

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ.Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“, ГР. ВАРНА
II КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
УС ПО ГАСТРОЕНТЕРОЛОГИЯ, ХЕПАТОЛОГИЯ И ХРАНЕНЕ

Д-Р ПАВЛИНА ГЕОРГИЕВА БОЙКОВА-ВЪЛЧЕВА

**СКРИНИНГ, ДИАГНОСТИКА И КЛИНИЧНА ОЦЕНКА НА ПАЦИЕНТИТЕ С
НЕАЛКОХОЛНА МАСТНА ЧЕРНОДРОБНА БОЛЕСТ**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД
ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

Научна специалност „гастроентерология“

Научен ръководител

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

Варна, 2022 г.

Дисертационният труд съдържа 157 страници и е онагледен с 50 фигури и 58 таблици. Цитираната литература включва 172 източника, от които на 9 кирилица и 163 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от катедрен съвет на II катедра по вътрешни болести на Медицински университет – Варна на 06 юли 2022 г.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 19 октомври 2022 г. на открито заседание на Научно жури в състав:

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

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

Доц. д-р Миглена Славчева Стамболийска-Николова, д.м.,

Доц. д-р Ирина Иванова Иванова, д.м.,

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

СЪДЪРЖАНИЕ

1. Въведение	6
2. Цел и задачи	8
3. Материал и методи	8
4. Резултати	18
5. Обсъждане	59
6. Алгоритъм за скрининг и диагностика	69
7. Заключение	72
8. Изводи	74
9. Приноси	75
10. Публикации по темата	76

Най-често използвани съкращения:

На кирилица

АЛАТ – аланин аминотрансфераза

АСАТ – аспартат аминотрансфераза

АФ – алкална фосфатаза

ХБ – хипертонична болест

ГГТ – гамаглутамил трансептидаза

Г.р.с. – горна референтна стойност

ЗД тип 2 – Захарен диабет тип 2

ИТМ – индекс на телесна маса

МС - метаболитен синдром

МР – магнитно резонансно изследване

НАМЧБ - Неалкохолна мастна чернодробна болест или Неалкохолна стеатозна чернодробна болест

НАСЧ - Неалкохолна стеатоза на черния дроб

НАСХ - Неалкохолен стеатозен хепатит

РФ – рискови фактори

ССЗ – сърдечно-съдови заболявания

ССР – сърдечно-съдов риск

Табл. - таблица

УЗ – абдоминален ултразвук

Фиг. – фигура

З – Гл. – три глицериди

На латиница

AASLD – American Association for the Study of Liver Diseases (Американска асоциация за изучаване на черния дроб)

APRI - AST to Platelet Ratio Index, индекс АСАТ/тромбоцити

ALT- аланин аминотрансфераза, АЛАТ

AST – аспартат аминотрансфераза, АСАТ

AUROC - Area Under the Receiver Operating Characteristic curve

BMI – Body mass index, Индекс на телесна маса

CAP – controlled attenuation parameter, параметър на ултразвуково отслабване

CRP – C-реактивен протеин

cut-off – гранична (пределна) стойност

EASD - European Association for the Study of Diabetes, Европейска асоциация за изучаване на диабета

EASL - European Association for the Study of the Liver, Европейска асоциация за изучаване на черния дроб)

EASO- European Association for the Study of Obesity, Европейска асоциация за изучаване на затлъстяването

HDL – липопротеини с висока плътност

HOMA-IR - Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance

FAST score – Fibroscan – AST score, фиброскен АСАТ скор

FIB-4 - фиброзен чернодробен индекс - 4

LDL - Липопротеини с ниска плътност

MAFLD – Metabolic associated fatty liver disease, Метаболитно асоциирана мастна чернодробна болест

MRI – магнитно резонансно изследване

MRE – магнитно резонансна еластография

NAFLD – Nonalcoholic fatty liver disease, Неалкохолна мастна чернодробна болест, Неалкохолна стеатозна чернодробна болест

NASH – Nonalcoholic steatohepatitis, Неалкохолен стеатозен хепатит

NFS-NAFLD fibrosis scor

PNPLA3 – Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3

TE – transient elastography, транзиентна (вибрационна) еластография, фиброскен

1. Въведение

Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) е обществен здравен проблем с глобално значение, засягащ приблизително един милион индивиди по света. НАМЧБ се определя с наличие на чернодробна стеатоза в над 5% от хепатоцитите, установена чрез образни изследвания или хистологично изследване, при индивиди употребяващи малко количество или никакъв алкохол, и при които е изключена вторична причина за стеатоза. НАМЧБ се подразделя на две основни групи: Неалкохолна стеатоза на черния дроб (НАСЧ) и Неалкохолен стеатозен хепатит (НАСХ). НАСЧ се счита, че е непрогресиращата форма на НАМЧБ, при която има минимална до липсваща прогресия до цироза и липса на чернодробно-свързана смъртност, докато НАСХ е прогресивната форма, водеща до развитие на фиброза, цироза, хепатоцелуларен карцином и повишена чернодробно-свързана смъртност. Активната форма на НАМЧБ – неалкохолният стеатозен хепатит се характеризира хистологично с наличие на възпаление и хепатоцитна балонна дегенерация, което обуславя по-бързата прогресия на болестта.

НАМЧБ възниква при взаимодействието на фактори на околната среда, епигенетични и генетични фактори и е пряко свързана с наличието на инсулинова резистентност (ИР). Налице е двупосочна връзка между метаболитния синдром и НАМЧБ. Метаболитният синдром и неговите компоненти предсказват развитието и прогресията на НАМЧБ, но наличието на НАМЧБ е прекурсор за бъдеща поява на компонентите на метаболитния синдром. НАМЧБ се асоциира с наличието на затлъстяване, захарен диабет тип 2 (ЗД тип 2), хипертония и метаболитен синдром. Поради доказаната връзка на НАМЧБ с метаболитния синдром е предложено от международна група експерти да се замени термина неалкохолна мастна чернодробна болест с термина метаболитно асоциирана мастна чернодробна болест (MAFLD). Поради глобалната епидемия от затлъстяване, НАМЧБ се очертава като водеща причина за чернодробно-свързана заболяемост, а в следващото десетилетие се прогнозира да е и основна причина за чернодробна трансплантация.

При голяма част от пациентите с НАМЧБ не се наблюдава прогрес на болестта, само пациентите с НАСХ и напреднала фиброза са застрашени от развитие на напреднала чернодробна болест с усложнения. Напредналата фиброза се възприема, като основен фактор, предсказващ неблагоприятния изход и смъртността при пациентите с НАМЧБ. Следователно от изключително значение при пациентите с НАМЧБ е разграничаването на НАСХ от чистата чернодробна стеатоза и определяне наличието на напреднала чернодробна фиброза. Имайки предвид огромния брой застрашени пациенти е от много голямо значение извършването на скрининг и клинична оценка на пациентите с НАМЧБ, по отношение на риска за наличие на хепатит и напреднала фиброза. Все още златен стандарт за поставяне на диагнозата НАСХ и определяне стадия на фиброзата при пациентите с НАМЧБ е хистологичното изследване. Чернодробната биопсия има своите добре известни ограничения, като инвазивност, риск от усложнения, вариабилност на хистологичната оценка от различни експерти, грешка на пробата (sample error), невъзможност за динамично проследяване, несъгласие от страна на пациентите за извършване на биопсия. В резултат на тези недостатъци на чернодробната биопсия, се наложи през последното десетилетие

усилено да се изследват и използват все повече алтернативни неинвазивни биомаркери, които да определят пациентите с неалкохолен стеатозен хепатит и напреднала фиброза от общата група на пациентите с НАМЧБ. Използват се различни неинвазивни методи, включващи серумни маркери и образни техники – ехография, компютърна томография (КТ), магнитно резонансно изследване (MRI) и еластографски базирани ултразвукови методи, един от които е транзиентната (вибрационна) еластография (TE). Всички неинвазивни методи за стадиране на НАМЧБ все още са обект на изследване и проучване и липсва общопризнат световен стандарт.

НАМЧБ представя много нерешени проблеми и въпроси, както по отношение на патогенеза, така и в клиничен аспект по отношение на диагностика, проследяване, клинична оценка, лечение и нужда от скрининг.

2. Цел и задачи

2.1. Цел:

С настоящата работа, си поставихме следната цел – да проучим скрининга, диагностиката и клиничната оценка при пациентите с НАМЧБ.

2.2. Задачи:

За изпълнение на горепосочената цел си поставихме следните задачи:

1. Да се изясни ролята на клиничния преглед и ехографското изследване при пациентите с НАМЧБ, като се направи анализ на клиничната оценка на пациентите, въз основа на което да се определи корелация между антропометричните показатели и установените степени на стеатоза и фиброза.
2. Да се изясни ролята на измерения при фиброскен параметър за ултразвуково отслабване (CAP, Controlled Attenuation Parameter) за клиничната оценка на степента на стеатозата при пациентите с НАМЧБ и се потърси корелация с установената ехографски стеатоза и определените индекси за стеатоза.
3. Да се изясни ролята на фиброскен еластографията за оценка стадия на фиброза при пациентите с НАМЧБ.
4. Да се анализира приложението на цитокератин 18 като диагностичен маркер за възпаление при НАМЧБ и неговата връзка с антропометричните показатели, рутинните лабораторни тестове, ехографски определената степен на стеатоза и стадий на фиброза от неинвазивните скорови оценки.
5. Да се изследва корелацията между неинвазивните серумни и образни методи за стадиране на стеатозата и фиброзата.
6. Да се изясни ролята на приложените неинвазивни методи (серумни биомаркери и фиброскен еластография) като скрининг за откриване на пациенти с НАМЧБ и възможност за определяне на рисковите групи за напреднала болест.
7. Да се предложи алгоритъм за скрининг и диагностика на пациентите с НАМЧБ.

3. Материал и методи

3.1. Изследвани лица

В проучването бяха включени общо 148 лица, изследвани в Клиниката по Гастроентерология към УМБАЛ „Света Марина“ – Варна за периода от октомври 2016 г. до май 2022 г. Включени бяха пациенти, постъпили в клиниката по повод повишени трансаминази и съмнение за НАМЧБ; пациенти постъпили в клиниката по друг повод, но с данни за чернодробна стеатоза; пациенти посетили Гастроентерологичен консултативен кабинет към клиниката и с данни за чернодробна стеатоза; пациенти, хоспитализирани в Ендокринологична клиника към УМБАЛ „Света Марина“ с данни за метаболитен синдром и/или ЗД тип 2, които бяха активно скринирани. Всички пациенти (n=148) бяха с данни за неалкохолна мастна чернодробна болест, а 38 пациенти от тях са с неалкохолен стеатозен хепатит, 100 пациенти са с неалкохолна чернодробна стеатоза, а 10 с компенсирана чернодробна цироза (8 с неактивна цироза и 2 с активна цироза). В изследваната от нас група нямаше пациент с хепатоцелуларен карцином.

При всички пациенти бяха извършени пълен клиничен преглед, лабораторно и ехографско изследване. При 91 беше извършена и еластография, с определяне на CAP

(FibroScan, Echosence), от октомври 2016 г. до юли 2019 г., а при 61 пациенти беше изследван серумен цитокератин 18 (от юни 2021 г. до май 2022 г.).

Средната възраст на изследваните пациенти беше 55,68 години, с минимална възраст 23 години и максимална 82 години, от тях 65 мъже и 83 жени. С най-голям брой (n=15) при мъжете бяха от възрастовата група 50-59 години, следвани от интервала - 40-49 години (n=14) и също толкова в интервала 60-69 години (n=14), 11 бяха в интервала – 30-39 години, 6 - във възрастовата група 70-79 г., а 5 в интервала 20-29 години. Във възрастовата група над 80 години мъже нямаше. При жените с най-голям брой (n=29) бяха от възрастовата група 50-59 години, следвани от 24 жени – от групата 60-69 години, 17 жени - във възрастовия интервал 70-79 години, 6 жени - в интервала 40-49 години, 5 – в интервала 30-39 години, 1 – от 20 до 29 години и 1 пациентка над 80 години.

Исключващи критерии бяха наличие на алкохолна чернодробна болест, с анамнестични данни за консумация на абсолютен алкохол >20 гр. дневно за жени и >30 гр. дневно за мъже, данни за вторична неалкохолна стеатозна болест (хроничен хепатит С или В, болест на Уилсън, автоимунна чернодробна болест, прием на стеатогенни медикаменти и др.), наличие на сърдечна недостатъчност III-IV функционален клас по NYHA, както и други придружаващи заболявания, които биха се отразили на получените резултати. Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания към МУ-Варна (КЕНИ) с протокол №76/ 09.08.2018г. Всички пациенти са подписали формуляр за информирано съгласие за участие в клиничното наблюдение. Резултатите от направените наблюдения и клиничните показатели на пациентите бяха систематизирани в табличен вид с оглед оптимизиране на обработката.

3.2. Използвани методи

Проведени бяха следните изследвания:

3.2.1. Анамнеза и обективен физикален преглед

На пациентите бе снета подробна анамнеза за субективни оплаквания, придружаващи заболявания, приемани медикаменти и вредни навици. Включени са само пациенти, които нямат прекомерна алкохолна употреба според стандарта. Изчисленията за дневната консумация на абсолютен алкохол са направени на базата на преизчисляване през 1 стандартна алкохолна единица, която се равнява на около 10-14 g абсолютен алкохол по формулата: 1 алкохолна единица = количеството алкохол (ml) x концентрацията (%) / 1000. Една алкохолна единица се съдържа в 25-30 ml концентрирана (40%) алкохолна напитка (уиски, водка, ракия), 100-120 ml вино или в 250 ml бира. Уточено е наличие на артериална хипертония, дислипидемия, захарен диабет, фамилна анамнеза за метаболитни нарушения.

Анамнестично пациентите рядко съобщават за субективни оплаквания. В изследваната от нас група (N=148), 9 пациенти съобщават за тежест и дискомфорт в дясно подребрие с чувство на подпиране и подуване. При 32 пациенти стеатозата е открита при профилактично ехографско изследване или при ехография по повод на коремно-болков, горно или долно диспептичен синдром, свързани с друга патология. При 20 пациенти, стеатозата е доказана по повод установени повишени трансаминази или холестазни ензими, при провеждане на профилактични лабораторни изследвания или изследвания по друг повод. При повечето от пациентите в разглежданата от нас

група стеатозата е установена при профилактично изследване и целенасочен скрининг сред пациенти с данни за метаболитен синдром. При част от всички тези пациенти се установява напреднала и активна чернодробна болест в противовес с липсата на субективни оплаквания и липсата на съзнание за наличие на съществуващ чернодробен проблем.

Извършен е пълен физикален преглед включващ измерване на антропометрични показатели – ръст (cm) и телесна маса (kg). Въз основа на тези данни е изчислен индекс на телесна маса – (BMI) в kg/m^2 (теглото в килограми, разделено на ръста в метри на квадрат). BMI е широко възприет метод за дефиниция и класификация на телесната маса при лица над 18 годишна възраст. Стойностите са възрастово независими и еднакви за двата пола. Класификацията на телесното тегло, съобразно BMI (ИТМ) и асоциацията му с болестността и смъртността (СЗО 2000) е представена на таблица 5. Нормално тегло се приема при BMI между $18,5 \text{ kg}/\text{m}^2$ – $24,9 \text{ kg}/\text{m}^2$, свръхтегло при BMI $25,0 \text{ kg}/\text{m}^2$ – $29,9 \text{ kg}/\text{m}^2$, затлъстяване I степен при BMI $30,0 \text{ kg}/\text{m}^2$ – $34,9 \text{ kg}/\text{m}^2$, затлъстяване II степен при BMI $35,0 \text{ kg}/\text{m}^2$ – $39,9 \text{ kg}/\text{m}^2$ и затлъстяване III степен при BMI $\geq 40 \text{ kg}/\text{m}^2$, според СЗО 2000 г. и Европейската асоциация за изучаване на затлъстяването.

Обиколка на талията е друг антропометричен показател, който бе измерен при пациентите. Измерва се по средата на разстоянието между долния ръб на ребрената дъга (долна граница на 10-то ребро) и горния ръб на илиачния гребен в края на нормално спокойно издишване (СЗО 2008). Обиколката на талията е добър антропометричен показател за висцерално мастно натрупване. Тя е полови и етнически стратифицирана. Горна граница на нормата, над която се приема наличие на висцерално затлъстяване за европейдната раса за мъже е $\geq 94 \text{ cm}$, а за жени $\geq 80 \text{ cm}$.

Според СЗО се дефинират две нива на абдоминално затлъстяване свързани със степента на риск от метаболитни нарушения и здравни проблеми, представени на следващата таблица (табл. 1). Увеличената коремна обиколка може да предскаже повишен здравен риск, дори при нормален BMI.

	Повишен риск	Значително повишен риск
Мъже, коремна обиколка	$\geq 94 \text{ cm}$	$\geq 102 \text{ cm}$
Жени, коремна обиколка	$\geq 80 \text{ cm}$	$\geq 88 \text{ cm}$

Табл. 1 Нива на абдоминално затлъстяване

3.2.2. Стандартни лабораторни изследвания.

Изследванията са проведени сутрин на гладно (без прием на храна в продължение най-малко на 8 часа преди изследването). Те включваха: хематологични показатели – хемоглобин, хематокрит, еритроцити, левкоцити, тромбоцити, СУЕ; стандартни биохимични параметри, вкл. кръвна захар, HbA1C, АСТ, АЛТ, ГГТ, АФ, общ и директен билирубин, холинестераза, общ белтък, албумин, CRP, серумно желязо, феритин, липиди – общ холестерол, HDL, LDL, 3-Гл, коагулационен статус – ПИ%. При пациенти с повишени трансаминази за отдиференциране на болест на Уилсън бе изследвана серумна мед и церулоплазмин. Изследванията са проведени в Централна клинична лаборатория на УМБАЛ „Света Марина“ гр. Варна.

При пациенти с повишени трансаминази са извършени 1) вирусологични изследвания, като са използвани различни търговски ELISA китове за установяване на HBsAg, anti-HCV, anti-HDV, anti HBcor total с оглед изключване на хроничен вирусен хепатит, 2) имунологични изследвания – автоантитела (AMA, ANA, anti SMA, анти LKM, рANCA, сANCA) с методите на индиректна имуофлуорисценция и Westernblot (имуноблот), за изключване на автоимунна чернодробна болест.

За поставяне диагнозата метаболитен синдром използвахме, критериите на International Diabetes Federation (IDF), според които МС се приема при наличието на поне 3 от следните 5 критерия:

1. Абдоминално затлъстяване (обиколка на талията ≥ 94 cm за мъже и ≥ 80 cm за жени);
2. Повишени серумни триглицериди (> 1.7 mmol/l) или специфично лечение за това липидно нарушение;
3. Намалени стойности на HDL – холестерол в серума (< 1.0 mmol/l за мъже и < 1.3 mmol/l за жените) или провеждано лечение за дислипидемия;
4. Артериално налягане > 130 mm Hg за систолното или > 85 mm Hg за диастолното, или прием на антихипертензивни медикаменти за лечение на хипертонична болест;
5. Плазмена глюкоза на гладно ≥ 5.6 mmol/l или лечение на ЗД тип 2.

При пациентите, включени в проучването, е изследвана въглехидратна обмяна и е оценено дали покриват критериите за метаболитен синдром. При 61 пациенти е изследван НОМА-IR за доказване на инсулинова резистентност.

Оценката на нарушението на въглехидратната обмяна е съобразено с възприетите ясни дефиниции. Нормална гликемия на гладно/ нормален глюкозен толеранс се приемат съответно при плазмена глюкоза по-ниска от 5,6 mmol/l и плазмена глюкоза на 2-ия час от орално обременяване с глюкоза – по-ниска от 7,8 mmol/l, HbA1c $< 5,7$ mmol/l. Нарушена гликемия на гладно се приема при плазмена глюкоза на гладно равна или по-висока от 5.6 mmol/l и по-ниска от 7.0 mmol/l. Нарушен глюкозен толеранс - плазмена глюкоза на 2-я час след орално обременяване с глюкоза равна или по-висока от 7.8 mmol/l, но по-ниска от 11.1 mmol/l; HbA1c $< 6,5\%$ и $\geq 5,7\%$. Нарушена гликемия на гладно и нарушен глюкозен толеранс се приемат за преддиабет според критериите на ADA (Американска диабетна асоциация). Захарен диабет се приема при плазмена глюкоза на гладно $\geq 7,0$ mmol/l или на втория час от оралното обременяване с глюкоза ≥ 11.1 mmol/l, или случайна плазмена глюкоза ≥ 11.1 mmol/l и HbA1c $> 6,5\%$.

За оценка на инсулиновата резистентност използвахме изчисляването на индекса НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance), изчислен от стойностите на глюкозата (mmol/l) и инсулина (mU/l), измерени на гладно по следната формула - НОМА-IR = Инсулин на гладно x глюкоза /22.5. Инсулинова резистентност приехме при стойности на НОМА-IR $\geq 2,5$.

3.2.3. Определяне стойността на цитокератин 18

Цитокератин 18 (СК18) в серум бе изследван при 61 лица с данни за чернодробна стеатоза, от които мъже 23 и жени 38. Средната възраст на изследваната група бе 56,19 г., с минимална възраст 28 г. и максимална 79 г.

Измерихме количествено нивата на общия CK18 в серума чрез “sandwich“ ELISA метод, при който се използват специфични антитела – anti-Human Cytokeratin 18 (Millipore, продуктов номер RAB1408). След извършване на физикален преглед и ехографско изследване, бе взета венозна кръв на пациентите. Отделен бе серумът от взетата кръв, след което всички проби бяха съхранявани при температура под – 20°C до момента на анализа. Мерните единици на получените резултати са в ng/ml.

3.2.4. Неинвазивни предиктивни математически модели – скорови системи

Използвайки някои лабораторни показатели и клинични характеристики на пациентите бяха изчислени следните скорове за оценка на стеатозата, наличието на хепатит и фиброзата.

А. Изчислени скорове за оценка на стеатоза:

- *HSI – Hepatic steatosis index* – изчислен бе на база на АЛАТ, АСАТ, ВМІ, пол, наличие на ЗД. Изчислява се по формулата: hepatic steatosis index (HSI)= 8 x(АЛАТ/АСАТ отношение)+ВМІ (+2, ако е жена; +2, ако има ЗД тип2). При стойности <30.0 се приема, че отхвърля NAFLD, а при стойности >36.0, HSI установява наличие на NAFLD. HSI е лесен и ефикасен скринингов инструмент за НАМЧБ, който може да се използва за избор на индивиди за ехография на черния дроб и за определяне на необходимостта от модификация на начина на живот.

Без стеатоза	<30	HSI	>36	Със стеатоза
--------------	-----	-----	-----	--------------

- *LAP – Lipid Accumulation Product* – изчислен бе на база на коремна обиколка, 3-ГЛ, пол. Представява лесно достъпен и евтин индекс, предсказващ наличието на МС, инсулинова резистентност, също така има доказана предиктивна стойност за появата на ЗД и определяне степента на сърдечно-съдов риск. Този индекс презентира наличието на централно затлъстяване. Подходящ е за провеждане на скрининг за МС (27,86,87,129,155). Последни проучвания показват много висока предиктивна стойност за наличие на НАМЧБ.

Изчислява се по формулата: LAP = (коремна обиколка [cm] – 65) × (триглицеридна концентрация [mmol/l]) за мъже, и (коремна обиколка [cm] – 58) × (триглицеридна концентрация [mmol/l]) за жени. Предложените гранични стойности (cut-off) варират в зависимост от националната принадлежност, а според някои автори от пола и възрастта (78). Предложените стойности при валидиране на теста са: при гранична стойност на LAP <20 се отхвърля стеатоза, докато при стойност на LAP ≥80 се приема стеатоза.

Без стеатоза	<20	LAP	≥80	Със стеатоза
--------------	-----	-----	-----	--------------

- *Fatty liver index (FLI)* – изчислен бе на база на ВМІ, коремна обиколка, ниво на 3-Гл и ГГТ по формулата:

$$FLI = \left(\frac{e^{(0.953 \times \log_e(Tg) + 0.139 \times BMI + 0.718 \times \log_e(ГГТ) + 0.053 \times \text{талия} - 15.745)}}}{e^{(0.953 \times \log_e(Tg) + 0.139 \times BMI + 0.718 \times \log_e(ГГТ) + 0.053 \times \text{талия} - 15.745)}} \right) \times 100. \quad (1)$$

Стойностите на индекса варират от 0 до 100. FLI под 30 – (негативна предсказваща стойност = 0,2) отхвърля стеатоза; FLI над или равен на 60 – (позитивна предсказваща стойност = 4,3) доказва стеатоза. FLI представлява лесен и точен индекс

за предсказване наличие на стеатоза. Удобен за селектиране на пациенти за УЗ изследване и необходимост от консултация за промяна начин на живот. Предсказва метаболитен и кардиоваскуларен риск, чернодробна и кардиоваскуларна заболяемост.

Без стеатоза	<30	FLI	≥60	Със стеатоза
--------------	-----	-----	-----	--------------

- *NAFLD liver fat score* (65) – изчислен бе на база на наличие на ЗД, серумен инсулин, АСАТ, съотношение АСАТ/АЛАТ по формулата: $1,18 \times \text{метаболически синдром} + 0,45 \times \text{ЗД} (2 - \text{ако има}; 0 - \text{ако няма}) + 0,15 \times \text{инсулин на гладно (mU/L)} + 0,04 \times \text{АСАТ (U/L)} - 0,94 \times (\text{АСАТ/АЛАТ}) - 2,89$.

За оптимална гранична стойност се приема $> -0,64$ с чувствителност 86%, специфичност 71%.

