвани от другите автори, като **бяха отчетени статистически значими по-високи стойности в групата на пациентите без лечение (35,5 g/L/30,5g/L - $p < 0.001$).** Общия билирубин е друг лабораторен показател, при който наблюдаваме значително по-високи стойности в нашата извадка, 4 пъти по-високи за пациентите, провели противовирусна терапия и над 2 пъти за тези без терапия. И в двете изследвания беше намерена значима разлика между пациентите с и без противовирусно лечение, като **с по-високи стойности на общия билирубин са болните с проведено лечение (61,5 $\mu\text{mol/L}$ в нашата извадка/15,9 $\mu\text{mol/L}$ за проучването на L. Chen et al. (2016).** Средните стойности на ПИ, не се различава между изследваните групи и в двете проучвания. Относно размера и броя на туморите в нашето изследване също не беше намерена съществена разлика между двете групи, като преобладава тези със солитарен тумор и среден размер на нодули - 4 см. В проучването на JL. Chen et al., също преобладават тези с един тумор, но те са намерили разлика в неговия размер, като средния размер при лицата без лечение е 5,4 см, а при тези провели терапия за HBV инфекцията е 4,7см.

Табл. 38. Сравнителна характеристика на пациентите с ХЦК и HBV с и без антивирусно лечение[45]

Показател		Собствено изследване, 2017			JL. Chen et al., 2016		
		Антивирусно лечение		P	Антивирусно лечение		P
		Да (n=59)	Не (n=29)		Да (n=192)	Не (n=253)	
Възраст	Mean ±SD	63,5 ± 9,5	64,0 ± 9,9	0,723	47,9 ± 10,3	48,8 ± 11,8	0,372
Пол	Мъже	54	25	0,097	172	218	0,278
	Жени	5	4		20	35	
HbeAg	+	1	2	0,097	48	35	0,003
	-	58	27		144	218	
HBV DNA (IU/mL)	< 2000	9	1	> 0,05	51	154	< 0,001
	≥ 2000	15	9		141	99	
	> 25	35	22		114	152	
АЛАТ (IU/L)	Mean±S D	67,6 ± 61,6	58,7 ± 46,4	0,267	49,8 ± 30,3	41,9 ± 24,6	0,002
	Range	9 - 371	8 - 217		13,1-209,2	8,5-163,0	
АСАТ (IU/L)	Mean±S D	118,1 ± 103,2	92,2 ± 80,3	0,05	41,6 ± 25,2	38,2 ± 20,4	0,115
	Range	14 – 706,0	10 – 343,0		8,0-263,0	15,0-168,0	
Албумин (g/L)	Mean±S D	30,5 ± 7,3	35,5 ± 5,5	< 0,001	43,1 ± 3,6	42,8 ± 4,0	0,485
	Range	18,0-49,0	24,0-46,0		29,3-52,5	27,8-51,6	
Общ билирубин (μmol/L)	Mean±S D	61,5 ± 66,3	34,8 ± 80,7	0,018	15,9 ± 7,3	14,6 ± 5,6	0,035
	Range	2,0 – 391,0	5,0 – 620,0		4,6-63,3	5,0-47,2	
Протромбиново време (сек.)	Mean±S D	18,0 ± 14,4	16,5 ± 3,6	0,518	12,7 ± 1,5	12,5 ± 1,3	0,215
	Range	11,0 – 135,0	12,3 – 28,0		9,6-19,1	9,4-17,4	
АФП (ng/mL)	≤ 25	19	5	0,137	78	101	0,137
	> 25	35	22		114	152	
Размер на тумора (см)	Mean ±SD	3,6 ± 2,2	4,1 ± 3,5	0,195	4,7 ± 3,1	5,4 ± 3,2	0,012
	Range	1 - 12	1 - 17		1,0-25,0	1,0-18,0	

Брой на туморите	Един	38	22	0,166	176	232	0,990
	Много	9	6		16	21	
Исход	Починали	27	17	0,097	51	90	0,043
	Преживели	35	12		141	163	

.Интерес представлява резултата относно изхода от заболяването, където въпреки липсата на съществена разлика в нашето изследване има различия между броя на починалите преживелите в зависимост от това дали са провели лечение или не. **Пациентите, при които е проведена антивирусна терапия живеят по-дълго след откриване на малигненото заболяване.** В своята студия JL. Chen et al.,(2016) уточнява, че по-добра е преживяемостта от ХЦК при проведена антивирусна терапия при висока вирусна репликация (HBV DNA >2000 IU/ml), докато при пациентите провели антивирусно лечение с ниска или nedolovima изходна вирусна репликация прогнозата не се подобрява съществено[45]. **Антивирусната терапия осигурява по-добра преживяемост от ХЦК, както при тези с хронична HBV инфекция, така и при лицата с хроничен HCV хепатит, съответно 15,14±12.44 месеца за пациентите, провеждащи антивирусно лечение и 10,6±15,8 месеца за тези без лечение.** Редица проучвания докладват намаляване на риска от ХЦК при пациенти с HCV хепатит, постигнали траен вирусологичен отговор. [2, 45, 53, 122]

На табл. 39 е направена характеристика на пациентите с цироза и HCV-инфекция, според проведената интерференова терапия, като резултатите са сравнение с тези на друг автор. Първата разлика, която се намери е по отношение на средната възраст на пациентите, като **в нашата извадка пациентите, при които е проведена интерференова терапия са значително по-млади (53 години/63 години, P<0.001).** В изследването на S. Shimomura et al.,(2011), няма съществена разлика между двете групи пациенти. Интерес представлява разликата по отношение на пол, където **в нашето изследване интерференова терапия се провежда по-често при жени,** докато в това на други автори е по-висока честота на мъжете. По отношение на лабораторните

показатели съществена разлика в нашето изследване беше намерена само в стойностите на левкоцитите и общия билирубин, които са сигнификантно по-ниски в групата на пациентите с проведен интерференова терапия. Другите автори не отчитат разлика в лабораторните показатели между двете групи пациенти с изключение на албумин и АФП - по-ниски са в групата на пациентите с противовирусна терапия.

Табл. 39. Характеристика на пациентите с цироза и HCV според проведената интерференова терапия[193]

Показател		Собствено изследване, 2017			S. Shimomura et al., 2011		
		Интерференова терапия		P	Интерференова терапия		P
		Да (n= 25)	Не (n= 197)		Да (n=20)	Не (n=115)	
Възраст	Median (range)	53 (36-76)	63 (23-84)	< 0,001	65 (52-76)	67 (39-85)	0.06
Пол (брой)	Мъже	9	143	< 0,001	15	56	0.04
	Жени	16	54		5	59	
Левкоцити	Median	5,5	6,9	0,05	40	37	0.08
Хемоглобин	Median	125,7	121,8	0,392	12.9	12.8	0.35
Тромбоцити	Median	125,8	156,3	0,111	9.7	9.7	0.36
Протромбино во време (%)	Median	74,5	67,7	0,185	80.9	81.9	0.80
Общ билирубин	Median	20,5	54,5	0,024	0.8	0.9	0.51
Албумин	Median	39,5	34,4	0,346	3.9	3.7	0.006
АСАТ	Median	74,6	109,4	0,076	60	57	0.42
АЛАТ	Median	74,9	64,5	0,393	50	53	0.71
АФП	Median	142,2	199,1	0,385	11	27	0.03
Child-Pugh класификаци я (брой)	A	13	55	< 0,001	19	96	0.40
	B	2	48		1	18	
	C	1	63		0	1	
Размер на тумора (мм)	Median	25	35	0,549	21	20	0.75
Брой тумори	Един	1	35	0,952	18	88	0.17
	Много	-	40		2	27	

По отношение тежестта на цирозата, според класификацията на Child-Pugh, има съществена разлика в честота на пациентите в двете изследвани

групи. При пациентите с антивирусна терапия преобладават тези в стадий А по Child (13), докато тези без терапия са в стадий С по Child (63), за разлика от нас в проучването на S. Shimomura et al., преобладава пациенти в стадий А по Child, независимо има или не терапия. Въпреки, че не беше намерена значима разлика по отношение на размера на тумора в двете изследвания в нашата група се наблюдава 10 мм разлика в средния размер на тумора като пациентите без терапия са с по-големи тумори. При изследване броя на туморите не се доказва съществена разлика като при пациентите без терапия в нашето изследване, преобладават тези с множество тумори, докато при изследването на други автори честота на пациентите с солитарен тумор е по-висока, независимо имат или не проведено лечение.

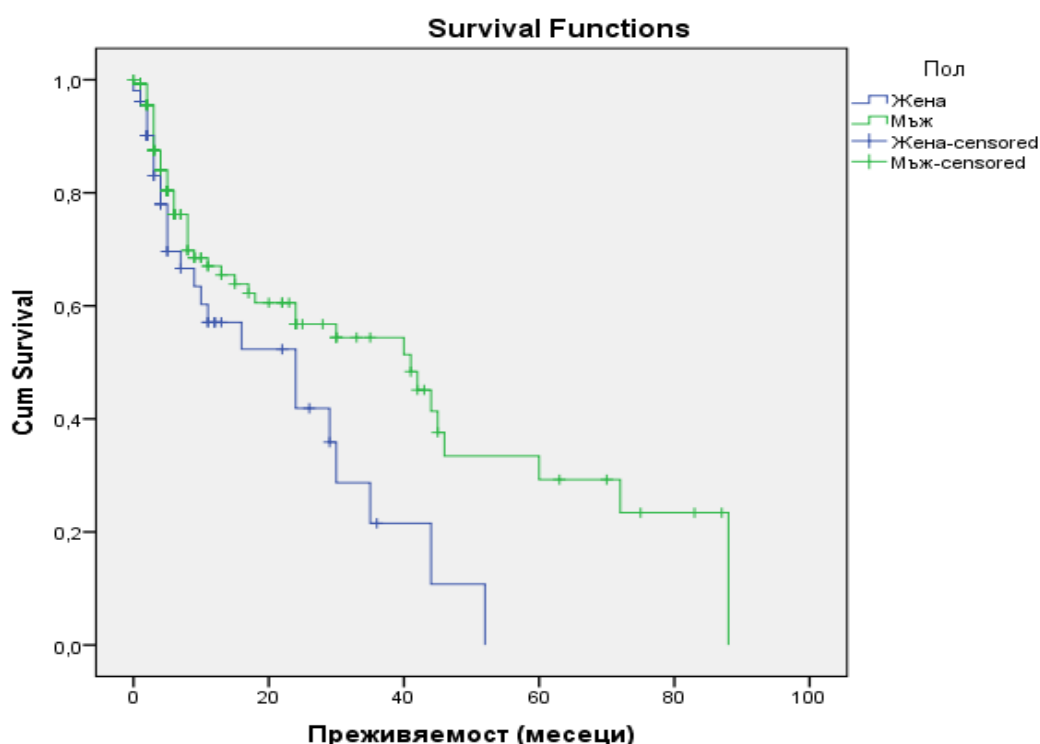
Табл. 40. Връзка между клиничните характеристики на пациентите с ХЦК без лечение за HBV и преживяемостта – унивариантен Cox регресионен анализ[45]

Показател	Собствено изследване, 2017		JL. Chen et al., 2016	
	HR	p	HR	P
Възраст	0,999	0,938	1,341	0,169
Пол	0,572	0,025	0,891	0,710
HbeAg	0,962	0,957	1,681	0,054
HBV DNA (IU/mL)	4,192	0,178	2,056	0,001
Размер на тумора (см)	1,074	0,069	1,820	0,006
Брой на туморите	1,096	0,746	2,393	0,004
АФП (ng/mL)	1,000	0,047	1,252	0,302
АЛАТ (IU/L)	1,000	0,898	1,539	0,041
АСАТ (IU/L)	1,001	0,477	1,803	0,009
Албумин (g/L)	1,020	0,283	0,423	0,061
Общ билирубин (μmol/L)	1,000	0,945	0,919	0,780
Протромбиново време (сек.)	0,994	0,771	1,146	0,593

На табл. 40 е изследвана връзка между клиничните характеристики на пациентите с ХЦК без лечение за HBV и преживяемостта. Резултатите в нашето изследване показват, че **рискови фактори за преживяемост са: HBV**

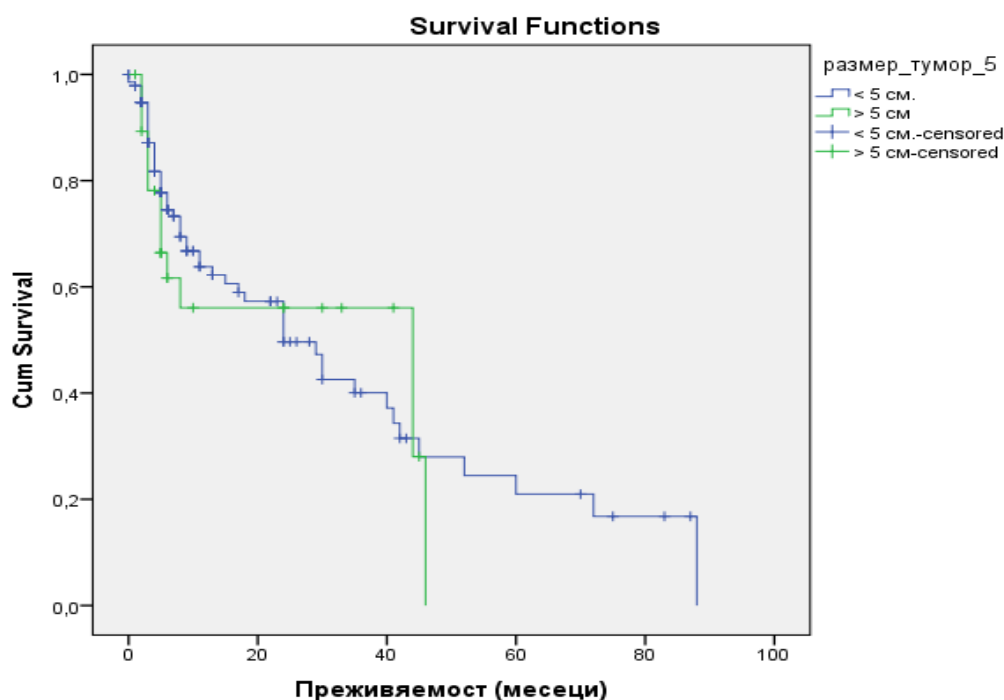
DNA, размера на тумора, брой на тумора, като с най-висок риск е нивото на вирусна репликация. Това съвпада с резултатите на другите автори, като при изследването JL. Chen et al.,(2016) най-голяма тежест имат броят тумори, а след това е нивото на HBV DNA.

На фигура 12 е представен графично Kaplan Mayer анализа на преживяемостта, според пола при пациентите с ХЦК. От направеният анализ се вижда, че **по-дълго живеят мъжете с диагноза ХЦК, отколкото жените.**



Фиг. 12. Kaplan Mayer анализ на преживяемостта, според пола при пациенти с ХЦК, без лечение за HBV инфекцията

На фигура 13 е представен анализът на Kaplan Mayer за преживяемостта, според размера на тумора, при пациенти с нелекувана HBV инфекция. Пациентите са разделени в две групи - с размер на тумора над и под 5 см. Пациентите с размер на нодула < 5 см са с по-добра преживяемост, отколкото тези с големи тумори.



Фиг. 13. Kaplan Mayer анализ на преживяемостта на пациентите с ХЦК, според размера на тумора, без лечение за HBV инфекцията.

4.5.Анализиране на методите за диагностика (лабораторни, образни и морфологични изследвания) на хепатоцелуларния карцином, включително и на ранния му стадий

4.5.1. Лабораторни изследвания

При всички проследени пациенти са направени хематологични, биохимични и вирусологични изследвания, въз основа на които е определена степента на увреждане на чернодробната функция, тежестта на цирозата (ако има такава) и стадия на малигненото заболяване.

При сравняване на чернодробните показатели – **АСАТ, АЛАТ, ГГТ и АФ** се установи статистически значима разлика между клиничната и контролната група – като **по-високи средни стойности са отчетени при пациентите с карцином** (табл. 41, фиг. 15 и 16). Подобна зависимост се наблюдава и за общия билирубин. (табл. 41) Повишените стойности на тези показатели се приемат за рискови за развитие на ХЦК при пациенти с хронично чернодробно заболяване, което се потвърждава и от други автори.[17, 73, 109, 130, 229] Това заедно с **отчетените по-ниските стойности**

на албумина в клиничната група показват, че първичния чернодробен карцином се развива в увреден черен дроб.

