



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ПЛЕВЕН

Катедра по нефрология,
хематология, гастроентерология

УМБАЛ “Д-Р ГЕОРГИ СТРАНСКИ” ЕАД
гр. ПЛЕВЕН

Клиника по гастроентерология

Д-р Десислава Любомирова Павлова

**УВРЕЖДЕНИЯ НА ЧЕРНИЯ ДРОБ
ПРИ ИНТРАВЕНОЗНИ ХЕРОИНОМАНИ -
КЛИНИЧНИ, БИОХИМИЧНИ,
СЕРОЛОГИЧНИ И МОРФОЛОГИЧНИ
ПРОУЧВАНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

на

Дисертационен труд за присъждане
на образователна и научна степен “ДОКТОР”
Научна специалност - гастроентерология

Научен ръководител:

Доц. д-р Иванка Пенчева Маринова, дм

Научен консултант:

Проф. д-р Захарий Александров Кръстев, дмн

Плевен, 2018 година

Дисертационният труд е написан на 126 стандартни машинописни страници и е онагледена с 46 таблици, 21 фигури и 3 приложения. Използвани са 198 литературни източника, от които на кирилица 47 и на латиница 151.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани 7 публикации.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрен съвет на Катедра“Нефрология, хематология, гастроентерология“ при Медицински университет – Плевен на 13.04.2018 г. с решение за официална защита.

Научно жури в състав:

Рецензенти:

1. Проф. д-р Захарий Александров Кръстев, дмн – външен член за МУ – Плевен, Катедра по Вътрешни болести към Медицински Университет, София, научен консултант на докторанта.
2. Проф. д-р Красимир Антонов Антонов, дмн - външен член за МУ – Плевен, Катедра по Вътрешни болести към Медицински Университет, София.

Становища от:

1. **Проф. д-р Зоя Ангелова Спасова, дм** - външен член за МУ – Плевен, Катедра по Вътрешни болести към Медицински Университет, София.
2. **Проф. д-р Людмила Танова Танкова, дмн** - външен член за МУ – Плевен, Катедра по Вътрешни болести към Медицински Университет, София
3. **Доц. д-р Иванка Пенчева Маринова, дм** - вътрешен член за МУ – Плевен Катедра“Нефрология, хематология, гастроентерология“ при Медицински университет – Плевен

Резервни членове:

1. Проф. д-р Цеца Георгиева Дойчинова, дм – вътрешен член за МУ – Плевен
2. Доц. д-р Владимир Николов Андонов, дм – външен член за МУ – Плевен, МУ - Пловдив

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ – Плевен.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на

.....
.....

СЪДЪРЖАНИЕ

	Стр.
I. ВЪВЕДЕНИЕ	1
II. ЦЕЛ	3
III. ЗАДАЧИ	3
IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	4
1. ХИСТОМОРФОЛОГИЧНИ И МОРФОМЕТРИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ЧЕРЕН ДРОБ ПРИ ХЕРОИНОМАНИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С - Група 1	5
2. ПРОМЕНИ В НИВАТА НА ФЕРИТИН, ВИТАМИН В 12 И ФОЛИЕВА КИСЕЛИНА ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ - Група 2 ...	7
3. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ, КАСАЕЩИ ХРОНИЧНИТЕ ХЕПАТИТИ В И С ПРИ ИНТРАВЕНОЗНИТЕ ХЕРОИНОМАНИ - Група 3	9
4. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА АКТИВНОСТ НА ВИРУСНАТА РЕПЛИКАЦИЯ ЗА ВИРУСИ В И С ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ - Група 4	11
5. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ	11
V. РЕЗУЛТАТИ	12
1. ХИСТОМОРФОЛОГИЧНИ И МОРФОМЕТРИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ЧЕРЕН ДРОБ ПРИ ХЕРОИНОМАНИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С - Група 1	12
2. ПРОМЕНИ В НИВАТА НА ФЕРИТИН, ВИТАМИН В 12 И ФОЛИЕВА КИСЕЛИНА ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ - Група 2 ...	25
3. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ, КАСАЕЩИ ХРОНИЧНИТЕ ХЕПАТИТИ В И С ПРИ ИНТРАВЕНОЗНИТЕ ХЕРОИНОМАНИ - Група 3	34
4. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА АКТИВНОСТ НА ВИРУСНАТА РЕПЛИКАЦИЯ ЗА ВИРУСИ В И С ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ - Група 4	37
VI. ОБСЪЖДАНЕ	39
VII. ИЗВОДИ	44
VIII. ПРИНОСИ	45
IX. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С НАУЧНИЯ ТРУД	46
X. ПРИЗНАТЕЛНОСТ.....	47

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ИВН	-	Интравенозни наркомани
ПАВ	-	Психоактивни вещества
ХХВ	-	Хроничен хепатит В
ХХС	-	Хроничен хепатит С
ЦНС	-	Централна нервна система
ALAT	-	Аланин-амино трансфераза
Anti HBc	-	антитела срещу core антиген на хепатитен вирус В
Anti HCV	-	антитела срещу хепатитен вирус С
APH	-	Алкална фосфатаза
ASAT	-	Аспартат-амино трансфераза
GGT	-	Гама-глутамил транспептидаза
HA	-	Heroin-addicted (хероиновозависими)
HBsAg	-	повърхностен антиген на хепатитен вирус В
HBV	-	Хепатитен вирус В (hepatitis virus B)
HBV DNA	-	HBV дезоксирибонуклеинова киселина
HCV	-	хепатитен вирус С (hepatitis virus C)
HCV RNA	-	HCV рибонуклеинова киселина
HIV	-	вирус на човешка имунонедостатъчност (human immunodeficiency virus)
n	-	Естествено число (брой)
PCR	-	полимеразна верижна реакция (polymerase chain reaction)
PWID	-	Лица, злоупотребяващи интравенозно с дроги (Persons With Intravenous Drug-abuse)
SVR	-	траен вирусологичен отговор (sustained virological response)

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Наркоманиите са един от тежките товари, които съвременното общество носи. Известни и употребявани като дроги са множество природни продукти, но много са и синтезираните от човека за същата цел психоактивни вещества (ПАВ).