Б. Изчислен предиктивен модел за оценка наличие на стеатохепатит е FibroScan-AST score (FAST score). Включва определената при ТЕ чернодробна плътност, САР и стойността на АСАТ. Разработен е през 2020 г. FAST score е математически модел за неинвазивна идентификация на пациентите с НАСХ със значима фиброза и активност. Следователно този скор осигурява ефективен неинвазивен начин за определяне на пациентите с риск от прогресивна болест. AUROC варира от 0,74 до 0,95, с позитивна предсказваща стойност - 0,83 и негативна предсказваща стойност - 0,85. При стойност $\leq 0,35$ се изключва значимо възпаление и фиброза. Стойност 0,35-0,67 говори за активна болест със значима фиброза (NASH + NAS ≥ 4 + F ≥ 2), а стойност над $\geq 0,67$ се асоциира с напреднала болест.

В. Изчислени скорове за неинвазивна оценка на фиброзата:

- *APRI скор (AST to Platelet Ratio Index - APRI)* бе изчислен на база горна референтна стойност на АСАТ и тромбоцитен брой по следната формула:

$$\text{APRI} = \frac{\text{AST level (/ULN)}}{\text{Platelet count (10}^9\text{/L)}} \times 100 \quad \text{ULN} = \text{Горна граница на норма}$$

Стойности $< 0,5$ отхвърлят наличие на фиброза, $> 0,7$ - предполагат напреднала фиброза (F3 - F4), а стойност > 1 - цироза (F4). Последната е по-сигурна при APRI скор > 2 , но с по-ниска специфичност.

- *Фиброза-4 (FIB-4)* бе изчислен на база стойностите на възраст, АСАТ, АЛАТ и тромбоцити по следната формула: $\text{FIB-4} = (\text{Възраст} \times \text{АСАТ}) / (\text{Тромбоцити} \times (\sqrt{\text{АЛАТ}}))$.

FIB-4 $< 1,30$ отхвърля напреднала фиброза (F0-F2), FIB-4 между 1,30 и 2,67 – сива зона, а FIB-4 $> 2,67$ предсказва напреднала фиброза (F3 – F4) (табл. 2).

- *NFS (NAFLD fibrosis score)* бе изчислен на база стойностите възраст, ИТМ, повишена гликемия на гладно или ЗД2, АСАТ, АЛАТ, тромбоцити и албумин по следната формула: $\text{NAFLD fibrosis score} = -1,675 + 0,037 \times \text{възраст (години)} + 0,094 \times \text{ВМІ (kg/m}^2\text{)} + 1,13 \times \text{нарушена гликемия на гладно/ЗД (да} = 1, \text{ не} = 0) + 0,99 \times \text{АСАТ/АЛАТ} - 0,013 \times \text{тромбоцити} (\times 10^9\text{/L)} - 0,66 \times \text{албумин (g/dL)}$.

NFS $< -1,455$ – отхвърля сигнификантна фиброза (F0-F2), NFS между $\leq -1,455$ и $\leq 0,675$ – сива зона, NFS $> 0,675$ - предиктор за сигнификантна фиброза (F3-F4) (табл. 15).

- *BARD* скор е изчислен на база показателите BMI, АСАТ/АЛАТ и наличието на ЗД по следния начин: отношение АСАТ/АЛАТ $\geq 0,8$ – 2 точки; BMI ≥ 28 – 1 точка; и наличие на ЗД тип 2 – 1 точка. Възможният брой точки варира от 0 до 4. Наличието на 2 фактора се свързва със 17 пъти увеличаване на риска от напреднала фиброза. Според резултатите на Harrison и съавтори BARD score 0 и 1 има негативна предсказваща стойност 96% за напреднала фиброза (табл.2).

- *отношение АСАТ/АЛАТ* – приехме по литературни данни, че стойности над 1 са предиктивни за напреднала фиброза. Отношението АСАТ/АЛАТ се използва в останалите скорови системи. Представява и предиктор за алкохолна употреба (табл. 2).

Всички горепосочени формули на предиктивните модели бяха заложени в работната Excel таблица с помощта на програмист и автоматично бяха изчислявани след въвеждането на съответните данни за всеки един индивидуален пациент.

APRI	NAFLD score	фиброза	FIB-4 score	AST/ALT
< 0.5	< -1.455	F0 -F2	< 1,3	<0,8
0,5 ÷ 0,7	-1,455 ÷ 0,675	Недетерминирана стойност	1,3 ÷ 2,67	0,8 ÷ 1
> 0.7	>0,675	F3-F4	>2,67	>1

Табл. 2 Прагови стойности за APRI, NAFLD fibrosis score, FIB-4, АСАТ/АЛАТ

3.2.5. Ехография на коремни органи

При всички пациенти е извършено стандартно ехографско изследване на коремните органи с ултразвуков апарат Aloka Prosound alfa7 с конвексен трансдюсер с честота 2.2-2.5 MHz. Осъществен е пълен оглед на коремни органи – черен дроб, жлъчен мехур, панкреас, слезка, бъбреци, малък таз и кухинни органи. Използвани са следните критерии за стеатоза (фиг. 1):

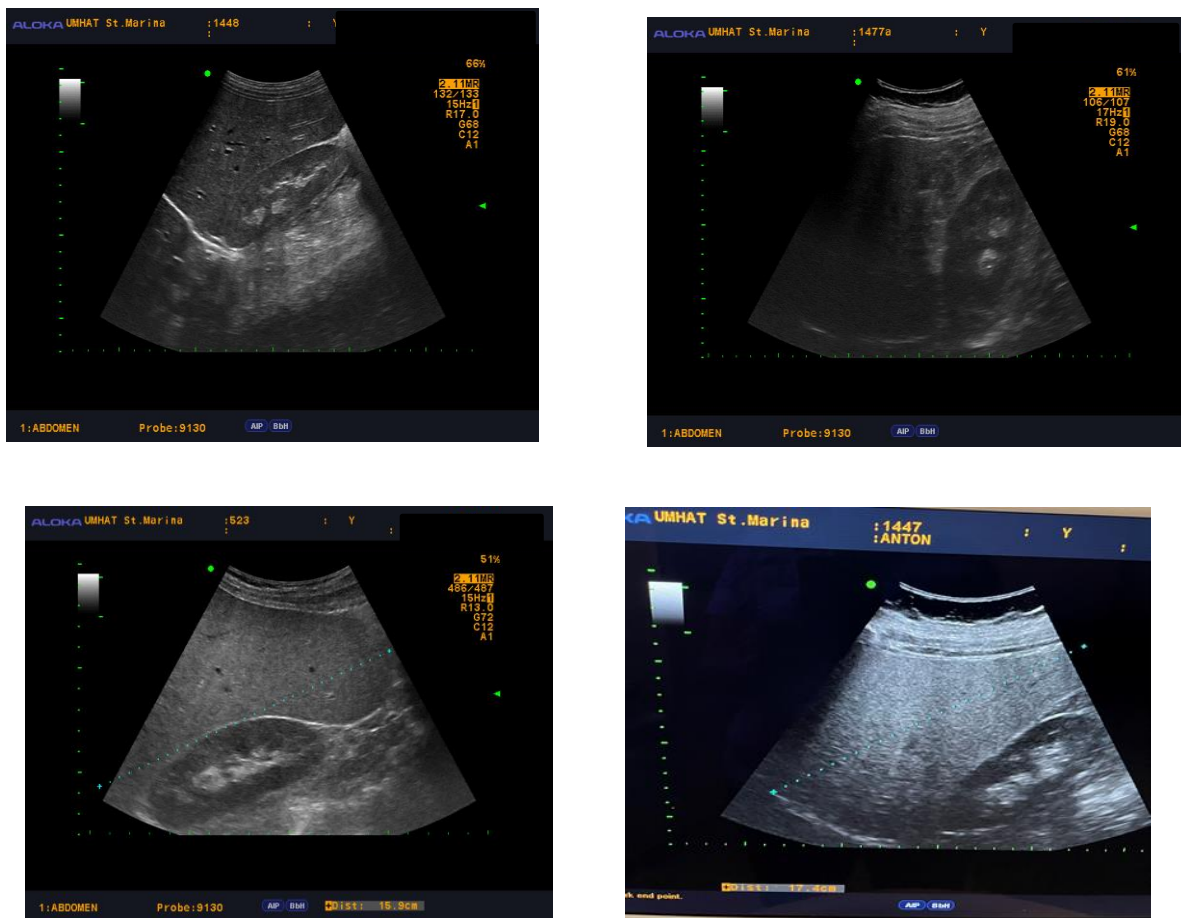
0 – нормална ехогенност;

1 степен – лека стетоза, леко дифузно увеличение на ехогенността на чернодробния паренхим, сравнено с паренхима на десния бъбрек, с нормална визуализация на диафрагмата, вътречернодробните съдове и стената на жлъчния мехур;

2 степен – умерена стеатоза, умерено дифузно увеличение на ехогенността на чернодробния паренхим, сравнено с паренхима на десния бъбрек, с леко нарушена визуализация на интрахепаталните съдове, диафрагмата и стената на жлъчния мехур;

3 степен – изразена стеатоза, значително увеличена ехогенност, спрямо паренхима на десния бъбрек, с лоша или липсваща визуализация на вътречернодробните съдове, диафрагмата, задните сегменти на десен лоб и стената на жлъчния мехур.

Измерен е също така предно – заден размер на черен дроб и е оценено наличието на огнищна липса на стеатоза (focal sparing). Описана е повърхността и структурата на черния дроб, преценена е неговата еластичност и наличието на данни за портална хипертония – диаметър на портални съдове, спленомегалия и асцит. Измерени са надлъжен, напречен размер на слезката и нейната площ.



Фиг. 1 Ехографски образи на различни степени на чернодробна стеатоза на пациенти участващи в проучването

3.2.6. Транзиентна еластография

Използван бе апарат FibroScan 502 с две сонди М и XL сонда, производител Echosens, France с определяне на Liver stiffness (LS, чернодробна плътност) и CAP (Controlled Attenuation Parameter) за количествено измерване на стеатозата. Софтуерът за CAP бе инсталиран само на М сондата (фиг. 2).

При 91 пациенти (45 мъже и 46 жени) е извършена транзиентна еластография със средна стойност и интервал на вариабилност от поне 10 валидни измервания. Средната възраст на пациентите е 55,27 г., от 23 до 82 години. Изследванията са извършени съгласно изискванията на гладно, като поне 2 часа преди това пациентите не са приемали храна. Позицията на пациента е легнал по гръб с отведена над главата дясна ръка и тяло извито леко в ляво латерално. Измерванията се правят в десния чернодробен дял, интеркостално, като трансдюсерът се поставя перпендикулярно на чернодробната капсула. Измерена е едновременно чернодробна плътност в kPa представлява стадия на фиброзата и CAP в dB/m за количествена оценка на степента на стеатозата.

Оценка на стадия на фиброзата от 0 до 4 е осъществена според приетите гранични стойности (cut-off), от метаанализи на проучвания при пациенти с NAFLD и NASH. За нормална еластичност приемаме стойности до 5-5,5 kPa, фиброза стадий F1

се приема до 7 кРа, фиброза стадий F2 се приема до 10 кРа, фиброза стадий F3 се приема до 14 кРа, а фиброза стадий F4, т.е. цироза над 14 кРа. За оптимален cut-off за значима фиброза, приемаме 9,9 кРа, а при чернодробна плътност под 7,9 кРа липса на напреднала фиброза.

При определяне на степента на стеатозата според CAP въз основа на литературни данни от проучвания по света и в България приехме следните гранични стойности (cut-off): S0 – при стойности под 215 dB/m, S1 – при стойности до 253 dB/m, S2 – при стойности до 300 dB/m и S3 при стойности над 300 dB/m.



Фиг. 2 Резултати от фиброскен на пациенти участващи в проучването

3.2.7 Статистически методи

Настоящата работа включи различни декриптивни и аналитични методи базирани на параметрични и непараметрични тестове, адресиращи задачите на изследването.

Дескриптивен анализ бе използван за описание на основните характеристики на извадката и на показателите включени в изследването. За основа на анализа са използвани измерители на централните тенденции като средна аритметична стойност и непараметрични тестове, като кростабулация и хи-квадрат при търсене на значими разлики в честотно представяне на категориен стойности (брой и проценти). Статистическа значимост при статистическите тестове е приемана при $p \leq 0,05$.

Independent T-test бе използван за сравняване на средните величини на количествени показатели на две групи по качествени признаци. Статистически значими бяха разликите между групите при $p \leq 0,05$.

Вариационен анализ (ANOVA) бе използван за сравняване на разликите в клиничната картина на болните пациенти. Графичната визуализация на сравнените стойности на показателите са представени с Error Bar Graphs. Разликите между стойностите са приемани за достоверни при приетата за биологични експерименти стойност $p < 0,05$. Множествени сравнения между групите бяха направени с post-hoc анализ по метода на Tukey. Статистически значими бяха разликите между групите при $p \leq 0,05$.

Корелационен анализ бе използван за изследване на зависимостите между клиничните показатели и за установяване силата на тяхното влияние. Оценката на силата на зависимостта между променливите се базира на резултатите от коефициента

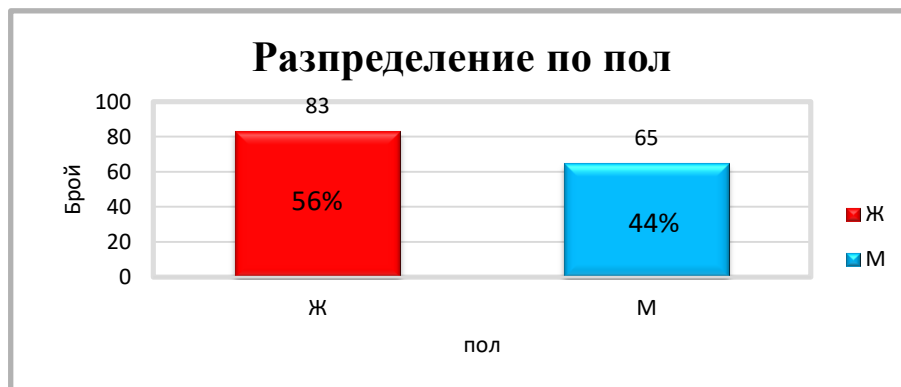
на Пирсън (r) - за количествени показатели и на Spearman (rho) за количествени и качествени показатели. Степента на асоциация между променливите е определяна като значителна при $r > 0,5 < r = 0,7$; голяма при $0,7 < r = 0,9$ и изключително голяма при $r > 0,9$ при $p \leq 0,05$.

Регресионен анализ (R) бе използван за изследване на функционални зависимости между количествено определени признаци. Регресионният анализ бе тестван за установяване магнитуда и тежестта на всяка една от променливите в избраните модели от променливи, обясняващи тяхната предиктивност.

4. Резултати

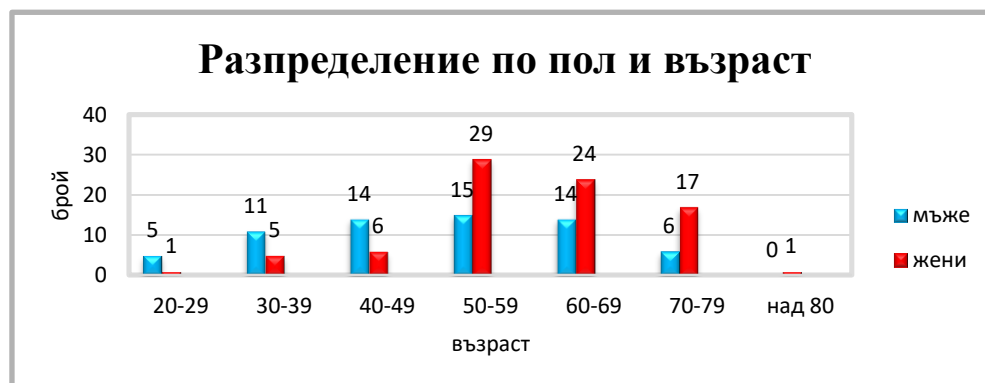
4.1. Демографски данни - разпределение на изследваните лица по пол и възраст

В проучването бяха включени 148 пациенти. Средната възраст на изследваните пациенти беше $55,68 \pm 13,20$ години, с минимална възраст 23 години и максимална 82 години. От тях 65 (44%) мъже и 83 (56%) жени (фиг. 3).



Фиг. 3 Разпределение по пол (n=148)

С най-голям брой (n=15) при мъжете бяха от възрастовата група 50-59 години, следвани от интервала – 40-49 години (n=14) и също толкова в интервала 60-69 години (n=14), 11 бяха в интервала – 30-39 години, 6 – във възрастовата група 70-79 г., а 5 в интервала 20-29 години. Във възрастовата група над 80 години мъже нямаше. При жените с най-голям брой (n=29) бяха от възрастовата група 50-59 години, следвани от 24 жени – от групата 60-69 години, 17 жени – във възрастовия интервал 70-79 години, 6 жени – в интервала 40-49 години, 5 – в интервала 30-39 години, 1 – от 20 до 29 години и 1 пациентка над 80 години (фиг. 4 и табл. 3).



Фиг. 4 Разпределение по пол и възраст (n=148)

възраст	Мъже	Жени	Общо
20-29	5	1	6
30-39	11	5	16
40-49	14	6	20
50-59	15	29	44
60-69	14	24	38
70-79	6	17	23
Над 80	0	1	1
Общо	65	83	148
Средна възраст (год)	50,44	59,78	55,68
Стандартно отклонение (год)	13,95	11,03	13,202
Минимална възраст	23	28	23
Максимална възраст	77	82	82

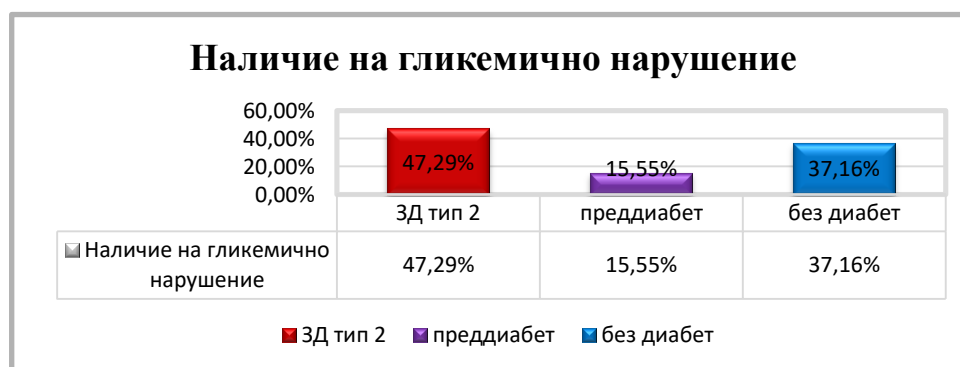
Табл. 3 Разпределение по пол и възраст

4.2. Клинична характеристика на пациентите

След изключването на придружаващи заболявания, които могат да доведат до стеатоза и след изключване на значим етанолов прием, за клиничната оценка на пациентите с НАМЧБ е особено важно да се уточни наличието на компонентите на метаболитния синдром.

4.2.1. ЗД тип 2 при изследваната група пациенти с НАМЧБ

В изследваната от нас група от 148 лица, доказан ЗД тип 2 бе налице при 70 пациенти (47,29%), от които жените бяха 44, а мъжете 26. Съответно без известен ЗД тип 2 бяха 78 пациенти, но при 23 от тях, бе установена повишена гликемия на гладно с к.з. между 5,6 mmol/l и 6,9 mmol/l, които сформираха групата преддиабет (15,55%), включваща 10 мъже и 13 жени. Съответно лица без доказан ЗД тип 2 и без открити данни за преддиабет бяха 55 (37,16%), от които 26 жени и 29 мъже (фиг. 5 и табл. 4).



Фиг. 5 ЗД тип 2, преддиабет и липса на диабет (n=148)

	Мъже брой	Жени брой	Общ брой	Процент
ЗД тип 2	26	44	70	47,29%
Преддиабет	10	13	23	15,55%
Без ЗД тип 2	29	26	55	37,16%

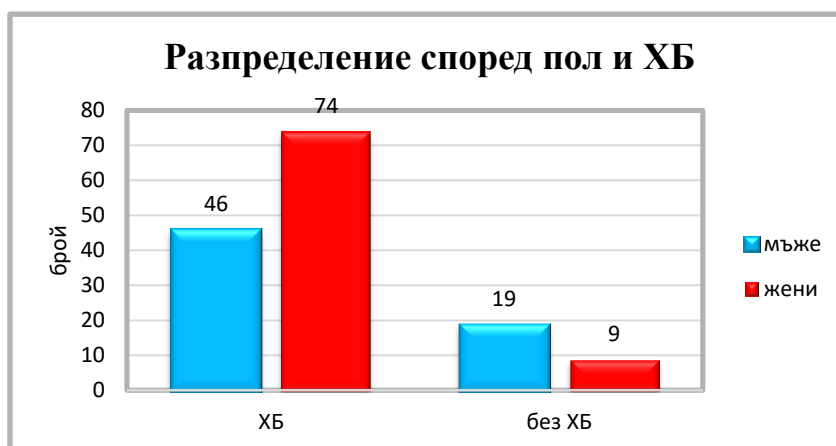
Табл. 4 Разпределение по пол и наличие на ЗД тип 2, преддиабет и без ЗД тип 2

4.2.2. Хипертонична болест

По-голямата част от пациентите бяха с анамнеза за доказана хипертонична болест, провеждащи антихипертензивно лечение (n=120 от общо 148; 81,08%), от които 46 мъже и 74 жени (фиг. 7). Без анамнеза за доказана хипертонична болест и без физикални данни за повишено артериално налягане бяха 28 пациенти (18,92%, мъже - 19, жени - 9) (фиг. 6).



Фиг. 6 Разпределение на пациентите според наличие на ХБ (n=148)



Фиг. 7 Разпределение на пациентите по пол според наличие на ХБ (n=148)

Анализът на разпределението на пациентите според стадия на хипертоничната болест показва, че от общо 120 пациенти с ХБ, с I стадий са 5 пациенти на средна възраст $51,2 \pm 11,07$ г., с II стадий ХБ са 78 пациенти на средна възраст $55,61 \pm 11,10$ г., с III стадий ХБ са 37 пациенти на средна възраст $67,02 \pm 7,51$ г. (табл. 5).

Стадий на ХБ	Брой пациенти	Процент	Средна възраст години
ХБ I стадий	5	4,17%	$51,2 \pm 11,07$
ХБ II стадий	78	65,00%	$55,61 \pm 11,10$
ХБ III стадий	37	30,83%	$67,02 \pm 7,51$

Табл. 5 Разпределение според стадий на ХБ

4.2.3. Резултати за телесно тегло и ръст.

Средният ръст установен при мъжете бе $1,75 \pm 0,08$ m., а при жените бе $1,62 \pm 0,06$ m. Измереното средно телесно тегло бе $94,18 \pm 20,42$ kg., минимално 43 kg. и максимално 163 kg. При мъжете средното телесно тегло бе $102,71 \pm 20,12$ kg., минимално 67,3 kg. и максимално 145 kg. При жените определеното средно тегло бе $87,80 \pm 18,32$ kg., минимално 43 kg. и максимално 163 kg.

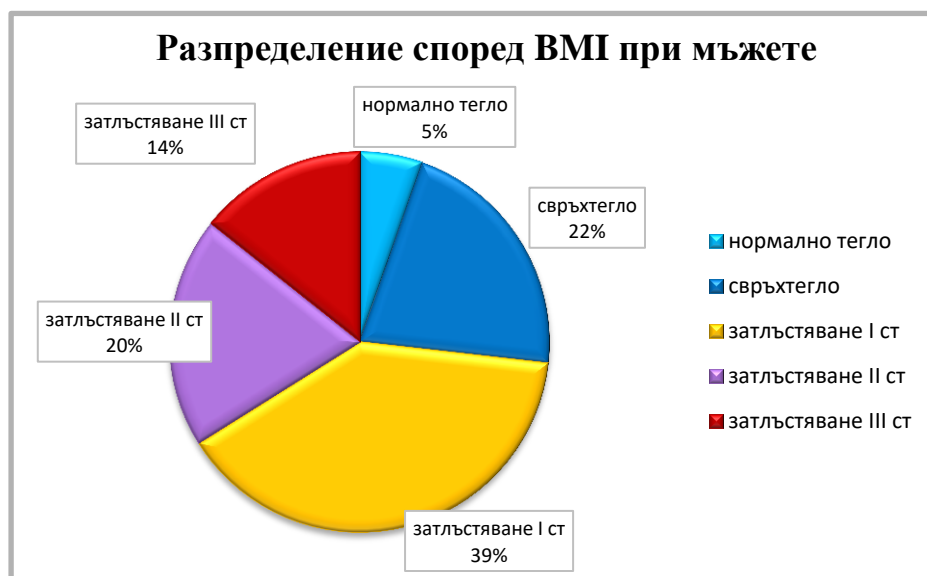
4.2.4. Резултати от степен на затлъстяване и ВМІ

Индекс на телесна маса бе изчислен при 131 пациенти, като средната стойност е $33,47 \pm 6,74$. Стойностите са много сходни и за двата пола, съответно $33,40 \pm 6,05$ при мъжете (n=56) и $33,52 \pm 7,25$ при жените (n=75).