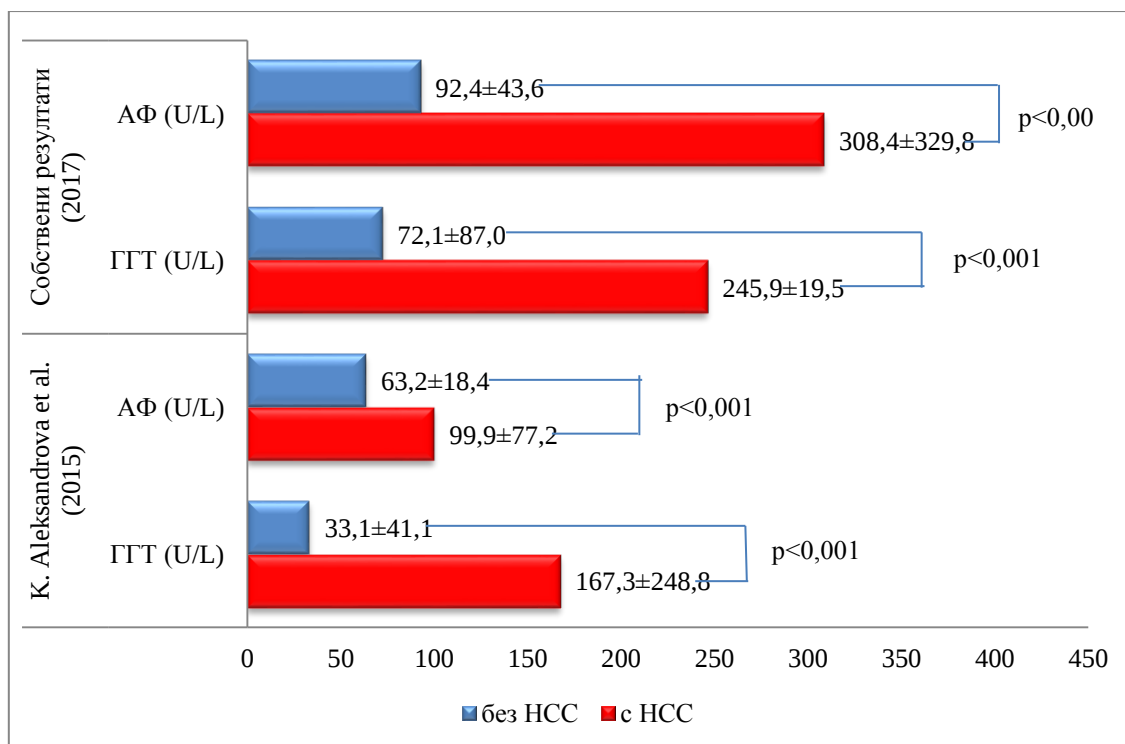
Табл. 41. Сравнителен анализ на лабораторните показатели в контролна и клинична група[130]

Показатели		Собствено изследване, 2017			J. Lee et al., 2013		
		Контрол на група	Клинична група	P	Контролна група	Клинична група	P
HBeAg (+)	N	5	3	0,146	645	182	0,046
АЛАТ (U/L)	Median (range)	50,7 (8.5-339)	65,1 (8.0-371)	0.015	48 (33-80)	46 (34-62)	0,13
АСАТ (U/L)	Median (range)	47,6 (12-227)	106.6 (10-706)	< 0.001	47 (33-73)	50 (38-68)	0,041
Албумин (g/dL)	Median (range)	4,3 (2-5.3)	3.4 (1.8-35.5)	< 0.001	4,0 (3,8-4,3)	3,9 (3,5-4,1)	< 0,001
Общ билирубин (mg/dL)	Median (range)	1,9 (0.5-23.6)	5.1 (0.2-62.0)	< 0.001	1,0 (0,7-1,3)	1,1 (0,8-1,5)	< 0,001
Тромбоцити ($\times 10^3/L$)	Median (range)	176.5 (4-548)	177.1 (9-650)	0.952	125 (100-145)	82 (62-113)	< 0,001
АФП (ng/mL)	Median (range)	11,4 (1.08-107.0)	186.3 (0.4-363.0)	< 0.001	6,7 (3,9-17,1)	10,9 (6,2-21,6)	< 0,001

На табл. 41 е направен сравнителен анализ на лабораторните показатели в контролната и клиничната група, като резултатите са сравнение с тези на друг автор.[130] Нбе антиген положителните пациенти са общо 8 за двете групи, поради това няма съществена разлика в резултатите при двете групи. В изследването на J. Lee et al., (2015) в контролната група имат по-висока честота на Нбе антиген позитивни пациенти. **Средната стойността на АЛАТ е сигнификантно по-висока в клиничната група.** За разлика от нас, в своето проучване други автори съобщават значително по-ниски стойности на показателя, като нямат съществена разлика между двете групи. Значима разлика беше установена и **при сравняването на средните стойности на АСАТ ($p < 0,001$), като в клиничната група показателя е с близо два пъти**

по-високи стойности. Разлика за този показател е описана и от J. Lee et al., които също докладват по-високи нива на АСАТ в клиничната група. **Серумните нива на албумина** в нашето изследване показват тенденция установена и при други автори, като **средната стойност е по-ниска в клиничната група.** От друга страна **средните стойности на билирубина** не само се различават в двете групи, но и **са по-високи в клиничната.** Стойността на тромбоцитите в нашето изследване не показва съществена разлика при двете групи пациенти, докато в това на J. Lee et al. тромбоцитите са по-високи в контролната група. **И в двете изследвания беше намерена съществена разлика в средните стойност на АФП,** като **в клиничната група показателя е значително по-завишен** (186,3 за нашето и 10,9 за J. Lee et al.).

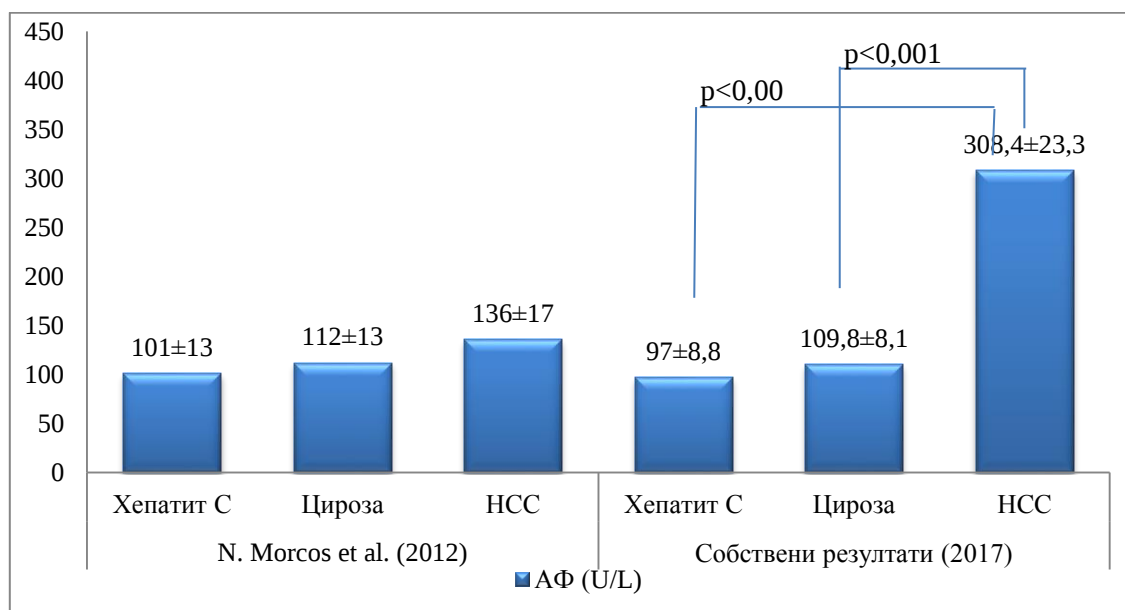
Резултатите представени на фигура 13 показват сравнителен анализ на средните стойности на ГГТ и АФ при пациентите с/без ХЦК, като нашите резултати са сравнение с тези на K.Aleksandrova et al, (2015). [17] Наблюдава се съществена разлика в средните стойности на изследваните показатели при пациентите с и без ХЦК. **При пациентите с ХЦК и в двете изследвания стойностите АФ и ГГТ са значително по-високи** (АФ: 99,9 към 63,2 за изследването K.Aleksandrova et al и 308,4 към 92,4 при нашите пациенти, ГГТ: 167,3 към 33,1 за K.Aleksandrova et al и 245,9 към 72,1 за нашите извадка). Впечатление прави, че резултатите при пациентите с ХЦК в нашата извадка са в пъти по-високи, отколкото тези на другите автори – 1,5 за ГГТ и 3,1 за АФ. Завишени резултати се наблюдават в стойностите на контролната група (без ХЦК), съответно 2,2 пъти за ГГТ и 1,5 пъти за АФ. Завишените стойности на ГГТ са свързват с оксидативен стрес и са специфичен показател за чернодробно възпаление. [17, 128] Покачването на този показател се наблюдава при нарушение в обмяната на холестерола. [17] **Установените повишени стойности на ГГТ показват, че малигнизацията на чернодробното заболяване протича на фона освен на възпаление и оксидативен стрес и на нарушена мастна обмяна.**



Фиг. 14. Сравнителен анализ на средните стойности на ГГТ и АФ при пациенти с и без ХЦК[17]

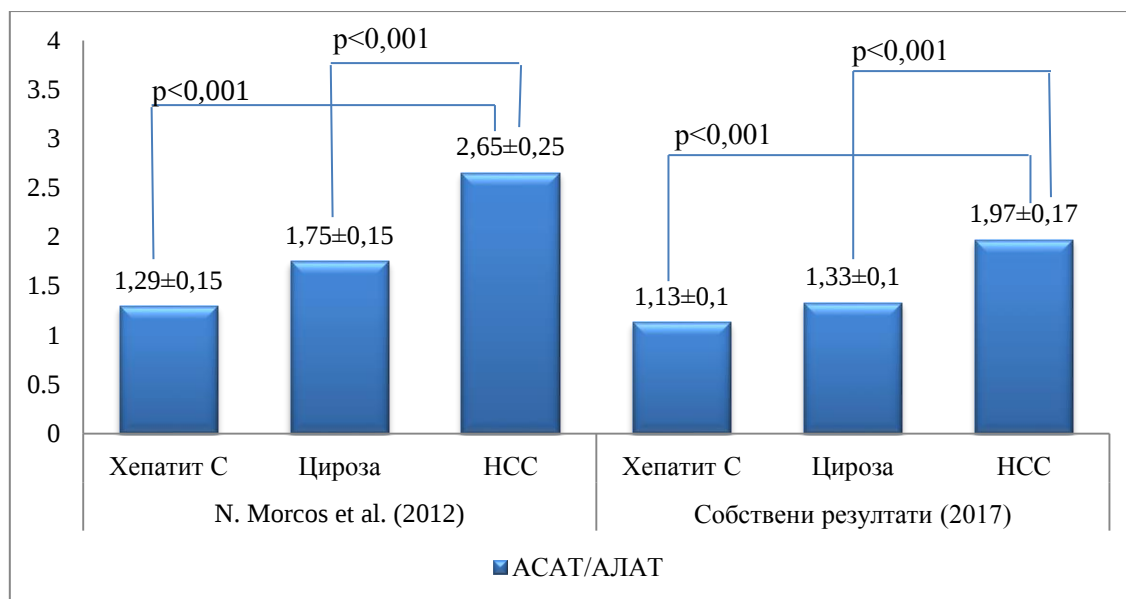
Изследването на АФ при пациенти с хроничен хепатит С, цироза и ХЦК показва статистически значима разлика. Съществена разлика беше установена по отношение сравняването на средните стойности на АФ на пациентите с ХЦК и тези с хепатит С ($p<0.001$) и цироза ($p<0.001$). **Средната стойност на АФ при пациентите с ХЦК е 3,2 пъти по-висока от тази на пациентите с хепатит С и 2,8 пъти по-висока от тази при пациентите с цироза.** На фигура 14 са съпоставени нашите резултати с тези на други автори, като последните не съобщават за подобна разлика при съпоставяне на средните стойности на АФ при техните пациенти. Както се вижда от фигура 14, средните стойности на АФ при пациентите с хепатит С и цироза са по-ниски в сравнение с тези на N. Morcos et al. (2012), (97/101 за пациентите с хепатит С и 109,8 /112 за пациентите с цироза).[229] Съществена разлика се наблюдава в средната стойност на показателя при пациентите с ХЦК - в нашата извадка той е по-висок 2,3 пъти от средната стойност съобщена от другите автори (308,4/136). Тази съпоставка показва, че **покачването на изследвания показател**

корелира с напредването на чернодробното заболяване при пациентите с хроничен хепатит С.



Фиг. 15. Сравнителен анализ на средните стойности на АФ (mean±SEM) при пациенти с хроничен хепатит С, Цироза и ХЦК[229]

Поради установените значително повишени стойности на АСАТ и АЛАТ в клиничната група в сравнение с контролната, решихме да оценим съотношението АСАТ/АЛАТ, като маркер за развитието на ХЦК. На фигура 15 е представен сравнителен анализ на средните стойности на показателя при пациенти с хроничен хепатит С, цироза и ХЦК. Наблюдава се съществена разлика при сравняването на стойностите на пациенти с ХЦК с тези на други две групи, както при нас така и в изследването на N. Morcos et al. (2012). Впечатление прави, че резултатите в нашето изследване са по-ниски сравнение с тези на N. Morcos et al. (2012) **Показателят АСАТ/АЛАТ се повишава сигнификантно при наличието на ХЦК** в сравнение с стойностите му при пациенти с хроничен хепатит/ чернодробна цироза **за това може да се използва като надежден маркер за поява ХЦК.**



Фиг. 16. Сравнителен анализ на средните стойности на съотношението ACAT/АЛАТ (mean±SEM) при пациенти с Хепатит С, Цироза и ХЦК[229]

Сравнението на лабораторните показатели при пациенти с хроничен хепатит, развили цироза и ХЦК показва, че няма съществена разлика в нивата на хемоглобина, АСАТ, общия билирубин и албумина. При останалите показатели установихме значима разлика в двете групи. Нашите резултати са сравнение с тези на докладвани от ЕАЕ Badr et al., (2014) на таблица 42 [68]. Първият показател, при който се установи сигнификантна разлика са стойностите на тромбоцитите, които са значително по-високи при пациентите с ХЦК (232,6), докато в изследванията на други са по-завишени при пациентите с цироза (105,23). Креатининът показва сигнификантно по-високи нива при пациентите с ХЦК и в двете изследвания (съответно 9,4 на нашето и 2,08 за това на ЕАЕ Badr et al., 2014. Това може да се обясни с нарушената бъбречната функция, съпътстваща тежкото чернодробно увреждане. За разлика от проучването на ЕАЕ Badr et al. ние намерихме сигнификантна разлика в стойностите на АЛАТ, те са по-високи при пациентите с цироза. Статистически значима разлика беше намерена и в стойностите на директния билирубин, като при тези с ХЦК, и в двете изследвания, са по-високи стойности. От друга страна ЕАЕ Badr et al., установяват съществено различие и в стойностите на общия билирубин, които в тяхното изследване са по-високи при пациентите с ХЦК (4,80 към 2,6). Това

вероятно се дължи на по-тежкото нарушение на функциите на черния дроб при пациентите с ХЦК, в сравнение с тези с чернодробна цироза.

Табл. 42. Сравнителен анализ на лабораторните показатели при пациенти с HCV цироза и ХЦК (mean $\pm$ SD)[68]

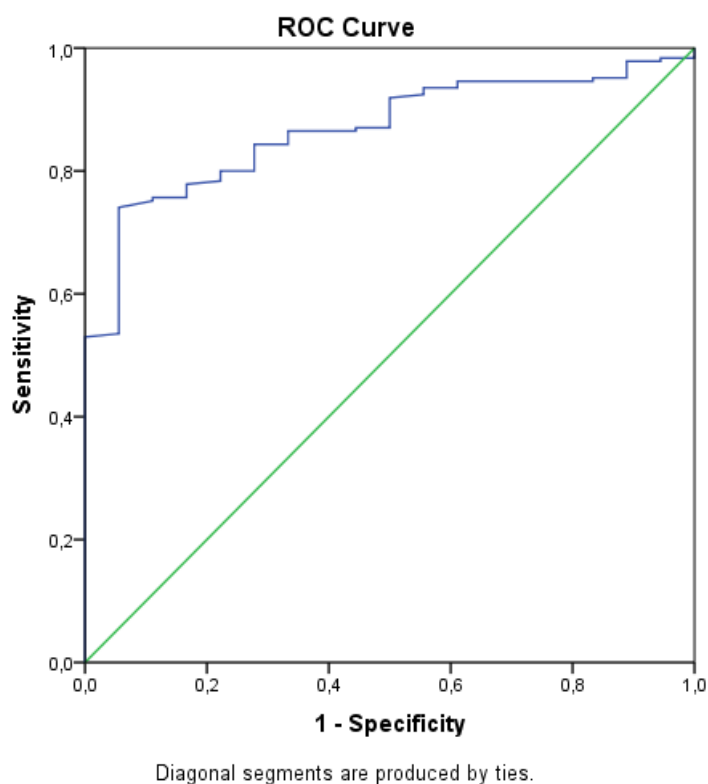
Показател	Собствено изследване, 2017			EAE Badr et al., 2014		
	Цироза (n=51)	ХЦК (n=43)	P	Цироза (n=30)	ХЦК (n=30)	P
Хемоглобин (g/dl)	13,0 $\pm$ 2,0	13,1 $\pm$ 2,3	> 0.05	10.46 $\pm$ 1.61	9.76 $\pm$ 1.57	> 0.05
Тромбоцити (x10 ³ /L)	126,6 $\pm$ 64,5	232,6 $\pm$ 102,7	< 0.01	105.23 $\pm$ 68.42	72.57 $\pm$ 24.11	< 0.01
Креатинин (mg/dl)	6,7 $\pm$ 1,4	9.4 $\pm$ 7,3	< 0.01	1.37 $\pm$ 0.49	2.08 $\pm$ 1.01	< 0.01
АСАТ (IU/ml)	61.11 $\pm$ 38.98	63.90 $\pm$ 60.68	> 0.05	42.23 $\pm$ 13.78	58.13 $\pm$ 57.48	> 0.05
АЛАТ (IU/ml)	55.50 $\pm$ 48.37	46.20 $\pm$ 39.42	< 0.05	33.57 $\pm$ 18.44	39.57 $\pm$ 20.33	> 0.05
Общ билирубин (mg/dl)	2.84 $\pm$ 3.46	2.07 $\pm$ 2.93	> 0.05	2.62 $\pm$ 1.54	4.80 $\pm$ 2.69	< 0.01
Директен билирубин (mg/dl)	1.18 $\pm$ 1.03	1,46 $\pm$ 2.98	< 0.05	1.11 $\pm$ 0.89	1.85 $\pm$ 1.31	< 0.05
Албумин (mg/dl)	3.97 $\pm$ 0.66	3.79 $\pm$ 0.59	> 0.05	2.36 $\pm$ 0.47	2.82 $\pm$ 0.76	< 0.01
Протромбиново време (%)	76.12 $\pm$ 21.31	87.59 $\pm$ 20.16	< 0.01	55.30 $\pm$ 13.60	54.63 $\pm$ 14.07	> 0.05
АФП (ng/ml)	15.41 $\pm$ 29.45	165.32 $\pm$ 172.19	< 0.01	80.04 $\pm$ 100.92	703.43 $\pm$ 744.6 9	< 0.01
Серумен глипикан (ug/L)	23.90 $\pm$ 51.62	34.47 $\pm$ 65.98	< 0.01	98.23 $\pm$ 73.54	551.47 $\pm$ 185.2 5	< 0.01

Проучването на EAE Badr et al., показва разлика в средната стойност на албумина, като нивата са по-високи при пациентите с ХЦК (2,82 към 2,36 за пациентите с чернодробна цироза). Съществена разлика се установи и в стойностите на протромбиновия индекс, който е по-високо при пациентите с ХЦК (87,59 към 76,12). Ключовото място на АФП и серумния глипикан в

диагностиката на ХЦК се потвърждава от редица автори.[68] В нашето изследване също беше намерена значима разлика в **стойностите на АФП и серумния глипикан, които са много по-високи при пациентите с ХЦК.** Въпреки че, в сравнени с другите автори, нашите резултати са по-ниски като абсолютна стойности. (табл. 42)

За да оценим предсказващата стойност на АФП и глипикана за развитие на ХЦК определихме cut-off стойността на тези два показателя.