Зависимостта е болестно състояние, възникващо в резултат на употребата на едно или повече психоактивни вещества. Резултатът от горепосочения начин на живот на зависимите са патологични промени в психическото и физическото състояние на индивида, нарушения в социалното функциониране и липса на интеграция в обществото

Хероинът (диацетилморфин, морфиндиацетат, диаморфин) е нелегален наркотик от групата на опиатите. Повтарящата се употреба на хероин води до множество физиологични промени, при които възникват **толеранс и зависимост**, както и симптомите на **абстиненция**. Началото на действие на хероина зависи от начина на апликация. Проучванията показват, че субективното усещане за удоволствие от използването на дрогата е пропорционално на скоростта, с която се повишава нивото на дрогата в кръвта. Ето защо най-предпочитаният начин на приложение е интравенозният.

Зависимостта към хероин продължава да е свързана с най-много здравни и социални щети. Хероинозависимите (НА) са млади хора, които много бързо биват от една страна маргинализирани в обществото заради асоциалното си поведение и от друга инвалидизирани поради хронични заболявания, свързани с хероиновата зависимост.

Основната част от дългосрочните патогенни ефекти на интравенозната хероинова злоупотреба са резултат на използване на контаминиран нелегален хероин и замърсени пособия за инжектиране.

Сред последните такива на първо място са хроничните чернодробни увреждания, резултат на **хроничните хепатити С и В**, с които хероинозависимите се заразяват още в първите месеци на интравенозната злоупотреба с хероин.

Самата злоупотреба с хероин причинява морфологични промени в чернодробния паренхим, които могат да бъдат оценени и обективизирани при конвенционалните хистологични, имунохистохимични и морфометрични проучвания, както и при серологични и биохимични изследвания на кръв. Интензитетът на морфологичните промени в черния дроб нараства с увеличаването на продължителността на злоупотребата и при злоупотреба с други психоактивни вещества и активна хепатит С и/или В вирусна инфекция.

Разработените превантивни програми за ограничаване на кръвно-преносимите заболявания, които представляват основна причина за хроничната болестност при интравенозно злоупотребяващи лица (PWID) бележат успехи по отношение намаляването на честотата на заразените с HIV сред тази рискова група. При хроничните чернодробни заболявания такава тенденция липсва.

В България до момента не са провеждани подробни хистологични, биохимични и серологични проучвания, свързани с чернодробните увреждания при хероинозависими. В проучванията, провеждани със съдействието на Националния център по наркомании в България е оценено носителството на анти HCV антитела и HBsAg без по-нататъшни изследвания върху активността на заболяването и стадия на чернодробното увреждане. Липсват данни и за това, каква част от НА са лекувани и какъв е изходът от лечението.

Идеята на настоящето проучване бе да се направи по-пълнен анализ на възможните биохимични, серологични и морфологични отклонения, свързани с чернодробните увреждания при хероиново зависими лица и тези отклонения да бъдат използвани като отправна точка за разкриване на възможности за интервенция в посока на намаляване на щетите от хроничните чернодробни увреждания при тази група млади хора.

Предоставянето на по-пълна информация относно патологичните отклонения в биохимичните, серологични и вирусологични характеристики на ИВН, които са израз на определени морфологични чернодробни промени и са свързани с определени епидемиологични особености на групата би било полезно както за самите наркомани и обкръжението им, така и за лекуващите екипи.

II. ЦЕЛ

Да се анализират биохимичните, морфологични и серологични промени, свързани с чернодробните увреждания при интравенозни хероиново-зависими от Плевенски регион.

III. ЗАДАЧИ

1. Да се характеризират възможните биохимични промени при хероиновите наркомани с чернодробни увреждания.
2. Да се характеризират морфологичните промени в черния дроб при системен интравенозен хероинов прием:
 - 2.1. да се проведат конвенционални и хистохимични проучвания върху черен дроб на хероиновозависими.
 - 2.2. да се проведат морфометрични проучвания върху черен дроб на хероиновозависими.
3. Да се изследват маркери за хепатотропен вирус С при хероиномани от Плевенски регион.
4. Да се изследват маркери за хепатотропен вирус В при хероиномани от Плевенски регион.
5. Да се предложат мерки за ограничаване на разпространението на хепатит С и хепатит В при хероиновите наркомани.

IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Основната част от проведените биохимични, серологични и морфологични изследвания при нашите пациенти са финансирани от Медицински Университет - Плевен по следните 3 научни проекта:

- **МУ - Плевен - 2010 г. Научен проект № 10/2010 г.** “Черен дроб и наркотици-клинико-морфологични промени при злоупотреба с хероин. Комбинирано увреждане на черния дроб при хероинова злоупотреба, съчетана с хепатит “С” вирусна инфекция.
- **МУ - Плевен - 2011 г. Научен проект № 8/2011 г.** “Черен дроб и наркотици. Честота на хроничната хепатит В вирусна инфекция при злоупотребяващи с хероин от Плевенски регион.
- **МУ - Плевен - 2012 г. Научен проект № 16/2012 г.** “Окултна хепатит В вирусна инфекция при пациенти с хронични чернодробни заболявания”.

По трите научни проекта в трите поредни години проведохме изследвания при общо 93 хероиновозависими пациенти.

Информацията при пациентите е набирана след дадено информирано съгласие и попълнена анкетна карта, които предварително бяха разгледани и одобрени от Етичната комисия към Медицински Университет Плевен като част от изпълняваните проекти (Приложения 1-3).

Повторен контакт беше осъществен с 6 от всичките изследвани наркозависими пациенти, поради специфичните поведенчески характеристики на болните, а именно: асоциално поведение, липса на интерес към собственото здравословно състояние и последиците от провеждане на диагностични процедури в непълен обем, ненавременно и неадекватно лечение.

В резултат в настоящия труд са представени 4 групи пациенти, при които са изследвани определени биохимични и серологични показатели при първия контакт на екипа с тях.

Проследяване във времето и провеждане на допълнителни, уточняващи изследвания не беше възможно.