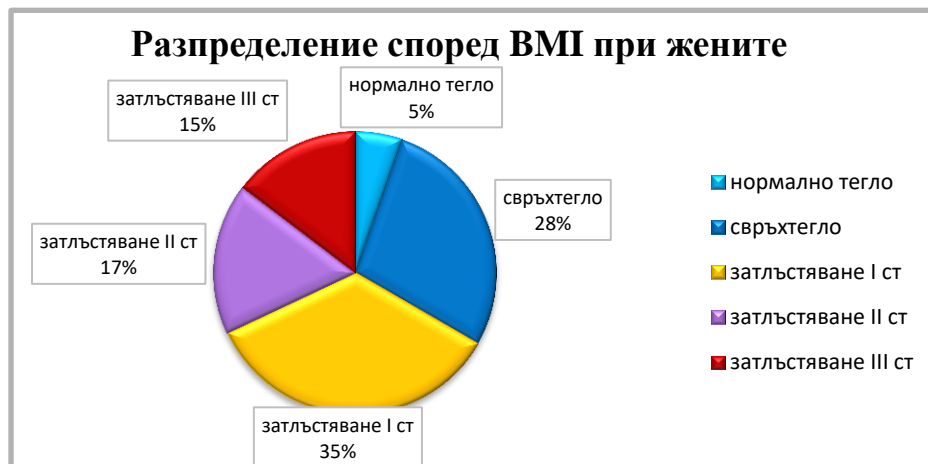
С нормално телесно тегло (ВМІ 18,5-24,9) са 7 от 131 пациенти (5,34%, 3 мъже и 4 жени). Със свръхтегло (ВМІ 25-29,9) са 33 пациенти (25,19%, 12 мъже и 21 жени). Със затлъстяване I степен (ВМІ 30-34,9) са 48 пациенти (36,64%, 22 мъже и 26 жени). Със затлъстяване II степен (ВМІ 35-39,9) са 24 пациенти (18,33%, 11 мъже и 13 жени). Със затлъстяване III степен (ВМІ ≥ 40) са 19 пациенти (14,50%, 8 мъже и 11 жени). С най-висок ВМІ - 66,98 е жена на 39г с телесно тегло 163 кг. и ръст 1,56 м. Резултатите са обобщени в таблица № 6, фигура №8 и 9.

	Мъже брой – 56	Жени брой -75	Общ брой	Процент
Нормално тегло	3	4	7	5,34%
Свръхтегло	12	21	33	25,19%
Затлъстяване I ст.	22	26	48	36,64%
Затлъстяване II ст.	11	13	24	18,33%
Затлъстяване III ст.	8	11	19	14,50%

Табл. 6 Разпределение по пол и ВМІ (n=131)



Фиг. 8 Разпределение според ВМІ при мъжете (n=56)



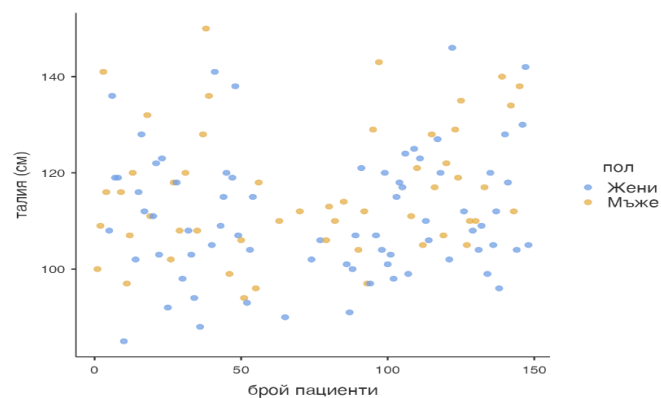
Фиг. 9 Разпределение според BMI при жените (n=75)

4.2.5. Резултати за коремна обиколка

Коремната обиколка е един от най-важните антропометрични показатели за наличие на висцерално затлъстяване, което е белег на метаболитния синдром и предпоставка за поява на чернодробна стеатоза. Затова определянето на коремната обиколка е от важно значение при клиничната оценка на пациентите с НАМЧБ.

В изследваната от нас група измерената средна коремна обиколка бе $113,21 \pm 13,41$ cm. при общо 126 пациенти (52 мъже и 74 жени), минимална стойност 85 cm. и максимална 150 cm. (фиг. 10). При всички 74 жени коремната обиколка бе над 80 cm. и при всички 52 мъже коремната обиколка бе над 94 cm., които пределни стойности според СЗО за европеидната раса определят наличието на висцерално затлъстяване и се свързват с по-висок здравен риск. При жените средната коремна обиколка бе $111,12 \pm 13,10$ cm. (85-146 cm.), а при мъжете $116,19 \pm 13,41$ (94-150 cm.).

Според СЗО се определят две нива на висцерално затлъстяване свързани съответно с повишен и значително повишен риск за метаболитно свързани болести и здравен риск (табл.12). В изследваната от нас група според тези критерии с коремна обиколка при мъжете ≥ 102 cm бяха 46 пациенти (88,46%), останалите 6 пациенти (11,53%) бяха с коремна обиколка ≥ 94 cm и < 102 cm. Сред жените 73 (98,65%) бяха с коремна обиколка ≥ 88 cm и само 1 (1,35%) е с коремна обиколка ≥ 80 cm и < 88 cm.



Фиг. 10 Разпределение според коремна обиколка при мъже (n=52) и жени (n=74).

4.2.6. Метаболитен синдром и НОМА-IR

Метаболитният синдром, като комплекс от взаимно свързани рискови фактори е в основата на НАМЧБ, която е негова чернодробна фенотипна изява. В изследваната от нас група от 148 лица, при 131 бяха налице повече от три критерия за МС, поради което бе прието неговото наличие (55 мъже и 76 жени). При останалите 17 пациенти беше установен само един или два критерия за МС (10 мъже и 7 жени). Резултатите са представени в таблица №8 и фигура № 11.

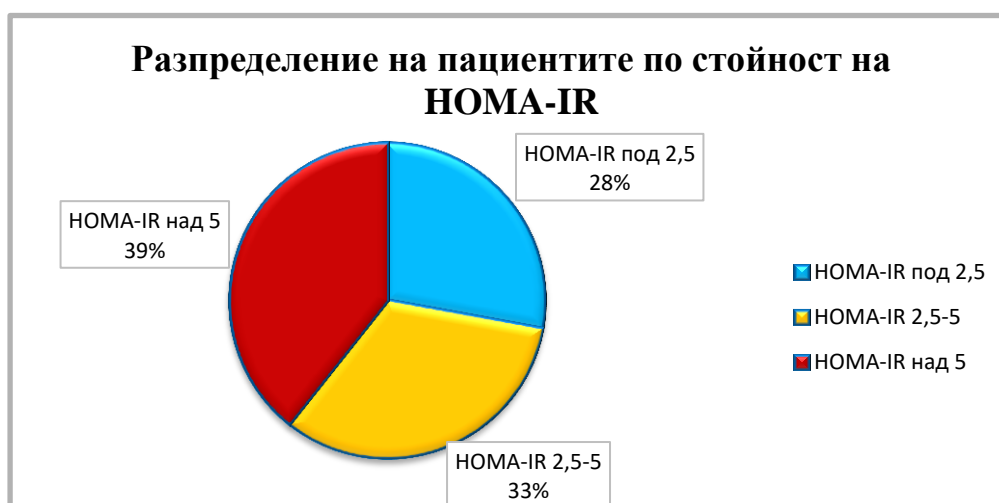
Пол	Метаболитен синдром		Обща сума
	Да (≥ 3 критерия)	Не (1 или 2 критерия)	
Жени	76	7	83
Мъже	55	10	65
Обща сума	131	17	148

Табл. 8 Наличие на МС



Фиг. 11 Наличие на МС по полове (n=148)

При 61 пациенти бе изчислен НОМА-IR. Установената средна стойност е $6,15 \pm 8,43$, минимална стойност 0,77 и максимална 56,84. Стойности по-големи от 2,5 се установиха при 44 пациенти и съответно по-малки от 2,5 при 17 пациенти. Стойности над 5,0 се установиха при 24 пациенти (фиг. 12).



Фиг. 12 Разпределение по стойност на НОМА-IR (n=61)

4.2.7. Резултати от лабораторни изследвания, имащи отношение към клиничната характеристика на пациентите с НАМЧБ

4.2.7.1. Стойности на АЛАТ, АСАТ, ГГТ, АФ и общ билирубин

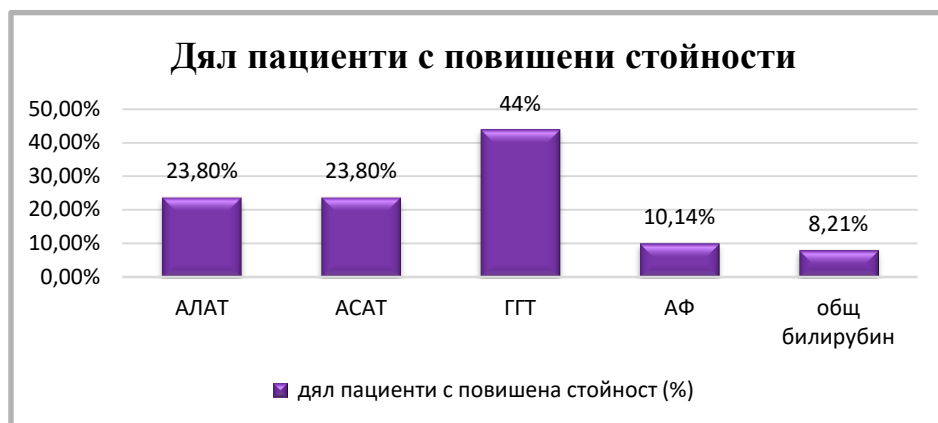
Изчислената средна стойност на АЛАТ е $41,73 \pm 50,28$, като над горната референтна граница от 49 U/l е установена при 35 пациенти (при общ $n=147$), т.е. при 23,80% има повишение на АЛАТ.

Изчислената средна стойност на АСАТ е $33,15 \pm 27,68$, като над горната референтна граница от 34 U/l е установена също при 35 пациенти (при общ $n=147$), т.е. при 23,80% има повишение на АСАТ.

ГГТ бе изследван при 109 пациенти (45 мъже и 64 жени), като неговата средна стойност е $64,94 \pm 88,14$ при мъжете и $49,08 \pm 55,61$ при жените, като над горната референтна граница (73 U/l при мъже и 38 U/l при жени) е установена при 48 пациенти (25 мъже и 23 жени), т.е. общо при 44% от изследваните пациенти се наблюдава повишение на ГГТ.

АФ бе изследвана при 69 пациенти (43 мъже и 26 жени), средната стойност е $91,78 \pm 47,20$. Стойности над горна референтна граница (129 U/l) се установиха при 7 пациенти – 10,14%, като увеличението е в лека степен до 2 пъти над нормата.

Установената средна стойност на общия билирубин е $11,42 \pm 6,64$ ($n=73$). Стойности над горна референтна граница се наблюдават при 6 пациенти (8,21%) и то в много лека степен до максимум 2 пъти над нормата. Увеличението на общия билирубин е предимно за сметка на индиректния билирубин, поради което вероятно се свързва с подлежащ синдром на Жилбер или извънчернодробна причина. Повишението в проценти на биохимичните показатели е представено във фигура №13.



Фиг. 13 Дял пациенти с повишени стойности на АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ, общ билирубин

Най-висок процент от пациентите се установява, че са с повишение на ГГТ и най-малко с повишение на АФ и билирубин. Подобни резултати от анализа на лабораторните изследвания при пациенти с чернодробна стеатоза се установява и в други български проучвания (табл.9).

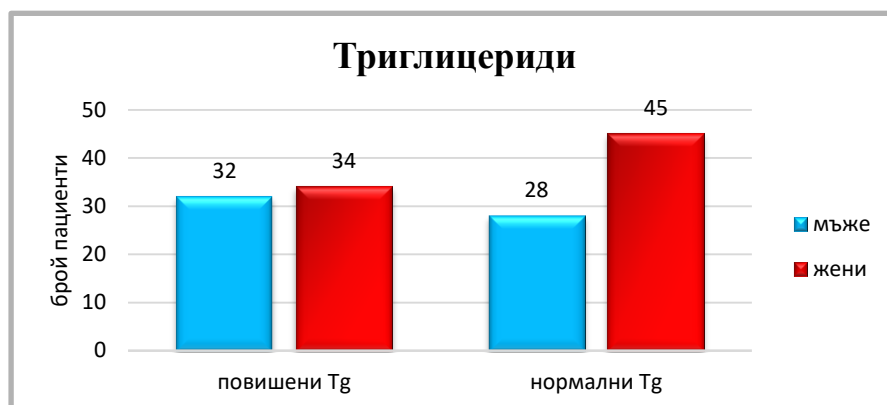
изследователи	АЛАТ	АСАТ	ГГТ	АФ	Общ билир.
Томова 2021	52%	48%	85%	32,9%	3%
Балабанска 2021	45,3%	37,6%	50,6%	1,2%	/
Наши данни	23,8%	23,8%	44%	10,14%	8,21%

Табл. 9 Съпоставка с данни от скорошни български проучвания

Учени от Американския колеж по гастроентерология, Станфорд предлагат през 2017 г. приемането на нови по-ниски стойности на долна граница на нормата за АЛАТ и АСАТ. По този начин се установява с по-голяма достоверност подлежащо хепатоцелуларно увреждане. Известно е, че нормални стойности на чернодробните ензими не изключват чернодробно увреждане. Стойностите на аминотрансферазите зависят от пола и възрастта. За истински нормални се приемат стойностите на АЛАТ от 29 до 33 IU/l за мъже и от 19 до 25 IU/l за жени. Стойности над тези се считат за повишени. При така предложените критерии в изследваната от нас група пациенти с АЛАТ над 33 IU/l са 39% от мъжете (n=25, от общо 64 мъже), с АЛАТ над 25 IU/l са 44,57% от жените (n=37 от общо 83 жени). Съответно от всички 147 пациенти с изследван АЛАТ с повишени стойности са 62 пациенти – 42,17%, спрямо едва 23,8% с повишена стойност съобразно общоприетата горна референтна стойност (г.р.с).

4.2.7.2. Резултати за триглицериди, HDL холестерол, общ холестерол

Средната стойност на серумните триглицериди при изследваните пациенти (n=139) е $2,09 \pm 1,48$ (от 0,58 mmol/l до 10,27 mmol/l). Повишени стойности ($\geq 1,7$ mmol/l) се наблюдават при 66 пациенти (47,48%), от които 32 мъже и 34 жени, съответно нормални стойности се наблюдават при 73 пациенти (52,52%), от които 28 мъже и 45 жени (фиг. 14).



Фиг. 14 Разпределение на пациентите по пол (в брой) и стойност на 3-Гл

HDL холестерол е измерен при 67 пациенти, 30 мъже и 37 жени. Средната стойност в серума е $1,14 \pm 0,39$ mmol/l (от 0,57 mmol/l до 1,47 mmol/l). Понижени стойности под 1,3 mmol/l при жените се установяват при n=25, а по-високи стойности при 12 пациентки. При мъжете с понижени стойности под 1,0 mmol/l са 15 и също толкова n=15 с нормални стойности. Общо пациентите с понижен HDL холестерол са 40 (59,7%), а с нормален 27 (40,3%) (фиг. 15).



Фиг. 15 Разпределение по стойността на HDL холестерол

Нивото на общия серумен холестерол е измерено при 118 пациенти, 51 мъже и 67 жени (от 2,55 mmol/l до 7,95 mmol/l). Средната стойност е $5,24 \pm 1,2$ mmol/l. Повишени стойности над 5,18 mmol/l са установени при 66 пациенти, 56% (27 мъже и 39 жени), а нормални стойности при 52 пациенти, 44% (24 мъже и 28 жени).

4.2.8. Обобщени демографски, клинични и лабораторни данни за изследваната група пациенти, представени по пол (табл. 10 и 11)

Descriptives - мъже					
	Възраст	BMI=	Тегло	Талия (cm)	Ръст (cm)
N	65	56	56	52	56
Mean	50.4	33.4	103	116	1.75
Median	51	32.8	104	113	1.76
Standard deviation	14.0	6.05	20.1	13.4	0.0839
Minimum	23	22.0	67.3	94	1.50
Maximum	77	51.4	145	150	1.92
Descriptives - жени					
	Възраст	BMI=	Тегло	Талия (cm)	Ръст (cm)
N	83	75	75	74	76
Mean	59.8	33.5	87.8	111	1.62
Median	60	32.4	85.7	109	1.62
Standard deviation	11.0	7.25	18.3	13.1	0.0624
Minimum	28	20.2	43.0	85	1.46
Maximum	82	67.0	163	146	1.76

Табл. 10 Обобщени демографски и клинични данни по пол

Лабораторен показател (n-брой)	Средна стойност	SD	В норма (n, %)	Извън норма (n, %)
АЛАТ (147)	41,73	50,28	112 (76,2%)	Повишен-35 (23,8%)
АСАТ (147)	33,76	27,68	112 (76,25%)	Повишен-35 (23,8%)
ГГТ(109)	64,94-мъже 49,08-жени	88,14 55,61	61 (56%)	Повишен-48 (44%)
АФ (69)	91,78	47,20	62 (89,86%)	Повишен-7 (10,14%)
Общ билирубин (73)	11,42	6,64	67 (91,79%)	Повишен-6 (8,21%)
Тромбоцити (146)	269,36	73,82	144 (98,6%)	Понижен-2 (1,4%)
Триглицериди (139)	2,09	1,48	73 (52,52%)	Повишен-66 (47,48%)
HDL холестерол (67)	1,14	0,39	27 (40,35%)	Понижен-40 (59,7%)
Общ холестерол(118)	5,24	1,2	52 (44%)	Повишен-66 (56%)
Албумин (147)	43,98	3,83	147 (100%)	0%

Табл. 11 Обобщени данни на отклонените лабораторни изследвания

4.2.9. Абдоминална ехография

При всички 148 пациенти е извършена абдоминална ехография. Преценена е ехогенността на черния дроб, спрямо паренхима на десния бъбрек, визуализацията на вътречернодробните съдове, диафрагмата, задните сегменти на десен лоб и стената на жлъчния мехур, въз основа на което е степенувана стеатозата, като лека, умерена и тежка (табл.12). При 3 пациенти с метаболитен синдром, при които е извършена скринираща ехография, е преценено че няма ехографски данни за стеатоза. При проведения след това фиброскен с измерен САР се установяват данни за лека стеатоза при двама от тези пациенти, а при единия стойностите са гранични спрямо приетия от нас cut-off за наличие на стеатоза (211 dB/m спрямо 213 dB/m). При 28 пациенти стеатозата е преценена като лека (1 ст.), от които 14 мъже (50%) и 14 (50%) жени. При 51 пациенти стеатозата е оценена като умерена (2 ст.), от които 19 (37,25%) мъже и 32 (62,75%) жени. При 66 пациенти стеатозата е оценена като изразена (3 ст.), от които 31 (46,97%) мъже и 35 жени (53,03%). Съответно от всички 148 пациенти 2% са оценени ехографски без стеатоза (n=3), 19% с лека стеатоза (n=28), 34,4% са оценени с умерена стеатоза (n=51) и 44,6% с тежка (изразена) стеатоза (n=66) (фиг. 16 и 17).



Фиг. 16 Разпределение по тежест на стеатозата според ехографското изследване (n=148)



Фиг. 17 Разпределение по пол и тежест на стеатозата според ехографското изследване (n=148)

Измерен е също така предно – заден размер на черен дроб по хода на дясна медиоклавикуларна линия (ДМКЛ). Приетата нормална стойност за максимален размер на черен дроб е 140 см. При 104 пациенти (70,27%) е установена хепатомегалия с размер на черния дроб над 140 мм. Максималната измерена стойност е 224 мм., при двама мъже на 52 години с изразена стеатоза.

Оценено е наличието на огнищна липса на стеатоза (focal sparing), като при 34 пациенти е установена такава на типично място около ложето на жлъчния мехур в десен дял. Описана е повърхността и структурата на черния дроб, преценена е неговата еластичност и наличието на данни за портална хипертония.

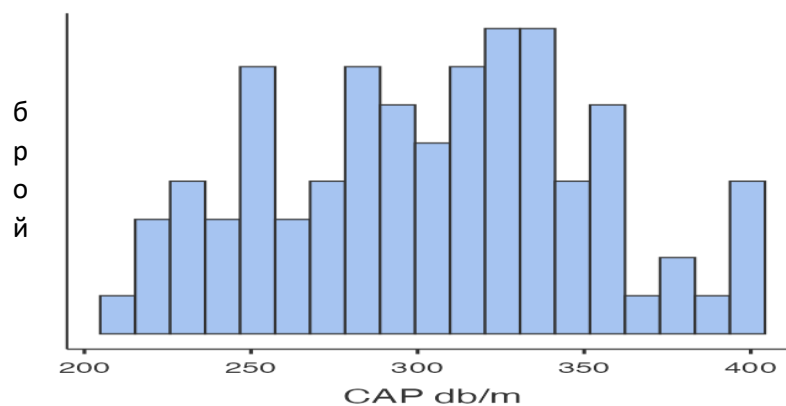
При 2 от пациентите са установени ехографски данни за чернодробна цироза, което е потвърдено от извършения след това фиброскен с измерване на чернодробна плътност. Пациентите са жени на възраст 55г и 73г., с данни за метаболитен синдром. Съответно стойностите на F при тези пациенти са 24,5 кРа и 20,9 кРа. Пациентките са с нормална синтетична чернодробна функция и при проведената гастроскопия нямат варици на хранопровода.

При 8 пациенти от всичките 148, предвид описателната и субективна преценка на ехографското изследване е установена намалена чернодробна еластичност (въз основа на предаването на ударите на сърцето върху десен дял и промяна на тъгля на ляв дял при вдишване). 4 от тези пациенти са от групата с проведен фиброскен, като при един от тях е установена значима фиброза F – със стойност 10,3 кРа, 1 е с гранична стойност липсваща/напреднала фиброза 7,9 кРа, а останалите 2 са с нормална чернодробна плътност съответно 6,5 кРа и 3,3 кРа. При останалите 4 пациенти определените скорове за фиброза са под стойностите дефиниращи налична значима фиброза.

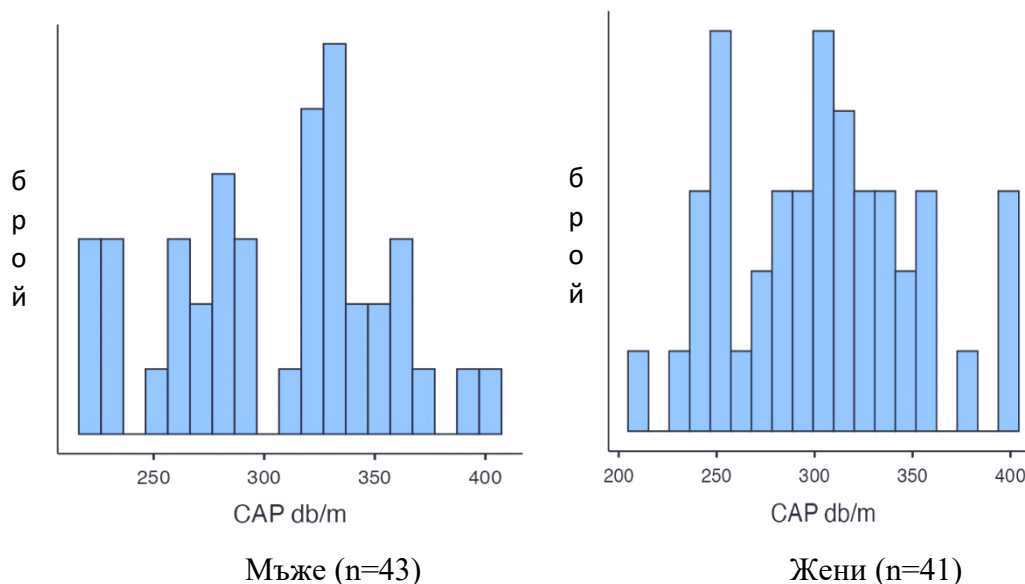
4.2.10. Резултати от определяне степен на стеатозата с CAP

Определяне на параметъра на ултразвуково отслабване (CAP, controlled attenuation parameter) с фиброскен е извършено при 84 пациенти. Измерената средна стойност на CAP е $304,39 \pm 47,50$ dB/m, с минимална стойност 211 dB/m и максимална стойност 400 dB/m (фиг. 18). Средната стойност при мъжете (n=43) е $304,33 \pm 46,85$ dB/m, с минимална стойност 211 dB/m и максимална стойност 400 dB/m. При жените

(n=41) средната стойност е сходна $304,46 \pm 48,75$ dB/m, с минимална стойност 219 dB/m и максимална стойност 400 dB/m (фиг. 19).



Фиг. 18 Измерени стойности на CAP в dB/m в изследваната група (n=84)



Фиг. 19 Измерени стойности на CAP в dB/m при мъжете и жените

При определяне на степента на стеатозата според CAP въз основа на литературни данни от проучвания и метаанализи по света и в България приехме следните cut-off стойности: S0 – при стойности под 215 dB/m, S1 – при стойности до 253 dB/m, S2 – при стойности до 300 dB/m и S3 при стойности над 300 dB/m.

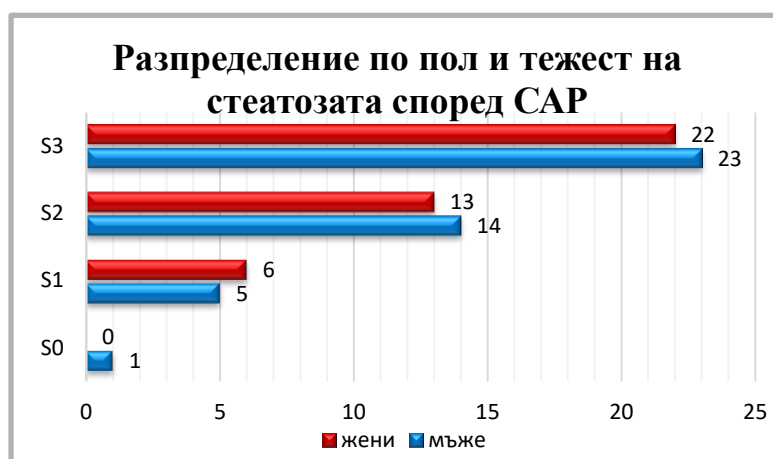
Според така приетите данни съответно само 1 пациент е със степен S0, без стеатоза - 1,19%, степен S1 са 13% от пациентите, n=11, степен S2 са 27 пациенти, съответно 32,14% от общия брой, степен S3 са 45 пациенти, съответно 53,58% от общия брой изследвани (фиг. 20).