На фигура 16 е представен ROC curve анализ за определяне на cut-off стойността на АФП при пациентите с ХЦК, където $AUC = 0.867$, $p < 0.001$. Сензитивността и специфичността за нашата извадка са съответно 22,20% и 83,30%.



Фиг. 17. Определяне на cut-off стойността на АФП при пациенти с ХЦК чрез ROC curve анализ за ($AUC = 0.867$, $p < 0.001$)

Сравнихме получената от нас cut-off стойност с резултатите на други автори. На таблица 43 е представена ретроспективно cut-off стойността на АФП при пациенти с ХЦК. Според представените данни стойността на АФП варира от 7,7 ng/ml до 200 ng/ml. С най-голяма честота е cut-off 20 ng/ml.

Нашият резултат 11 ng/ml се доближава до стойностите съобщени от Tong, 2001 Li, 2009 и се отличава като една от ниските стойности.

Табл. 43. Определяне на cut-off стойността на АФП при пациенти с ХЦК [101]

Автор	Държава	Година	Брой пациенти	Cut off	Sensitivity	Specificity
Colombo	Италия	2001	55	20 ng/mL 100 ng/mL	0.390 0.130	0.760 0.970
Nguyen	САЩ	2001	163	10 ng/mL 20 ng/mL 50 ng/mL 100 ng/mL 200 ng/mL	0.784 0.630 0.506 0.414 0.321	0.611 0.799 0.893 0.973 1.000
Tong	САЩ	2001	31	24 ng/mL 21 ng/mL 19 ng/mL 16 ng/mL 13 ng/mL 11 ng/mL 8 ng/mL	0.410 0.410 0.450 0.550 0.590 0.860 0.860	0.950 0.940 0.940 0.930 0.910 0.890 0.850
Oka	Япония	2001	388	20 ng/mL	0.550	0.490
Ikoma	Япония	2002	63	20 ng/mL	0.510	0.830
Wang	Китай	2005	61	20 ng/mL	0.590	0.770
Giannelli	Италия	2005	120	12 ng/mL	0.450	0.870
Gianluigi	Италия	2007	499	18.8 ng/mL	0.410	0.940
Hsia	Китай	2007	26	20 ng/mL	0.620	0.880
Hussein	Египет	2008	49	7.7 ng/mL	0.900	0.930
Li	Китай	2009	50	11.23 ng/mL	0.250	0.970
Yamamoto	Япония	2010	96	15 ng/mL 20 ng/mL 124 ng/mL 200 ng/mL	0.400 0.390 0.280 0.220	0.830 0.870 0.960 0.960
Ertle	Германия	2011	170	200 ng/mL	0.310	0.960
Ozkan	Турция	2011	75	13 ng/mL 8.46 ng/mL 20 ng/mL 100 ng/mL 200 ng/mL	0.690 0.760 0.600 0.460 0.390	0.950 0.950 0.980 1.000 1.000
Shafie	Египет	2012	31	32.64 ng/mL	0.810	0.850

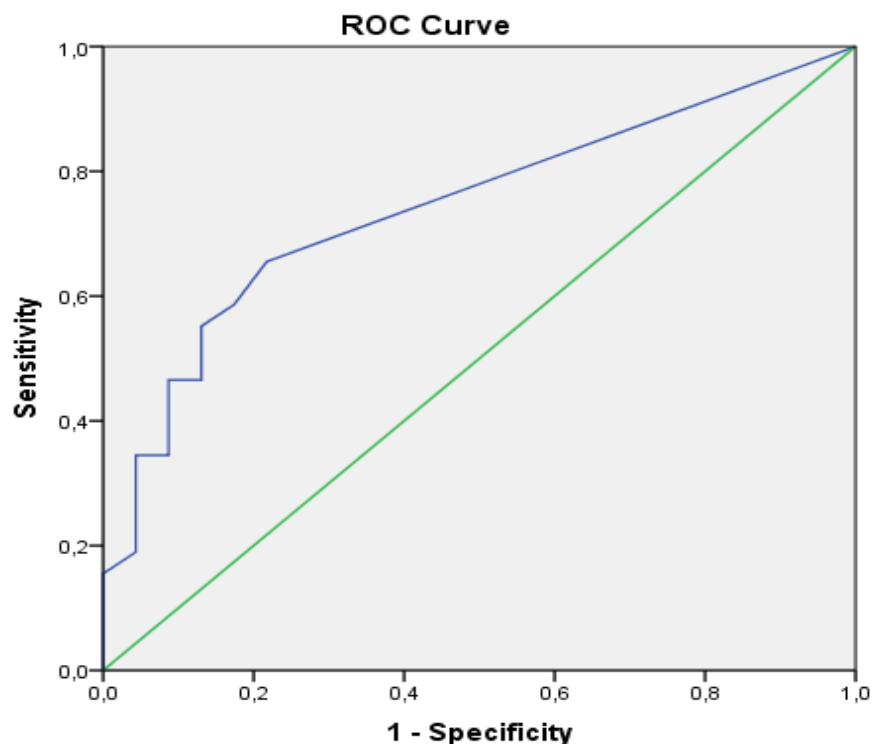
				28.51 ng/mL	0.770	0.600
Собствено проучване	България	2017	222	11 ng/mL	0.222	0.833

На таблица 44 е представена cut-off и средната стойността на глипикан за клиничната и контролната група. Резултатите показват различни данни за cut-off стойност на серумния глипикан, като варира от 1,225 ng/ml до 300 ng/ml. Cut-off стойността в нашето изследване е най-ниска 1,225 ng/ml. От друга страна средната стойност на глипикана при пациентите с ХЦК в нашата извадка значително се доближава до резултатите съобщени от Abd El Moety, et al, (2011), съответно 34,47 в нашата извадка и 34,63 в тази на другите автори. Средната стойност на глипикана в контролната група се доближава до тази на Goma, et al, (2012) и Abdelgawad, et al, (2013), където средната стойност в нашето изследване е 3,33, а в това на Goma, et al, (2012) е 3,14, а на Abdelgawad, et al, (2013) 3,24.

Табл. 44. Cut-off стойности на серумния глипикан

Автор	ХЦК/ Контролна група	Cut-off стойност	ХЦК (mean ±SD)	Контролна група (mean±SD)
Capurro, et al, 2003	34/91	117 ng/mL	-	-
Yoshitaka Hippo, et al, 2004	69/38	2.0 ng/mL	4.84 ±8.91	1.09 ±0.74
Liu, et al, 2010	75/32	300 ng/mL	-	-
Youssef, et al, 2010	40/40	4.6 ng/mL	-	-
Abd El Moety, et al, 2011	10/40	2.0 ng/mL	34.63 ±23.8	-
Qiao, et al, 2011	101/88	26.8 ng/mL	29.29 ±17.34	12.09 ±9.69
Goma, et al, 2012	31/30	5.41 ng/mL	8.13 ±3.25	3.14 ±1.16
Abdelgawad, et al, 2013	40/20	4.9 ng/mL	7.7	3.24
Chen, et al, 2013	155/440	25.25 ng/mL	99.94 ±267.2	19.44 ±50.88
Badr, et al, 2014	30/30	240 ng/mL	551.47 ±185.25	98.23 ±73.54
Lee, et al, 2014	120/40	73 ng/mL	75.8 ±117.5	66.4 ±33.2
Собствено проучване, 2017	58/23	1.225 ng/mL	34.47 ± 65.98	3.33 ± 8.12

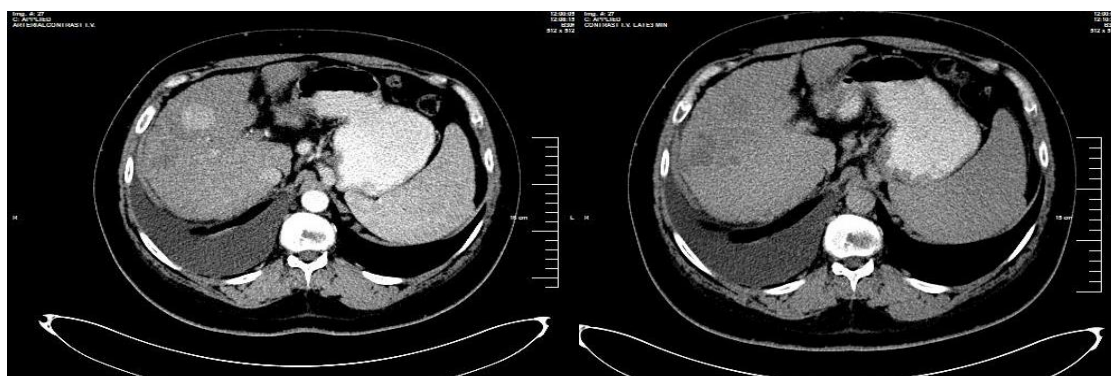
Изчислената cut-off стойността на серумния глипикан за нашата извадка е представена чрез ROC curve анализ на фигура 17, където AUC = 0.742, p = 0.001, сензитивността е 65,50%, а специфичност е 78,30%.



Фиг. 18. Определяне на cut-off стойността на серумния глипикан при пациенти с ХЦК чрез ROC curve анализ (AUC = 0.742, p = 0.001)

4.5.2. Образни изследвания

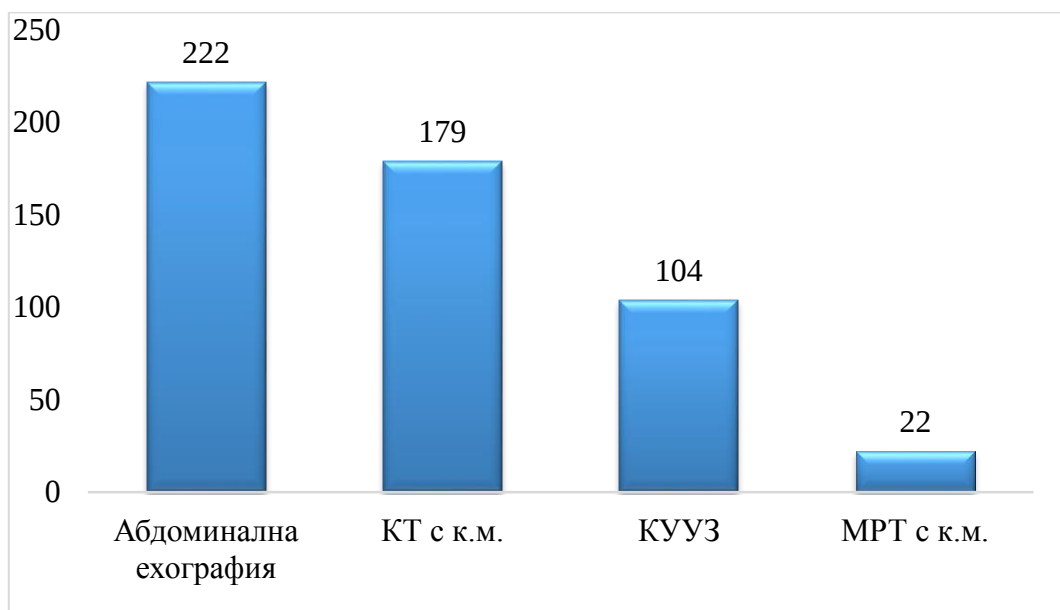
При диагностиката на ХЦК използвахме няколко образа метода. При всички пациенти е проведена абдоминална ехография. При установяване на огнищна чернодробна лезия, допълнително са извършено контрастно усилен ултразвук (КУУЗ), КТ и/или МРТ.



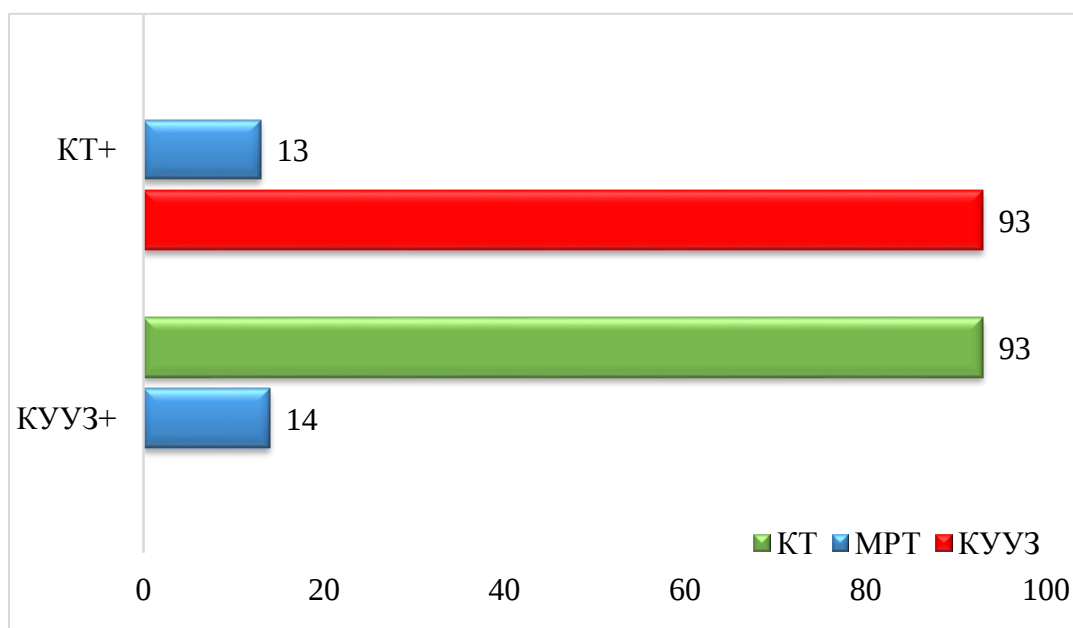
Фиг. 19. КТ образ на наш пациент с ХЦК, с характерният wash-in феномен в артериална фаза (А) и wash-out феномен в паренхимна фаза (В)

На фигура 19 и 20 са показани различните образни методи и комбинациите между тях. При всички пациенти с ХЦК е извършена

абдоминална ехография – 100% (222), следвани от КТ с к.м., КУУЗ и МРТ с к.м, съответно - 68,3%(179), 39,4%(104), 8,3%(22).



Фиг. 20. Образни изследвания при пациенти с ХЦК



Фиг. 21. Комбинация на образните изследвания при пациентите с ХЦК.

Не при всички образни изследвания се наблюдавани типичното за ХЦК поведение след вкарване на контраст, а именно усилване (wash-in феномен) в артериална фаза и бързо отмиване на контраста в портална и късна фаза (wash-out феномен). При наличие едновременно и на двата феномена се приема, че

установената чернодробна лезията категорично е ХЦК, ако е налице само wash-in феномен се приема за съмнителна, което налага извършване на друго образно изследване или морфологично потвърждение.

На таблица 45 е показано поведението на ХЦК при различните образни изследвания и комбинацията от тях. Характерният за ХЦК образ (wash-in (+) и wash-out (+)) се наблюдава най-често при комбинацията на 2 образни метода, като при комбинацията на КТ к.м. + МРТ с к.м. достигат до 75%. Случаите на категоричен ХЦК при комбинацията на КУУЗ с КТ/МРТ са близки - 66,66% и 63,63%, като подобни резултати се докладват и от други автори [102]. Интересен е факта, че при всички случаи на комбинация на 2 образни метода се наблюдава контрастно усилване в артериална фаза и при двете изследвания. При всички МРТ, проведени с хепатоспецифичен агент (Primovist), проследяваната зона показва и едновременно и двата феномена. Разглеждани по отделно най-много чернодробни лезии едновременно с wash-in (+) и wash-out (+) феномен се наблюдават при МРТ с к.м. – 72,72%, следвани от тези при КУУЗ – 54,80%.

Диагнозата „ХЦК“ за възел < 2 см с помощта на образни изследвания се приема само при наличие едновременно на wash-in и wash-out феномен и при две образни изследвания. В нашата кохорта се установиха 54 нодула <2 см. При диагностицирането им са използвани КТ с к.м. МРТ с к.м. и КУУЗ.

При изследване чувствителността на различните образни изследвания, според това дали образа е съмнителен/категоричен за ХЦК. С най-висока чувствителност е наличието на wash in при КТ/МРТ – 9,5%, следвана от при КУУЗ и от категоричния образ на КТ с к.м., съответно – 8,1% и 7,6%. Впечатление прави, че **най-висока позитивна предсказваща стойност (PPV) има артериалното усилване при МРТ с к.м, последвана отново от wash-in и wash-out феномен КУУЗ- 36,4%.** Подобно степенуване се описва и от други автори, въпреки, че T. Serste et al (2012) докладват по-висока чувствителност – 98% за на wash-in и wash-out феномен при КТ/МРТ и 94% за wash- in феномен при МРТ[102, 189]. Специфичността на методите не е

изследвана, т.к. в нашето проучване не са включени пациенти с други чернодробни лезии.

Табл. 45. Разпределение на образните изследвания, според поведението на чернодробната лезия.