1. ХИСТОМОРФОЛОГИЧНИ И МОРФОМЕТРИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ЧЕРЕН ДРОБ ПРИ ХЕРОИНОМАНИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С

Група 1

По научен проект № 10/2010 бяха проведени хистоморфологични и морфометрични проучвания върху черен дроб на 10 пациенти с хроничен хепатит С, лекувани в Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ “Д-р Георги Странски” ЕАД, Плевен, при които бяха налице данни за и.в. злоупотреба с хероин. Като контролни групи използвахме 10 пациента с хроничен хепатит С без данни за злоупотреба с ПАВ, лекувани в Клиниката по Гастроентерология, УМБАЛ “Д-р Георги Странски” ЕАД, Плевен, както и 12 пациента с хроничен хепатит С и 14 пациента с хроничен хепатит В, чиито чернодробни биопсии са работени в Отделение по патанатомия, УМБАЛ “Св. Иван Рилски” - София - материалите ни бяха предоставени от доц. Радина Иванова (Таблица № 1).

Таблица № 1

Разпределение на пациентите в сравняваните групи по възраст и пол

Група изследвани лица	Средна възраст	SD	Min.	Max.	Пол	
					м (n=36)	ж (n=10)
Хероиномани (n = 10)	24,20	± 3,26	18,00	31,00	9	1
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 22)	32,68	± 11,41	19,00	57,00	15	7
Пациенти с ХХВ без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 14)	24,00	± 3,66	18,00	31,00	12	2

Всички материали, получени при чернодробни биопсии бяха разгледани и оценени по различните системи за хистологична оценка на чернодробните промени съвместно с представители на екипа на Отделението по патологична анатомия, УМБАЛ “Д-р Георги Странски” ЕАД, Плевен.

Взетите при сляпа чернодробна биопсия материали бяха обработени стандартно - фиксирани в 10% формалинов разтвор и с рутинна хистологична техника. Впоследствие всички материали бяха оцветени рутинно с хематоксилин-еозин и допълнително с хистохимични реакции: van Gieson, PAS, Gomori.

Степента на стеатоза беше оценена по класификацията на Brunt в 4 степени: 0 - липсва, 1 - лека (засегнати 0 - 30% от хепатоцитите), 2 - умерена (засегнати са 30-60% от хепатоцитите), 3 - тежка (засегнати са над 60% от хепатоцитите).

При всички използвани чернодробни биопсии беше извършена оценка на активното чернодробно възпаление и степен на фиброза по МЕТАВИР (Таблица № 2).

Таблица № 2

Оценка на активността на възпалителните промени
и фиброзата в черен дроб по системата МЕТАВИР

Активност на възпалението		Степен на фиброзата	
A0	Липсва активност	F0	Липсва фиброза
A1	Умерена активност	F1	Звездовидно разширение на порталните зони без септи
A2	Средна активност	F2	Звездовидно разширение на порталните зони с няколко септи (най-малко една в пробата)
A3	Силно изразена активност	F3	Септална фиброза без цироза (повече септи, отколкото портални зони без септи)
		F4	Цироза

Допълнителните оцветявания по van Gieson и Gomori бяха използвани за оценка на развитието на фиброза, като отново промените бяха оценени в 4 степени - 0 - липсва, 1 - лека, 2 - умерена, 3 - тежка (изразена).

Оцветяването по **PAS** в случая беше използвано за преценка на намаляването на гликогеновото съдържание в хепатоцитите, характерно за хероиновото увреждане на черния дроб. Промените са отразени отново в 4 степени - 0 - липсва, 1 - лека, 2 - умерена, 3 - тежка/изразена.

Морфометричните изследвания бяха извършени върху материала, взет при СЧБ при 10-те наркозависими, при които бяха извършени и стандартните хистологични и хистохимични изследвания, както и при 14 от пациентите с хепатит С и 7 от пациентите с хепатит В, без данни за зависимост към ПАВ със съдействието на доц. д-р Иван Иванов от Катедрата по патоанатомия, МУ Плевен. Измерванията на изследваните клетъчни структури бяха направени с помощта на софтуерния продукт Image tool (<http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>), върху цифрови изображения на репрезентативни фокуси от хистологичните препарати. След първоначално калибриране на софтуера за линеен размер бе извършено измерване на ширина на v. centralis, повърхност на хепатоцита, повърхност на хепатоцитното ядро, клетъчно - цитоплазматичен индекс, клетъчен диаметър, брой Купферови клетки на 1 оптично поле, брой бинуклеарни клетки на 1 оптично поле, използвайки съответните инструменти за измерване на Image tool. Използваните мерни единици са μm и μm^2 .

Серологични изследвания: При случаите и контролните групи серологичният статус беше оценен чрез изследване на HbsAg и anti HCV антитела. Последните бяха определени с имунологичен анализатор Elexis 20/10 на фирма Roche. За пациентите, лекувани в Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ "Д-р Георги Странски" ЕАД, Плевен разполагаме и с данните за активна вирусна репликация, както и с генотипът на установения вирус С. При част от болните беше направено и субгенотипизиране. Количествената виремия, генотипизиране и субгенотипизиране на вирус С бяха извършени чрез rtPCR в Клинична лабораторията, УМБАЛ "Св. Иван Рилски" ЕАД, София.

Ензимната активност на заболяването беше оценена чрез определяне на серумното ниво на АЛАТ, АСАТ, АФ, ГГТ . Допълнително беше изследван и общ билирубин. Изследванията бяха осъществени чрез използване на диагностика на фирма Roche, осъществена на биохимичен анализатор Cobas Integra 400 в Медикодиагностична клинична лаборатория на УМБАЛ "Д-р Георги Странски" ЕАД гр. Плевен.

**2. ПРОМЕНИ В НИВАТА НА ФЕРИТИН, ВИТАМИН В 12 И ФОЛИЕВА
КИСЕЛИНА ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ
Група 2**

По проект № 10/2010 г. бяха проведени клинични и биохимични проучвания при 32 хероиново зависими, които включиха:

1. Снемане на анамнеза и физикален статус.
2. Консултация с психиатър.
3. Скрининг за носителство на anti HCV и HBsAg беше проведен с бързи тестове.
4. Изследвания на серумните нива на стандартните лабораторни показатели: ASAT, ALAT, GGT - извършени по IFCC на биохимичен анализатор COBAS в МДКЛ на УМБАЛ "Д-р Георги Странски".
5. Изследвания на серумните нива на витамин В12, фолиева киселина и феритин - извършени чрез електро - хемилуминисцентен метод на имунологичен анализатор Cobas С 411 на фирма Roche, Клиника "Екзакта медика", гр. Плевен.