Фиг. 20 Разпределение по тежест на стеатозата според САР (n=84)

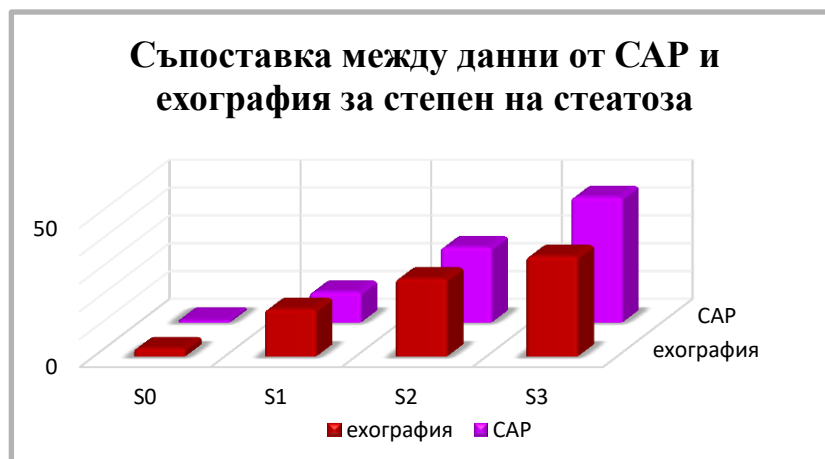
Разпределението по пол и степен на стеатозата съответно е: при S0 – 1 мъж, S1 – 11 пациенти, от които 5 мъже (45,45%) и 6 жени (54,55%), S2 – 27 пациенти, от които 14 мъже (51,85%) и 13 жени (48,15%), S3 – 45 пациенти, от които 23 мъже (51,11%) и 22 жени (48,89%) (фиг. 21). Разпределението по пол при различните степени на стеатоза е почти еднакво.

Разпределението според степента на стеатозата при мъжете (n=43) съответно е S0 – 1 пациент 2%, S1 - 5 пациенти 11%, S2 – 14 пациенти 33%, S3 – 23 пациенти 54%. При жените (n=41) – S1 - 6 пациентки 15%, S2 – 13 пациентки 32%, S3 – 22 пациентки 53%.



Фиг. 21 Разпределение по пол и тежест на стеатозата според САР (n=84)

Сред разглежданата група от 84 пациенти с ехография и САР, стеатозата е стадирана от ехографското изследване, като: S0, без стеатоза – n=3 (3,5%), S1 (лека) – n=17 (20,23%), S2 (умерена) – n=28 (33,37%) и S3 (тежка) – n=36 (42,9%). Съпоставка на данните от ехография и САР, при тези пациенти е представено на фиг.22.



Фиг. 22 Съпоставка на данните от CAP и ехография за разпределение по степени на стеатоза

4.2.11. Резултати от изследваните скорове за стеатоза

- *HSI* – *Hepatic steatosis index* – скор включващ АЛАТ, АСАТ, ВМІ, пол, наличие на ЗД. При стойности <30 се приема, че отхвърля NAFLD, а при стойности >36, HSI се приема наличие на NAFLD. Изчислен е при 130 пациенти, като средната стойност е $45,79 \pm 7,69$, минимална стойност 27,43, максимална 81,92. Само при един пациент е установен индекс със стойност под 30 – 27,43, а при 125 пациента е установена стойност над 36. Останалите 4 пациента са в сивата зона между 30 и 36. HSI е лесен и ефикасен скринингов инструмент за НАМЧБ, който може да се използва за избор на индивиди за ехография на черния дроб и за определяне на необходимостта от модификация на начина на живот.

- *LAP* – *Lipid Accumulation Product* – скор включващ коремна обиколка, 3-Гл, пол. Предложените стойности при валидиране на теста са: стойност на LAP <20 - без стеатоза докато, при LAP ≥ 80 се приема чернодробна стеатоза. Определен е LAP при 122 пациенти, със средна стойност $110,30 \pm 84,33$, минимален 27,60, максимален 587,59. Съответно в изследваната група липсва пациент със стойност под 20, а със стойност над 80 са 70 пациенти. С междинна стойност между 20 и 80 са 52 пациенти.

- *Fatty liver index (FLI)* – скор включващ ВМІ, коремна обиколка, ниво на 3-Гл и ГГТ. Стойностите на индекса варират от 0 до 100. Приема се, че FLI под 30 отхвърля стеатоза, а FLI над или равен на 60 доказва стеатоза. Определен е FLI при 88 пациенти, със средна стойност $19,87 \pm 23,67$, минимална стойност 0,9 и максимална стойност 98,08. FLI със стойност под 30 е установен при 71 пациенти, а със стойност над 60 е установен само при 7 пациенти. С междинна стойност между 30 и 60 са 10 пациенти.

- *NAFLD liver fat score* – скор включващ наличие на ЗД, серумен инсулин, АСАТ, съотношение АСАТ/АЛАТ. За оптимална гранична стойност (Cut-off) се приема стойност > -0,64 с чувствителност 86% и специфичност 71%. Изчислен бе при 61 пациенти, със средна стойност $1,8 \pm 3,85$, минимална стойност -4,82 и максимална стойност 22,86. Скор със стойност над -0,64 е установен при 52 пациенти, а със стойност под -0,64 съответно е установен при 9 пациенти.

4.2.12. Статистически анализ на резултатите от измерването на стеатозата чрез фиброскен CAP (Controlled Attenuation Parameter) и нейната връзка с клиничната характеристика на пациентите, определените индекси за стеатоза и съпоставка с резултатите за фиброза от фиброскен.

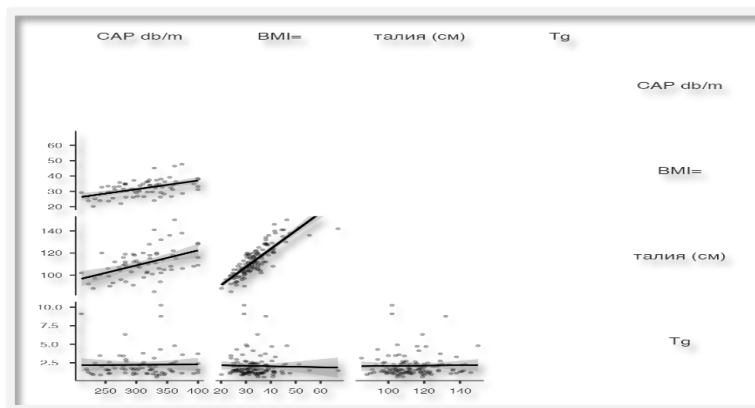
Използван е корелационен анализ за изследване на зависимостите между клиничните показатели и установяване на силата на тяхното влияние върху степента на стеатозата измерена чрез CAP. Оценката на силата на зависимостта между променливите се базира на резултатите от коефициента на Pearson (r) и на Spearman (rho).

Резултатите от корелационния анализ показаха силна степен на асоциация между BMI и степен на стеатозата от CAP ($r=0,503$, $p=0,001$) свидетелстващо за паралелното нарастване на степента на стеатоза при увеличаване на стойностите на индекса на телесната маса. Силна корелационна връзка се наблюдава и между стойността на CAP и обиколката на талията ($r=0,481$, $p=0,001$). Корелационният анализ показва слаба асоциация между стойността на CAP и степента на увеличение на триглицеридите ($r=0,010$, $p=0,929$) (табл. 13 и фиг. 23).

Correlation Matrix											
				CAP db/m		BMI=		талия (cm)		3-Гл	
CAP db/m		Pearson's r		—							
		p-value		—							
BMI=		Pearson's r		0.503 ***		—					
		p-value		< .001		—					
талия (cm)		Pearson's r		0.481 ***		0.835 ***		—			
		p-value		< .001		< .001		—			
3-Гл		Pearson's r		0.010		-0.029		0.022		—	
		p-value		0.929		0.748		0.810		—	

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 13 Корелационен анализ по Pearson на CAP спрямо BMI, коремна обиколка и триглицериди



Фиг. 23 Графично представяне на горепосочените резултати

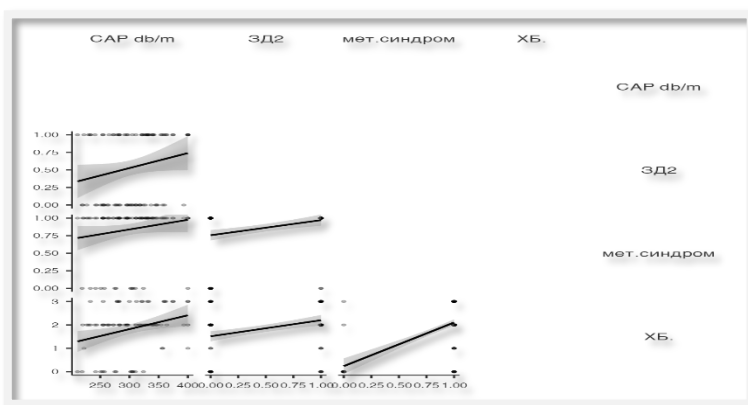
Корелационен анализ по метода на Spearman е използван за изследване на зависимостите между категориите клинични показатели – стадий на ХБ, наличие на ЗД и на метаболитен синдром за установяване на силата на тяхното влияние върху

степенята на стеатозата измерена чрез CAP (табл. 14 и фиг. 24). Анализът показва, че съществува умерена положителна зависимост между ХБ и степента на стеатоза ($\rho=0,277$, $p=0,011$), следователно степента на стеатозата нараства паралелно с нарастването на степента на ХБ и нейната давност. Описана е и статистически значима връзка между наличие на МС и ЗД, но анализът на резултатите показва, че в нашата изследвана група корелационната зависимост за тези клинични показатели е слаба, тъй като корелационният коефициент на Spearman е със стойност съответно $\rho=0,203$, $p=0,064$ за МС и $\rho=0,209$, $p=0,056$ за ЗД тип 2.

Correlation Matrix										
		CAP db/m		ЗД2		мет. синдром		ХБ.		
CAP db/m	Spearman's rho	—								
	p-value	—								
ЗД2	Spearman's rho	0.209	—							
	p-value	0.056	—							
мет. синдром	Spearman's rho	0.203	0.308	***	—					
	p-value	0.064	< .001		—					
ХБ стадий	Spearman's rho	0.277	*	0.347	***	0.540	***	—		
	p-value	0.011		< .001		< .001		—		

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 14 Корелационен анализ по метода на Spearman на CAP спрямо наличие на ЗД тип 2, МС и стадий на ХБ.



Фиг. 24 Графично представяне на горепосочените резултати

За да установим връзката между компонентите на метаболитния синдром и CAP и да определим количественото съотношение между тях и степента на стеатозата, определена при CAP, т.е. за да измерим факторните влияния и конкретните ефекти от влиянието на компонентите на МС върху степента на стеатозата, използвахме Регресионен анализ (табл. 15). Компонентите на МС – наличие на ХБ, наличие на гликемични нарушения, повишените 3-Гл, увеличената коремна обиколка и промените в HDL – холестерол са предиктори за появата на чернодробна стеатоза и за определяне на нейната степен. Всички компоненти са важни, но съставения от нас регресионен модел установи, че с най-голяма предиктивна сила за поява и степен на тежест на стеатозата определена с CAP е нарастването на коремната обиколка, който е и основният фактор, презентиращ степента на висцерално затлъстяване ($p=0,002$).

Регресионният модел показва, че нарастването на талията с 1,6 cm води до съответно нарастване на степента на стеатозата с 2 dB/m.

Model Fit Measures

Model	R	R ²	Adjusted R ²
1	0.533	0.285	0.195

R=0.285, p<0.05

Model Coefficients - CAP db/m

Predictor	Estimate	SE	t	p	Stand. Estimate
Intercept	117.967	52.040	2.267	0.029	
ЗД2	-7.289	15.864	-0.459	0.648	-0.0658
ХБ	6.376	8.094	0.788	0.435	0.1155
3-Гл	-0.761	3.343	-0.228	0.821	-0.0343
HDL холестерол	0.853	5.323	0.160	0.874	0.0236
талия (cm)	1.683	0.495	3.396	0.002	0.4894

Табл. 15 Linear Regression - модел за предиктивност на CAP dB/m от компонентите на метаболитния синдром

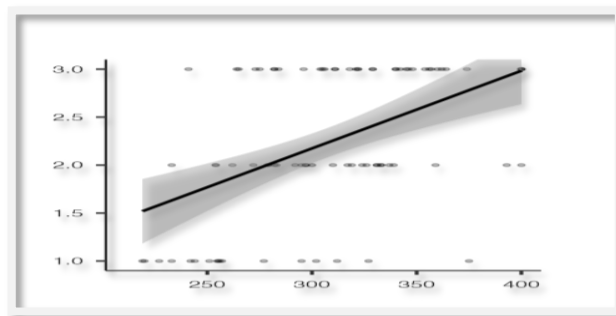
Корелационен анализ по метода на Spearman е използван за изследване на зависимостите между ехографски определената степен на стеатоза и стеатозата определена с CAP. Резултатите показват висока степен на корелация (rho=0,462, p=0.001), свидетелстваща за увеличаване на CAP с всяка степен на стеатозата (табл. 16, фиг. 25).

Correlation Matrix

		CAP db/m	ехо-стеатоза степен
CAP db/m	Spearman's rho	—	
	p-value	—	
ехо-стеатоза степен	Spearman's rho	0.462***	—
	p-value	<.001	—

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001, one-tailed

Табл. 16 Корелация между ехографска степен на стеатоза и CAP



Фиг. 25 Графично представяне на корелацията между степента на стеатозата определена ехографски и стеатозата от CAP в dB/m

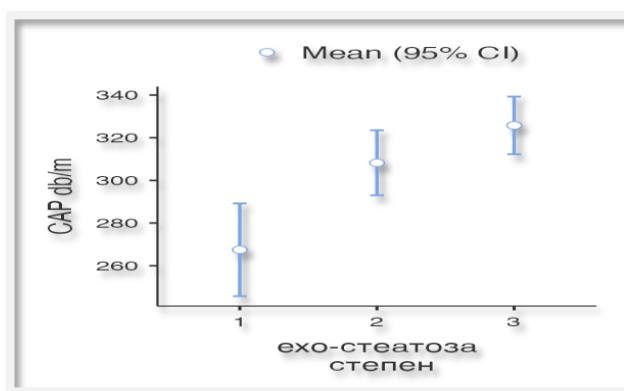
Вариационният (One-way ANOVA) анализ е използван за определяне дали са налице статистически значими разлики между трите групи на стеатоза (табл. 17, фиг. 26). Установи се статистически значима разлика между трите степени на стеатоза ($F=11,2$, $p=0,001$).

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
CAP db/m	11.2	2	41.1	<.001

Group Descriptives						
	ехо-стеатоза степен	N	Mean	SD	SE	
CAP db/m	1	17	267	42.3	10.25	
	2	28	308	39.3	7.43	
	3	36	326	39.9	6.66	

Табл. 17 One-Way ANOVA анализ на трите степени на стеатоза



Фиг. 26 Графично представяне на горепосочените резултати

За да определим между кои точно групи на стеатоза има значима разлика използвахме Post Hoc Test по метода на Tukey (табл. 18). Съпоставиха се средните стойности на трите степени на стеатоза. Установи се че има значима разлика по стойностите на CAP между първа и втора степен на ехографски определена стеатоза

($p=0,004$) и между 1 и 3 степен ($p=0,001$), но не се открива значима разлика между 2 и 3 ехографски определена степен ($p=0,201$). Следователно за по-точно определяне на установената ехографски стеатоза и отдиференцирането на умерена от тежка стеатоза се препоръчва извършване на еластография с определяне на CAP.

Tukey Post-Hoc Test – CAP dB/m						
		1	2	3		
1	Mean difference	—	-40.8	-58.3		
	p-value	—	0.004	< .001		
2	Mean difference		—	-17.5		
	p-value		—	0.201		
3	Mean difference			—		
	p-value			—		

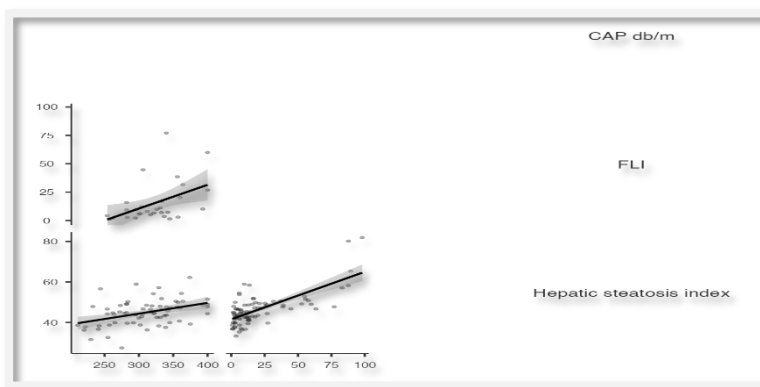
Табл. 18 Post Hoc Tests по метода на Tukey за трите степени на стеатоза

Използван е корелационен анализ по метода на Pearson за изследване на зависимостите между CAP и индексите за стеатоза – FLI (fatty liver index) и HSI (hepatic steatosis index) (табл. 19 и фиг. 27). Откри се умерено силна статистическа зависимост за CAP и FLI ($r=0,451$, $p=0,012$), и за CAP и HSI ($r=0,404$, $p=0,001$), т.е. CAP нараства паралелно с HSI & FLI.

Correlation Matrix						
		CAP db/m	FLI	Hepatic steatosis index		
CAP db/m	Pearson's r	—				
	p-value	—				
FLI	Pearson's r	0.451 *	—			
	p-value	0.012	—			
Hepatic steatosis index	Pearson's r	0.404 ***	0.709 ***	—		
	p-value	< .001	< .001	—		

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 19 Корелационен анализ по Pearson на CAP спрямо индексите за стеатоза - FLI и HSI



Фиг. 27 Графично представяне на горепосочените резултати

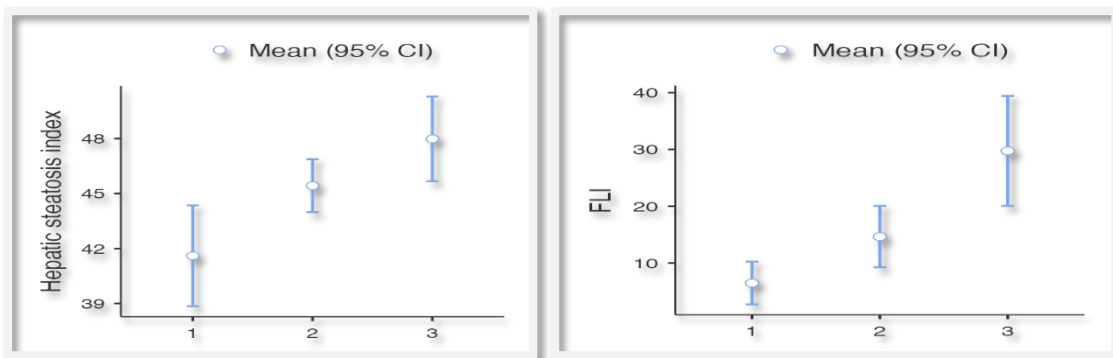
Извърши се One-way ANOVA анализ за определяне дали са налице статистически значими разлики между трите групи на стеатоза определени по средни стойности на CAP и HIS и FLI (табл. 20 и фиг. 28). Установиха се статистически значими разлики между трите степени на стеатоза при определените стеатозни индекси, за HSI ($F=6,55$, $p=0,003$), а за FLI ($F=11,86$, $p=0,001$).

One-Way ANOVA (Welch's)

	F	df1	df2	p
Hepatic steatosis index	6.55	2	56.0	0.003
FLI	11.86	2	56.0	<.001

Group Descriptives						
	ехо-стеатоза степен	N	Mean	SD	SE	
Hepatic steatosis index	1	21	41.60	6.05	1.319	
	2	45	45.43	4.81	0.717	
	3	61	47.98	9.03	1.156	
FLI	1	14	6.48	6.51	1.739	
	2	36	14.65	15.96	2.660	
	3	38	29.75	29.45	4.777	

Табл. 20 Сравнение по групи стеатоза от САР и стойности на FLI и HSI



Фиг.28 Графично представяне на горепосочените данни

Използвахме Post Hoc Test по метода на Tukey за да определим между кои точно групи на стеатоза има значима разлика в стойностите на HSI и FLI. Съпоставиха се средните стойности при трите степени на стеатоза. Установи се, че при HSI има статистически значима разлика между 1 и 3 степен на стеатоза ($p=0,002$), но липсва значима разлика между 2 и 3 степен ($p=0,182$), както и между 1 и 2 степен ($p=0,122$) (табл. 21). За FLI данните показват чувствителна разлика между 1 и 3 степен ($p=0,003$), но също така и между 2 и 3 степен ($p=0,012$) (табл. 22). Следователно и двата индекса биха могли да се използват като скрининг за наличие на стеатоза, като FLI би могъл по-добре да ни ориентира и за степента на стеатозата.

Tukey Post-Hoc Test – Hepatic steatosis index					
		1	2	3	
1	Mean difference	—	-3.83	-6.38	
	p-value	—	0.122	0.002	
2	Mean difference		—	-2.55	
	p-value		—	0.182	
3	Mean difference			—	
	p-value			—	

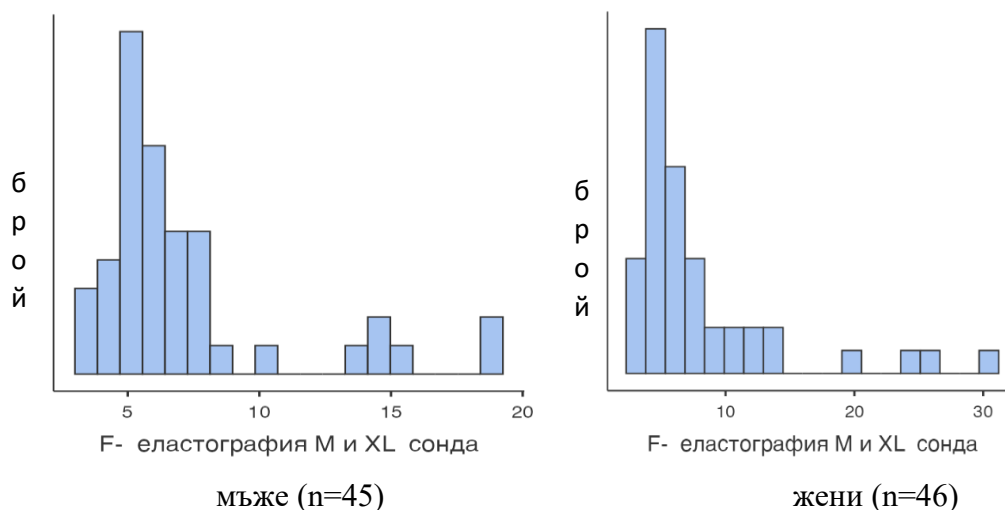
Табл. 21 Съпоставка между трите степени на стеатоза спрямо HSI

Tukey Post-Hoc Test – FLI					
		1	2	3	
1	Mean difference	—	-8.17	-23.3	
	p-value	—	0.472	0.003	
2	Mean difference		—	-15.1	
	p-value		—	0.012	
3	Mean difference			—	
	p-value			—	

Табл. 22 Съпоставка между трите степени на стеатоза спрямо FLI

4.2.13. Резултати от определяне стадий на фиброза чрез измерване чернодробната плътност с фиброскен

Чернодробната плътност с фиброскен е измерена при 91 пациенти и нейната средна стойност е $7,54 \pm 5,03$ кРа, с минимална стойност 2,5 и максимална 29,9 кРа. При мъжете (n=45) е измерена средна стойност на стадия на фиброза $7,17 \pm 3,77$ кРа, а при жените (n=46) средната стойност е $7,91 \pm 6,04$ кРа (фиг. 29).

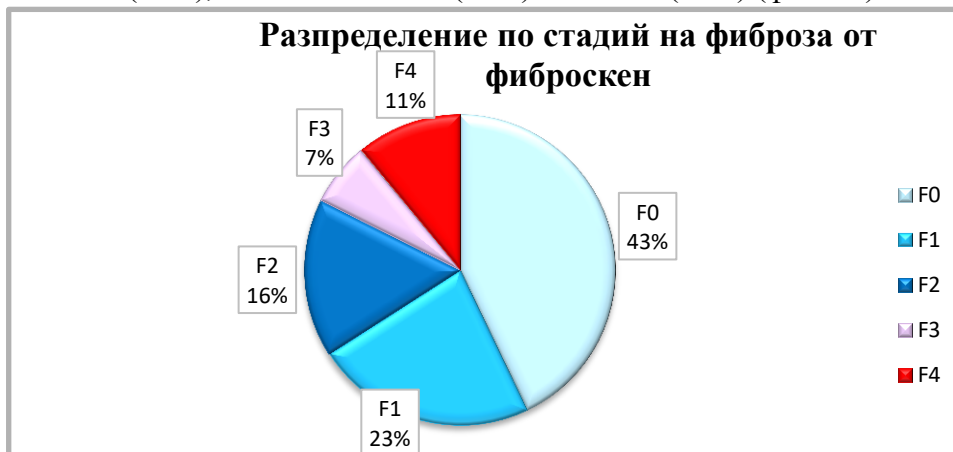


Фиг. 29 Измерени стойности на чернодробна плътност в кРа, чрез фиброскен при мъжете и жените

Оценка на стадия на фиброзата от 0 до 4 е осъществена според приетите гранични стойности (cut-off), от метаанализи на поручвания при пациенти с NAFLD и NASH. За нормална еластичност приемаме стойности до 5-5,5 кРа, фиброза стадий F1 се приема до 7 кРа, фиброза стадий F2 се приема до 10 кРа, фиброза стадий F3 се приема до 14 кРа, а фиброза стадий F4, т.е. цироза над 14 кРа. За оптимален cut-off за

напреднала фиброза, приемаме 9,9 кРа (стадий F3 и F4), а при чернодробна плътност под 7,9 кРа липса на значима фиброза (F0-1).