Образно изследване		Брой	%
КУУЗ	Wash-in (+) Wash-out (+)	57/104	54,80
	Wash-in (+) Wash-out (-)	11/104	10,50
КТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	66/179	36,87
	Wash-in (+) Wash-out (-)	28/179	15,64
МРТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	16/22	72,72
	Wash-in (+) Wash-out (-)	4/22	18,18
КУУЗ и КТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	20/30	66,66
	Wash-in (+) Wash-out (-)	10/30	33,33
КУУЗ и МРТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	7/11	63,63
	Wash-in (+) Wash-out (-)	4/11	36,36
КТ к.м. и МРТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	$\frac{3}{4}$	75
	Wash-in (+) Wash-out (-)	$\frac{1}{4}$	25
КУУЗ, КТ к.м. и МРТ к.м.	Wash-in (+) Wash-out (+)	2/10	20
	Wash-in (+) Wash-out (-)	5/10	50

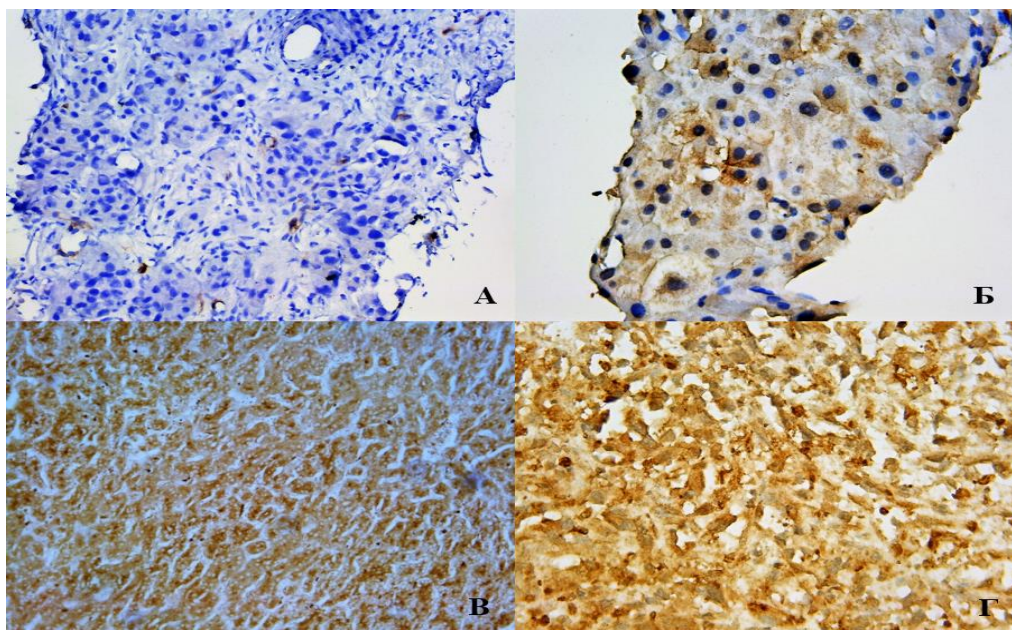


Фиг. 22. МРТ на наш пациент. В десен дял с ангажиране на VII, VIII сегмент се вижда патологична мултилокуларна хетерогенна маса. При контрастиране се наблюдава „мозаечен“ тип усилване, с нехомогенен интензитет в артериална фаза (стрелките).

4.5.3. Морфологични изследвания

Морфологично потвърждение на диагнозата има при 110 от случаите на ХЦК. Според степента на диференциация се разделят на високо, умерено и ниско диференцирани, съответно – G1- 34,6%(38), G2 – 40%(44), G3 – 10,9%(12), в 14,5%(16) от резултатите няма данни за степента на диференциация.

В хода на нашето проучване направихме имунохистохимия с глипикан на част от хистологичните препарати – 24. На фигура 22 е показана как изглежда хистологично експресията на глипикан, като тя се описва съответно – негативна, слаба, умерена и силна експреси. Глипикана се експресира в 95,8% (23/24) от изследваните препарати.

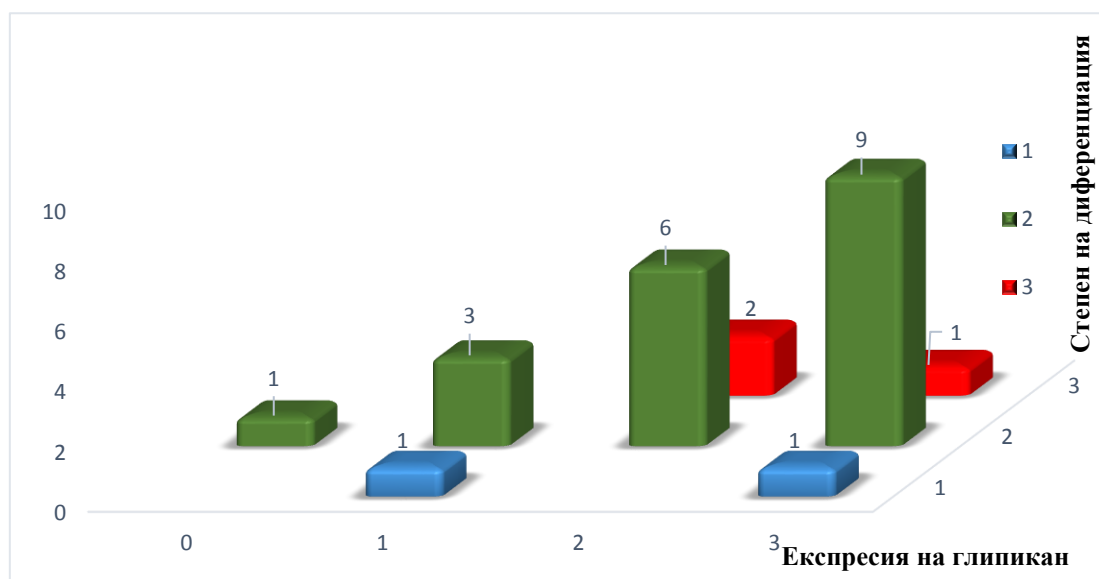


Фиг. 23. Цитоплазмена експресия на Glypican A; А - Негативна експресия, увеличение x200; Б - Слаба експресия, увеличение/x400; В - Умерена експресия, увеличение x200; Г - Силна експресия, увеличение x400

На фигура 23 са разпределени случаите с експресията на глипикан, според степента на диференциация на карцинома. Експресията е оценена чрез 4 степенна скала 0 – негативна експресия; 1 – слаба експресия на цитоплазмата; 2 - умерена експресия на цитоплазмата; 3 – силна експресия на цитоплазмата. Впечатление прави, че най-често глипиканът се експресира при умерено диференцираните карциноми – 79,16% и то основно с високо ниво на

експресия 3 - при 47,36%(9) от случаите, като се установява умерена зависимост между глипикана и степента на диференциация, като $r=0.0381$, $p<0.05$.

При изследване на връзката на имунохистохимията на глипикан и преживяемостта установихме следната зависимост: средна продължителност на живота при пациентите с глипикан 0 - 3 месеца; глипикан 1 – 15,5 месеца; 2 – 10,6 месеца; 3 – 22, 86 месеца, докато според степента на диференциация G1 - 13,1 месеца; G2 – 18, 39 месеца; G3 – 10 месеца. Следователно глипиканът може да се използва не само като сигурен диагностичен маркер за ХЦК, а и като прогностичен маркер.



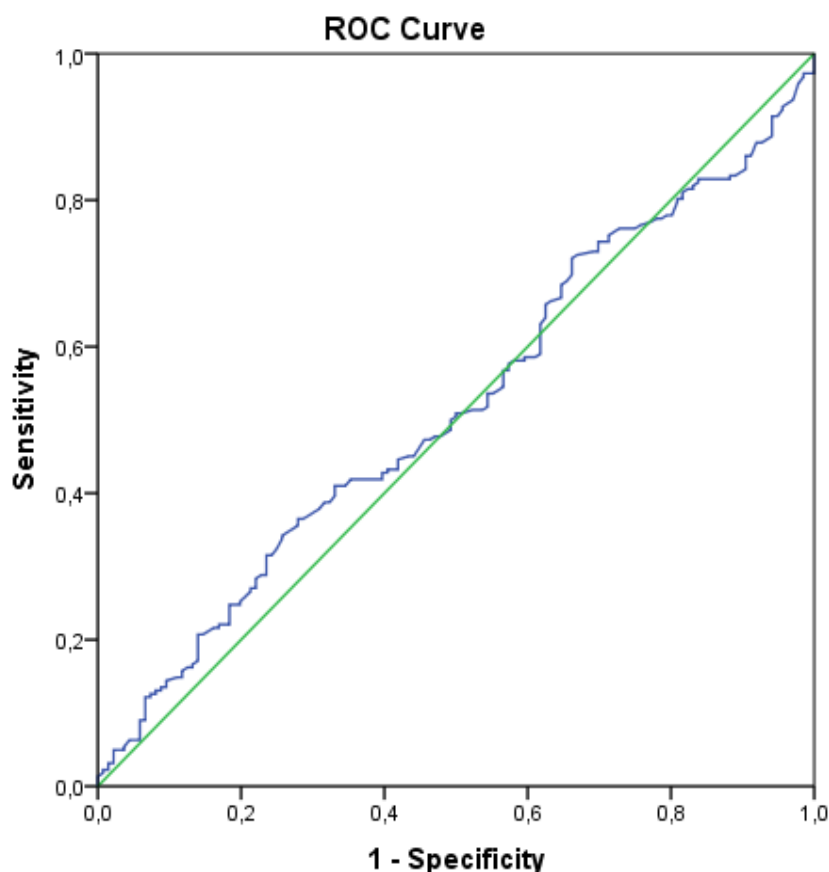
Фиг. 24. Експресия на глипикана, според степента на диференциацията на ХЦК (n=24)

4.6. Клинично значение на модели за предсказване на риска от развитие на хепатоцелуларен карцином и оценка на факторите, влияещи върху преживяемостта.

За да се оцени риска за развитие на ХЦК при пациентите с чернодробна цироза се създават различни предсказващи модели. В нашето проучване оценихме прогностичната стойност на някои модели и на нови неинвазивни показатели и възможността им за приложение в практиката.

4.6.1. ADRESS модела

Използвахме ADRESS модела на Fleming като изчислихме стойността за клиничната и контролната група.[75] Средната стойност на ADRESS при пациенти с ХЦК е $2,45 \pm 2,25$, а на контролната група е $2,19 \pm 1,92$, като не се доказва съществена разлика. За да установим имали зависимост между ADRESS и преживяемостта на пациентите с ХЦК определихме cut-off стойността на показателя за нашата извадка. На фигура 24 е показана ROC curve анализ за определяне на cut-off стойността на ADRESS при пациенти с ХЦК, където $AUC = 0.518$, $p < 0.05$, $1.715 (0.500-0.507)$ - не се доказва зависимост. За това в нашата извадка, разглежданият показател не може да се използва като прогностичен маркер.



Фиг. 25. Определяне на cut-off стойността на ADRESS при пациенти с ХЦК чрез ROC curve анализ за ($AUC = 0.518$, $p < 0.05$), $1.715 (0.500-0.507)$

Сравнихме нашите резултати с тези на Томов (2016) – таблица 46[8]. При разглеждане на таблицата впечатление прави, че във всички

ADRESS групи пациентите от нашата клинична група са значително по-възрастни от тези в контролната група – ($p < 0,001$).

Табл. 46. Разпределение на пациентите с цироза според ADRESS модел

ADRESS	Показател	Собствено проучване, (2017)		p	Томов (2016)	Р между двете клиничните групи
		Контролна група	Клинична група		Клинична група	
<1,5%	Средна възраст	52,41	63,33	< 0,001	44	< 0,001
	Мъж	31	73	0,007	43	< 0,001
	Жена	28	26		44	
	Вирусна	59	60	< 0,001	15	< 0,001
	Невирусна	0	39		72	
	Наличие на Захарен диабет	14	39	0,044	11	< 0,001
1,5-3%	Средна възраст	52,06	63,84	< 0,001	55	< 0,01
	Мъж	27	45	> 0,05	29	< 0,001
	Жена	20	16		38	
	Вирусна	45	41	< 0,001	51	> 0,05
	Невирусна	2	20		16	
	Наличие на Захарен диабет	10	18	> 0,05	20	> 0,05
3-4,5%	Средна възраст	51,79	64,00	< 0,001	60	< 0,05
	Мъж	9	19	> 0,05	10	0,006
	Жена	5	10		23	
	Вирусна	13	18	0,035	30	0,007
	Невирусна	1	11		3	

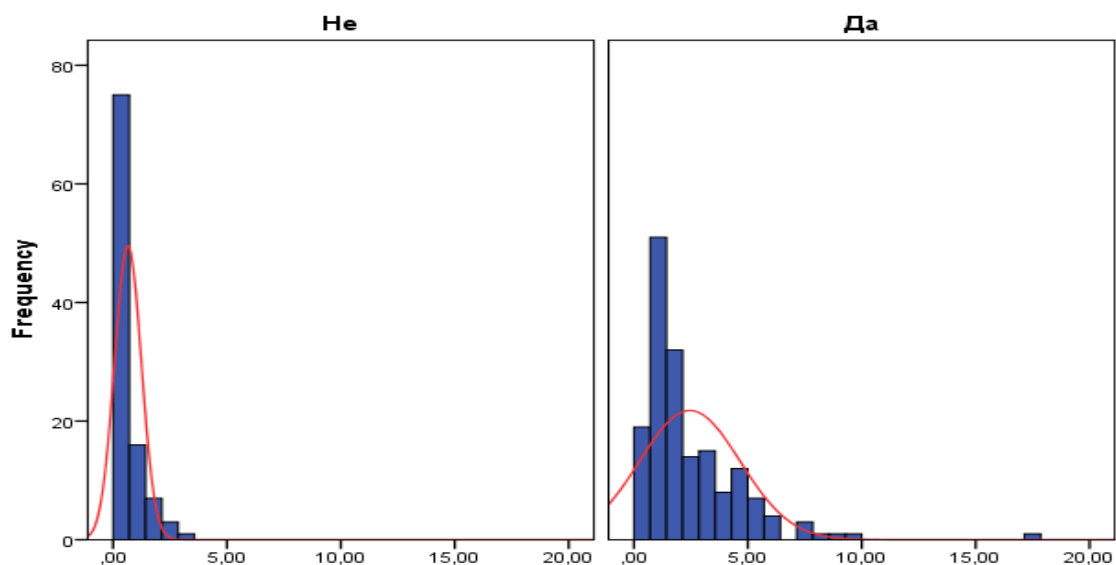
	Наличие на Захарен диабет	8	11	> 0,05	20	> 0,05
4,5-6%	Средна възраст	53,63	61,5	< 0,001	66	< 0,05
	Мъж	6	13	> 0,05	9	0,039
	Жена	2	3		10	
	Вирусна	8	11	> 0,05	17	> 0,05
	Невирусна	0	5		2	
	Наличие на Захарен диабет	1	4	> 0,05	9	> 0,05
>6%	Средна възраст	42,88	67,41	< 0,001	71	< 0,05
	Мъж	6	9	> 0,05	6	> 0,05
	Жена	2	8		10	
	Вирусна	8	14	> 0,05	15	> 0,05
	Невирусна	0	3		1	
	Наличие на Захарен диабет	1	6	> 0,05	9	> 0,05

При сравнение на пациентите попадащи в първата група ADDRESS <1.5% с данните на други автори се вижда, че в нашата извадка изследваните лица са по-възрастни (63,33 години към 44 години), като преобладават мъжете. Друго значимо различие се наблюдава по отношение на етиологията на чернодробната цироза – в нашето проучване преобладава вирусната етиология, докато в изследването на Томов преобладават пациентите с невирусна чернодробната цироза. Съществена разлика се установява и по отношение на захарен диабет – в нашето проучване има много повече случаи на захарен диабет в сравнение с другите автори.

При разглеждане на пациентите от групата с ADDRESS 1.5%-3% в нашето проучване се установява съществена разлика в разпределението по възраст и етиология на чернодробната цироза. Вирусната чернодробна цироза преобладава над невирусната. В тази група не се открива друга съществена разлика с резултатите на другите автори. От друга страна в група с ADDRESS 3%-4,5% в изследването на Томов вирусната етиология е 2 пъти по-голяма от тази в нашето проучване, освен това лицата със захарен диабет тип 2 от нашата контролна група са значително по-малко – 8 към 20 от проучването на Томов. В нашето проучване не установихме разлика между пациентите в групата с ADDRESS 3%-4,5%. Впечатление прави, че в групата с ADDRESS 4,5%-6% се установява съществена разлика по полов признак – жените са 2 пъти повече в изследването на Томов в сравнение с нашето проучване и наличието на захарен диабет тип 2 - 1,5 пъти по-малко са пациентите със захарен диабет в нашето проучване в сравнение с това на Томов. При сравняване на пациентите в групата с ADDRESS > 6% значима разлика се установява само по възраст – средна възраст 42,88 години за пациентите в нашата контролна група и 71 години за лицата от изследването на Томов.

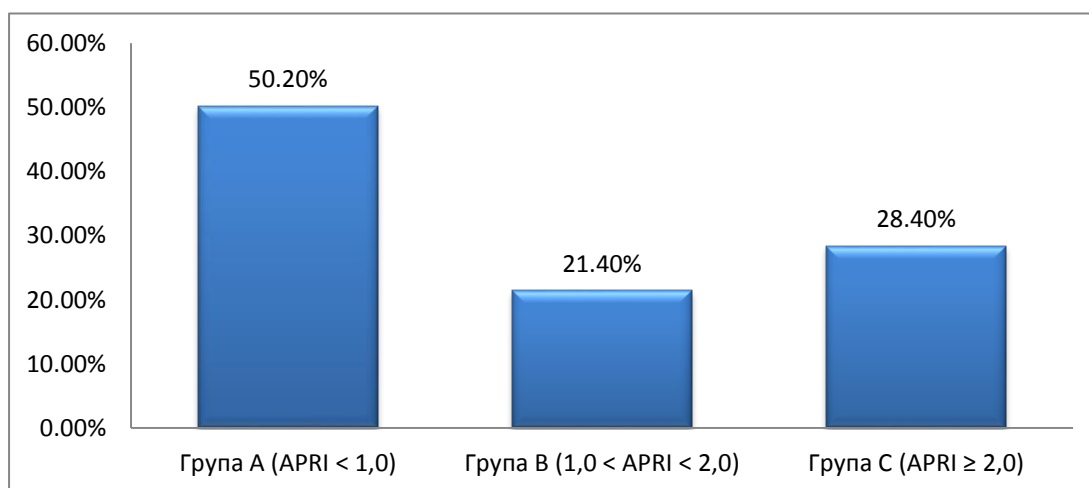
4.6.2. Съотношението ACAT/ тромбоцити APRI

Изследвахме клиничното значение на друг неинвазивен маркер - съотношението ACAT/ тромбоцити (APRI), който се смята от редица автори за неинвазивен предиктор за степента на фиброза при пациентите с хроничен HCV и HBV хепатит и алкохолна чернодробна болест и като предиктор за смъртност[155]



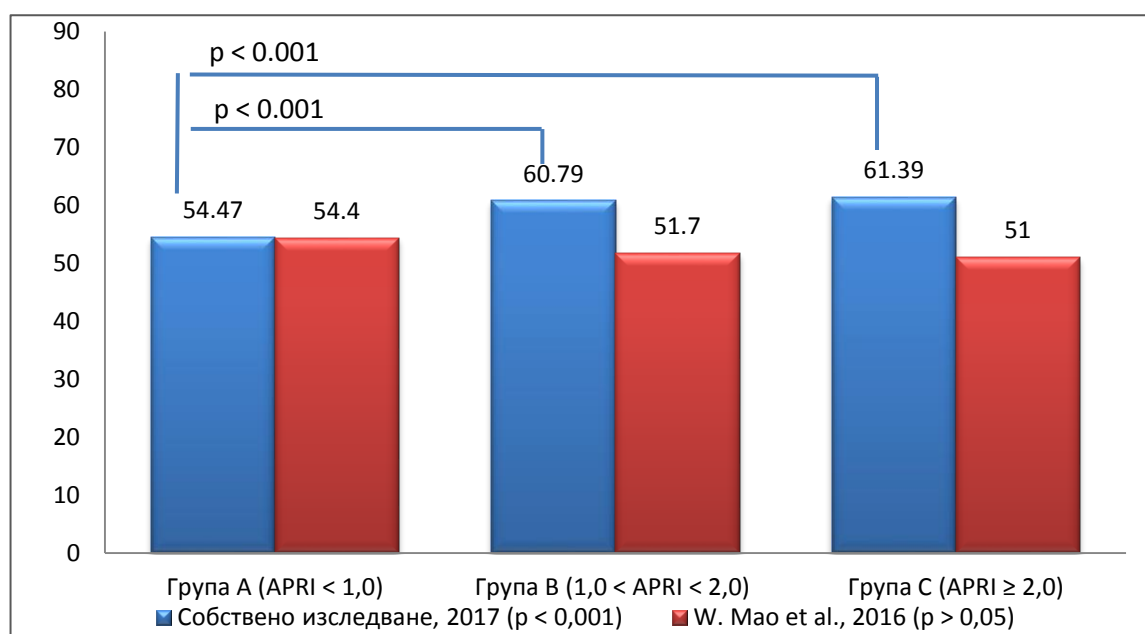
Фиг. 26. Средна стойност на APRI при пациенти с хепатит, според наличие на цирроза

При сравняване на средните стойности на APRI при пациентите с хепатит при наличието на цирроза беше намерена съществена разлика ($p < 0,001$), като средната стойност на показателя при пациенти без цирроза е $0,65 \pm 0,58$, докато при пациентите с цирроза е $2,45 \pm 2,20$ (фигура 26). С цел по подробен анализ, пациентите бяха разделени в три групи спрямо стойностите на APRI – $APRI < 1$; $1 < APRI < 2$; $APRI \geq 2$, като основната част от пациентите попадат в първата група с $APRI < 1$ (фиг. 27).