Като контролни групи са използвани:

1. Здрави доброволци:
 - 1.1. 12 лица от Плевен, негативни за anti HCV и HBsAg, изследвани с бързи тестове и без анамнеза за други придружаващи заболявания и зависимост към хероин, които бяха изследвани по горепосочения проект. При тези лица са изследвани същите биохимични показатели като при хероиново зависимите.
 - 1.2. 28 здрави доброволци, чиито данни ни бяха предоставени от проф. д-р З. Кръстев и при които са изследвани ASAT, ALAT, GGT, феритин.
2. Пациенти с хроничен хепатит С.
 - 2.1. 12 пациенти с хроничен хепатит С, лекувани в Клиниката по гастроентерология, УМБАЛ, Плевен. При тези лица са изследвани същите биохимични показатели като при хероиново зависимите по горепосочения проект. Хроничният хепатит С е доказан и серологично (чрез PCR) и хистологично (чрез сляпа чернодробна биопсия).
 - 2.2. 37 пациенти с хроничен хепатит С, чиито данни ни бяха предоставени от доц. д-р Марияна Пенкова, при които са изследвани нива на ASAT, ALAT, GGT и серумен феритин. Хроничният хепатит С е доказан и серологично (чрез PCR) и хистологично (чрез сляпа чернодробна биопсия). Разпределението на пациентите е показано на аблици № 3, 4, 5).

Таблица № 3

**Разпределение на изследваните лица по пол и възраст
в сравняваните групи**

Група изследвани лица	Средна възраст	SD	Min.	Max.	Пол	
					м (n=72)	ж (n=49)
Хероиномани (n = 32)	27,22	± 5,57	18,00	39,00	28	4
Здрави доброволци (n = 40)	36,30	± 9,61	20,00	52,00	16	24
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)	50,55	± 13,36	27,00	77,00	28	21

Таблица № 4

Разпределение на лицата по пол и възраст в сравняваните групи, при които са изследвани ASAT, ALAT, GGT, феритин (по отношение на възрастта $F = 67,8$; $p = 0,001$; по отношение на пола $p > 0,05$)

Група изследвани лица	Средна възраст	SD	Min.	Max.	Пол	
					м (n=64)	ж (n=33)
Хероиномани (n = 32)	27,22	± 5,56	18,00	39,00	28	4
Здрави доброволци (n = 28)	40,75	± 6,04	29,00	52,00	15	13
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 37)	53,37	± 13,11	27,00	77,00	21	16

Таблица 5

Разпределение на лицата по пол и възраст в сравняваните групи, при които са изследвани, феритин, фолиева киселина и витамин В12 (по отношение на възрастта $F = 19,4$; $p = 0,001$; $K-W = 20,7$ - налице са разлики между всеки две от сравняваните групи; по отношение на пола $p = 0,002$)

Група изследвани лица	Медиана на възраст	IQR	Lower quartile	Upper quartile	Пол	
					м (n=36)	ж (n=20)
Хероиномани (n = 32)	27,22	9,00	22,00	31,00	28	4
Здрави доброволци (n = 12)	25,92	1,50	23,50	25,00	1	11
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 12)	41,83	17,50	33,50	51,00	7	5

Според продължителността на хероиновата злоупотреба наркозависимите бяха разделени в 3 групи: с продължителност на злоупотребата до 5 години, между 5 и 10 години и над 10 години (Таблица № 6).

Таблица № 6

Разпределение на хероинозависимите лица по възраст и пол според продължителността на хероиновата злоупотреба (по отношение на възрастта $p < 0,0002$; по отношение на пола $\chi^2 = 8,73$; $p = 0,01$; коефициент на корелация = - 0,45)

Продължителност на хероиновата злоупотреба	Средна възраст	SD	Min.	Max.	Пол	
					м (n=28)	ж (n=4)
1 - 5 години (n = 11)	22,72	± 4,14	18,00	32,00	7	4
6 - 10 години (n = 15)	28,20	± 4,34	22,00	35,00	15	0
над 10 години (n = 6)	33,00	± 4,19	27,00	39,00	6	0

Честота на anti HCV и HBsAg при изследваните групи лица.

Всички, включени в анализа лица са HBsAg (-).

Всички доброволци са и anti HCV (-).

При хероинозависимите 7 от изследваните са anti HCV (-), установено чрез бързи тестове.

3. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ, КАСАЕЩИ ХРОНИЧНИТЕ ХЕПАТИТИ В И С ПРИ ИНТРАВЕНОЗНИТЕ ХЕРОИНОМАНИ Група 3

По научен проект № 8/2011 г. и № 16/2012 г. проведохме биохимични и серологични изследвания при общо 131 лица, от които 34 лица с данни за i.v. хероинова злоупотреба - в миналото (включени в метадоновата програма, функционираща в Плевен) или употребяващи хероин и в момента на изследването. Като контролни групи използвахме 97 пациенти с хронични чернодробни заболявания, разпределени етиологично в 3 групи, при които нямаше анамнестични данни за злоупотреба с нелегални наркотични средства. Пациентите с хронични чернодробни заболявания са проследявани амбулаторно и в клиниката по Гастроентерология, УМБАЛ, Плевен (Таблица № 7 и №8).

Като скринингови изследвания при всички пациенти бяха използвани HBsAg и anti HCV антитела. Всички, включени в проучването хероиномани и пациенти с хроничен хепатит С без данни за злоупотреба с ПАВ са HBsAg (-). Всички пациенти с алкохолна чернодробна болест и НАСБ са HBsAg (-) и anti HCV (-).

Серологични изследвания: При случаите и контролните групи серологичният статус беше оценен чрез изследване на HBsAg, анти HCV антитела, anti Hbc антитела и anti HBs антитела с методи на принципа на хемилуминисцентен анализ. Изследванията бяха извършени в Клиника “Екзакта медика”, Плевен на имунологичен анализатор COBAS 411 на фирма Roche.

Във връзка с оценка на активността на чернодробното заболяване бе изследвана и ензимната активност на АЛАТ - диагностика на фирма Roche, осъществена на биохимичен анализатор COBAS 311 на фирма Roche в Клиника “Екзакта медика”, Плевен.

Допълнителни консултации: Всички наркозависими лица (случаи), включени в проучването бяха консултирани с психолог и психиатър.