В изследваната от нас група преобладават пациенти без данни за фиброза - F0 и стойност от проведения фиброскен под 5,5 кРа – 39 пациенти (42,85%), от които 17 мъже (43,59%) и 22 жени (56,41%) (фиг. 30). С лека фиброза F1 (5,5-7 кРа) са 21 пациенти (23,08%), от които 14 мъже (66,67%) и 7 жени (33,33%). С фиброза F2 (до 9,9 кРа) са 15 пациенти (16,48%), от които 7 мъже (46,67%) и 8 жени (53,33%). С напреднала фиброза F3 (над 10 кРа до 14 кРа) са 6 пациенти (16,48%), от които 2 мъже (33,33%) и 4 жени (66,67%). С данни за фиброза F4, съответстваща на цироза (над 14 кРа) са 10 пациенти (11%), от които 5 мъже (50%) и 5 жени (50%) (фиг. 31).



Фиг. 30 Разпределение по фиброзен стадий според измерената чернодробна плътност с фиброскен (n=91)



Фиг. 31 Разпределение по пол и чернодробна плътност спрямо резултати от фиброскен (n=91)

Разпределението на фиброзата по пол е следното: при мъжете (n=45), F0 – 17 (37,78%), F1 – 14 (31,11%), F2 – 7 (15,56%), F3 – 2 (4,44%), F4 – 5 (11,11%), при жените (n=46), F0 – 22 (47,82%), F1 – 7 (15,22%), F2 – 8 (17,39%), F3 – 4 (8,7%), F4 – 5 (10,87%).

В изследваната от нас група пациенти преобладават тези с липсваща или лека фиброза (F0 и F1, 66%), което съответства на литературните данни за характеристиката и клиничния ход на болестта в световен мащаб. Пациентите с напреднала фиброза и цироза, които са основните предиктори за агресивен ход на болестта, представляват сериозен дял от изследваната група (F3 и F4, 17,6%), което налага тяхното активно

търсене и по-активно наблюдение с оглед високата честота на чернодробно-обусловена болестност и болестност от ССЗ и необходимостта от тяхното лечение. Делът на пациентите със значима фиброза F2 е 16,4%. Тези пациенти са в обратима фаза на чернодробните изменения и биха се повлияли благоприятно от предприемане на мерки по отношение на хранителен и двигателен режим и лечение на метаболитните нарушения. Проведеното изследване на чернодробна плътност е от изключително значение за клиничната оценка на пациентите и тяхната рискова стратификация и определяне на по-нататъшно поведение.

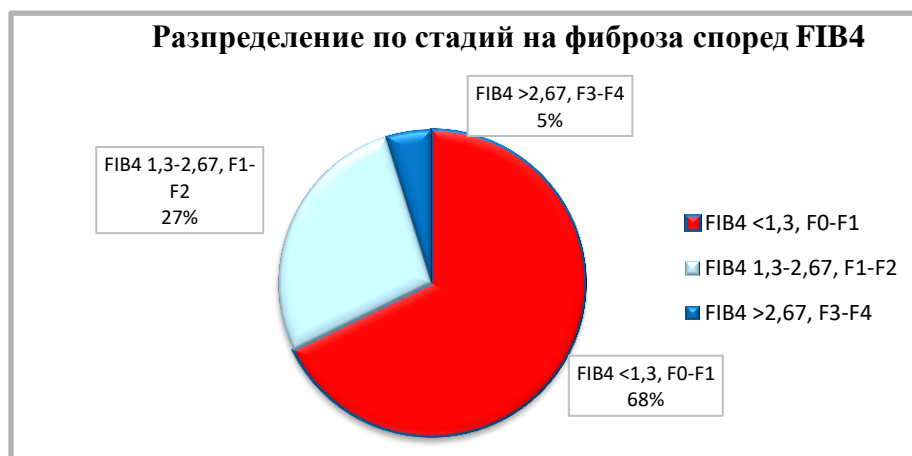
4.2.14. Резултати от изследваните точкови (скорови) модели за фиброза

Фиброза стадий 4 (FIB-4) - бе изчислен на база стойностите на възраст, АСАТ, АЛАТ и тромбоцити по съответната формула. FIB-4 < 1,30 отхвърля напреднала фиброза (F0-F1), FIB-4 между 1,30 и 2,67 – сива зона, а FIB-4 > 2,67 предсказва напреднала фиброза (F3 – F4). Скорът е определен при 146 пациента (мъже – 63 и жени – 83), като средната стойност е 1,20±0,73, минимална 0,31 и максимална 5,37.

Стойности по-ниски от 1,3 отговарящи на липса на напреднала фиброза, т.е. F0-F1 се установяват при 99 пациенти (67,8%), мъже 45 и жени 54. Стойности над 2,67, които са предиктивни за наличие на напреднала фиброза, т.е. F3-F4 са 7 (4,8%), мъже 2 и жени 5. Неопределен скор в сивата зона, т.е. между 1,3 и 2,67, отговарящ на умерена фиброза имат 40 пациенти (27,4%), мъже 16 и жени 24 (табл. 23 и фиг. 32).

FIB-4 / фиброза	мъже	жени	Обща сума	Относителен дял в %
FIB4 <1,3, F0-F1, липсваща или лека	45	54	99	67,8%
FIB4 1,3-2,67, F1-F2, умерена (сива зона)	16	24	40	27,4%
FIB4 >2,67, F3-F4 напреднала	2	5	7	4,8%
Обща сума	63	83	146	100%

Табл. 23 Резултати от FIB-4 скор - разпределение по пол и стадий на фиброза (n=146)



Фиг. 32 Разпределение по стадий на фиброза според FIB-4 (n=146)

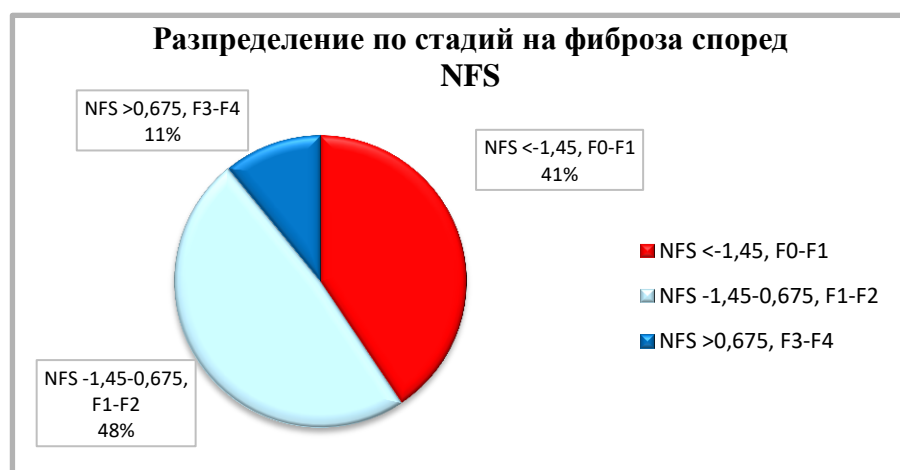
Негативната предсказваща стойност за изключване на напреднала фиброза е висока отколкото позитивната предсказваща стойност, следователно неинвазивните скорове могат да се използват, като първа линия рискова стратификация за изключване на напреднала болест.

NFS (NAFLD fibrosis score) е изчислен на база стойностите възраст, ИТМ, повишена гликемия на гладно или ЗД тип 2, АСАТ, АЛАТ, тромбоцити и албумин. NFS <-1.455 – отхвърля сигнификантна фиброза (F0-F2), NFS между $\leq -1,455$ и $\leq 0,675$ – сива зона, NFS >0,675 - предиктор за наличие на сигнификантна фиброза (F3-F4). Скорът е определен при 128 пациенти (мъже – 53 и жени – 75), като средната стойност е $-1,19 \pm 1,41$, минимална -4,49 и максимална 2,58.

Стойности по-ниски от -1,45 отговарящи на липса на напреднала фиброза, т.е. F0-F1 се установяват при 52 пациенти (40,62%), мъже 22 и жени 30. Неопределен скор в сивата зона, т.е. между -1,45 и 0,675, отговарящ на умерена фиброза имат 62 пациенти (48,44%), мъже 26 и жени 36. Стойности над 0,675, които са предиктивни за наличие на напреднала фиброза, т.е. F3-F4 са установени при 14 пациенти (10,94%), мъже 5 и жени 9 (табл. 24 и фиг. 33).

NFS / фиброза	мъже	жени	Обща сума	Относителен дял в %
NFS <-1,45, F0-F1, липсваща или лека	22	30	52	40,62%
NFS -1,45-0,675, F1-F2 умерена (сива зона)	26	36	62	48,44%
NFS >0,675, F3-F4 напреднала	5	9	14	10,94%
Обща сума	53	75	128	100%

Табл. 24 Резултати от NFS скор - разпределение по пол и стадий на фиброза (n=128)



Фиг. 33 Разпределение по стадий на фиброза според NFS (n=128)

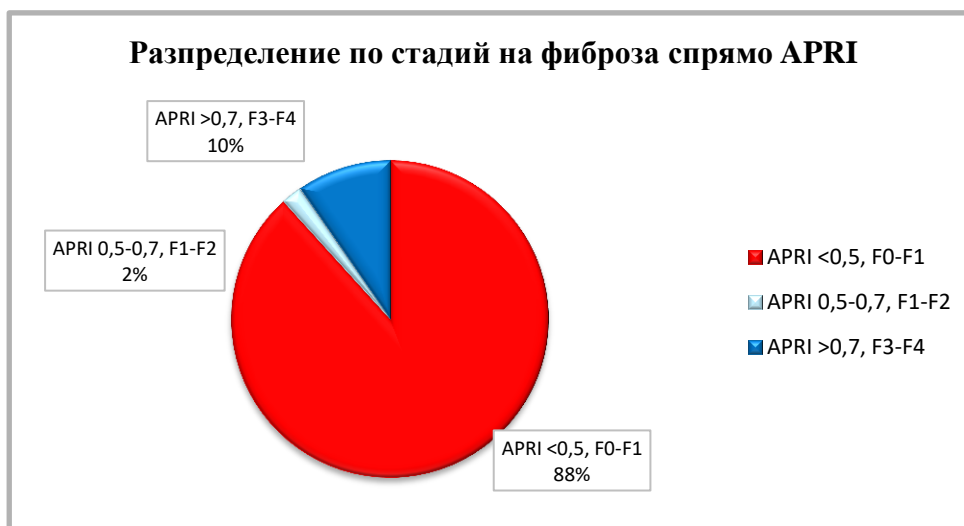
- *APRI скор (AST to Platelet Ratio Index - APRI)* бе изчислен на база горна референтна стойност на АСАТ и тромбоцитен брой. Стойности < 0,5 отхвърлят

наличие на фиброза; > 0,7 - предполагат напреднала фиброза (F3 - F4), а > 1 (APRI 1) скор - цироза (F4). Последната е по-сигурна при APRI скор > 2, но с по-ниска специфичност. Скорът е определен при 146 пациенти (мъже – 63 и жени – 83), като средната стойност е $0,34 \pm 0,32$, минимална 0,07 и максимална 2,29.

Стойности по-ниски от 0,5 отговарящи на липса на напреднала фиброза, т.е. F0-F1 се установяват при 129 пациенти (88,3%), мъже 59 и жени 70 (табл. 25 и фиг. 34). Неопределен скор в сивата зона, т.е. между 0,5 и 0,7, отговарящ на умерена фиброза имат 3 пациенти (2,1%), мъже 1 и жени 2. Стойности над 0,7, които са предиктивни за наличие на напреднала фиброза, т.е. F3-F4 са установени при 13 пациенти (8,9%), мъже 3 и жени 10. Стойност на APRI над 2, която е предиктор за цироза, е установен при 1 жена с APRI=2,29, при която от фиброскен еластография действително са налице данни за цироза (F=24,5 кPa).

APRI / фиброза	мъже	жени	Обща сума	Относителен дял в %
APRI <0,5, F0-F1, липсваща или лека	59	70	129	88,3%
APRI 0,5-0,7, F1-F2, умерена (сива зона)	1	2	3	2,1%
APRI >0,7, F3-F4 напреднала	3	10	13	8,9%
APRI > 2 цироза	0	1	1	0,7%
Обща сума	63	83	146	100%

Табл. 25 Разпределение по стадий на фиброза и пол спрямо APRI (n=146)



Фиг. 34 Разпределение по стадий на фиброза спрямо APRI (n=146)

- BARD скор бе изчислен на база показателите BMI, АСАТ/АЛАТ и наличието на ЗД. Лесен за изчисление скор, при който възможният брой точки варира от 0 до 4. Според резултатите на Harrison и съавтори BARD score 0 и 1 има NPV 96% за напреднала фиброза. Скорът бе изчислен при 130 пациенти (55 мъже и 75 жени), като стойност 0 или 1 бе установена при 19 пациенти (11 мъже и 8 жени). Стойност 2 при 32

пациенти (13 мъже и 19 жени). Стойност 3 при 50 пациенти (21 мъже и 29 жени). Стойност 4 при 29 пациенти (10 мъже и 19 жени). По така представените резултати спрямо този скор се установява, че само 14,61% нямат напреднала фиброза, т.е. имат скор 0 или 1 точка.

- *Отношение АСАТ/АЛАТ* – стойности над 1 са предиктивни за напреднала фиброза. Отношението АСАТ/АЛАТ се използва и в останалите скорови системи. В изследваната от нас група (n=148), стойност над 1 имат 52 пациенти (18 мъже и 34 жени), т.е. 35% от изследваната група според този скор е с напреднала фиброза.

- *FAST score* - FibroScan-AST score (FAST score), включва определената при ТЕ чернодробна плътност, САР и стойността на АСАТ. При стойност $\leq 0,35$ се изключва наличие на значимо възпаление и фиброза. Стойност 0,35-0,67 говори за активна болест, със значима фиброза (NASH + NAS \geq 4 + F \geq 2), а стойност над $\geq 0,67$ се асоциира с напреднала болест.

FAST score бе изследван при 81 пациенти, от които мъже 41 и жени 40. Установената средна стойност е $0,26 \pm 0,23$, минималната стойност е 0, максималната стойност е 0,91. FAST score $\leq 0,35$, говорещ за липса на възпаление и фиброза бе установен при 57 пациенти (70,37%), от които 29 мъже и 28 жени. FAST score 0,35-0,67, който е предиктор за активна болест и значима фиброза бе установен при 18 пациенти (22,22%), от които 10 мъже и 8 жени. FAST score $\geq 0,67$, установяващ напреднала болест бе установен при 6 пациенти (7,41%), от които 2 мъже и 4 жени (табл. 26 и фиг. 35). FAST score е математически модел за неинвазивна идентификация на пациентите с НАСХ със значима фиброза и активност. Следователно този скор осигурява неинвазивен начин за определяне на пациентите с риск от прогресивна болест.

NFS	мъже	жени	Обща сума	Относителен дял в %
фиброза активност				
FAST score $\leq 0,35$, без възпаление и фиброза	29	28	57	70,37%
FAST score 0,35-0,67, активна болест, значима фиброза	10	8	18	22,22%
FAST score $\geq 0,67$ напреднала болест	2	4	6	7,41%
Обща сума	41	40	81	100%

Табл. 26 Разпределение по пол и тежест на болестта (активност + фиброза) според определения FAST score (n=81)



Фиг. 35 Разпределение по пол и тежест на болестта (активност + фиброза) според определения FAST score (n=81)

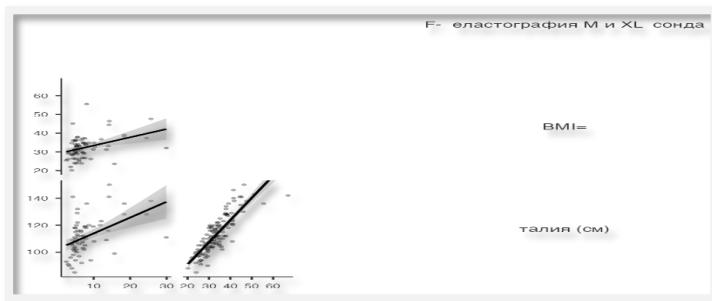
4.2.15. Статистически анализ на резултатите от измерването на чернодробната плътност чрез фиброскен и нейната връзка с клиничната характеристика на пациентите, определените индекси за фиброза и съпоставка с резултатите за стеатоза от CAP.

Използван е корелационен анализ за изследване на зависимостите между клиничните показатели и установяване на силата на тяхното влияние върху стадия на фиброза измерена чрез фиброскен. Резултатите от корелационния анализ по метода на Pearson показаха значими, умерено силни връзки между чернодробната плътност (F) и BMI ($r=0,379$, $p=0,001$). Силна корелационна връзка се наблюдава също така между стойността на F и обиколката на талията ($r=0,463$, $p=0,001$). Тези връзки потвърждават, че с нарастване на Индекса на телесната маса и още повече на обиколката на талията, нарастват стойностите и на чернодробната плътност, която е основен предиктор за прогресивния ход на болестта (табл. 27, фиг. 36).

Correlation Matrix						
		F- еластография (кPa)		BMI=	талия (cm)	
F- еластография (кPa)	Pearson's r	—				
	p-value	—				
BMI=	Pearson's r	0.379	***	—		
	p-value	< .001		—		
талия (cm)	Pearson's r	0.463	***	0.835	***	—
	p-value	< .001		< .001		—

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 27 Корелация между BMI, коремна обиколка и чернодробна плътност от фиброскен



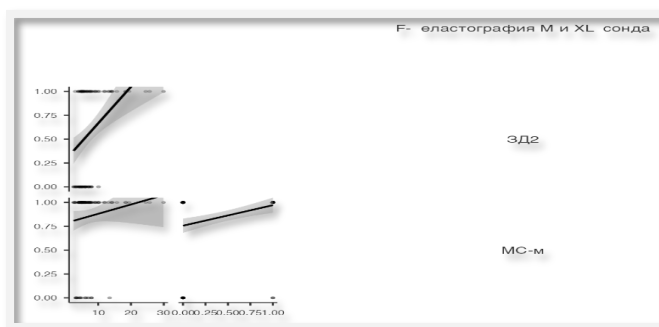
Фиг.36 Графично представяне на корелационната зависимост между BMI, коремна обиколка и чернодробна плътност от фиброскен

Корелационен анализ по метода на Spearman е използван за изследване на зависимостите между категориите клинични показатели – стадий на ХБ, наличие на ЗД, наличие на метаболитен синдром спрямо стадий на фиброзата от фиброскен (табл. 28 и фиг. 37). Умерено силна корелационна зависимост бе установена между стадия на фиброзата и наличието на ЗД тип 2 ($\rho=0,388$, $p=0,001$). Такава не се откри с наличие на метаболитен синдром ($\rho=0,140$, $p=0,187$), което вероятно се обяснява с характера и големината на извадката. По отношение корелацията между наличието на ХБ и стадия на фиброза определената зависимост е слаба ($\rho=0,267$, $p=0,010$).

Correlation Matrix							
		F- еластография (кПа)		ЗД2		МС-м	
F- еластография (кПа)	Spierman's rho	—					
	p-value	—					
ЗД2	Spierman's rho	0.388	***	—			
	p-value	< .001		—			
М синдром	Spierman's rho	0.140		0.308	***	—	
	p-value	0.187		< .001		—	

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Табл. 28 Корелация между наличие на ЗД, МС и чернодробна плътност



Фиг. 37 Графично представяне на корелацията между наличие на ЗД, МС и чернодробна плътност

Корелационен анализ по Pearson бе осъществен и между стойностите на чернодробната плътност и лабораторните показатели – АСАТ, АЛАТ, ГГТ, тромбоцити и триглицериди (табл. 29). Анализът показва статистически значима, но слаба корелация единствено между стойностите на АСАТ и фиброза ($\rho=0,250$, $p=0,017$).

		Correlations					
		АСАТ	АЛАТ	ГГТ	Тр	Тригл.	F
АСАТ	Pearson Correlation	1	.853**	.489**	-.085	-.032	.250*
	p		.000	.000	.308	.712	.017
	N	147	147	109	146	139	90
АЛАТ	Pearson Correlation	.853**	1	.487**	-.099	-.020	.176
	p	.000		.000	.233	.813	.097
	N	147	147	109	146	139	90
ГГТ	Pearson Correlation	.489**	.487**	1	-.121	.026	.152
	p	.000	.000		.211	.795	.284
	N	109	109	109	109	106	52
Тр	Pearson Correlation	-.085	-.099	-.121	1	.153	-.139
	p	.308	.233	.211		.071	.195
	N	146	146	109	146	139	89
Тг	Pearson Correlation	-.032	-.020	.026	.153	1	-.078
	p	.712	.813	.795	.071		.488

	N	139	139	106	139	139	82
F	Pearson Correlation	.250*	.176	.152	-.139	-.078	1
	p	.017	.097	.284	.195	.488	
	N	90	90	52	89	82	91

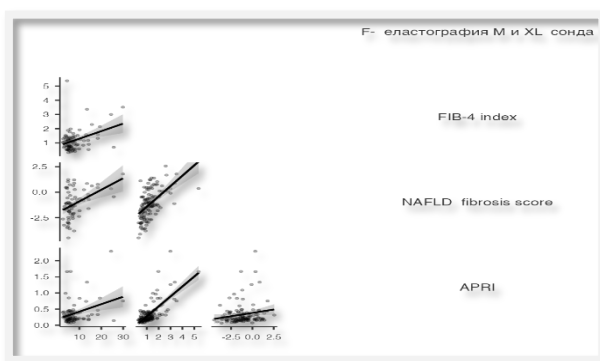
Табл. 29 Корелация между стойностите на F - чернодробна плътност от фиброскен и лабораторните показатели – АСАТ, АЛАТ, ГГТ, тромбоцити, триглицериди.

С цел съпоставка между скоровете за фиброза FIB-4 скор, NAFLD fibrosis score и APRI спрямо резултатите за чернодробна плътност от еластографията при фиброскен използвахме корелационен анализ по Pearson (табл. 30, фиг. 38). Резултатите от анализа показаха, че стойностите на F от фиброскен нарастват паралелно с увеличаването на скоровете. За FIB-4 установената корелационна зависимост е умерено силна ($r=0,365$, $p=0,001$). Аналогични са данните за APRI, където корелационната връзка със стойностите на чернодробната плътност при фиброскен е също умерено силна ($r=0,327$, $p=0,002$). Най-висока корелационна зависимост се наблюдава между NAFLD fibrosis score и резултатата от фиброскен ($r=0,432$, $p=0,001$).

Correlation Matrix		F- еластография кPa	FIB-4 index	NAFLD fibrosis score	APRI
F- еластография кPa	Pearson's r	—			
	p-value	—			
FIB-4 index	Pearson's r	0.365	—		
	p-value	< .001	—		
NAFLD fibrosis score	Pearson's r	0.432	0.54	—	
	p-value	< .001	< .001	—	
APRI	Pearson's r	0.327	0.70	0.178	—
	p-value	0.002	< .001	0.045	—

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 30 Корелация между фиброзата определена чрез фиброскен и скоровете за фиброза – FIB-4, NAFLD fibrosis score и APRI



Фиг.38 Графично представяне на корелацията между фиброзата от фиброскен и скоровете за определяне на фиброза

Извърши се вариационен One-way ANOVA анализ за определяне дали са налице статистически значими разлики между четирите групи на фиброза определени по средни стойности на чернодробна плътност от фиброскен и FIB-4, NAFLD fibrosis score и APRI (табл. 31). Установиха се статистически значими разлики между четирите стадии на фиброза при определените индекси за фиброза, за NAFLD fibrosis score ($F=3,562$, $p=0,011$), а за FIB-4 ($F=2,812$, $p=0,030$). Само за APRI сравнителният анализ между отделните групи на фиброза не е статистически значим ($F=2,193$, $p=0,77$).

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Ниво на значимост
NFS	Between Groups	24.077	4	6.019	3.562	.011
	Within Groups	111.543	66	1.690		
	Total	135.620	70			
FIB4	Between Groups	5.663	4	1.416	2.812	.030
	Within Groups	42.288	84	.503		
	Total	47.951	88			
APRI	Between Groups	1.069	4	.267	2.193	.077
	Within Groups	10.233	84	.122		
	Total	11.301	88			

Табл. 31 Сравнение по стадии на фиброза от фиброскен и NAFLD fibrosis score, FIB-4 и APRI

Използвахме Post Hoc Test по метода на Tukey за да определим между кои точно групи на фиброза има значима разлика в стойностите на индексите за фиброза. Съпоставиха се средните стойности на индексите за фиброза NAFLD fibrosis score, FIB-4 и APRI при четирите стадии на фиброза от фиброскен. Установи се, че статистически значими са разликите между липсващата и леките стадии на фиброза, спрямо F3 и F4.

За да изследваме наличието на зависимост между нарастването на стеатозата и увеличаването на стадията на фиброзата извършихме ANOVA сравнителен анализ по групи (табл. 32, фиг. 39). Съпоставката между CAP и стадия на фиброзата установи статистически значими разлики, т.е. съответствие на по-висока стойност на CAP спрямо по-висока стойност на F ($F=5,270$, $p=0,001$). Детайлно разликите между групите се виждат в таблицата Multiple Comparisons (табл. 33). За F4 спрямо групата без фиброза $p=0,027$, за F4 спрямо F1 $p=0,008$, а спрямо F2 $p=0,083$. Единствено за F4 спрямо F3 $p=0,965$, т.е. разликата не е значима между стойностите на CAP в групите на напреднала фиброза, което се обяснява със сходната висока стойност на CAP и при двете групи. За F1 спрямо F2 $p=0,921$, а за F2 спрямо F3 $p=0,58$.