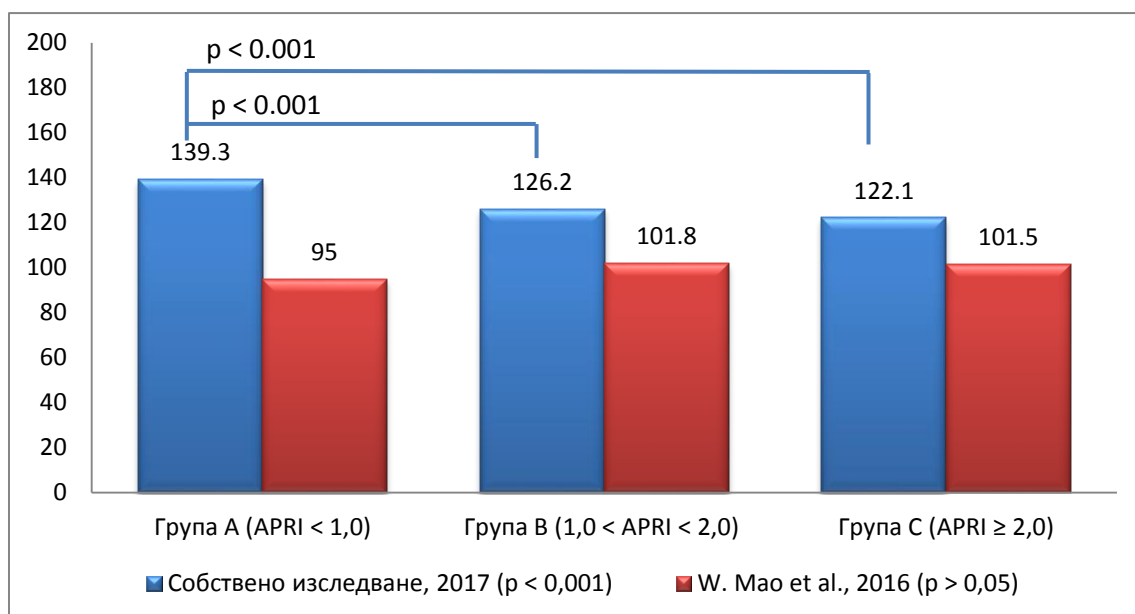
Фиг. 27. Разпределение на пациентите според трите групи на APRI

На фигура 28 графично е представено разпределението на пациентите от трите групи APRI според средната им възраст. **Статистически значима зависимост ($p < 0,001$) се установява между първата и втората група и между първата и третата група, съответно 54,47 години към 60,79 години и 54,47 години към 61,39 години.** За разлика от нашите резултати в проучването на W. Mao et al (2016) не се установява съществена разлика в средната възраст на пациентите, попадащи в трите групи.

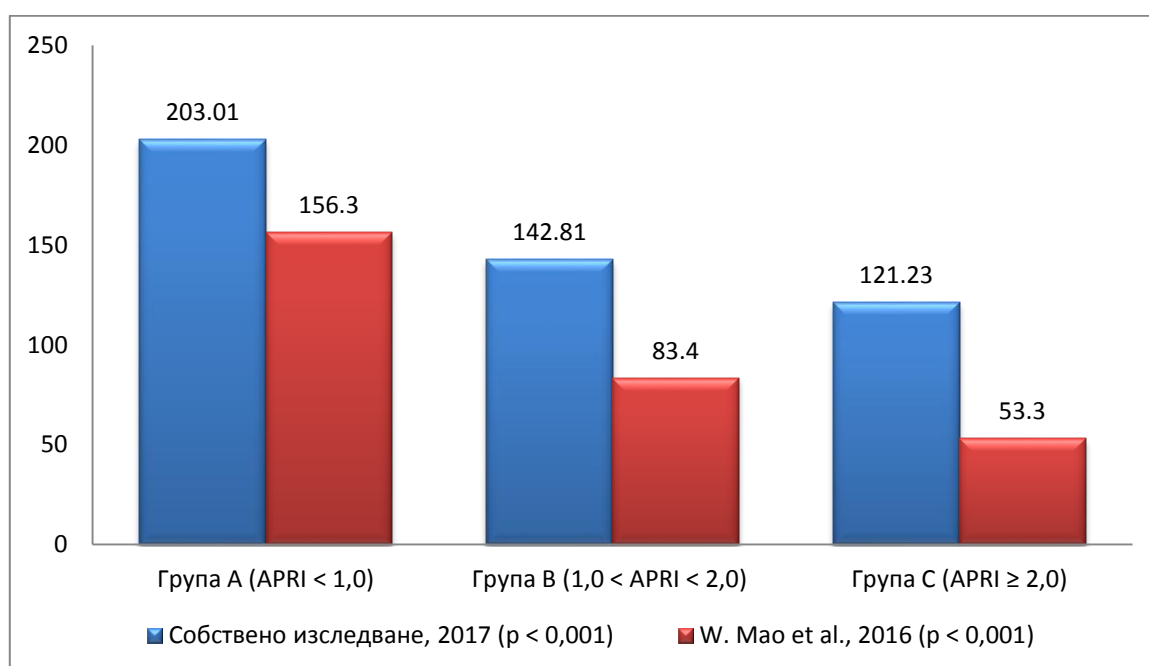


Фиг. 28. Средна възраст на пациентите с хепатит според трите групи по APRI

При сравняване на лабораторните показатели според трите групи APRI се установи статистически значима зависимост при хемоглобина, общия белтък, албумин, АЛАТ и АСАТ. На фигура 29 е показано разпределението на средните стойности на хемоглобина, като **се установява значима обратно пропорционална зависимост с покачване стойността на APRI намалява хемоглобина**. Подобна зависимост се наблюдава и при средните стойности на тромбоцитите – **с покачване стойността на APRI намалява броят на тромбоцитите** (фигура 30). От друга страна W. Mao et al (2016) откриват съществена разлика в средните стойности на тромбоцитите, но не и на хемоглобина между трите групи.



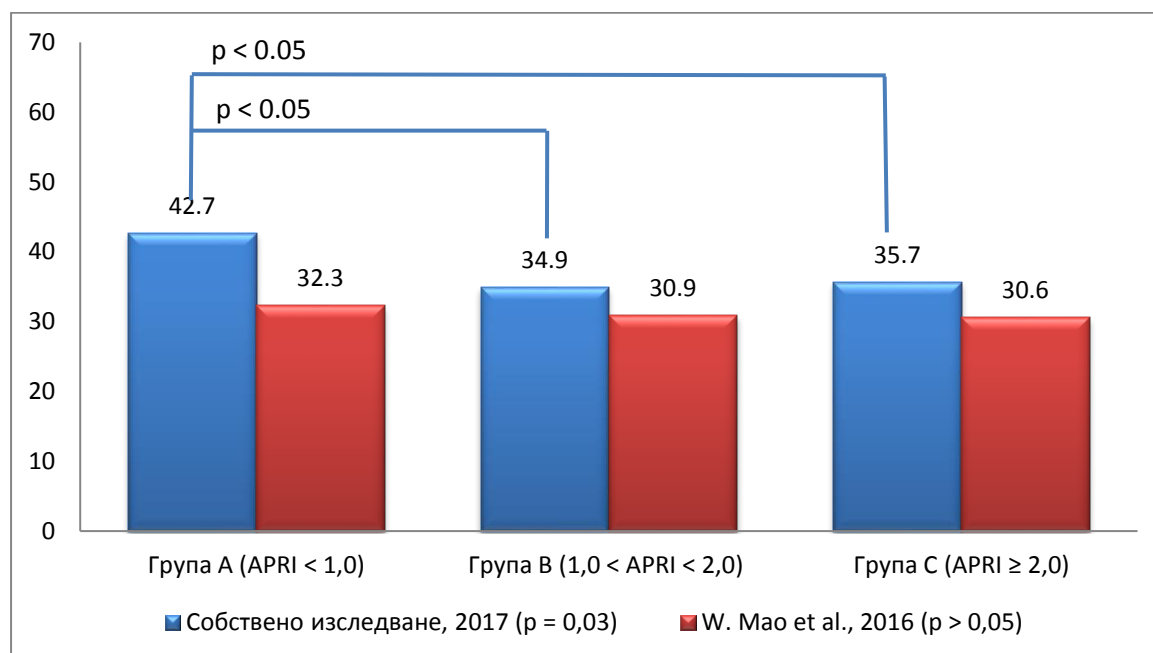
Фиг. 29. Средна стойност на хемоглобина на пациентите с хепатит според трите групи по APRI



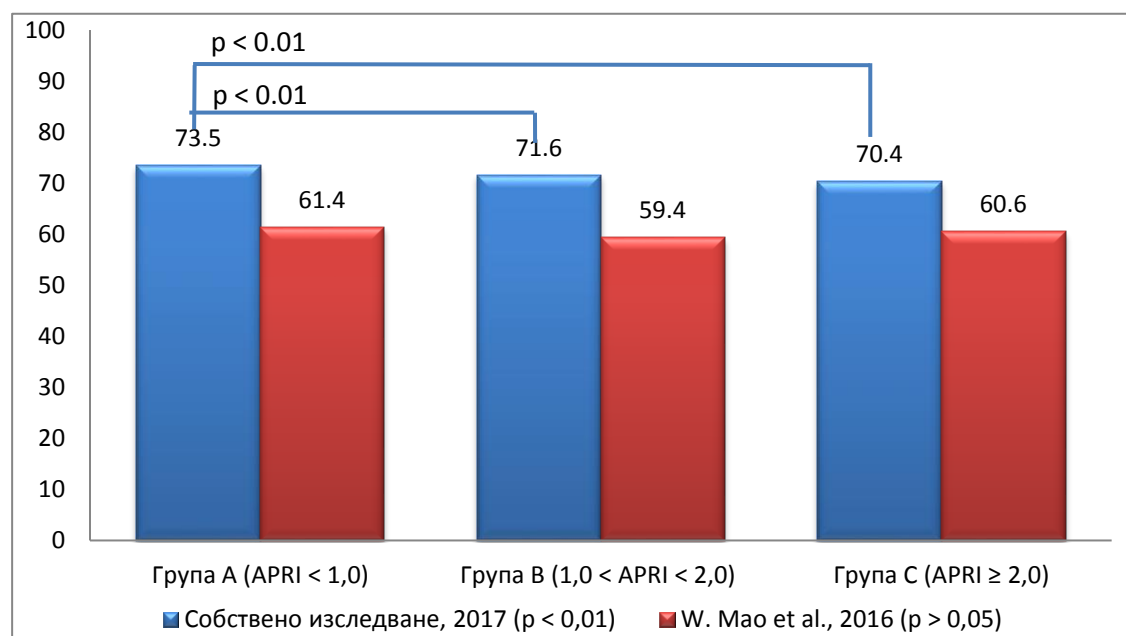
Фиг. 30. Средна стойност на тромбоцитите на пациентите с хепатит според трите групи по APRI

На фигура 31 е представено средната стойност на албумина според трите групи по APRI, като се установява **умерено силна зависимост между високата стойност на индекса и понижението на албумина**. Подобна тенденция е представена на фигура 32, но по отношение на общия белтък, като **покачването на APRI индекса корелира с намаляването на общия**

белтъка ($p < 0.001$). В своето проучване W. Mao et al не откриват такава зависимост.

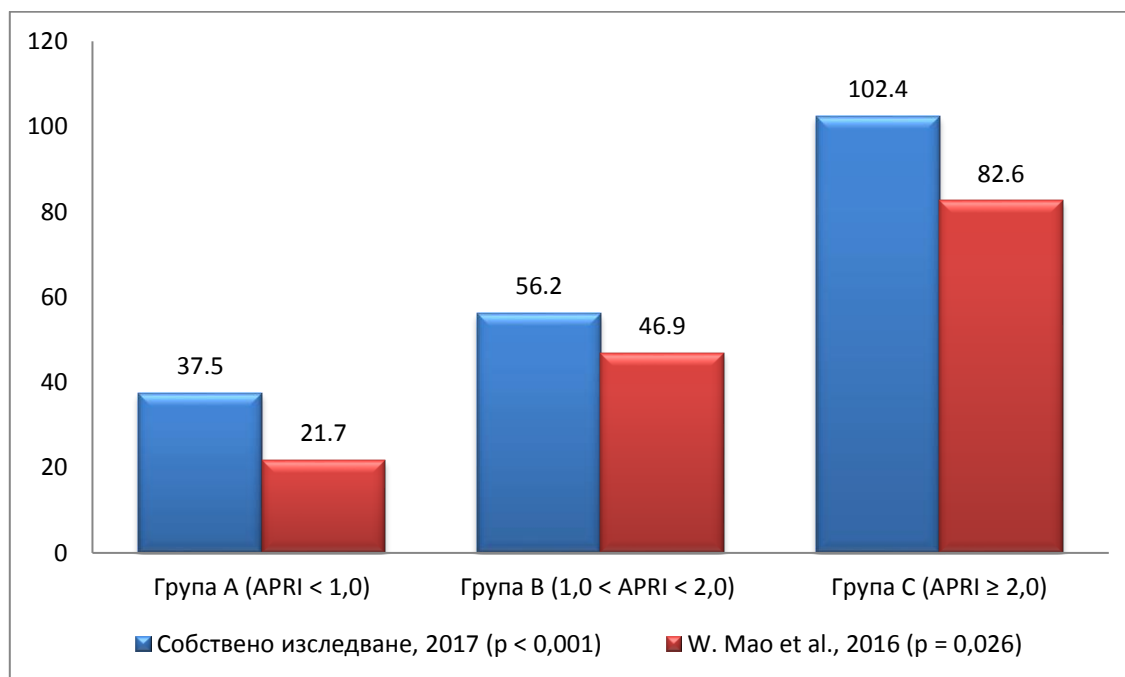


Фиг. 31. Средна стойност на албумина на пациентите с хепатит според трите групи по APRI

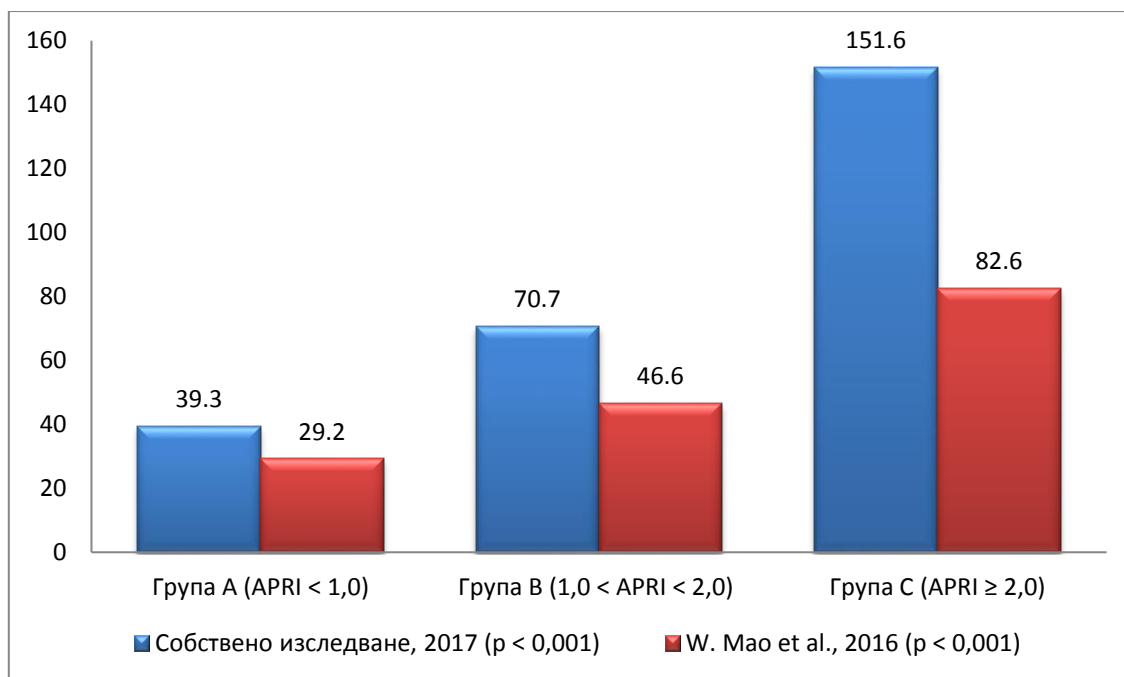


Фиг. 32. Средна стойност на общия белтък на пациентите с чернодробна цироза според трите групи по APRI