Таблица № 7

Разпределение на лицата по пол, възраст и групи

Група изследвани лица	Средна възраст	SD	Min.	Max.	Пол	
					м (n=91)	ж (n=40)
Хероиномани (n = 34)	28,50	± 4,20	22,00	40,00	31	3
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 39)	52,87	± 14,82	24,00	78,00	18	21
Пациенти с алкохолна чернодробна болест (n = 40)	54,80	± 11,23	29,00	76,00	33	7
Пациенти с НАСБ (n = 18)	53,00	± 10,35	29,00	73,00	9	9

Таблица № 8

Индивидуални епидемиологични, биохимични и серологични характеристики на лицата с данни за хероинова злоупотреба

№	Възраст (години)	Пол	Продължителност на хероиновата злоупотреба (години)	Anti HBc Total positive/negative	Anti HBs positive/negative	ALAT IU/ml	Anti HCV positive/negative
1	28	М	8	negative	negative	22	negative
2	26	М	8	negative	positive	21,2	negative
3	32	М	6	positive	negative	21	positive
4	34	М	17	positive	negative	24	positive
5	26	М	6	positive	negative	3,8	negative
6	26	Ж	10	negative	positive	19,8	positive
7	26	М	8	negative	positive	5,2	positive
8	27	М	9	positive	negative	23,6	positive
9	40	М	20	positive	positive	37,1	positive
10	22	М	3	negative	negative	8,9	negative
11	29	М	11	negative	negative	11,6	negative
12	27	М	6	negative	positive	30,4	negative
13	31	М	12	negative	negative	15,5	negative
14	27	М	8	negative	negative	22	positive
15	26	М	9	negative	negative	131,4	positive
16	24	М	4	negative	negative	96,1	negative
17	33	М	12	negative	negative	5,1	negative
18	29	М	10	positive	negative	135,2	positive
19	26	М	10	negative	negative	12,6	negative
20	30	М	8	positive	positive	8,1	positive
21	22	Ж	4	negative	negative	8,4	negative
22	27	Ж	8	negative	negative	7,7	negative
23	35	М	12	positive	positive	14,8	positive
24	27	М	8	negative	negative	17,3	negative
25	32	М	11	negative	negative	18,3	positive
26	28	М	10	positive	negative	135,2	positive
27	29	М	6	negative	negative	137,7	positive
28	36	М	8	positive	negative	16,7	positive
29	30	М	8	negative	negative	7,8	positive
30	25	М	6	positive	negative	36,4	positive
31	25	М	7	positive	positive	141	positive
32	22	М	6	negative	negative	8,5	negative
33	27	М	9	negative	negative	22,8	positive
34	35	М	12	negative	positive	54,2	positive

4. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА АКТИВНОСТ НА ВИРУСНАТА РЕПЛИКАЦИЯ ЗА ВИРУСИ В И С ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ Група 4

По Научен проект № 8/2011 и № 16/2012, финансирани от Медицински университет, Плевен бяха изследвани 17 зависими лица (16 мъже и 1 жена) на възраст 22 - 35 г. (Mean 27,18 ± 3,63) с анамнестични и физикални данни за хероинова употреба (Таблица № 9). За установяване на активна вирусна репликация (серологична активност на заболяването) беше използвана реакция PCR, като измерванията са извършени в Клинична лаборатория в УМБАЛ "Св. Иван Рилски" - София.

Таблица № 9
Разпределение на изследваните хероиновозависими по пол и възраст (p > 0,05)

Група изследвани лица	Средна възраст	SD	Min.	Max.
Мъже (n = 16)	27,25	± 3,73	22,00	35,00
Жени (n = 1)	26,00	± 0,00	26,00	26,00

5. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

Данните от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети STATGRAPHICS; SPSS и EXCEL for Windows.

Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови показатели за структура, честота, средни стойности, корелационни коефициенти и др.

При анализа на резултатите са приложени следните параметрични тестове за проверка на хипотези при нормално и близко до нормалното разпределение на случаите: t - test, ANOVA с post hoc tests Tukey, Scheffe, Bonferroni, Newman-Keuls, Duncan и непараметричните тестове при различно от нормалното разпределение на случаите Pearson' χ^2 - test, Mann-Whitney, Kruscal-Wallis H-test.

За моделиране и прогнозиране на корелационни зависимости са използвани регресионни модели.

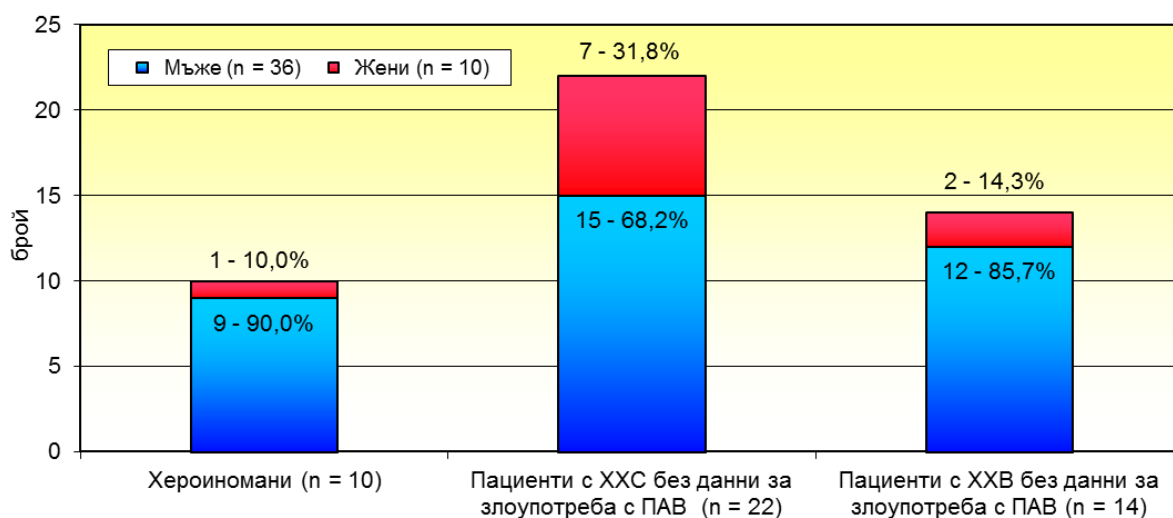
Значимостта на резултатите, изводите и заключенията е определена при $p < 0,05$.