ANOVA

CAP db/m

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-level
Between Groups	39446,108	4	9861,527	5,270	,001
Within Groups	147817,928	79	1871,113		
Total	187264,036	83			

Табл. 32 Съпоставка между CAP и стадии на фиброза

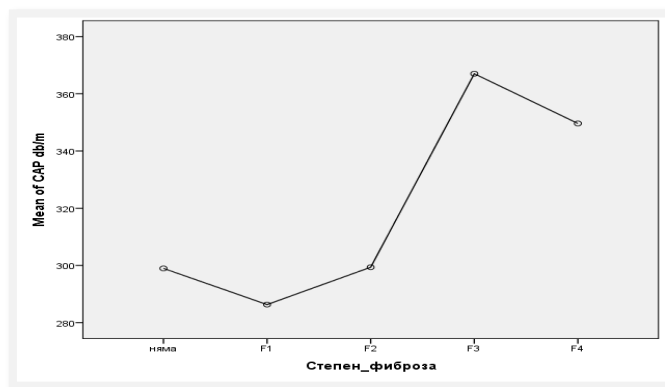
Multiple Comparisons

Dependent Variable: CAP db/m

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	p-level	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
няма	F1	12,642	12,231	,839	-21,50	46,79
	F2	-,409	13,768	1,000	-38,85	38,03
	F3	-68,024*	22,659	,029	-131,28	-4,77
	F4	-50,649*	16,719	,027	-97,33	-3,97
F1	няма	-12,642	12,231	,839	-46,79	21,50
	F2	-13,051	15,744	,921	-57,01	30,90
	F3	-80,667*	23,911	,010	-147,42	-13,91
	F4	-63,292*	18,380	,008	-114,61	-11,98
F2	няма	,409	13,768	1,000	-38,03	38,85
	F1	13,051	15,744	,921	-30,90	57,01
	F3	-67,615	24,733	,058	-136,66	1,43
	F4	-50,240	19,438	,083	-104,51	4,03
F3	няма	68,024*	22,659	,029	4,77	131,28
	F1	80,667*	23,911	,010	13,91	147,42
	F2	67,615	24,733	,058	-1,43	136,66
	F4	17,375	26,489	,965	-56,58	91,33
F4	няма	50,649*	16,719	,027	3,97	97,33
	F1	63,292*	18,380	,008	11,98	114,61
	F2	50,240	19,438	,083	-4,03	104,51
	F3	-17,375	26,489	,965	-91,33	56,58

Табл. 33 Съпоставка между CAP и стадий на фиброза



Фиг. 39 Графично представяне на зависимостта между CAP и стадия на фиброза

Извършихме сравнителен анализ между болните без фиброза и четирите групи с фиброза определена с фиброскен спрямо показателите BMI, коремна обиколка в сантиметри, АЛАТ и АСАТ. Дескриптивният анализ по подгрупи установи, че средната стойност на BMI при пациентите с липсваща фиброза е по-ниска сравнено със средната стойност при напреднала фиброза F3 и F4. Съответно за пациентите без фиброза средната стойност е 33,77, за F1 средната стойност на BMI е 35,35, за F2 е 33,68, за F3 е 34,20, а за F4 е 36,26. Също така максималните стойности на BMI се установяват в групата с най-висок стадий на фиброза – F4. Проведеният ANOVA анализ за определяне дали са налице статистически значими разлики между групите на фиброза, установи че няма статистически значима разлика между четирите стадии на фиброза по отношение на BMI ($F=0,279$, $p=0,890$). Това се обяснява с факта, че по-голямата част от изследваните от нас пациенти са в групата с липсваща или без значима фиброза (66%).

Дескриптивният анализ по отношение на коремна обиколка показва постепенното ѝ покачване при увеличаване на стадия на фиброзата. Съответно за пациентите без фиброза средната стойност е 105,7 cm, за F1 средната стойност на коремната обиколка е 111,25 cm, за F2 е 113 cm, за F3 е 115 cm, а за F4 е 127,5 cm, като отново максималните стойности се наблюдават при F4. Проведеният ANOVA анализ за определяне дали са налице статистически значими разлики между групите на фиброза, установи че има статистически значима разлика между четирите стадии на фиброза по отношение на коремна обиколка ($F=5,917$, $p=0,000$). За F4 спрямо групата без фиброза $p=0,000$, за F4 спрямо F1 $p=0,025$, а спрямо F2 $p=0,049$. Единствено за F4 спрямо F3 $p=0,329$, т.е. разликата не е значима.

Анализът по метода ANOVA по подгрупи не установи статистическа значимост между стойността на АЛАТ и стадия на фиброзата ($F=0,949$, $p=0,440$). По отношение на АСАТ дескриптивният анализ между групите показва по-ниски средни стойности, които са в референтни граници за F0, F1, F2 съответно 33, 35 и 27 U/l. За F3 и F4, съответно средните стойности на АСАТ са 53,16 U/l и 51,6 U/l, т.е. над горна референтна стойност и за двете групи на напреднала фиброза. Извършеният сравнителен анализ обаче не показва статистическа значимост ($F=1.471$, $p=0.218$), което

вероятно се обяснява със значително по-малката бройка на пациентите с напреднала фиброза F3 и F4.

4.2.16. Резултати от изследване на серумен цитокератин 18

Фрагментите на цитокератин 18 (СК18) са маркери на хепатоцитната апоптоза и се образуваат при клетъчна смърт, в резултат от действието на ензима каспаза 3. Като единствения маркер за апоптоза/некроза и индикатор за чернодробно възпаление, се приема, че СК18 може да се прилага за разграничаването на обикновената непрогресивна стеатоза от стеатозния хепатит в случаите с НАМЧБ. Измерихме количествено нивата на общия СК18 в серума чрез “sandwich“ ELISA метод, при който се използват специфични антители – anti-Human Cytokeratin 18 (Millipore, продуктов номер RAB1408). Мерните единици на получените резултати са в ng/ml. Според инструкциите на производителя на китовете се прие за референтна стойност 5 ng/ml. Тази стойност е изведена на базата на изследване сред здрави индивиди, по време на тестване на нормални серумни проби при валидацията на теста. Колектив от University School of Medicine, Van, TURKEY, използвайки цитокератин 18 със същите мерни единици, предлага за референтна стойност 3,1 ng/ml. В настоящото проучване ще се придържаме към стойността, предложена от производителя.

Цитокератин 18 (СК18) в серум е изследван при 61 лица с данни за чернодробна стеатоза, от които мъже 23 и жени 38. Средната възраст на изследваната група е 56,19 г., с минимална възраст 28 г. и максимална 79 г. Измерената средна стойност е $3,01 \pm 10,42$ ng/ml, като минималната стойност е 0,1 ng/ml, а максималната е >80 ng/ml.

Характеристиката на изследваната група с цитокератин 18 показва средна стойност на ВМІ – $34,73 \pm 7,23$, с минимална стойност 24,8 и максимална 66,98. Средната обиколка на талията е $115,19 \pm 12,83$, за мъжете $119,34 \pm 13,01$, а за жените $112,68 \pm 12,21$ (табл. 34). От всичките изследвани 61 пациенти, при 47 (77,04%) има данни за регистрирана ХБ, а при 14 липсват повишени стойности на АН. При 20 пациенти (32,78%) има установен ЗД тип 2, съответно 41 пациенти (67,22%) са без данни за ЗД. При 8 (13,11%) от пациентите липсват пълните 3 критерия за приемане наличие на метаболитен синдром, а са налице 1 или 2 рискови фактора.

	Възраст	ВМІ	Коремна обиколка
Средна стойност	56,19г	34,73	115,19 cm
Стандартно отклонение	$\pm 3,01$	$\pm 7,23$	$\pm 12,83$ cm
Минимална стойност	28г	24,8	96 cm
Максимална стойност	79г	66,98	146 cm

Табл. 34 Характеристика на пациентите изследвани за цитокератин 18 по отношение възраст, ВМІ и коремна обиколка (n=61)

Лабораторните изследвания в групата показват повишение на АЛАТ над г.р.с. при 11 пациенти, като максималната стойност е 146 U/l, а минималната е 5 U/l, средна стойност $32 \pm 32,09$ U/l. Средната стойност на АСАТ е $28,78 \pm 19,94$ U/l, при максимална 114 U/l, а минимална 13,4 U/l. Повишение на АСАТ над г.р.с. установихме при 6 пациенти. ГГТ е с г.р.с. различна при двата пола, затова съответно средната стойност при мъжете е $39,69 \pm 22,14$ U/l, с мин. 12 U/l и макс. 122 U/l, повишение има само при 1 пациент. При жените средната стойност на ГГТ е $44,39 \pm 43,98$ U/l, мин. 8 U/l и макс. 178

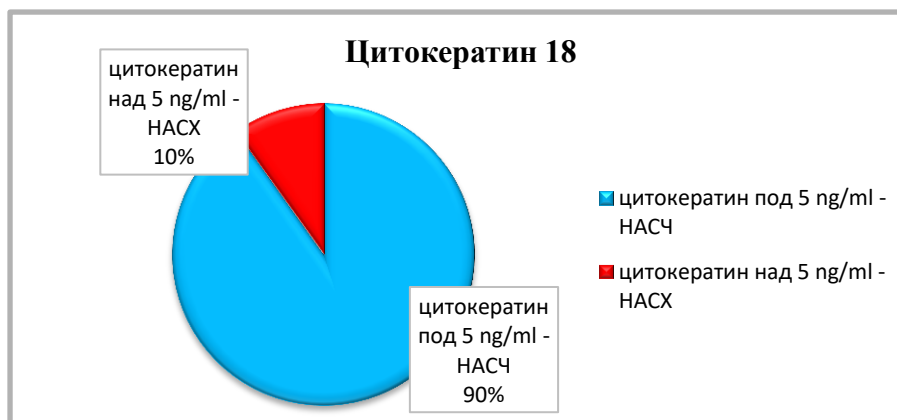
U/l, като повишение се наблюдава при 13 пациентки. Средна стойност на триглицеридите е $2,13 \pm 1,01$ mmol/l, мин. 1,07 mmol/l и макс. 4,92 mmol/l, като увеличение над г.р.с. се наблюдава при 13 пациенти (табл. 35). Стойностите на албумин и на тромбоцити са в референтни граници при всички пациенти.

	АСАТ U/l	АЛАТ U/l	ГГТ U/l мъже/жени	3-Гл mmol/l
Средна стойност	28,78	32	39,69/44,39	2,13
Стандартно отклонение	19,94	32,09	22,14/43,98	1,01
Минимална стойност	13,4	5	12/8	1,07
Максимална стойност	114	114	122/178	4,92
Брой пациенти с ↑ ст-ст	6	11	14	13

Табл. 35 Характеристика на пациентите изследвани за цитокератин 18 по отношение АСАТ, АЛАТ, ГГТ, 3-Гл (n=61)

При всички пациенти (n=61) са налице ехографски данни за стеатоза, съответно лека при 11 пациенти, умерена при n=23 и тежка при n=27. Степента на фиброза е определена на база изчислените скорове. Определеният FIB-4 в изследваната група показва средна стойност $1,25 \pm 0,69$, минимален 0,33 и максимален 3,33. С липваща или лека фиброза със скор под 1,3 са 36 пациенти, с умерена фиброза скор между 1,3 и 2,67 са 22 пациенти, с напреднала фиброза над 2,67 са 3 пациенти. NAFLD fibrosis score е със средна стойност $-1,27 \pm 1,44$, минимален -3,81 и максимален 2,58. В изследваната група с липваща или лека фиброза със скор под -1,45 са 26 пациенти (42,7%), с умерена фиброза скор между -1,45 и 0,675 са 29 пациенти (47,5%), с напреднала фиброза са 6 пациенти (9,8%).

Сред изследваната група нормални стойности на СК18 се установява при 55 пациенти (90,17%), а повишение на СК18 над 5 ng/ml, говорещо за наличие на стеатохепатит, се установява при 6 пациенти (9,83%), от които 2 мъже и 4 жени (фиг. 40).



Фиг. 40 Разпределение по установена повишена стойност на СК18 – НАСХ/НАСЧ (n=61)

При стойности на серумен цитокератин 18 над 5 ng/ml (г.р.с.), приехме диагноза стеатохепатит. Средната възраст на пациентите със стеатохепатит е $56,5 \pm 11,41$ г., минимална 41 г. и максимална 73 г. Средна стойност на ВМІ е $29,04 \pm 2,88$, четирима са със свръхтегло ВМІ-25,14; 28,34; 29,24 и 29,40, а останалите са с I степен на

затлъстяване – 32,61 и 32,89. При всички са налице данни за висцерално затлъстяване, като се установяват повишени коремни обиколки съответстващи на значително повишен риск, при мъжете средна коремна обиколка - 114±4,24 cm, а при жените – 102,25±4,57 cm. Инсулинова резистентност с повишен над 2,5 НОМА-index се установява при всичките пациенти. ХБ е доказана при 5 от пациентите (84%), а при 1 липсват данни за хипертонична болест (най-младият от разглежданата група пациенти). 3 са с известен ЗД, а останалите 3 са с нормална кръвна захар на гладно.

АСАТ е повишен при 4 пациенти, АЛАТ само при 3 пациенти, а повишение на ГГТ се наблюдава също при 4 от пациентите. При 4 пациенти също така се наблюдава повишение на триглицеридите над 1,7 mmol/l. Всички са с нормална стойност на албумин и тромбоцити. При 3 от тези пациенти стеатозата е оценена от ехографското изследване като 2 ст, а при останалите 3 е оценена като 3 ст, като при всички е налице хепатомегалия със среден надлъжен размер на десен чернодробен дял по ДМКЛ – 163,8±163 мм, максимално 176 мм и минимален 150 мм, липсва уголемяване на слезката. Изчислените скорове за фиброза – FIB-4 и NAFLD fibrosis score са в сивата зона, говорещи за умерена фиброза. Средната стойност на FIB-4 е 1,77±0,48, а на NAFLD fibrosis score е -1,36±1,09. Пациентите с повишен цитокератин 18 нямат напреднала фиброза.

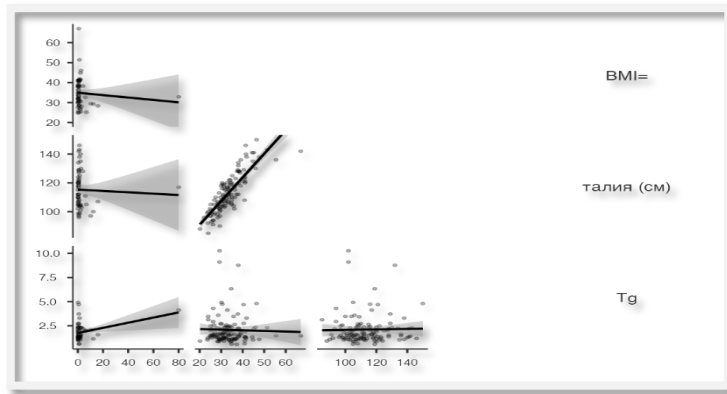
4.2.17. Статистически анализ на резултатите от изследването на серумен цитокератин 18, като маркер за чернодробно възпаление и неговата връзка с клиничната характеристика на пациентите, определените индекси за фиброза и съпоставка със степента на стеатозата и промените в лабораторните показатели.

Използван е корелационен анализ по метода на Pearson за изследване на зависимостите между клиничните показатели и установяване силата на тяхното влияние върху стойностите на цитокератин (табл. 36, фиг. 41). Резултатите от корелационния анализ показаха наличие на умерено силна положителна връзка между нивото на триглицеридите и СК18 ($r=0.318$, $p=0.012$), свидетелстващо за увеличаване на стойността на триглицеридите успоредно със стойностите на СК18. Такава връзка не бе установена по отношение нарастването на BMI и коремна обиколка от една страна и увеличаването на СК18 от друга.

Correlation Matrix		цитокератин 18	BMI=	талия (cm)	З-Гл
цитокератин 18	Pearson's r	—			
	p-value	—			
BMI=	Pearson's r	-0.087	—		
	p-value	0.507	—		
талия (cm)	Pearson's r	-0.038	0.835	***	—
	p-value	0.769	< .001		—
З-Гл	Pearson's r	0.318	*	-0.029	0.022
	p-value	0.012	0.748		0.810

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 36 Корелационен анализ между BMI, ниво на триглицериди, нарастване на коремна обиколка и нивото на СК18.



Фиг. 41 Графично представяне на резултатите от корелационния анализ между ВМІ, талия, 3-Гл и ниво на СК18

Изследваната корелация по метода на Spearman между наличието на ХБ, ЗД и МС със стойностите на цитокератин 18 не дадоха значими резултати (табл. 37). ЗД тип 2 спрямо СК18 ($\rho=0,082$, $p=0,532$), ХБ спрямо стойности на СК18 ($\rho=0,176$, $p=0,174$) и МС спрямо СК18 ($\rho=-0,107$, $p=0,414$).

Correlation Matrix		цитокератин 18	ЗД2	МС-м	ХБ.
цитокератин 18	Spearman's rho	—			
	p-value	—			
ЗД2	Spearman's rho	0.082	—		
	p-value	0.532	—		
МС-м	Spearman's rho	-0.107	0.308	***	—
	p-value	0.414	< .001	—	—
ХБ.	Spearman's rho	0.176	0.347	***	0.540
	p-value	0.174	< .001		< .001

Табл. 37 Корелация между наличието на ХБ, ЗД и МС със стойностите на СК18

Корелационният анализ по метода на Pearson за лабораторните показатели АСАТ, АЛАТ, ГГТ, CRP и серумен цитокератин 18 не показва значими връзки (табл. 38).

Correlation Matrix		АСАТ	АЛАТ	ГГТ	CRP	цитокератин 18
АСАТ	Pearson's r	—				
	p-value	—				
АЛАТ	Pearson's r	0.853	***	—		
	p-value	< .001	—			
ГГТ	Pearson's r	0.489	***	0.487	***	—
	p-value	< .001	< .001	—	—	
CRP	Pearson's r	0.170	0.084	-0.053	—	
	p-value	0.144	0.473	0.672	—	
цитокератин 18	Pearson's r	0.159	0.095	0.117	-0.102	—
	p-value	0.220	0.465	0.368	0.579	—

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 38 Корелация по Pearson между стойностите на АСАТ, АЛАТ, ГГТ, CRP и СК18

Тази липса на корелация счехоме, че се дължи на липсата на голяма вариация на стойностите на цитокератин 18 в изследваната от нас група пациенти ($n=61$). За да

избегнем това обстоятелство с помощта на Independent Samples T-test пациентите с изследван СК18, разделихме на две групи – на такива с нормална стойност на СК18 и на група с повишен СК18 над 5 ng/ml (табл. 39). Целта на анализа е да се сравнят средно измерените стойности на АСАТ, АЛАТ, ГГТ и СРР между двете групи (табл. 40, фиг. 42).

Резултатите показаха, че за АСАТ средната стойност е 25,9±16,4 U/l за пациентите от първата група с нормален цитокератин 18, а при втората група с цитокератин над 5 ng/ml средната стойност е 54,93±31,06 U/l, следователно във втората група се наблюдават значително повишени стойности на АСАТ, като тези разлики са статистически значими (t=-3,729, p=0,001). По отношение на АЛАТ средната стойност е 28,2±19,10 U/l за пациентите от първата група с нормален СК18, а при втората група с цитокератин над 5 ng/ml средната стойност е значително по-висока 66,63±55,65 U/l, следователно във втората група се наблюдават значително повишени стойности на АЛАТ, като тези разлики са статистически значими (t=-2,958, p=0,004) (фиг. 43).

Средната стойност на ГГТ при първата група е 39,2±34,3, а при групата с повишен СК18 съответно е 74,17±49,97, като разликата е статистически значима (t=-2,266, p=0,027) (фиг. 44). Единствено по отношение на стойностите на СРР между двете групи липсват статистически значими разлики (t=0,585, p=0,563).

Independent Samples T-Test

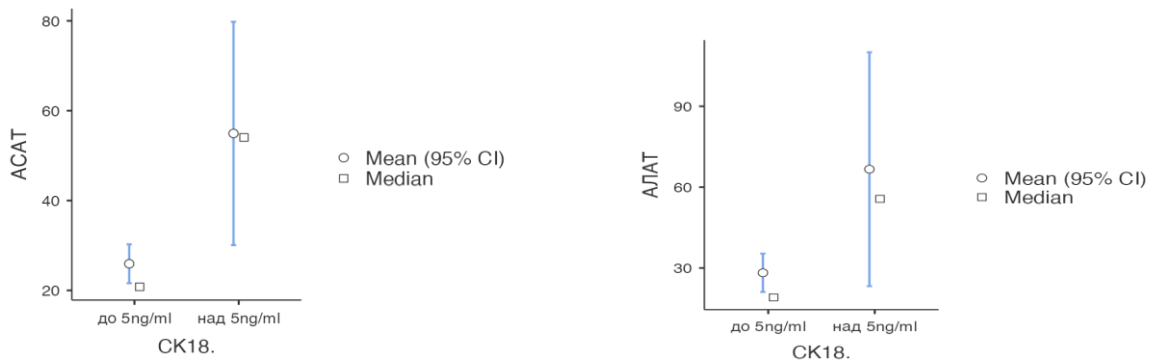
		t	df	p
АСАТ	Student's t	-3.729 ^a	59.0	< .001
АЛАТ	Student's t	-2.958 ^a	59.0	0.004
ГГТ	Student's t	-2.266	59.0	0.027
СРР	Student's t	0.585	30.0	0.563

^a Levene's test is significant (p < .05), suggesting a violation of the assumption of equal variances

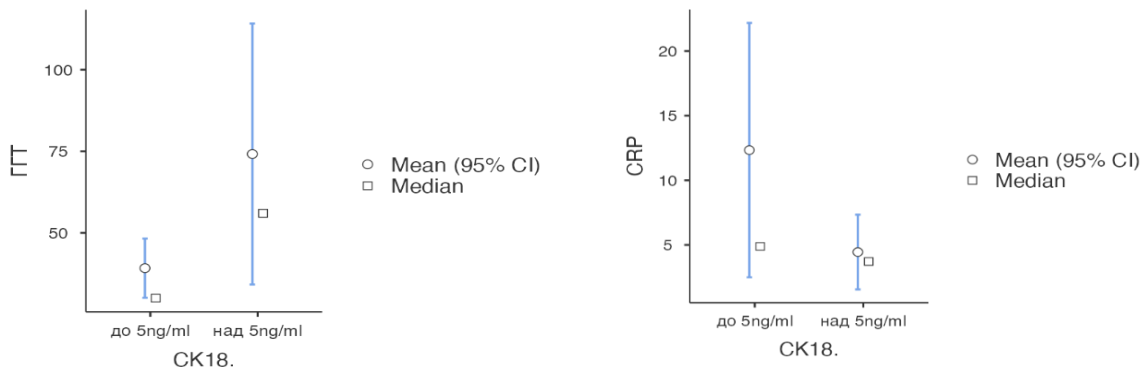
Табл. 39 Independent Samples T-test за съпоставка на средните стойности на АСАТ, АЛАТ, ГГТ и СРР между групите с нормален и повишен СК18

Group Descriptives							
	Group	N	Mean	Median	SD	SE	
АСАТ	до 5ng/ml	55	25.9	20.80	16.4	2.21	
	над 5ng/ml	6	54.93	54.05	31.06	12.68	
АЛАТ	до 5ng/ml	55	28.2	19.10	26.9	3.63	
	над 5ng/ml	6	66.63	55.65	54.20	22.13	
ГГТ	до 5ng/ml	55	39.2	30.00	34.3	4.63	
	над 5ng/ml	6	74.17	56.00	49.97	20.40	
СРР	до 5ng/ml	28	12.3	4.88	26.6	5.02	
	над 5ng/ml	4	4.45	3.72	2.95	1.47	

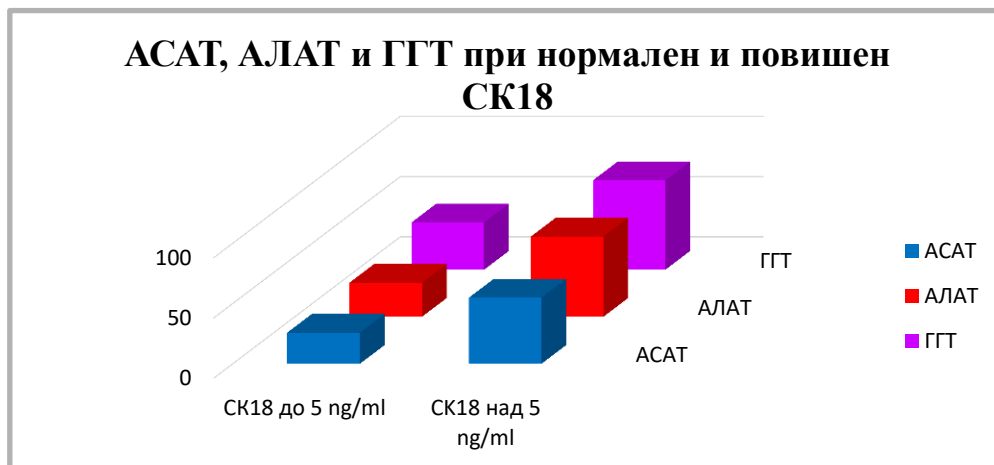
Табл. 40 Дескриптивно описание на средните стойности на АСАТ, АЛАТ, ГГТ и СРР в групите с нормален и повишен СК18



Фиг. 43 Графично представяне на съпоставката на средните стойности на АСАТ и АЛАТ, между групите с нормален и повишен СК18



Фиг. 44 Графично представяне на съпоставката на средните стойности на ГГТ и CRP между групите с нормален и повишен СК18



Фиг. 42 Съпоставка на средните стойности на АСАТ, АЛАТ и ГГТ при групи с нормален и повишен СК18

За да изследваме дали е налице зависимост между нивото на цитокератин 18 и степента на стеатозата определена ехографски извършихме корелационен анализ, който не показва статистическа зависимост ($\rho=0,147$, $p=0,259$) (табл. 41).