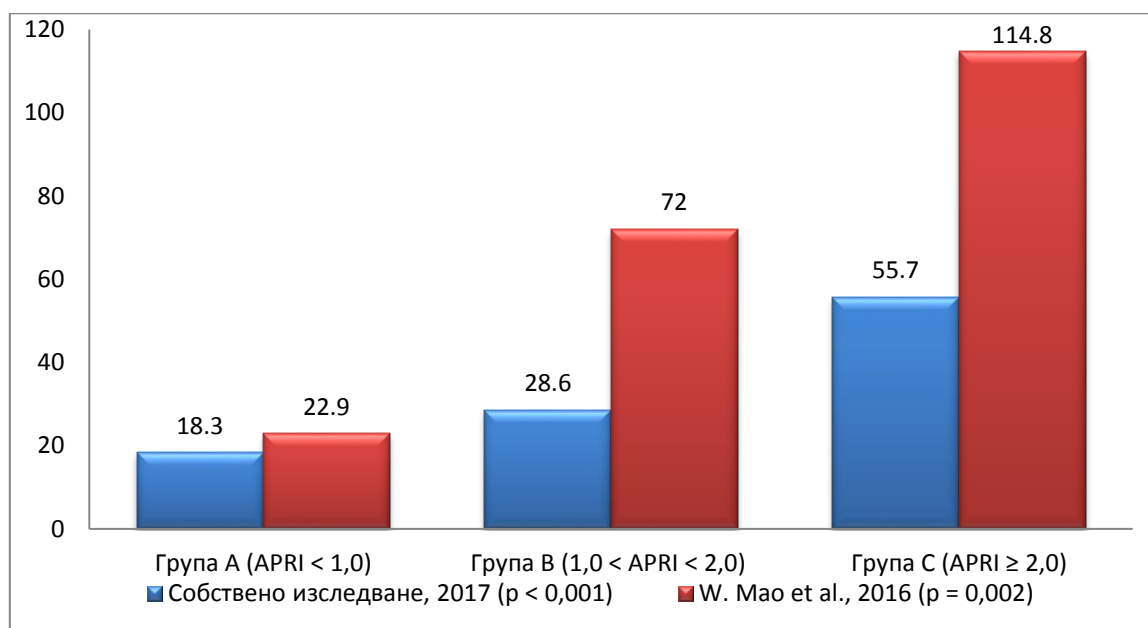
На фигура 33, 34 и 35 е представено разпределението по APRI и на чернодробните ензими - АСАТ, АЛАТ и общия билирубин, като при трите показателя се наблюдава силна зависимост със стойността на APRI. Впечатление прави, че **повишаването на индекса корелира с повишаване на стойностите на АСАТ, АЛАТ и общия билирубин**, т.е. с влошаване на чернодробната функция. Точност на този индекс може да се обясни от една страна с факта, че тромбоцитопенията е резултат на хиперспелнизъм, настъпващ в резултат на порталната хипертензия, съпътстваща чернодробната цироза, а от друга с намалената продукция на тромбоцити. Доказано е, че с напредването на чернодробната фиброза намалява продукцията на тромбоцити от хепатоцитите, което допълнително намалява броят им [15, 155]. Нашите резултати потвърждават тези на другите автори въпреки, че при тях зависимостта не е толкова силно изразена.



Фиг. 33. Средна стойност на АЛАТ на пациентите с чернодробна цироза според трите групи по APRI



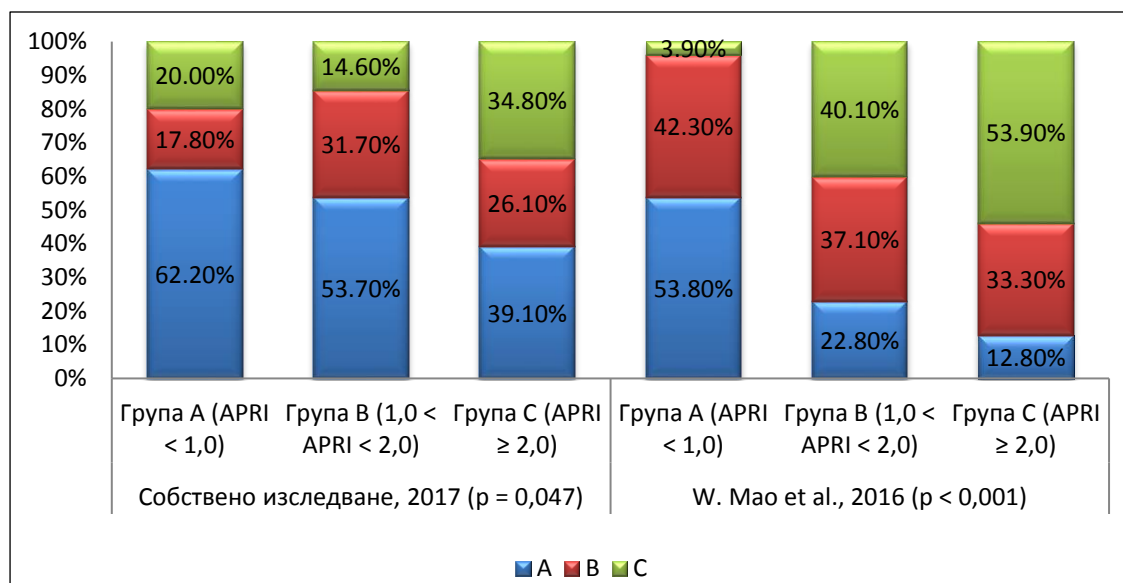
Фиг. 34. Средна стойност на АСАТ на пациентите с чернодробна цироза според трите групи по APRI



Фиг. 35. Средна стойност на общия билирубин на пациентите с чернодробна цироза според трите групи по APRI

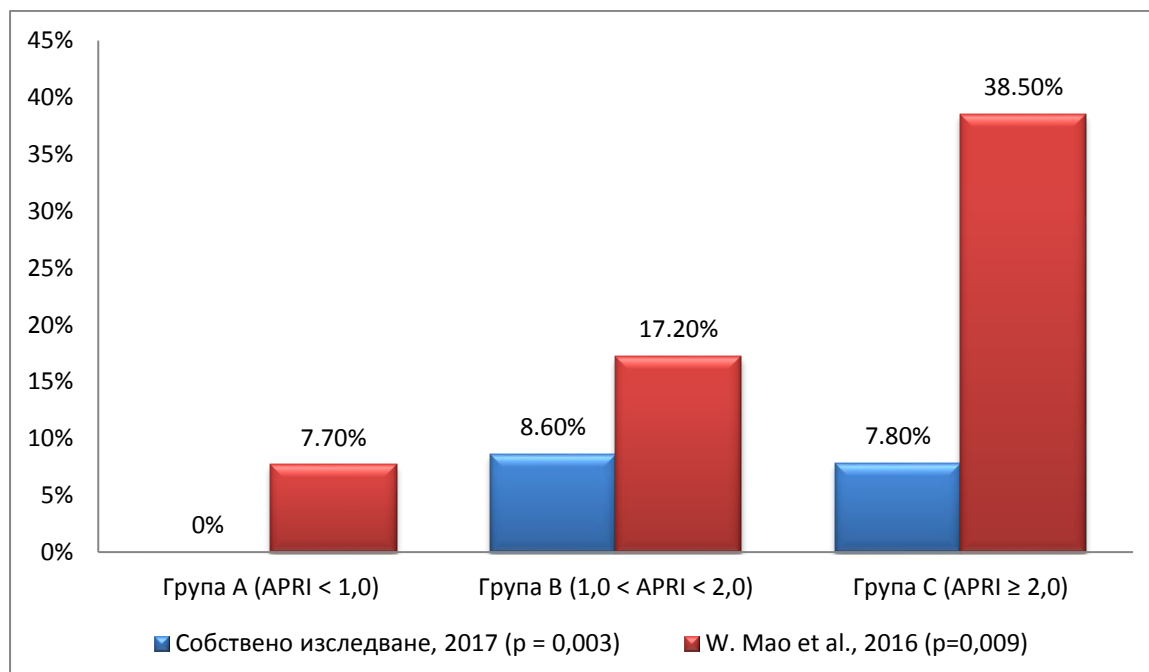
След като доказахме, че повишаването на APRI корелира с влошаването на чернодробната функция решихме да проверим дали може да даде информация и за тежестта на чернодробната цироза. **Повишаването**

на индекса се асоциира с по-лош стадий по Child, като е най-добре изразено при стадий А, за стадий В и С зависимостта е умерена (фиг. 36.).



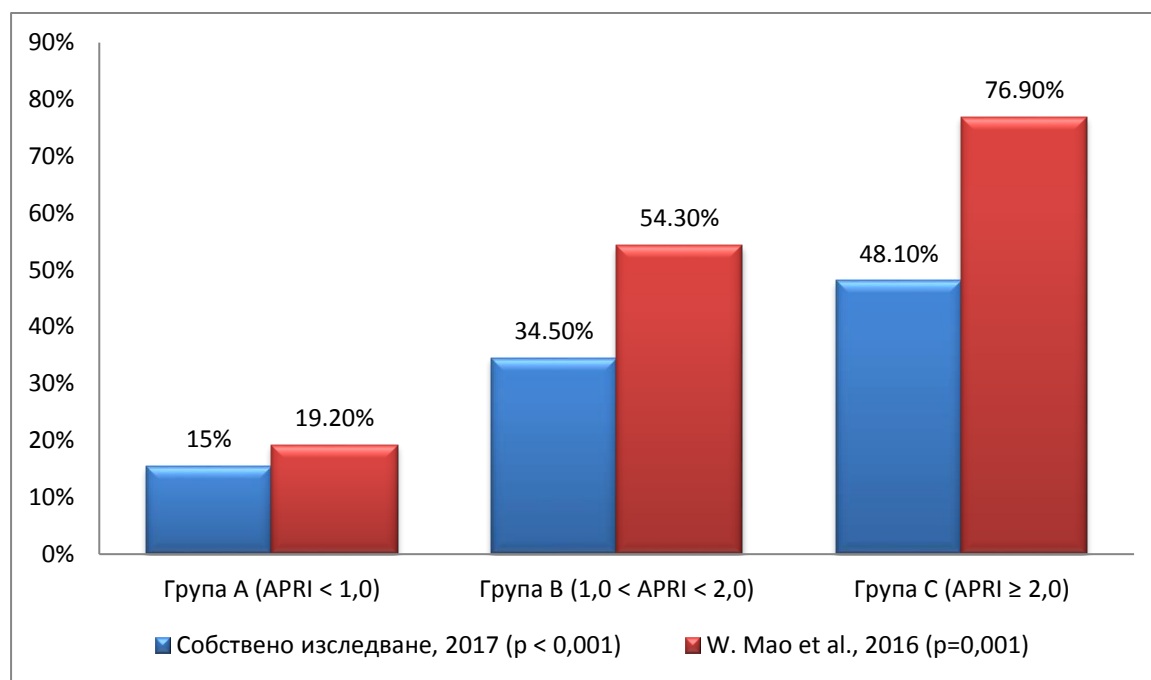
Фиг. 36. Относителен дял на пациентите с чернодробна цироза според Child-Pugh класификацията и трите групи по APRI

Другите автори докладват по ясна зависимост и за трите стадия. Те докладват силно изразена зависимост между APRI и наличието на чернодробна енцефалопатия, докато в нашето проучване връзката е умерена и то между първа и втора група по APRI и първа и трета група. (фиг. 37.)



Фиг. 37. Относителен дял на пациентите с чернодробна енцефалопатия и чернодробна цироза според трите групи по APRI

Освен информация за степента на чернодробно увреждане **APRI** **индекса може да се използва и като предиктор за смъртност. По-високите стойности на показателя предсказват по лоша преживяемост**, като зависимостта е статистически значима. До подобно заключение е достигнал и W. Mao et al в своето изследване. Данните са представени графично на фиг. 38.

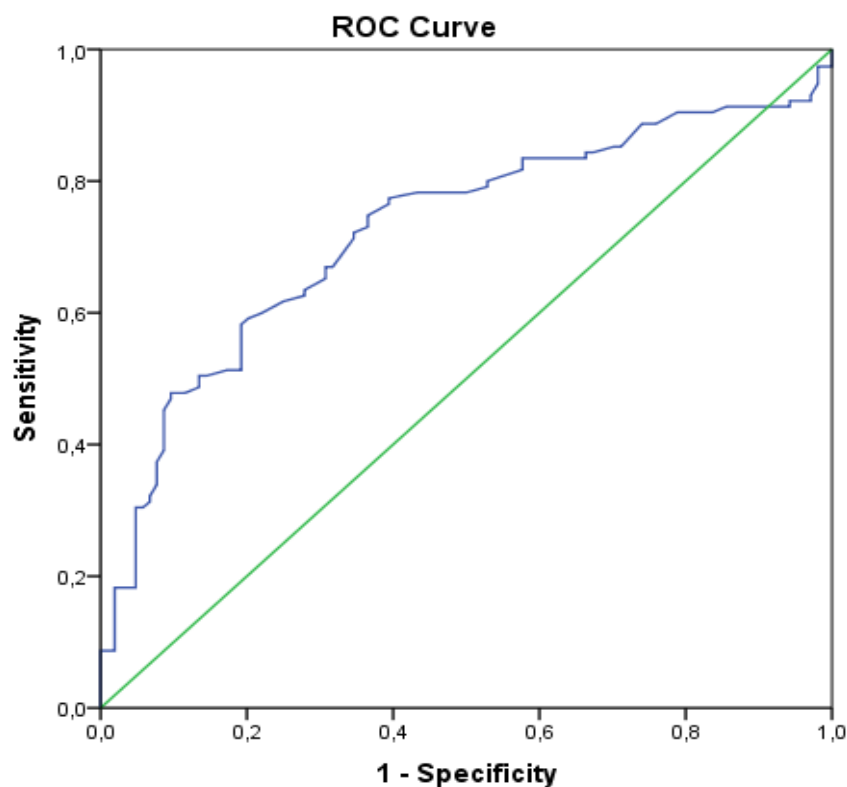


Фиг. 38. Относителен дял на починалите пациентите с чернодробна цирроза според трите групи по APRI

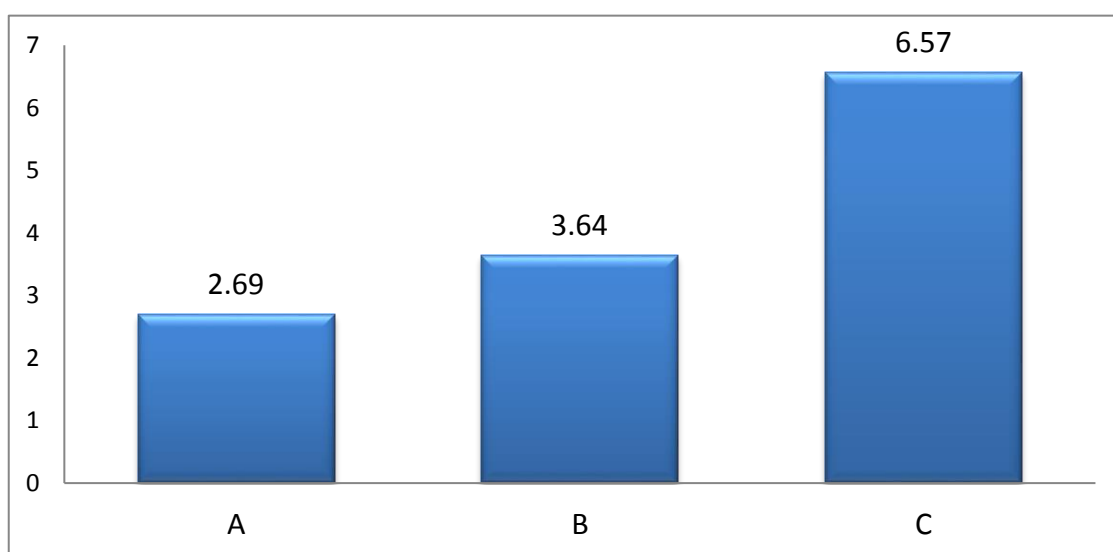
4.6.3. Неутрофили към лимфоцити (NLR)

Редица проучвания доказват значението на хроничното възпаление за развитието на карцином[139, 169]. Механизмите, по които това се случва са различни: стимулиране на мутации в DNA, потискане на апоптозата, стимулиране разрастването на туморните клетки, съдова инвазия и метастазиране. Възпалението може да стимулира и метастазирането чрез медиран от неутрофилите път[88]. Редица проучвания доказват, че повишените стойности на отношението неутрофили към лимфоцити (NLR) са свързани с по-лош ход на различни малигнени заболявания, като карцином на стомаха, колона, панкреасен карцином, карцином на бъбрека, карцином на млечната жлеза[139]. За да оценим прогностичната роля на NLR за развитието

на ХЦК определихме cut-off стойността на показателя за нашата извадка. На фигура 39 е показана ROC curve анализ, според който $AUC = 0.725$, $p < 0.001$), 2.62 Специфичността на посочения показател е 67%, а сензитивността – 68,3%.



Фиг. 39. Определяне на cut-off стойността на NLR при пациенти с ХЦК чрез ROC curve анализ за ($AUC = 0.725$, $p < 0.001$), 2.62 (0.670-0.683)



Фиг. 40. Средна стойност на NLR според Child-Pugh класификация ($p < 0,001$)

Правопропорционална умерена зависимост ($r=0.465$, $p<0.001$) беше намерена между NLR и тежестта на чернодробната цирроза според класификацията на Child-Pugh, която показва, че **стойността на NLR нараства при увеличаване на степента на цирозата.** (фиг. 40.) Подобни резултати се докладват и от В. Oh et al., (2013), които също намират правопропорционална умерена зависимост между двата показателя ($r=0.306$, $p<0.001$)[169].