V. РЕЗУЛТАТИ

ХИСТОМОРФОЛОГИЧНИ И МОРФОМЕТРИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ЧЕРЕН ДРОБ ПРИ ХЕРОИНОМАНИ С ХРОНИЧЕН ХЕПАТИТ С Група 1

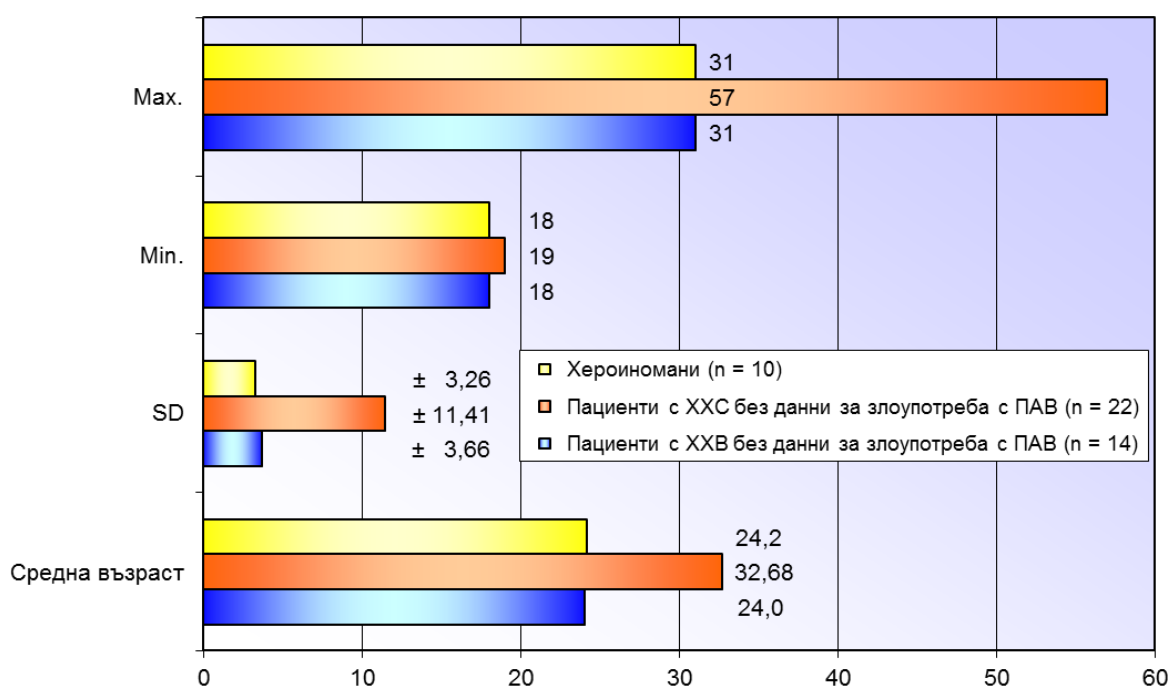
Епидемиологични данни

Разпределение по пол и по възраст: от изследваните 46 лица 36 (78,3%) бяха мъже и 10 (21,7%) жени. Между трите изследвани групи липсват статистически значими разлики в разпределението по пол ($p = 0,27$ - и в трите групи преобладават мъжете). Изразено е обаче това различие в групата с хероинова злоупотреба, където 90% от случаите са мъже (Таблица № 1, Фигура № 1).



Фигура № 1: Разпределение на изследваните пациенти по групи по пол.

При сравняване по възраст между трите изследвани групи бяха установени сигнификантни разлики ($F = 6,079$; $p = 0,005$), които са резултат на сигнификантната разлика между групата на НА с ХХС и групата с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ ($t = 5,246$; $p = 0,029$) (Фигура № 2).



Фигура № 2: Разпределение на изследваните групи пациенти по възраст.

По отношение на изследваните биохимични показатели, както при параметрично, така и при непараметрично разпределените такива, както и ниво на вирусите не установихме съществени разлики между двете групи, с чиито данни разполагаме (Таблицы № 10, 11, 12). Обяснението на установените разлики е във времето за действие на увреждащите агенти - както вирус С, така и другите ПАВ, които НА употребяват същевременно. Средната продължителност на съобщената хероинова злоупотреба в тази група НА беше 6 години ($\pm 1,83$; Minimum 3,00 - Maximum - 8,00). Известно е, че тежестта на чернодробното увреждане при хроничен хепатит С корелира, както с възрастта на пациента, така и с продължителността на активната вирусна репликация. Тревожна констатация в случая е възрастта на наркозависимите, в която са налице данни за хронично чернодробно заболяване.

Таблица № 10

Разпределение на изследваните пациенти с хроничен хепатит С в двете сравнявани групи по средни стойности на параметрично разпределените биохимични показатели

Група	Показател	АСАТ	АФ	Общ билирубин
Хероиномани (n = 10)	Mean	85,34	72,39	13,19
	SD	$\pm 92,47$	$\pm 26,35$	$\pm 6,35$
	Minimum	23,60	45,00	5,50
	Maximum	306,00	112,00	23,00
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 10)	Mean	70,43	62,60	11,67
	SD	$\pm 31,65$	$\pm 20,18$	$\pm 4,59$
	Minimum	31,00	39,20	6,60
	Maximum	131,00	93,00	19,60

Таблица № 11

Разпределение на изследваните пациенти с хроничен хепатит С в двете сравнявани групи по медиани на непараметрично разпределените биохимични показатели и ниво на HCV RNA

Група	Показател	АЛАТ	ГГТ	HCV RNA
Хероиномани (n = 10)	Median	104,00	40,00	428500,00
	IQR	269,00	47,27	2372573,00
	Minimum	15,60	14,00	1686,00
	Maximum	850,00	143,00	11700000,00
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 10)	Median	111,50	57,95	1600000,00
	IQR	74,60	99,55	8465000,00
	Minimum	45,00	8,00	927000,00
	Maximum	520,00	366,00	19400000,00

Таблица № 12

Сравнение между групите на НА с ХХС и пациентите с ХХС, без данни за злоупотреба с ПАВ - тест на Фишер и тест на Крускал Уолис

Показател	t	p
АСАТ	0,23	0,64
АЛАТ	0,52	0,91
ГГТ	0,77	0,94
АФ	0,85	0,37
Общ билирубин	0,38	0,55

При 20-те, пролежали в Клиниката по Гастроентерология, УМБАЛ “Д-р Георги Странски” ЕАД, Плевен пациенти бяха изследвани и вирусният товар и вирусният генотип, като и в двете групи преобладава генотип 1 - в групата на наркоманите - при 8 от болните, при които е отчетен генотип 1 b. В групата независими пациенти - 9 от болните са с генотип 1, при 5 от тях е проведено и субгенотипизиране - 4 са с генотип 1 b и при 1 пациент е установен генотип 1 a.