Correlation Matrix			
		цитокератин 18	ехо-стеатоза степен
цитокератин 18	Spearman's rho	—	
	p-value	—	
ехо-стеатоза степен	Spearman's rho	0.147	—
	p-value	0.259	—

Note. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

Табл. 41 Корелация между степен на стеатоза и стойности на СК18

Извършихме корелационен анализ между нивото на СК18 и скоростите за фиброза – FIB-4 index, APRI и NAFLD fibrosis score, но не установихме статистически значима връзка (табл. 42).

Correlation Matrix									
		FIB-4 index		APRI		NAFLD fibrosis score		цитокератин 18	
FIB-4 index	Pearson's r	—							
	p-value	—							
APRI	Pearson's r	0.702	***	—					
	p-value	< .001		—					
NAFLD fibrosis score	Pearson's r	0.545	***	0.178	*	—			
	p-value	< .001		0.045		—			
цитокератин 18	Pearson's r	0.034		0.145		-0.124		—	
	p-value	0.792		0.265		0.343		—	

Note. * p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Табл. 42 Корелация между фиброзни скорове и стойности на СК18

С помощта на Independent Samples T-test пациентите с изследван СК18, отново разделихме на две групи – на такива с нормална стойност на СК18 и на група с повишен СК18 над 5 ng/ml и сравнихме средно измерените стойности на FIB-4, APRI и NAFLD fibrosis score между двете групи (табл. 43 и 44). Средната стойност на NAFLD fibrosis score в първата група е $-1,263 \pm 1,299$, а в групата с повишен СК18 е $-1,358 \pm 1,091$, като липсва статистически значима разлика между двете групи ($t=0,151$, $p=0,880$). Средната стойност на FIB-4 index в първата група е $1,204 \pm 0,692$, а в групата с повишен СК18 е $1,767 \pm 0,476$, като липсва статистически значима разлика между двете групи ($t=-1,936$, $p=0,058$). Съответно за APRI средната стойност в първата група е $0,263 \pm 0,196$, а в групата с повишен СК18 е $0,621 \pm 0,364$, като единствено тук се установява статистически значима разлика ($t=-3,872$, $p=0,001$).

Independent Samples T-Test

		t	df	p
NAFLD fibrosis score	Student's t	0.151	59.0	0.880
FIB-4 index	Student's t	-1.936	59.0	0.058
APRI	Student's t	-3.872 ^a	59.0	< .001

^a Levene's test is significant ($p < .05$), suggesting a violation of the assumption of equal variances

Табл. 43 Сравняване на средните стойности на NAFLD fibrosis score, FIB-4 и APRI в групите с нормална и повишена стойност на СК18

Group Descriptives						
	Group	N	Mean	Median	SD	SE
NAFLD fibrosis score	до 5ng/ml	55	-1.263	-1.299	1.483	0.2000
	над 5ng/ml	6	-1.358	-1.358	1.091	0.446
FIB-4 index	до 5ng/ml	55	1.204	0.973	0.692	0.0933
	над 5ng/ml	6	1.767	1.818	0.476	0.194
APRI	до 5ng/ml	55	0.263	0.197	0.196	0.0264
	над 5ng/ml	6	0.621	0.617	0.364	0.148

Табл. 44 Дескриптивно описание на средните стойности на NAFLD fibrosis score, FIB-4 и APRI в групите с нормален и повишен СК18

Тези данни се обясняват с факта, че като цяло в изследваната група пациенти тези с напреднала фиброза, определена според стойността на фиброзните скорове са много малък дял. Мнозинството пациенти са или с липсваща фиброза или попадат в сивата зона с лека фиброза. За да се направи заключение дали повишените нива на СК18 корелират с по-високостепенна фиброза вероятно е необходима по-голяма извадка от пациенти с различна чернодробна плътност. По отношение на APRI скор пациентите също са без значима фиброза, но този скор се изчислява на база само на два показателя, единият от които е АСАТ, а както разбрахме при пациентите с повишен СК18 е налице и статистическо значимо повишение на трансaminaзите, което обяснява описаната корелация с APRI.

5. Обсъждане на резултатите

Неалкохолната мастна чернодробна болест (NAFLD) е обществен здравен проблем с глобално значение, засягащ приблизително един милион индивиди по света. Първичната NAFLD се свързва с инсулинова резистентност и с наличие на метаболитен синдром, представляващ комплекс от рискови фактори. Честотата на NAFLD нараства в световен мащаб, успоредно с нарастване честотата на компонентите на метаболитния синдром – в частност затлъстяването и захарния диабет. NAFLD е фенотипната чернодробна изява на метаболитния синдром. По световни литературни данни NAFLD е на път да изпревари останалите чернодробни заболявания по заболеваемост, смъртност и като показание за чернодробна трансплантация. От друга страна наличието на NAFLD се счита за предиктор за появата на сърдечно-съдови и онкологични заболявания, както и повишена смъртност от други извънчернодробни причини. Имайки предвид широкото разпространение, възможността за прогресивен ход на болестта и възможността за обратимост на процеса на мастна инфилтрация, оценяваме важността на своевременното диагностициране на пациентите с NAFLD и определяне на тези от тях, които са с по-напреднала болест по отношение наличие на възпаление и фиброза.

В настоящия дисертационен труд направихме анализ на група от пациенти от българската популация с данни за неалкохолна мастна чернодробна болест в различен стадий на заболяването и с различен стадий на фиброза. Извършихме комплексна оценка на състоянието на черния дроб анализирайки резултатите от клиничния преглед, лабораторните и образни данни. Клиничната оценка на пациентите бе направена въз основа на детайлна анамнеза, включваща настоящи оплаквания, оценка на

придружаващи заболявания и рискови фактори, физикално изследване с оценка на антропометрични показатели, анализ на лабораторните резултати и резултатите от образните изследвания – ехография и фиброскен. Адекватната клинична оценка на пациентите с NAFLD е от изключително значение предвид разнообразните форми и стадии на болестта, определящи различна прогноза и поведение по отношение на лечение. Още повече, че субективните оплаквания сред пациентите с NAFLD независимо от стадия и прогнозата са почти липсващи, което дава основание на пациентите да negliжират сериозността на проблема. Това налага необходимостта от интензивно търсене и пълна клинична оценка сред застрашените групи за установяване на прогресираща болест.

При пациентите с NAFLD в повечето случаи липсват субективни оплаквания или оплакванията са неспецифични. Анамнестично пациентите рядко съобщават за тежест и дискомфорт в дясно подребрие с чувство на подпиране и подуване. В изследваната от нас група от 148 пациенти само 9 съобщават за такива субективни оплаквания. Най-често стеатозата се открива при профилактично ехографско изследване или при ехография по повод на коремно-болков, горно- или долно-диспептичен синдром, свързани с друга патология, което е повод за диагноза при 32 от нашите пациенти. Друга честа причина за намиране на чернодробна стеатоза е установяване на повишени трансaminaзи или холестазни ензими при провеждане на профилактични лабораторни изследвания или изследвания по друг повод. По този начин е диагностицирана стеатозата при 20 от нашите пациенти. При повечето от пациентите в разглежданата от нас група стеатозата е установена при профилактично изследване и целенасочен скрининг сред пациенти с данни за метаболитен синдром. При част от всички тези пациенти се установява напреднала и активна чернодробна болест в противовес с липсата на субективни оплаквания и липсата на съзнание за наличие на съществуващ чернодробен проблем. Следователно активното търсене на застрашените от NAFLD пациенти сред рисковите групи е от съществено значение за идентифициране на тези с напреднала болест.

Основни предиктори за NAFLD са компонентите на метаболитния синдром. От съществено значение за клиничната оценка на пациентите с NAFLD е установяването на рисковите фактори. В изследваната от нас група 62,84% от всички пациенти имат гликемични нарушения, като 47,29% от тях са с известен ЗД тип 2, а при 15,55% се установи нарушена гликемия на гладно при проведените лабораторни изследвания в хода на проучването. По пътя на обратната връзка, установяването на NAFLD, бе повод за диагностициране на преддиабет при тези 23 пациенти. Нашите данни по отношение честотата на ЗД сред пациентите с NAFLD са в голяма степен сходни с тези, представени в световната и българска литература, където повечето данни посочват честота между 50-70%. В изследваната от Томова група пациенти с NAFLD, 55,83% са с доказан ЗД тип 2. По литературни данни една трета до две трети от диабетиците са с NAFLD, а нашето проучване установи, че две трети от пациентите с NAFLD са с гликемични нарушения – ЗД или преддиабет. Високата честота на NAFLD сред диабетиците ги прави прицелна група за активно търсене на стеатоза. При установяване на NAFLD и липсващи анамнестични данни за ЗД, препоръчваме оценка на гликемичния статус с оглед активно търсене на подлежащ диабет или преддиабет.

Нашият анализ показва, че съществува статистически значима връзка между наличието на ЗД и чернодробна стеатоза, но в изследваната от нас група тази връзка е слаба с корелационен коефициент $\rho=0,209$, $p=0,056$. По литературни данни ЗД се свързва с по-агресивен ход на болестта и по-високостепенна фиброза, което се потвърди от резултатите в изследваната от нас група. Умерено силна корелационна зависимост бе установена между степента на фиброзата и наличието на ЗД тип 2 ($\rho=0,388$, $p=0,001$).

Друг важен компонент на метаболитния синдром и предиктор за поява на NAFLD е хипертоничната болест. В изследваната от нас група с анамнеза за доказана ХБ са 120 от общо 148 пациенти, т.е. 81,08%. Без анамнеза за доказана хипертонична болест и без физикални данни за повишено АН са само 28 пациенти (30,83%). Анализът показва, че преобладават пациентите с II стадий на ХБ. Български автори посочват сходна, но по-ниска честота на ХБ сред изследвани пациенти с NAFLD – 74,1% по данните на Балабанска и 54% по данните на Томова. По литературни данни, 50% от пациентите с ХБ имат и чернодробна стеатоза. Извършеният от нас анализ доказва, че съществува статистически значима положителна зависимост между наличието на ХБ и нейната степен спрямо степента на стеатозата ($\rho=0,277$, $p=0,011$). Степента на стеатозата нараства паралелно с нарастването на стадия на ХБ и нейната давност. Изследвайки корелацията между ХБ и стадия на фиброза установихме сходни данни ($\rho=0,267$, $p=0,010$). Установи се статистически значима, но слаба връзка.

Най-честият и общоприет рисков фактор за поява на NAFLD е затлъстяването. По литературни данни рискът за чернодробна стеатоза нараства с нарастване степента на затлъстяването, като всички степени на затлъстяване, включително и свръхтегло са рискови фактори за поява на чернодробна стеатоза. Особена тежест за поява на NAFLD се отдава на висцералния тип затлъстяване, който се приема за основен рисков фактор за поява на чернодробна стеатоза. Висцералното затлъстяване се дефинира, като наличие на коремна обиколка ≥ 94 cm за мъже и ≥ 80 cm за небременни жени за европейци. Поради това антропометричните изследвания - определяне на ръст, телесно тегло, коремна обиколка и съответно BMI при всеки един пациент с предполагаема NAFLD са от особено значение.

По литературни данни до 95% от хората със свръхтегло или затлъстяване имат NAFLD. В изследваната от нас група пациенти само 5,34% са с нормално телесно тегло, 25,19% са с свръхтегло, а всички останали са с различна степен на затлъстяване, като не се наблюдават съществени различия в степените на затлъстяване между двата пола. Извършеният корелационен анализ доказва силна степен на асоциация между измерения индекс на телесна маса и степента на стеатозата ($r=0,503$, $p=0,001$). Това свидетелства за паралелното нарастване на степента на стеатозата с нарастването на стойностите на индекса на телесна маса. Корелационният анализ доказва и умерено силна връзка между нарастването на BMI и нарастването на чернодробната фиброза ($r=0,379$, $p=0,001$). Следователно, пациенти с по-висок BMI имат по-голяма вероятност да са с напреднала фиброза.

Доказана е патогенетичната връзка на висцералния тип затлъстяване с развитието на NAFLD. Най-лесният и достъпен начин за доказване на висцерално затлъстяване е измерването на коремната обиколка, като увеличеният размер на коремната обиколка се свързва с висцерално затлъстяване. При всички участници в

нашето проучване бе установена коремна обиколка над пределната определена от СЗО за гранична за приемане на висцерално затлъстяване при европейската раса. Мнозинството от пациентите в нашето проучване (88,46% от мъжете и 98,65% от жените) дори са с второ ниво на висцерално затлъстяване определящо значително повишен риск от метаболитно свързани болести и повишен общ здравен риск. Анализът на резултатите показва силна корелационна връзка между степента на стеатозата и обиколката на талията ($r=0,481$, $p=0,001$). Проведения анализ установи силна корелация между стадия на фиброзата и обиколката на талията, което доказва че с нарастване на коремната обиколка нарастват и стойностите на чернодробната плътност, която е основният предиктор за прогресивен ход на болестта ($r=0,463$, $p=0,001$). За да измерим факторните влияния и конкретните ефекти от влиянието на компонентите на МС върху степента на стеатозата, използвахме регресионен анализ.

Съставеният от нас регресионен модел установи, че с най-голяма предиктивна сила за поява и степен на стеатозата, определена с CAP, е нарастването на коремната обиколка, който е и основният фактор, презентиращ степента на висцерално затлъстяване ($p=0,002$). Регресионният модел показва, че нарастването на талията с 1,6 cm води до паралелно нарастване на степента на стеатозата с 2 dB/m. Всички тези данни доказват важността за определяне на коремната обиколка и налагат нейното рутинно измерване при клиничната оценка на пациентите с NAFLD.

Определянето на антропометричните показатели за затлъстяване и особено за висцерално такова са алармиращи за подлежаща чернодробна болест – NAFLD и дори биха могли да се интерпретират, като предиктори за вероятно по-агресивна болест с високостепенна стеатоза и фиброза.

Цялостната клинична оценка на пациентите с NAFLD включва освен анализ на анамнестични данни, данни за придружаващи заболявания, рискови фактори и физикални данни, също така и интерпретация на данните от лабораторните изследвания. Няма специфичен лабораторен маркер доказващ наличие на стеатоза. Лабораторни изследвания важни за клиничната оценка на пациенти с NAFLD са чернодробните показатели – АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ, общ билирубин, липидния профил с изследване на общ холестерол, триглицериди, HDL холестерол и LDL холестерол. От значение е и изследването на тромбоцити и албумин.

В изследваната от нас група пациенти с повишена стойност над референтната за АЛАТ са 23,80% от изследваните, също толкова са и пациентите с повишение на АСАТ – 23,80%, т.е. наблюдаваме паралелно увеличение на стойностите и на двата показателя. Преобладават пациентите с увеличение на АЛАТ до два пъти над нормата (63%), а при останалите 27% увеличението е предимно до три пъти над г.р.с. и само при трима от тях има по-значимо повишение. Увеличени стойности на ГГТ бяха установени при 44% от изследваните лица. В много по-малка степен бе регистрирано повишение на АФ, едва при 10% от изследваните пациенти, като увеличението е лекостепенно до максимум 2 пъти над нормата. Аналогични резултати се получиха и за общия билирубин, който е лекостепенно повишен само при 8% от пациентите, за сметка предимно на индиректна фракция. Следователно при най-висок дял от пациентите се установява повишение на стойностите на ГГТ и в най-лека степен на АФ и билирубин. Това ни дава основание да предположим, че ГГТ в най-голяма степен е свързан с

подлежаща стеатоза и предполага наличие на метаболитно нарушение. Подобни данни за процентното увеличение на лабораторните маркери за хепатоцитоза и холестаза се установява и от други български автори. Томова установява съответно процентно увеличение за АЛАТ 52%, АСАТ-48%, ГГТ-85%, АФ-32,9% и общ билирубин – 3%. Данните от проучването на Балабанска посочват следните честоти на повишение АЛАТ-45,3%, АСАТ-37,6%, ГГТ-50,6%, АФ-10,14%, билирубин – 0%. Минималните биохимични чернодробни лабораторни изследвания трябва задължително да включват АЛАТ, АСАТ и ГГТ. Изследването на АФ, общ и директен билирубин ни дават информация при диференцирането на холестазни синдроми с друга причина.

Лабораторни данни с много голяма тежест при клиничната оценка на пациентите с NAFLD са изследванията на липидния профил. Два от компонентите на липидния профил – ниво на триглицериди и HDL холестерол са едни от основните рискови фактори формиращи метаболитния синдром и имащи отношение към генезата на NAFLD. Литературни данни посочват, че при 50% от пациентите с дислипидемия се установява NAFLD. В изследваната от нас група пациенти значителен е броя на тези с регистрирани отклонения в липидния профил. Повишение на стойността на триглицеридите се установи при 47,48%, понижена стойност на HDL холестерол се установи при 59,7% и повишена стойност на общия холестерол съответно при 56% от изследваните пациенти. Липидните нарушения несъмнено имат отношение към появата на чернодробната стеатоза. Извършеният от нас корелационен анализ показва слаба асоциация между степента на стеатозата и степента на увеличение на триглицеридите ($r=0,010$, $p=0,929$), като не се установи връзка на стойността на триглицеридите със стадия на фиброзата. Приемаме, че повишените триглицериди имат отношение към формирането на стеатозата и вероятно в известна степен към степента на стеатозата, но нямат отношение към стадия на фиброзата. При анализа на зависимостите на увеличението на цитокератин 18, като маркер за хепатоцитоза се установи статистически значима корелационна връзка между степента на повишение на триглицеридите и степента на повишение на СК18. Затова смятаме, че повишението на триглицеридите има отношение към възпалителния статус при пациентите с NAFLD и съответно повишението на 3-Гл е свързано с прогресивния ход на болестта.

Ехографското изследване е крайъгълен камък при поставянето на диагнозата NAFLD. Дава ни качествена и полуколичествена оценка на чернодробната стеатоза. Общоприети са критериите за доказване на чернодробна стеатоза и определяне на нейната степен. Препоръчва се извършване на детайлен оглед с подробно описание на находките, имащи отношение към степенуването на стеатозата. По литературни данни, ехографски стеатозата се долавя при 20% до 30% стеатозни хепатоцити. При проведеното от нас проучване 45% от пациентите са с тежка стеатоза, 34% са с умерено тежка стеатоза и 19% са с лека стеатоза. Ехографското изследване с голяма достоверност може да потвърди наличието на чернодробна цироза, дори при липса на декомпенсация. При 2 от изследваните пациенти бе доказана ехографски цироза, което се потвърди от измерването на чернодробна плътност от фиброскен.

Извършеният корелационен анализ установи висока степен на зависимост между степента на стеатозата, определена чрез ехография и САР от фиброскен ($\rho=0,462$, $p=0,001$). Установява се увеличаване на САР с всяка степен на стеатозата.

Извършеният статистически анализ по метода One-way ANOVA показва статистически значими разлики между трите степени на ехографски установена стеатоза. Чрез последващият Post Hoc Test по метода на Tukey съпоставихме средните стойности на трите степени на стеатоза. Установи се, че има значима разлика между първа и втора степен на ехографски определена стеатоза ($p=0,004$) и между 1 и 3 степен ($p=0,001$), но не се открива значима разлика между 2 и 3 ехографски определена степен ($p=0,201$). Следователно за по-точно определяне на установената ехографски стеатоза и диференцирането на умерена от тежка стеатоза се препоръчва извършване на еластография с определяне на CAP. Всички тези данни доказват безспорното значение на ехографското изследване, като образен метод от първа линия за скрининг и доказване на NAFLD.

Друг образен метод имащ голямо значение при клиничната оценка на пациентите с NAFLD и навлизащ все повече в широката клинична практика е транзиентната еластография, даваща възможност за стадиране на степента на стеатозата чрез определяне на CAP и еластография за определяне стадия на фиброзата.

Ехографското изследване би могло да послужи за скрининг на пациентите с NAFLD, а фиброскенът дава възможност за количествено определяне на стеатозата и фиброзата. За определяне на степента на стеатозата според CAP въз основа на литературни данни от проучвания и метаанализи по света и в България приехме следните гранични стойности: S0 – при стойности под 215 dB/m, S1 – при стойности до 253 dB/m, S2 – при стойности до 300 dB/m и S3 при стойности над 300 dB/m. Според така приетите критерии най-голям брой от пациентите в изследваната от нас група са със степен S3 стеатоза - 53,58% от общия брой, със степен S2 съответно са 32,14% и най-малък брой са пациентите със степен S1 – 13%. Само при един пациент се установи стеатоза S0. В изследваната от нас група установеното разпределение по пол при различните степени на стеатоза е почти еднакво. Установи се висока степен на корелация между ехографското изследване и определената стеатоза от CAP, но се доказва по-малка възможност на ехографското изследване за диференциране между 2 и 3 степен на стеатоза. Определянето на CAP е по-точен метод за количествено стадиране на степента на стеатозата. Предимство е, че се избягва и субективната полуколичествена оценка давана от ехографията. Количественото определяне на стеатозата чрез CAP от фиброскен от друга страна, дава възможност за проследяване и контрол на промените настъпващи в хода на лечение на пациентите с NAFLD. Въз основа на резултатите от изследването на CAP при пациентите в проучваната от нас група извършихме корелационен и регресионен анализ с компонентите на метаболитния синдром и установихме описаните по-горе зависимости, даващи ни възможност да съставим план за провеждане на скрининг при пациентите с NAFLD.

За неинвазивно определяне на стеатозата в клиничната практика се използват няколко индекса, изчислявани по съответни формули. При Fatty liver index (FLI) от значение са BMI, коремна обиколка, ниво на 3-Гл и ГГТ, които според получените данни от нашето проучване са от голямо значение за клиничната оценка на пациентите.

При изчисляване на HSI (Hepatic steatosis index) се използват стойностите на АЛАТ, АСАТ, BMI, пол и наличие на ЗД, които като самостоятелни параметри са от съществено значение за оценката на пациентите с NAFLD. По литературни данни при

съответни стойности тези индекси са с много добра негативна предсказваща стойност за отхвърляне, а също и позитивна предсказваща стойност за доказване на стеатоза.

Извършеният от нас корелационен анализ установи умерено силна статистическа зависимост между стойностите на CAP и индексите за стеатоза (FLI и HSI), следователно CAP нараства паралелно със стойностите на FLI и HSI.

Извършеният допълнително One-way Anova анализ доказва, че и двата индекса могат да се използват, като скрининг за стеатоза, като FLI би могъл по-добре да ни ориентира и за степента на стеатозата. Стеатозните индекси представляват лесен и точен метод за предсказване на стеатоза и са удобни за селектиране на пациенти за УЗ изследване и необходимост от консултация за промяна начин на живот. Могат да се използват за предсказване на чернодробна заболяемост.

Според последни литературни данни еднозначно се приема фиброзата, като основен показател, определящ тежестта на чернодробното увреждане, стадия на заболяването и възможната прогресия на болестта до цироза. Затова при стадирането на пациентите с NAFLD е от особено значение определянето на стадия на фиброзата. Това може да се осъществи чрез инвазивно биопсично изследване с хистология или чрез неинвазивно определяне на стадия на фиброза чрез образни еластографски техники или серумни биомаркерни скорове. Инвазивността на биопсията с макар и малък риск от усложнения, вариабилността и субективизма при разчитането на резултата, мозаичността на измененията в черния дроб и възможността за „sample error“ поради малката репрезентативност на пробата и не на последно място страхът от процедурата и отказа за извършването ѝ от страна на пациентите, невъзможността за скриниране и стадиране на болестта сред големи групи от хора, налагат в съвременната хепатология използването на неинвазивните методи за клинична оценка на стадия на фиброзата.

Транзиентната еластография с фиброскен измерва плътността на черния дроб в kPa и по този начин оценява стадия на фиброзата. Резултатите варират между 1,5 и 75 kPa. Граничните стойности за отделните стадии на фиброза се различават между отделните нозологични единици – вирусни хепатити, алкохол, NAFLD. Оценка на степента на фиброзата от 0 до 4 е осъществена според приетите гранични стойности, от метаанализи на проучвания при пациенти с NAFLD и NASH.

В изследваната от нас група пациенти преобладават тези с липсваща или лека фиброза (F0 и F1, 66%), което съответства на литературните данни за характеристиката и клиничния ход на болестта в световен мащаб. Пациентите с напреднала фиброза и цироза, които са основните предиктори за агресивен ход на болестта представляват сериозен дял от изследваната група (F3 и F4, 17,6%), което налага тяхното активно търсене и по-активно наблюдение с оглед високата честота на чернодробно-обусловена болестност и болестност от ССЗ и необходимостта от тяхното лечение. Делът на пациентите със значима фиброза F2 е 16,4%, а тези пациенти са в обратима фаза на чернодробните изменения и биха се повлияли благоприятно от предприемане на мерки по отношение на хранителен и двигателен режим и лечение на метаболитните нарушения. Следователно проведеното изследване на чернодробна плътност е от изключително значение за клиничната оценка на пациентите, тяхната рискова стратификация и определяне на по-нататъшно поведение.

Използвайки резултатите за чернодробна плътност от фиброскен, изследвахме зависимостите между клинични показатели и силата на тяхното въздействие върху фиброзата. Установи се умерено силна връзка между чернодробна плътност и индекса на телесна маса, както и силна корелационна връзка с нарастването на обиколката на талията. Умерено силна е зависимостта между стадия на фиброза и наличието на ЗД тип 2, докато корелацията с наличието на ХБ е слаба. Тези данни също ни дават основание за разработване на стратегия за скрининг и интензивно наблюдение сред таргетни групи с вероятен агресивен ход на болестта, каквито са пациентите с висок ВМІ, голяма коремна обиколка и ЗД тип 2.

Изследвайки корелацията между степента на фиброзата и лабораторните показатели АСАТ, АЛАТ, ГГТ, тромбоцити и серумни триглицериди установихме статистически значима връзка единствено между стойностите на АСАТ и фиброзата, като корелацията е слаба, което доказва нарастването на АСАТ успоредно с фиброзата.