4.6.4. Преживяемост

Табл. 47. Връзка между NLR, някои клинични параметри и обща преживяемост[139]

Показател		Собствено проучване, 2017		W. Liao et al., 2015	
		Mean	p	Mean	P
NLR*	≤ cut-off	16,00	0,325	76,15	< 0,001
	> cut-off	12,25		37,96	
Възраст	≤ 55 г.	13,79	0,289	56,48	0,292
	> 55 г.	10,35		55,96	
Пол	Жени	10,84	0,221	63,04	0,095
	Мъже	14,13		55,50	
HbsAg	-	11,08	0,014	53,32	0,968
	+	17,24		57,00	
AFP	≤ 20	12,90	0,239	54,07	0,764
	> 20	16,57		57,48	
Размер на тумора	≤ 5	13,70	0,710	111,32	< 0,001
	> 5	12,47		42,50	
Цирроза	Не	17,61	0,827	48,33	0,518
	ДА	16,75		58,08	
Брой тумори	Един	-	-	66,93	0,003
	Много	11,15		33,78	
PVTТ	Не	14,36	0,075	69,04	< 0,001
	ДА	9,09		23,63	
АСАТ	≤ 40	19,39	0,003	82,74	< 0,001
	> 40	11,14		34,67	

* cut-off NLR: 2.31 за W. Liao et al., 2014; 2.62 за нашето изследване

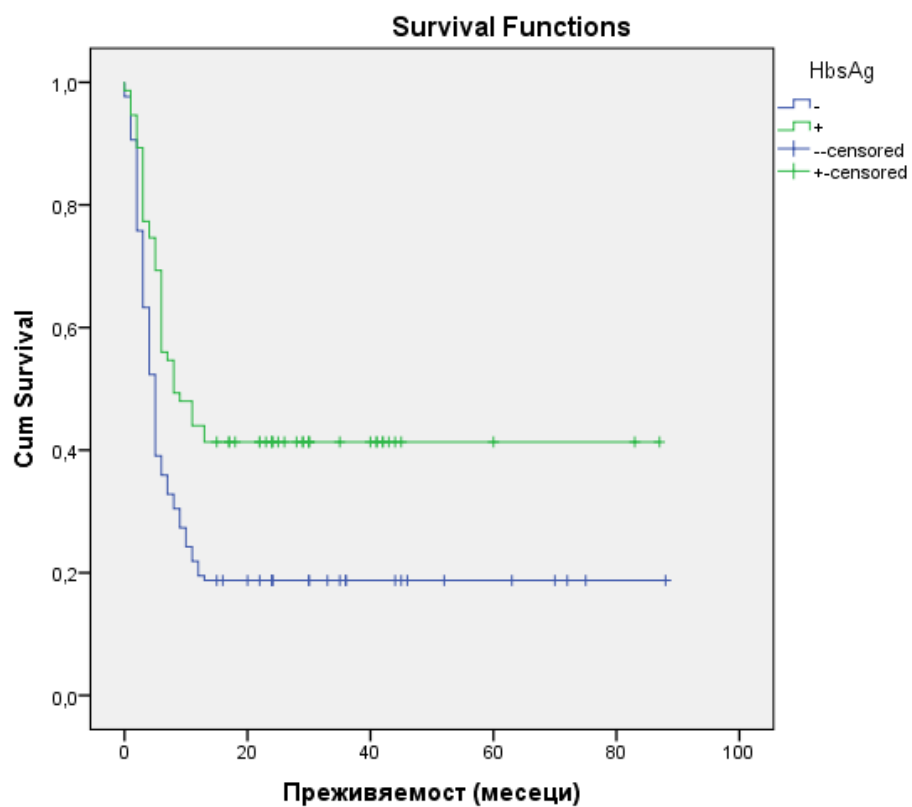
На таблица 47 е показана връзката между NLR, някои клинична параметри и обща преживяемост. Впечатление прави, че за разлика от проучването на W. Liao et al., (2014) в нашето изследване не се установява статистически значима връзка между NLR и преживяемостта на пациентите. Съществена зависимост се установява между **преживяемостта и повишените стойности на АСАТ и наличието на HbsAg, като и двата параметъра показват право пропорционална зависимост**.разлика от нас, другите автори откриват значима връзка между общата преживяемостта и размера и броя на чернодробните лезии, и наличието на тромбоза на вена порте (PVT)[139]. Средната обща преживяемост на пациентите с ХЦК в нашата извадка е $13,22 \pm 17,24$ месеца. За лоша преживяемост приемаме пациентите, преживели по-малко от 13,22 месеца, като в нашата извадка това са 73,30 %. Половината от пациентите с ХЦК в нашето изследване доживяват до 5 месеца след поставяне на диагнозата.

На таблица 49 са показани факторите свързани с лоша преживяемостта при пациентите с ХЦК. От извършените изследвания се установява статистически значимо влияние на няколко показателя върху преживяемостта на пациентите с ХЦК. **Първият показател, който оказва влияния е наличието на HBV инфекция - пациентите са с по-лоша преживяемост.** Зависимостта е показана на фигура 41. Освен HBV инфекцията, **HCV инфекцията също се асоциира с по-лоша преживяемост.** (фигура 42) **Ниските стойности на албумина и повишените стойности на общ билирубин и АСАТ се асоциират с лоша преживяемост,** както при нас така и в изследването на H. Hung et al., (2014). Връзката между посочените показатели и преживяемостта е представена графично на фигура 43, 44 и 45. Пациентите, при които не е проведена антивирусна терапия живеят по-малко, за разлика от проучването на другите автори, при които зависимостта е обратна. [45] Това вероятно се дължи на малкия брой пациенти с проведена антивирусна терапия в нашата извадка, при които е изчислен NLR. Въпреки, че влиянието на тромбозата на вена порте (PVT) не е статистически значимо в нашата извадка, пациентите със съдова инвазия живеят по-малко от тези без такава, като средната

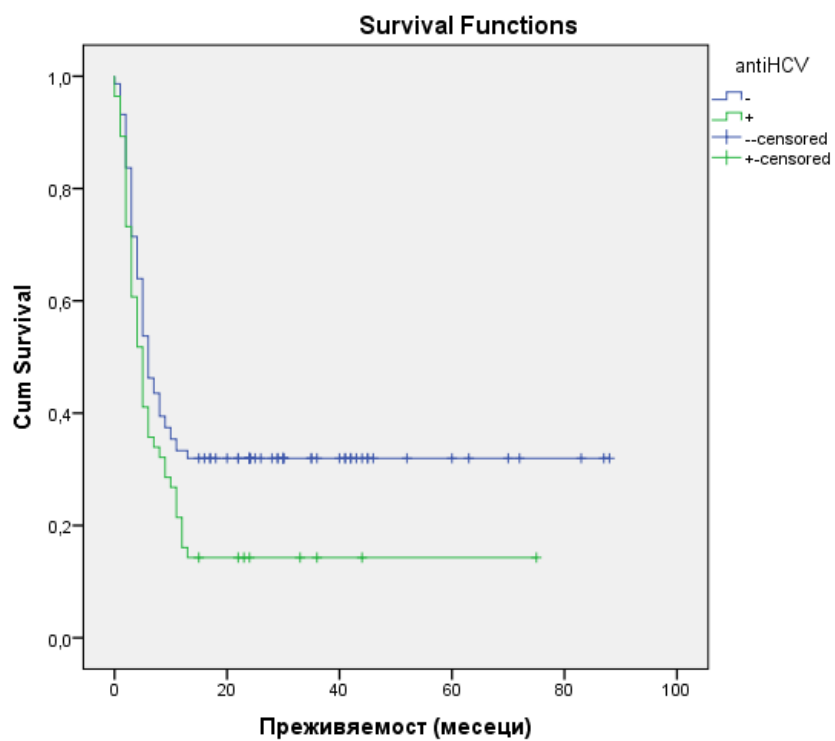
продължителност на живота след диагностициране на заболяването за тях е $7,6 \pm 9,24$ месеца към $13,5 \pm 18,1$ месеца за цялата извадка.

Табл. 48. Фактори, свързани с лоша преживяемост при пациентите с ХЦК[105]

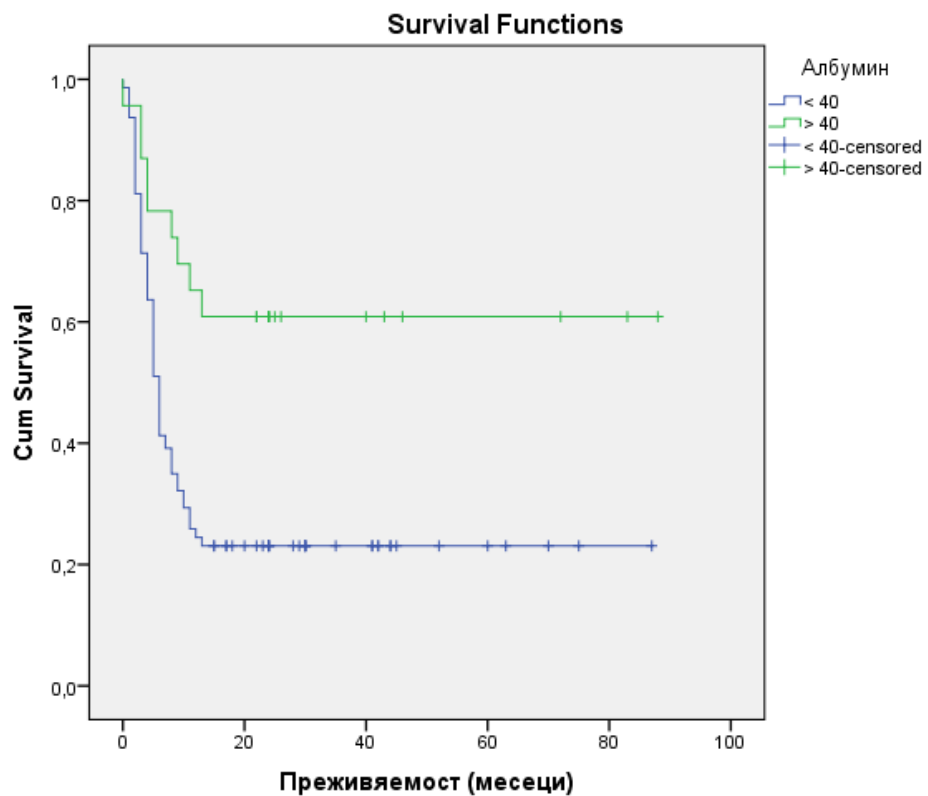
Фактор	Собствено проучване, 2017		Н. Hung et al., 2014	
	HR	P	HR	p
Възраст	1,005 (0,988-1,023)	0,568	1.055 (0.866–1.285)	0.593
Пол	0,874 (0,615-1,242)	0,453	0.921 (0.726–1.168)	0.495
HbsAg	0,534 (0,375-0,762)	0,001	1.209 (0.974–1.502)	0.085
Anti-HCV	1,495 (1,059-2,110)	0,022	1.297 (1.025–16.42)	0.031
Албумин	0,946 (0,922-0,971)	< 0,001	2.463 (1.953–3.106)	<0.001
Общ билирубин	1,004 (1,002-1,006)	< 0,001	1.815 (1.264–2.606)	0.001
АЛАТ	1,002 (0,999-1,004)	0,206	1.198 (0.981–1.464)	0.077
АСАТ	1,003 (1,001-1,004)	0,001	2.190 (1.769–2.711)	<0.001
Тромбоцити	1,001 (1,000-1,003)	0,094	1.165 (0.916–1.480)	0.213
PT/INR	0,994 (0,987-1,002)	0,147	1.773 (1.444–2.176)	<0.001
АФП	1,001 (1,000-1,002)	0,182	2.850 (2.256–3.602)	<0.001
Множествени тумори	0,987 (0,885-1,100)	0,809	2.190 (1.799–2.668)	<0.001
Размер на Ту	1,042 (0,986-1,101)	0,148	3.175 (2.477–4.069)	<0.001
Съдова инвазия	1,173 (0,803-1,713)	0,410	6.061 (4.878–7.519)	<0.001
Антивирусна терапия	0,293 (0,143-0,600)	0,001	1.298 (1.036–1.626)	0.023



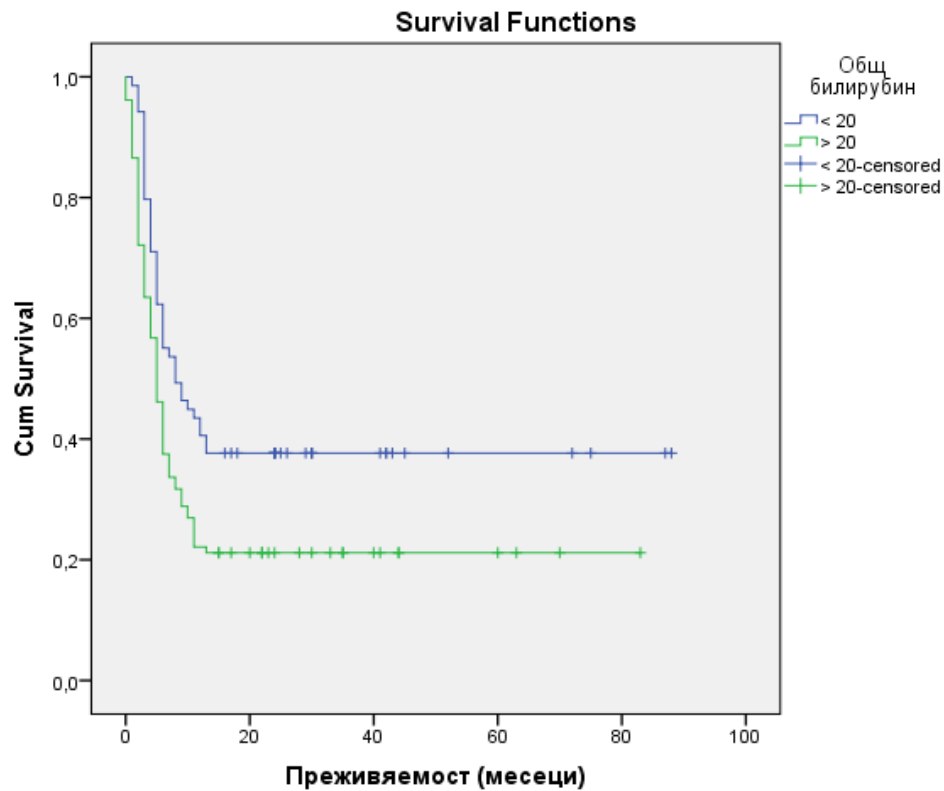
Фиг. 41. Обща преживяемост според HBsAg ($p < 0,001$)



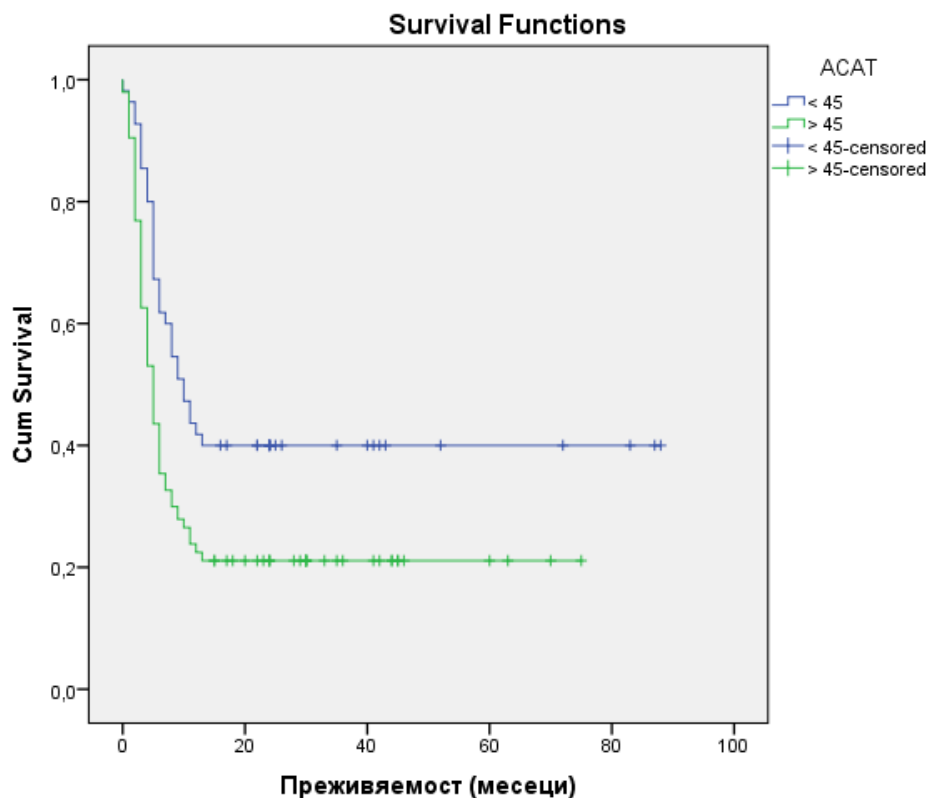
Фиг. 42. Обща преживяемост според anti HCV ($p=0,015$)



Фиг. 43. Обща преживяемост според албумина ($p=0,001$)



Фиг. 44. Обща преживяемост според билирубина ($p=0,005$)



Фиг. 45. Обща преживяемост според ACAT ($p=0,001$)

На таблица 49 е направено анализ на рисковите фактори влияещи върху преживяемостта при пациентите с ХЦК, като резултатите са сравнени с тези на други автори. Поради ниската обща преживяемост на нашите пациенти не беше намерено съществено влияние на конкретен рисков фактор в нашето проучване, за разлика от това на това на W. Liao et al., (2014) и B. Oh et al., (2013). Слаба зависимост се установи само между преживяемостта и стойностите на ACAT и стадия на чернодробната цироза. Това се дължи на факта, че основната част от пациентите в нашето проучване са в стадий C и D по BCLC.