В тази група изследвани хероиномани средната продължителност на хероиновата злоупотреба беше 6 години ($\pm 1,82$; минимум 3 години, максимум 8 години). Потърсихме връзка между стойностите на АЛАТ и ГГТ с продължителността на хероиновата злоупотреба, като такава не беше установена както в групата с продължителност на злоупотребата до 5 години, така и в групата с продължителност на злоупотребата над 5 години - използвайки тестът на Mann-Whitney по отношение връзката на АЛАТ с продължителност на хероиновата злоупотреба $p = 0,267$ и по отношение връзката на ГГТ с продължителност на хероиновата злоупотреба $p = 0,067$.

Хистологични характеристики на чернодробните увреждания

При хистологичното изследване на взетите при СЧБ материали стандартната оценка на възпалителната активност и степен на фиброзата показва разнообразни промени в трите групи пациенти (Таблица № 13).

Таблица № 13

Разпределение на пациентите от трите сравнявани групи по тежест на промените в черния дроб, отчетени по МЕТАВИР.

Оценка по Метавир	Хероиново зависими с ХХС (брой)	Пациенти с ХХС без хероин (брой)	Пациенти с ХХВ без хероин (брой)	Общо (брой)
A0F2	0	0	1	1
A1F0	0	1	1	2
A1F1	0	9	6	15
A1F2	3	3	1	7
A2F0	1	1	0	2
A2F1	2	1	3	6
A2F2	3	4	1	8
A2F3	0	1	0	1
A3F0	0	1	0	1
A3F1	0	1	1	2
A3F2	1	0	0	1
Общо	10	22	14	46

Малкият брой изследвани пациенти не ни позволява да правим дефинитивни заключения, но все пак уместно е да отбележим, че в групата на наркоманите при 7 от 10-те изследвани пациенти е налице степен на фиброза F2. При детайлно разглеждане на контролната група пациенти с ХХС прави впечатление, че в групата независими пациенти с ХХС при 7 от изследваните пациенти е налице фиброза F2, при 1 от пациентите F3, при останалите степента на фиброза е F0 или F1. Последното е тревожен факт, касаещ фазата на чернодробното заболяване, предвид сигнификантно по - младата възраст на хероиноманите в сравнение с групата на пациентите с хроничен хепатит С, при които няма данни за зависимост към хероин.

Оценка на тежестта на **стеатозата** беше извършена при 10 от хероиноманите и 10-те пациенти с хроничен хепатит С, лекувани в ГЕК. При сравнителния анализ не бяха установени сигнификантни различия между двете групи: $p = 0,565$ (Таблица № 14).

Таблица № 14

Разпределение на изследваните пациенти по групи и тежест на стеатозата, оценена по класификацията на Brunt.

Тежест на стеатозата	Хероиномани с ХХС (n)	Пациенти с ХХС, без хероин (n)	Общо (n)
Липсва	6	6	12
Лека	4	3	7
Тежка	0	1	1
Общо	10	10	20

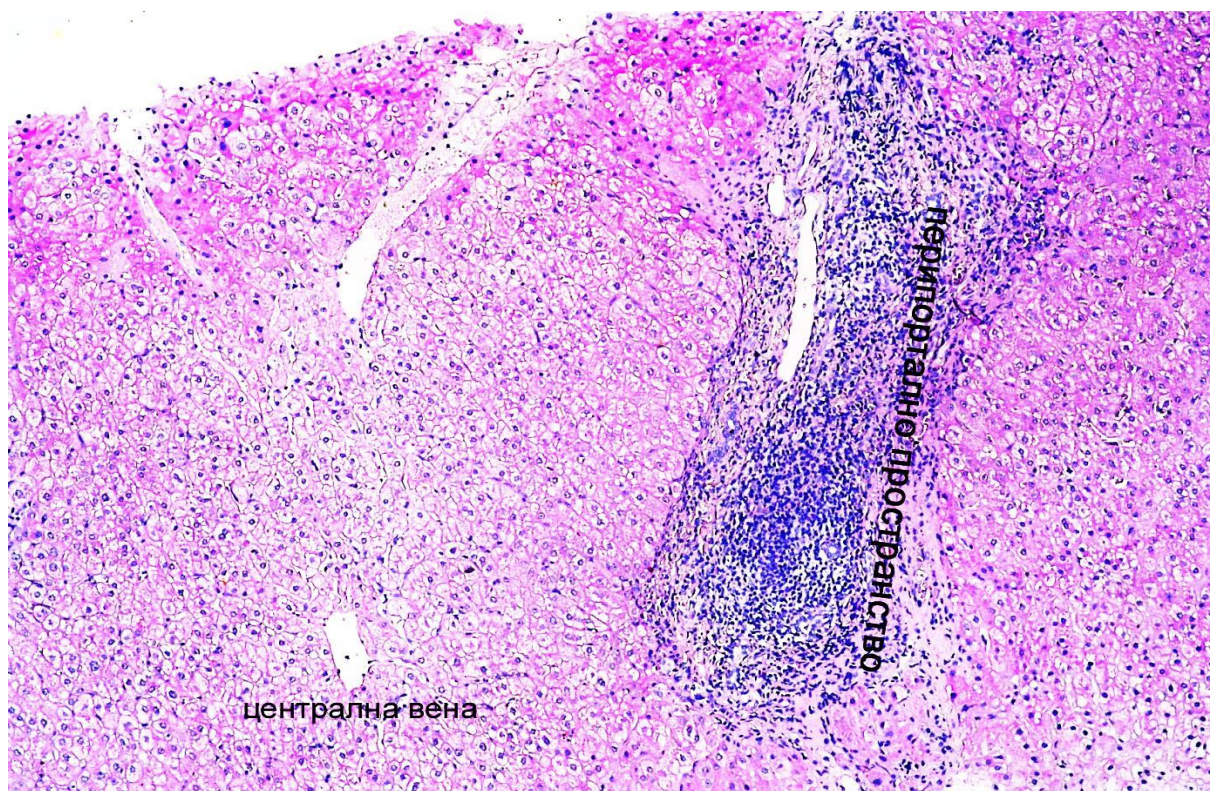
При всички пациенти бяха направени допълнителни хистохимични оцветявания - **PAS, Gomori, Van Gieson** в посока търсене на специфични за злоупотребяващите патологични промени в черния дроб (Фигури № 3 - 8). При проведения сравнителен анализ между групата на хероиноманите и двете контролни групи не бяха открити съществени различия по отношение на установените промени при оцветяване по **PAS** и **Van Gieson** (Таблица № 15 и № 17).