Информация за тежестта на фиброзата ни дават и скоровете от серумните биомаркери. Редица проучвания сравняват трите скорa (FIB-4, NAFLD fibrosis score и APRI) оценяващи фиброзата. NAFLD fibrosis score и FIB-4 по литературни данни, се отличават с най-висока точност и негативна предсказваща точност над 90% за отхвърляне на фиброза. По литературни данни скоровете за оценка на фиброзата са с много добра диагностична стойност за предсказване на напреднала фиброза, но не различават леките от умерени степени на фиброза. Резултатите от скоровете за фиброза, получени от нашата група пациенти съпоставихме с резултатите за чернодробна плътност от фиброскен и установихме статистически значима корелационна зависимост и за трите скорa. Най-висока зависимост се установи за NAFLD fibrosis score ($r=0,432$, $p=0,001$), следван от FIB-4 ($r=0,365$, $p=0,001$) и APRI скор ($r=0,327$, $p=0,002$). Извършеният One-way ANOVA анализ за определяне на статистически значими разлики между четирите групи на фиброза определени по средни стойности на чернодробна плътност от фиброскен установи статистически значими разлики за NAFLD fibrosis score ($F=3,562$, $p=0,011$) и за FIB-4 ($F=2,812$, $p=0,030$). Само за APRI сравнителният анализ между отделните групи на фиброза не е статистически значим ($F=2,193$, $p=0,77$). Извършеният Post Hoc Test по метода на Tukey показва, че в изследваната от нас група пациенти се установяват статистически значими разлики между липсващата и леките степени на фиброза, спрямо F3 и F4. Това доказва подобно на литературните данни, че фиброзните скорове със сигурност могат да се използват, като първа линия рискова стратификация за изключване на напреднала болест.

В нашето проучване извършихме сравнителен анализ между нарастването на стеатозата и увеличаването на стадия на фиброзата. Установихме съответствие на по-висока стойност на САР спрямо по-висока стойност на F ($F=5,270$, $p=0,001$). При детайлно изследване по групи на фиброза се установи, че само при F4 спрямо F3 ($p=0,965$), разликата не е значима между стойностите на САР в групите на напреднала фиброза, което се обяснява със сходната висока стойност на САР и при двете групи.

Извършихме детайлен сравнителен анализ между болните без фиброза и четирите групи на фиброза, определени от фиброскен спрямо показателите ВМІ, коремна обиколка в сантиметри, АЛАТ и АСАТ. Дескриптивният анализ по групи

установи по-ниска средна стойност на ВМІ при пациентите с липсваща фиброза и лека фиброза спрямо F3 и F4. Установи се и покачване на коремната обиколка с увеличаване на степента на фиброзата и по-високи средни стойности на АСАТ за F3 и F4, които са със средни стойности над г.р.с., спрямо липсващата и лека фиброза. Чрез ANOVA анализ се установи, че има статистически значима разлика между четирите степени на фиброза по отношение единствено на коремна обиколка ($F=5,917$, $p=0,000$), което доказва нейната значимост като предиктор за напреднала фиброза. Анализът не показва статистическа значимост за ВМІ и АСАТ, което се обяснява с факта, че по-голямата част от изследваните от нас пациенти са в групата с липсваща или без значима фиброза (66%). Статистическа значимост за разлика на стойностите на АЛАТ по подгрупи на фиброза не бе установена.

Неалкохолният стеатохепатит се счита за прогресивната форма на NAFLD, водеща в голяма степен до развитие на фиброза и цироза и съответно е свързана с по-голяма вероятност от чернодробни усложнения. Най-сигурният начин за доказване на възпаление е биопсията, чиито негативи вече разгледахме. Множество серумни биомаркери са изследвани за установяване на НАСХ, но единственият самостоятелен валидиран такъв биомаркер е серумният цитокератин 18. Като маркер за хепатоцитна апоптоза той е характерен за стеатохепатита. По литературни данни нивата на СК18 варират и са значително по-високи, отколкото при здрави контроли, корелират с тежестта на заболяването и са много по-високи при пациентите със стеатохепатит, отколкото при тези с обикновена непрогресивна стеатоза. Все още липсва опит с използването на СК18 в рутинната практика, освен това се наблюдава вариабилност при предполагаемите гранични стойности и тяхната съответна диагностична точност сред различните проучвания. Липсва голямо проучване сред българската популация за връзката между NAFLD и СК18. Липсва приета референтна граница на нормата за серумния цитокератин 18 в ng/ml за българската популация, поради което приехме стойността, предложена от производителя. Измерената средна стойност за СК18 в нашата група пациенти е $3,01 \pm 10,42$ ng/ml, като минималната стойност е 0,1 ng/ml, а максималната е >80 ng/ml. В изследваната от нас група, нормални стойности се установяват при 90% от пациентите, а повишение говорещо за стеатохепатит се установява при 10% от пациентите. При всички пациенти с повишен СК18 се установява висцерално затлъстяване, с коремна обиколка съответстваща на значително повишен риск, също така е налице инсулинова резистентност с НОМА-index над 2,5 и данни за метаболитен синдром.

Използваният корелационен анализ за изследване зависимостта между клиничните показатели и установяване на силата на тяхното влияние върху стойностите на цитокератин показва умерено силна положителна връзка между нивото на триглицеридите и СК18 ($r=0,318$, $p=0,012$), свидетелстващо за увеличаване на стойността на триглицеридите успоредно със стойностите на СК18. Връзката между нарастването на 3-Гл и възпалителният статус определен чрез нивото на цитокератин 18, ни води до заключение, че повишеното ниво на триглицеридите се свързва с голяма вероятност с процесите на възпаление. Корелационна връзка не бе установена по отношение нарастването на ВМІ и коремна обиколка от една страна и увеличаването на

СК18 от друга. Корелационният анализ не даде значими резултати за връзката между нарастване на стойността на цитокератин 18 и наличието на ХБ, ЗД и МС.

Липсата на корелация по метода на Pearson с лабораторните показатели АСАТ, АЛАТ, ГГТ и CRP счетохме, че се дължи на липсата на голяма вариация на стойностите на цитокератин 18 в изследваната от нас група пациенти (n=61). Използваният Independent Samples T-test, чрез който сравнихме средните стойности на АЛАТ, АСАТ, ГГТ и CRP между пациентите са нормален и повишен СК18, показва значително повишени стойности на АЛАТ, АСАТ и ГГТ в групата с повишен СК18, спрямо тази с нормален, като установените разлики са статистически значими (съответно $t=-2,958$, $p=0,004$; $t=-3,729$, $p=0,001$; $t=-2,266$, $p=0,027$). Единствено статистически значими връзки не се откриха между стойностите на CRP и СК18. Горепосочените резултати ни дават основание да приемем, че установяването на повишен серумен СК18 е надежден метод за доказване на възпаление при NAFLD. Считаме че, с оглед повишаване достоверността на резултатите е нужно провеждане на изследването сред по-голяма група от пациенти, а също така е необходимо и валидирането на референтни граници за СК18 сред българската популация.

По литературни данни повишението на СК18 корелира с по-висока степен на фиброза. В нашето проучване корелационният анализ спрямо нивото на СК18 и степента на стеатоза и стадия на фиброза не установи статистически значима връзка. Тези данни се обясняват с факта, че в изследваната група пациенти единици са с напреднала фиброза, определена според стойността на фиброзните скорове. Преобладават пациенти с липсваща или с лека фиброза. За да се направи заключение дали повишените нива на СК18 корелират с по-високостепенна фиброза вероятно е необходима по-голяма извадка от пациенти с различна чернодробна плътност. Неодходими са по-нататъшни изследвания за утвърждаване ролята на СК18, като маркер за хепатоцитно възпаление в рутинната практика.

6. Алгоритъм за скрининг и диагностика на НАМЧБ

В резултат на всички горепосочени установени данни, имайки предвид значимостта на компонентите на метаболитния синдром и силата на тяхното влияние върху степента на стеатоза и стадия на фиброза и върху вероятния прогресивен ход на NAFLD, разполагайки с достатъчно данни за неинвазивните биохимични и образни методи за диагностициране и стадирание на болестта и имайки предвид литературните данни, предлагаме прилагането на следния алгоритъм за скрининг и диагностика на NAFLD (фиг. 43).

Препоръчваме скринингът да се провежда сред пациенти с рискови фактори и голяма вероятност за НАМЧБ. Това са пациенти с метаболитен синдром, пациенти със ЗД тип 2, който предполага по-агресивен ход на болестта или пациенти с абдоминално затлъстяване, определено чрез измерване на талия и ВМІ. Нашето проучване доказва, че абдоминалното затлъстяване е основен предиктор за подлежаща високостепенна стеатоза и фиброза.

При наличие на горепосочените рискови фактори първа стъпка е определянето на скоровете за стеатоза – лесен, бърз, достъпен и достоверен начин за първоначална

ориентация за стеатоза. При данни за FLI над 60 или HSI над 36, следва насочване за абдоминална ехография.

Първият основен образен метод доказващ чернодробна стеатоза е абдоминалната ехография, която дава полуколичествена оценка на стеатозата. При доказването на стеатоза се препоръчва провеждане на хепатологичен скрининг за изключване на вторична причина за стеатоза – подробна анамнеза за етанолов прием, вирусологични изследвания (anti HB cor total, HBsAg, anti HCV), изследване на медна обмяна (серумна мед, церулоплазмин), токсични причини и т.н. При липса на чернодробна стеатоза, но при известни рискови фактори се препоръчва проследяване на лабораторни показатели и повторно провеждане на скрининг след една година.

При отхвърляне на вторична причина за стеатоза се приема НАМЧБ и се извършват лабораторни изследвания. Минималните препоръчителни изследвания са АЛАТ, АСАТ, ГГТ, албумин, тромбоцити, липиден профил. За определяне наличие на неалкохолен стеатохепатит се препоръчва изследване на цитокератин 18, при достъпност.

Следващата препоръчана стъпка е определяне на стадия на фиброзата. Като първа линия се изчисляват индексите за фиброза – FIB-4 и NAFLD fibrosis score. Въз основа на тях е възможна първата рискова стратификация на пациентите.

Нисък риск от подлежаща прогресивна болест се приема при FIB-4 < 1,3 и NFS < -1,455. В този случай пациентите подлежат на проследяване на лабораторните показатели и повторен скрининг след 1 година, като междувременно се препоръчва промяна в начин на живот – диетичен режим и двигателен режим, при нужда лечение на метаболитните отклонения. На този етап промените в черния дроб са обратими.

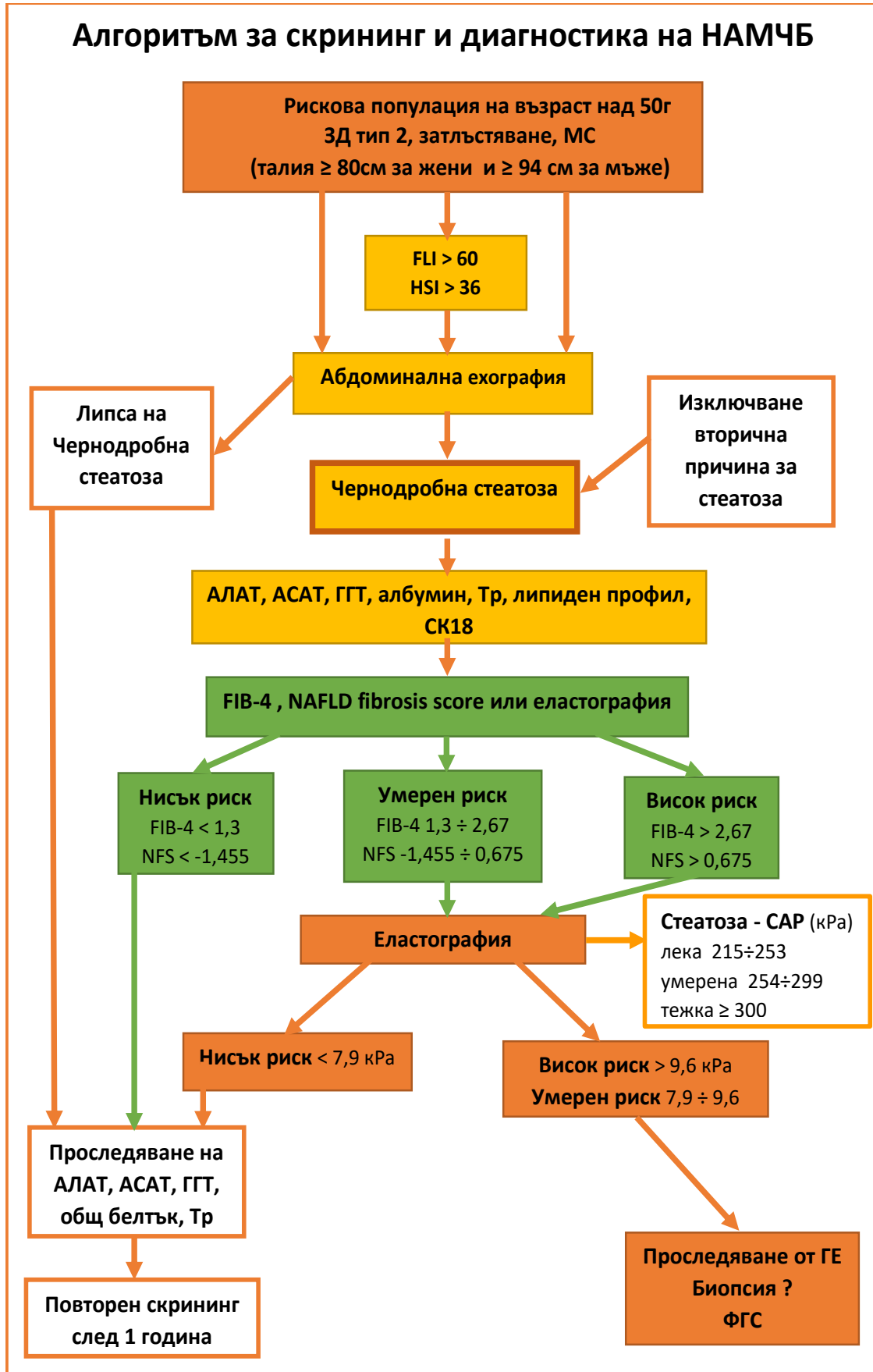
При FIB-4 от 1,3 до 2,67 и NFS от -1,455 до 0,675, пациентите са с умерен риск и се препоръчва по-нататъшно изследване за потвърждаване на стадия на фиброзата чрез еластография. При FIB-4 > 2,67 и NFS > 0,675 пациентите се стратифицират, като високо рискови за наличие на прогресивна болест и също се препоръчва потвърждаване на стадия на фиброзата чрез еластография.

При резултат от еластография с фиброскен под 7,9 кРа се приема, че пациентите нямат напреднала фиброза и са с нисък риск за прогресивна болест. Те подлежат на проследяване и повторен скрининг след 1 година. Препоръчва се диетичен режим и двигателен режим, при нужда лечение на метаболитните отклонения.

При резултат от еластографията с фиброскен между 7,9 кРа и 9,6 кРа пациентите се стратифицират с умерен риск от напреднала болест. При еластография с резултат над 9,6 кРа съответно са с висок риск от напреднала болест. И в двата случая пациентите са с напреднала фиброза, поради което се нуждаят от проследяване от гастроентеролог, преценка за нужда от биопсия, преценка за извършване на ФГС с оглед уточняване на подлежаща цироза и нейното стадиране. Освен препоръка за диетичен режим и двигателен режим и лечение на метаболитните отклонения тук е необходимо и специфично лечение.

При извършване на еластография с фиброскен се определя и степен на стеатоза с CAP, като съответно пациентите се стадират според стойността на CAP на пациенти с лека, умерена и тежка стеатоза. Количествената обективна оценка на стеатозата позволява проследяване хода на болестта и мониториране на терапевтичния отговор при модификацията начина на живот и евентуалното медикаментозно лечение.

Алгоритъм за скрининг и диагностика на НАМЧБ



Фиг. 43 Скрининг и диагностика на НАМЧБ

7. Заключение

Неалкохолната мастна чернодробна болест представлява фенотипната чернодробна изява на метаболитния синдром. Безспорна и изяснена е ролята на компонентите на метаболитния синдром за появата на чернодробната стеатоза и нейната прогресия. Тази връзка е двупосочна, тъй като се счита че наличието на чернодробна стеатоза е предиктор за поява на сърдечно-съдови заболявания, карциноми с различна локализация и повишена смъртност не само от чернодробно свързани, а и различни причини. Ширещата се глобална епидемия от затлъстяване води до паралелното нарастване на честотата и на НАМЧБ, като я извежда на челно място сред причините за чернодробно увреждане. Предвижда се в скоро време НАМЧБ да изпревари другите чернодробни заболявания по заболеваемост, смъртност и да стане водеща причина за чернодробна трансплантация. Всички тези факти изтъкват важността на поставянето на адекватна диагноза и стадиране на НАМЧБ, като затова са необходими лесно достъпни, високо чувствителни и специфични тестове, които да позволят не само идентифициране на пациентите с висок риск от неблагоприятен изход на болестта, но и да дадат възможност за мониториране хода на болестта и терапевтичния отговор. Чернодробната биопсия с хистологично изследване, макар и златен стандарт за поставяне на диагнозата стеатохепатит и за стадиране на фиброзата, не отговаря на тези критерии предвид нейната инвазивност, невъзможност за скрининг и проследяване. Такива лесно достъпни, безопасни, достоверни и точни методи, даващи възможност за количествена оценка и проследяване на степените на стеатоза и стадия на фиброза, са неинвазивните серумни биомаркерни скорове и образните изследвания, които все повече навлизат в широката практика и доказват своето значение. В наши дни смело можем да твърдим, че тези тестове в повечето случаи заместват хистологичното изследване за поставяне на диагнозата НАМЧБ и нейното стадиране.

Диагностиката на НАМЧБ/НАСХ е комплексна и изисква комбиниране на различни методи, започващи от анамнеза и физикално изследване, включващо антропометрични показатели (ръст, тегло, ВМІ и коремна оиколка), биохимични лабораторни показатели, образни изследвания и морфологично изследване. Създадените скорови системи за оценка на стеатозата и фиброзата на база серумни биомаркери и клинични характеристики на пациентите са лесно достъпен и достоверен начин за бърза ориентация за наличието на стеатоза и за стадия на фиброзата. Ехографското изследване също така е достъпен и безопасен метод, позволяващ скрининг, диагностика на стеатоза и полуколичественото ѝ степенуване. Установяването на повишен серумен цитокератин 18, като единствен неинвазивен маркер за хепатоцитна некроза/апоптоза, е надежден метод за доказване на възпаление при NAFLD. Използването на транзиентната еластография безспорно се налага и утвърждава в съвременната клинична практика, като един от основните достоверни и безвредни диагностични методи, даващи възможност за точна оценка степента на стеатозата с CAP и същевременно определяне на стадия на фиброзата. Предвид своята лесна изпълнимост, безвредност и възможност за многократна повторяемост, този метод може да се използва за проследяване хода на болестта и мониториране на терапевтичния отговор при модификацията начина на живот и евентуалното медикаментозно лечение. Транзиентната еластография дава възможност за провеждане на по-прецизен скрининг и идентифициране на пациентите с висок риск от неблагоприятен изход на болестта, т.е. откриване на пациентите с по-високостепенна фиброза.

Препоръчва се провеждане на скрининг за НАМЧБ/НАСХ, при пациенти с метаболитен синдром и пациенти със ЗД тип 2, при които се предполага по-агресивен ход на болестта или пациенти с абдоминално затлъстяване, което е основен предиктор за високостепенна стеатоза и фиброза. Краен резултат от това би било своевременното диагностициране, лечение и забавяне на прогресията на болестта.

Увеличаването на знанията за неалкохолната мастна чернодробна болест и клиничната насоченост към нея води до своевременно диагностициране на болестта в ранните стадии, с цел повлияване и възможност за обратно развитие на чернодробните промени. Познаването на особеностите на болестта и възможния ѝ прогресивен ход прави възможно ранното поставяне на диагнозата и предотвратяване на прогресията на болестта.

8. Изводи

1. Адекватната клинична оценка на пациентите с НАМЧБ е от изключително значение предвид разнообразните форми и стадии на болестта и трябва да включва пълна оценка на придружаващи метаболитни отклонения, респективно компонентите на метаболитния синдром.

2. Наличието на ЗД тип 2 се свързва с риск от развитие на по-високостепенна фиброза при пациентите с НАМЧБ и по-агресивен ход на болестта. ЗД предполага НАМЧБ, но и наличието на стеатоза предполага поява на ЗД. Препоръчва се активно търсене на гликемични нарушения сред пациентите с НАМЧБ.

3. Висцералният тип затлъстяване е основен рисков фактор за появата на НАМЧБ. Степента на стеатозата в най-голяма степен корелира с повишението на ВМІ и преди всичко на коремната обиколка. Увеличената коремна обиколка е основният предиктор за появата и тежестта на стеатозата, а също така предполага и по-високостепенна фиброза. Препоръчва се като рутинно определянето на ВМІ и измерването на коремната обиколка при пациентите с установена НАМЧБ.

4. Ехографското изследване е образен метод от първа линия подходящ за скрининг и степенуване на НАМЧБ.

5. Определянето на САР при вибрационната еластография (фиброскен) е точен неинвазивен метод за количествено стадиране на стеатозата и се препоръчва за рутинно приложение при клиничната оценка на пациентите с НАМЧБ.

6. Стеатозните индекси – FLI и HSI представляват лесен и точен метод за предсказване наличие на стеатоза и са удобни за селектиране на пациенти за УЗ изследване. Могат да се използват, като скрининг за стеатоза, но показват и добра корелация със степените на стеатоза.

7. Определянето на чернодробната плътност с транзиентна еластография е точен и надежден метод за стадиране на фиброзата при пациенти с НАМЧБ и е от изключително значение за клиничната оценка на пациентите, за тяхната рискова стратификация и за определяне на по-нататъшно проследяване и лечение.

8. Фиброзните скорови индекси (NAFLD fibrosis score, FIB-4, APRI) показват статистически значима корелационна връзка със стойностите за фиброза, определени от фиброскен. Фиброзните скорови индекси са надеждно средство за изключване на напреднала фиброза.

9. Изследването и установяването на повишени стойности на цитокератин 18 е надежден метод за доказване на възпаление при НАМЧБ.

9. Приноси

Приноси с научно – приложен и потвърдителен характер

1. Направена е пълна клинична оценка на пациентите с НАМЧБ, като е потвърдено значението на метаболитните рискови фактори за прогресията на болестта.
2. Потвърдена е ролята на антропометричните показатели при клиничната оценка на пациентите с НАМЧБ.
3. Потвърдена е ролята на ехографското изследване за диагностика и скрининг на НАМЧБ в ежедневната практика.
4. Доказано е значението на определянето на степента на стеатозата чрез САР като рутинен образен метод при клиничната оценка на пациентите с НАМЧБ.
5. Потвърдена е важноста на измерването на чернодробната фиброза чрез транзитна еластография и е утвърдено използването ѝ в рутинната практика за стадиране на чернодробната фиброза при НАМЧБ и определяне на пациентите с висок риск от прогресираща болест.
6. Направен е сравнителен анализ между неинвазивните серумни и образни методи за стадиране на стеатозата и фиброзата и е разяснена тяхната роля в ежедневната клинична практика.

Приноси с оригинален характер

1. Предложен е алгоритъм за скрининг и диагностика на пациентите с НАМЧБ.
2. За първи път е извършено изследване на цитокератин 18, като маркер за възпаление при широка популация от пациенти с НАМЧБ в България.

10. Списък на публикации и участия в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд

1. Boykova P, NON-INVASIVE BIOMARKERS FOR ASSESSMENT OF NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE, European bridging meeting in gastroenterology, 15th – 16th November 2020, Warsaw, Poland
2. Бойкова П., Иванова И, Коцев И, Неинвазивни биомаркери за оценка на Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ), Известия на Съюза на учените Варна, 2019г, стр.10-15;
3. Бойкова П., Ганчева Д., Клиничен случай на пациентка с чернодробна цироза при Неалкохолна мастна чернодробна болест и бременност, Известия на Съюза на учените Варна, 2019г, том 24, стр. 5-9;
4. Бойкова П. Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) – нарастващ здравен проблем в България, GP News, брой 4 (234), април 2020г; 30-34
5. Бойкова П. Как да лекуваме днес неалкохолната мастна чернодробна болест?, GP News, брой 4 (263), 2022г; 14-18
6. Можем ли да се предпазим от НАМЧБ?, Гастрофорум Варна, ноември 2018 – превенция; Устен доклад
7. Съвременна диагностика и лечение на НАМЧБ, Гастрофорум Варна, ноември 2019 – новости; Устен доклад
8. Неалкохолна мастна чернодробна болест – новости, Гастрофорум Варна декември 2020 – новости; Устен доклад

Благодаря на всички които допринесоха този труд да се осъществи:

Моят научен ръководител проф. д-р И. Коцев, д.м.н., за напътствията и помощта.

Колегите от Клиниката по гастроентерология към УМБАЛ „Св. Марина“ - гр. Варна за съдействието, куража който ми вдъхваха и удоволствието да работим заедно.

Доц. д-р Яна Бочева, д.м. ръководител на Катедра по клинична лаборатория към УМБАЛ „Св. Марина“ - гр. Варна, за помощта и експертната, прецизна работа.

Колегите от Клинична лаборатория към УМБАЛ „Св. Марина“ - гр. Варна.

Доц. д-р Силвия Николова, д.м. за експертната статистическа обработка на данните.

Майка ми за подкрепата, вярата в мен и куража.

Семейството ми – съпруга ми и прекрасните ми дъщери Илина, Свилена и Моника за безкрайната обич и подкрепа.