Табл. 49. Фактори, оказващи влияние върху общата преживяемост при пациенти с ХЦК[140, 169]

Фактор	Собствено проучване, 2017		W. Liao et al., 2014		B. Oh et al., 2013	
	HR	P	HR	P	HR	P
NLR	1,048 (0,979-1,122)	0,178	1,639 (1,212-2,218)	0,001	3,050 (2,223-4,185)	< 0,001
Размер на тумора	1,031 (0,981-1,084)	0,230	1,922 (1,168-3,162)	0,010	3,548 (2,622-4,801)	< 0,001
Брой тумори	0,991 (0,900-1,091)	0,855	1,045 (0,771-1,416)	0,776	2,023 (1,510-2,711)	< 0,001
PVTT	1,280 (0,909-1,802)	0,158	1,400 (0,995-1,970)	0,054	4,197 (3,141-5,609)	< 0,001
АСАТ	1,003 (1,001-1,004)	< 0,001	1,916 (1,415-2,595)	0,001	-	-
Пол	0,821 (0,603-1,119)	0,213	-		0,842 (0,604-1,173)	0,309
Възраст	1,004 (0,989-1,019)	0,608	-		0,777 (0,586-1,031)	0,080
Хронична вирусна инфекция	0,887 (0,664-1,183)	0,414	-		0,978 (0,652-1,469)	0,916
АЛАТ	1,002 (1,000-1,004)	0,114	-		1,511 (1,146-1,992)	0,003
Класификация Child-Pugh	1,072 (1,016-1,132)	0,011	-		1,803 (1,480-2,198)	< 0,001
АФП	1,001 (1,000-1,002)	0,080	-		2,783 (2,099-3,690)	< 0,001
CRP	0,997 (0,992-1,003)	0,386	-		3,923 (2,929-5,255)	< 0,001

4.7.Алгоритъм за проследяване на болните с определени рискови фактори и преканцерозни състояния

Въз основа на данните от литературата и получените резултати от нашето изследване създадохме алгоритъм за поведение при съмнение за ХЦК при рискови пациенти – пациенти с чернодробна цироза, хроничен вирусен

хепатит В и/или С, НАМЧБ. При ехографски данни за нодул в черния дроб или при покачващи се стойности на АФП се спазва, посочения на фигура 45, алгоритъм.

При чернодробна лезия с размери 1-2 см, се изисква провеждане на поне 2 образни изследвания с контраст, при които лезията да има типичното за ХЦК поведение. При пациенти с чернодробна цироза, при които и двата образни метода определят находката за ХЦК, хистологично потвърждение на диагнозата може да се извърши при оперативно лечение, ако са подходящи за такова. Морфологична верификация е задължителна в случаите, при които ще се прилага Сорафениб.

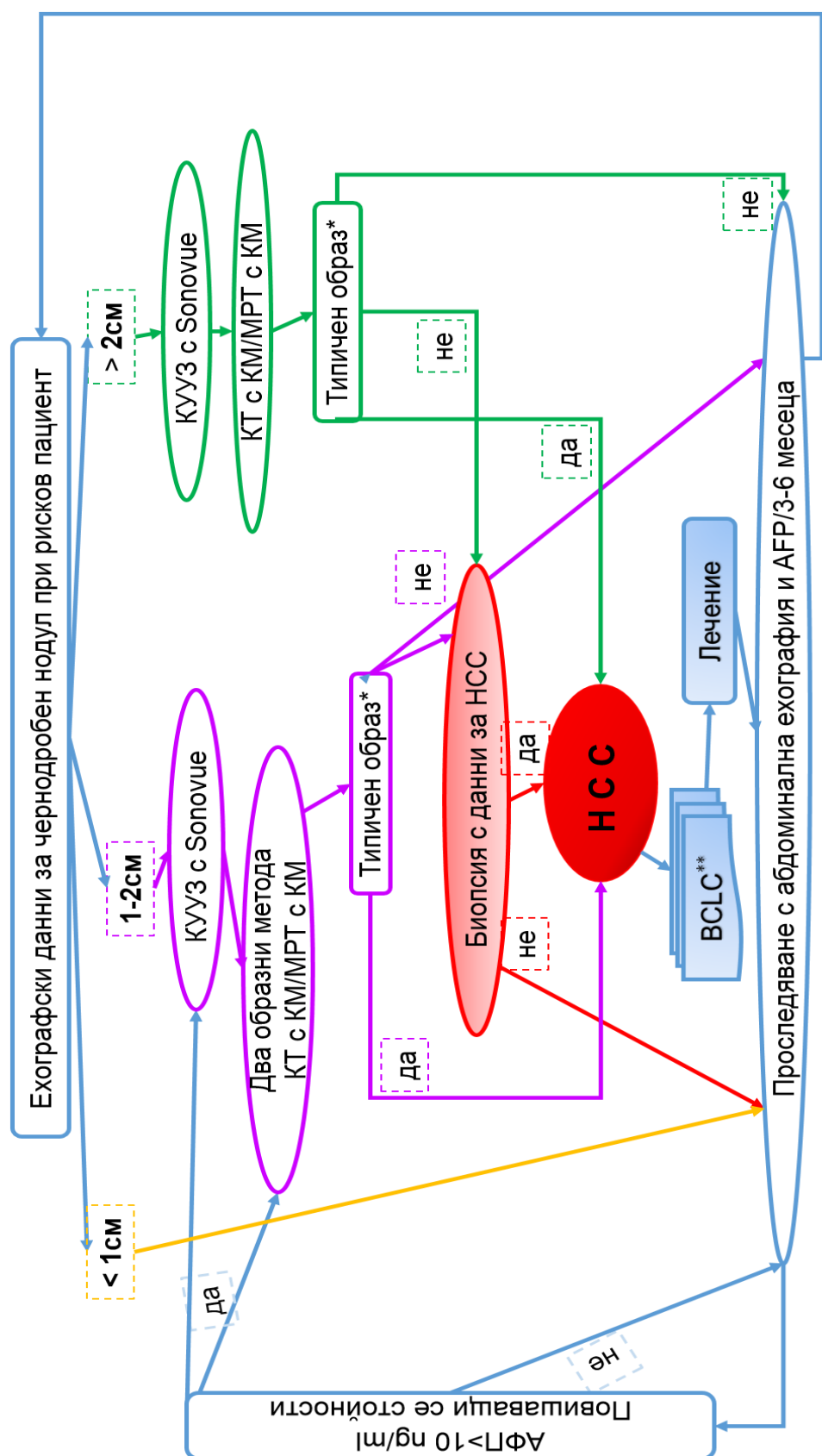
Чернодробна лезия с размер >2 см, която има характерен образ от КУУЗ и КТ или МРТ с к.м., може да се приеме за ХЦК и без хистологично изследване, При тези, които са показани за лечение със Sorafenib трябва да бъде извършена морфологична верификация.

Ако съмнението за малигнизация остава, въпреки липсата на категорично потвърждение на диагноза от образните изследвания или от морфологичното изследване, пациента трябва стриктно да се проследява чрез абдоминална ехография и изследване серумните нива на АФП на 3 или 6 месеца. При промяна в ехографския образ, изразяваща се в нарастване на лезията, поява на нова, покачване на стойностите на АФП или влошаване на състоянието на пациента (например декомпенсация на чернодробната цироза) отново се провеждат допълнителни образни изследвания и или биопсия по описания по горе ред.

Пациентите, при които е проведено оперативно лечение на ХЦК също подлежат на стриктно проследяване. При съмнение за рецидив или новопоявил се карцином се следва същия алгоритъм.

Въз основа на нашия клиничен опит определихме план за подготовка на пациентите преди провеждане на образните изследвания, който да подпомогне извършването им и да повиши тяхната информативност. Алгоритъмът за подготовка на пациентите при съмнение за ХЦК е представен по долу.

АЛГОРИТЪМ ЗА ПОВЕДЕНИЕ ПРИ СЪМНЕНИЕ ЗА НСС



* Типичният образ на НСС е контрастно усилване на зоната в артериална фаза и отмиране на контраста и контрастното усилване на капсулата в портална фаза.

**При подготовка за лечение със Сорафениб е задължителна морфологична верификация.

Фиг. 46. Алгоритъм за поведение при съмнение за ХЦК

5. Алгоритъм



**УНИВЕРСИТЕТСКА МНОГОПРОФИЛНА БОЛНИЦА ЗА АКТИВНО
ЛЕЧЕНИЕ**

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ, ГР. ВАРНА

КЛИНИКА ПО ХЕПАТОГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ



Ръководител клиника:
Проф. д-р Искрен А. Коцев, д.м.н.
тел. 052/978 217
тел./факс 052/302 891
e-mail: kotzev@mnet.bg

ул. "Христо Смирненски" № 1
гр. Варна 9010
Ст. мед. сестра Й. Пенева
тел. 052/978 249
Приемен кабинет 052/978 231

АЛГОРИТЪМ ЗА ПОВЕДЕНИЕ ПРИ СЪСМНЕНИЕ ЗА ХЦК

При съмнение за ХЦК е необходимо да се направят следните изследвания:

1. Ниво на серумен АФР (алфа-фетопротейн)
2. Абдоминална ехография
3. Контрастно-усилена ехография (КУУЗ) с 2,4 мл Sonovue
4. Втори образен метода:
 - МРИ с контраст (по възможност Primovist)
 - КТ с контраст като е необходимо:
 - Урея и креатинин
 - Да се постави зелен абокат (при невъзможност розов абокат)
 - В заявката да се впише „Обс. Хепатоцелуларен карцином. С молба за мултифазова КТ с контраст с flow 5“
5. Стадиране по BCLC

При подготовка за лечение със Сорафениб е необходимо морфологично потвърждение чрез ТАБ/ кор биопсия под ехографски/КТ контрол.

Child Pugh/ПАРАМЕТРИ	ТОЧКИ		
	1	2	3
Билирубин	<35	35-51	>52
Албумин	35	28-35	<28
Протромбиново време (сек. над нормата) INR	<4 <1,7	4-6/1,7-2,3	>6/2,3
Асцит	Няма	умерен	голям
Чернодробна енцефалопатия	Липсва	1-2 степен	3-4 степен
Child A 5-6; Child B 7-9; Child C 10-15;			
ПЕРФОРМАНС СТАТУС			
0	Напълно активен, както преди да се разболе		
1	Не може да извършва тежка физическа работа, но може всичко останало		
2	Активен през по-голямата част от деня; може да се грижи сам за себе си, но е неспособен да работи		
3	Нуждае се от помощ за да се обслужва; в легло/стол по голямата част от деня		
4	Не може да се обслужва; в стол/легло през целия ден		

Началник клиника Проф. Д-р И. Коцев д.м.н

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хепатоцелуларният карцином се развива най-често при мъже с вирусна инфекция (77,09%), основно хроничен В хепатит. В 77% от случаите първичният чернодробен карцином възниква в циротично променен черен дроб. Влияние върху процеса на канцерогенеза оказват редица особености на хроничната вирусна инфекция. При пациентите с малигнизация преобладава висока вирусна репликация, съответно HBV DNA ≥ 2000 IU/mL за HBV инфекцията и HCV RNA $\geq 400\,000$ IU/mL за хроничния хепатит С. Освен това се наблюдава и значително по-изразена цитолиза и холестаза при пациентите, които са развили карцином в сравнение с тези, които не са. ХЦК при пациенти с HBV-HDV и HBV-HCV ко-инфекции се развива в по-ранна възраст и има по-бързо протичане. При тези пациенти преживяемост е значително по-лоша. От друга страна антивирусната терапия има протективен ефект върху развитието на заболяването при пациентите с хронична вирусна инфекция. Пациентите, при които е проведена антивирусна терапия живеят по-дълго след откриване на малигненото заболяване в сравнение с онкоболните, при които не е проведено такова лечение.

Освен вирусните инфекции значение за развитието и хода на заболяването имат и начина на живот и храненето на пациента. Алкохолната консумация, независимо от вида, честота и количеството, се приема като рисков фактор (OR=3,16). Рискови фактор също се явяват и наднорменото тегло (OR=1,04) и тютюнопушенето (OR=25,57). Изключително висок риск има и ежедневният прием на червено месо (RR = 3.28). Протективен ефект за развитието на ХЦК има ежедневната консумация на зеленчуци и приема на кафе.

Влошаването на функцията на черния дроб също подпомага развитието на ХЦК. Покачването на чернодробни ензими (АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ, общ билирубин), които са лабораторния израз на това, се свързват с по-висок риск за развитие на ХЦК при пациенти с хронично чернодробно заболяване. Съотношението АСАТ/АЛАТ може да се използва като маркер за развитие на ХЦК.

За подобряване диагностичната стойност на АФП и серумния глипикан могат да се определят cut-off стойности за съответната популация. Най-висока

сензитивност и специфичност за нашата извадка има cut-off стойност на АФП 11 ng/ml, съответно 22,20% и 83,30%. Серумният глипикан е със сензитивност 65,50% и специфичност и 78,30% за cut-off стойност 1,225 ng/ml.

APRI индексът може да се използва като неинвазивен диагностичен и прогностичен маркер за ХЦК. Повишаването му корелира с влошаване на чернодробната функция и с тежестта на чернодробната цироза, като връзката е статистически значима. APRI индекса може да се използва и като предиктор за смъртност.

Важно място в диагностиката на първичния чернодробен карцином имат образните изследвания, като характерни за ХЦК е наличието wash-in и wash-out феномен при контрастно изследване. Типично поведение се наблюдава в 54,8% от проведените КУУЗ. Най-висока диагностична стойност има комбинацията на КТ с к.м. и МРТ с к.м.

Използването на рекомбинантно моноклонално мише антитяло Glypican-3 при морфологичната диагностика на заболяването е надежден диагностичен метод и се експресира в 95,8% от случаите на карцином.

Въпреки изследването на класическите лабораторни, образни и морфологични методи на диагностика и комбинацията им с нови маркери не може да се приеме единен стандарт, който да осигури ранно откриване на заболяването при всички пациенти.

Проследяването на високо рисковите пациенти на 6 месеца с ниво на АФП и абдоминална ехография ще подпомогне ранната диагностика на ХЦК.

7. ИЗВОДИ

1. ХЦК се развива най-често при мъже над 60 години с хронично чернодробно заболяване: хронична HBV инфекция в стадий на чернодробна цироза.
2. ХЦК при пациенти с HBV-HDV и HBV-HCV ко-инфекции възниква по-рано в естествения ход на болестта, има по-бърза прогресия и по-лоша преживяемост.
3. Наднорменото тегло се явява рисков фактор за развитие на ХЦК (OR=1,04).
4. Консумацията на алкохол (OR=3,16) и тютюнопушенето (OR=25,57) повишават риск за развитие на ХЦК, както и липсата на редовен прием на кафе (OR= 2,96).
5. Честата консумация на зеленчуци се прие като протективен фактор, докато честата употреба на плодове се определи като рисков фактор за развитие на ХЦК.
6. Ежедневният прием на червено месо представлява изключително висок риск за развитие и прогресиране на ХЦК (RR = 3.28).
7. Мъжкият пол (HR (6,18)), алкохолната консумация (HR (6,78)) и наличието на захарен диабет (HR (3,98)) увеличават риска от ХЦК при пациенти с НАМЧБ.
8. Глипиканът е надежден хистологичен маркер за ХЦК.
9. Нарушената чернодробна функция, проявяваща се с повишени стойности на АСАТ и общ билирубин, както и APRI формулата за напреднало хронично чернодробно заболяване имат неблагоприятно прогностично значение при ХЦК.
10. Болните с ХЦК, провели антивирусната терапия имат по-добра преживяемост.

8. ПРИНОСИ

Научни приноси с оригинален характер

- За първи път в България е оценена ролята на храненето и вредните навици (прием на алкохол и тютюнопушене) в развитието на ХЦК.
- Оценена е ролята на новите прогностични маркери и модели - APRI, NLR за появата и развитието на ХЦК
- Изследвано е серумното равнище на глипикан-3 и тъканната му експресия в биопсичен материал при пациенти с ХЦК.

Научни приноси с потвърдителен характер

- Сравнено е диагностичното значение на лабораторните и образни методи за изследване на пациентите с ХЦК
- Доказана е ролята на успешната антивирусна терапия за първична профилактика на ХЦК
- Изследвана е прогностичната стойност на ADRESS модела при пациентите с чернодробна цироза

Научни приноси с практическа стойност

- Създаден и приложен в клиничната практика алгоритъм на поведение при чернодробни огнищни лезии при пациенти с повишен риск за ХЦК.
- Оценена е преживяемостта на болните с диагностициран ХЦК, според тежестта на чернодробното заболяване, характеристиката на тумора и терапевтичните методи.

9. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА

1. S. Banova, Iskren Kotzev, Risk factors for hepatocellular carcinoma, Scripta Scientifica Medica, vol. 45, suppl. 5, 2013, pp. 16-18
2. С. Банова-Чакърлова С., И. Иванова, А. Атанасова, И. Коцев, Честота на хепатит в при пациентите с хепатоцелуларен карцином, в един клиничен център, Известия на съюза на учените - Варна 1'2017 / том XXII
3. С. Банова-Чакърлова С., И. Иванова, А. Атанасова, И. Коцев, Разпределение на рисковите фактори при пациентите с хепатоцелуларен карцином, преминали през клиниката по гастроентерология, хепатология и хранене на УМБАЛ св. Марина - Варна, Известия на съюза на учените - Варна 1'2017 / том XXII

Научни съобщения, свързани с дисертационния труд

1. **Соня Банова**, Искрен Коцев, устна презентация „Възможна ли е диагностиката на хепатоцелуларния карцином без морфологично изследване?“, Гастрофорум Варна, 2013г
2. **Sonya Banova**, Iskren Kotzev, presantation „Risk factors for hepatocellular carcinoma“, “European GI Bridging Meeting & EAGEN postgraduate course”, Berlin, Germany, 11. 2013г
3. **Соня Банова**, Искрен Коцев, устна презентация „Хепатоцелуларен карцином“, Гастрофорум Варна, 2014г
4. **Соня Банова**, Искрен Коцев, устна презентация „Хепатоцелуларен карцином“, Гастрофорум Варна, 2014г
5. **Соня Банова**, Искрен Коцев, устна презентация на „Национална конференция по хепатология и усложнения на чернодробната цироза“, гр. София, 2015 г

Благодаря

на всички, които допринесоха този труд да се осъществи:

- Моят научен ръководител проф. д-р Искрен Коцев, дмн, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ "Св. Марина" за ценните идеи и напътствията.
- Доц. д-р Мария Цанева, дмн и д-р Надежда Стефанова, дм от Катедрата по обща и клинична патология за оказаната помощ и подкрепа
- Доц. Д-р Яна Бочева, дм от Катедрата по клинична лаборатория за професионализма
- На колегите от Клиниката по гастроентерология, Катедра по образна диагностика и лъчетерапия, Клинична лаборатория за оказаното съдействие
- Г-жа Валентина Великова за изключителната компетентност, професионализъм
- На семейството ми за обичта, подкрепата и куража