При голямата част от хероиновозависимите, обаче бяха налице промени по отношение на намаляване на гликогена. Последното насочва към редуциране на енергийния резерв на хепатоцитите и смутени метаболитни процеси в тях, което заедно с различните степени на формиране на фиброза е необичайно за младата им възраст. При сравнителния анализ между групите се установиха разлики при оцветяването по **Gomori**, като в групата независими пациенти с ХХВ при половината от лицата не се установяват промени и е най-ниска честотата на умерено изразена фиброза (Таблица № 16).

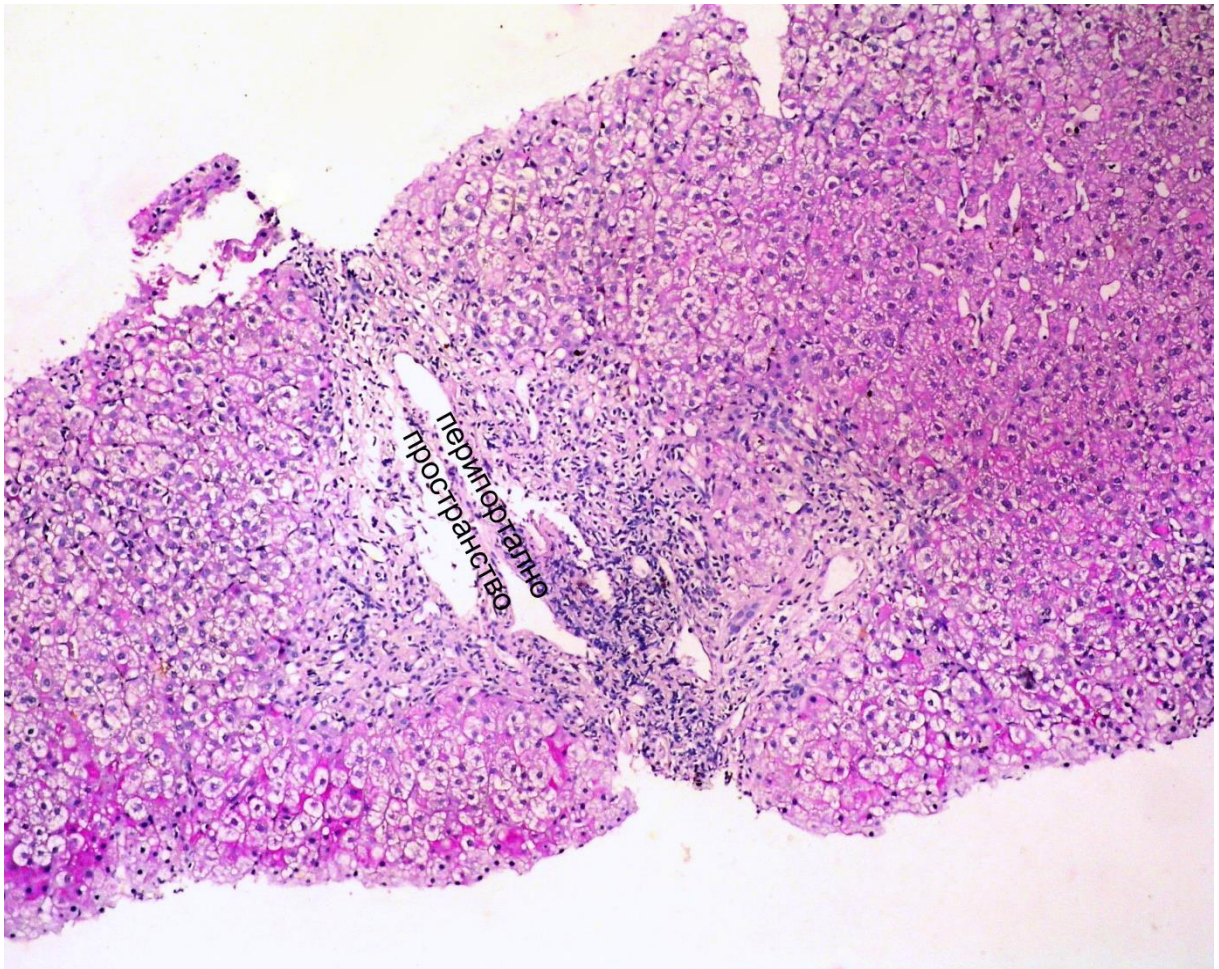
Таблица № 15

Разпределение на изследваните пациенти по групи и по степен на намаляване на гликогеновото съдържание в хепатоцитите при оцветяване по PAS (p = 0,503)

Степен на намаляване на гликогеновото съдържание в хепатоцитите	Хероиномани с ХХС (брой)	Пациенти с ХХС без хероин (брой)	Пациенти с ХХВ без хероин (брой)	Общо (брой)
Липсва	0	1	1	2
Лека	8	9	7	24
Умерена	2	11	6	19
Тежка	0	1	0	1
Общо	10	22	14	46



Фигура № 3: ХХС при пациент без данни за хероинова злоупотреба. Разширено перипортално пространство с изразени кръглоклетъчни инфилтрати до формиране на лимфоиден фоликул, пийс мийл некрози; прилежаща централна вена. Част от хепатоцитите са с характеристики на балонна дегенерация. В цитоплазмата на групи от хепатоцити се наблюдава цикламено розово (PAS-позитивно) оцветяване, свидетелстващо за наличие на гликоген. Оцв. PAS 100x.

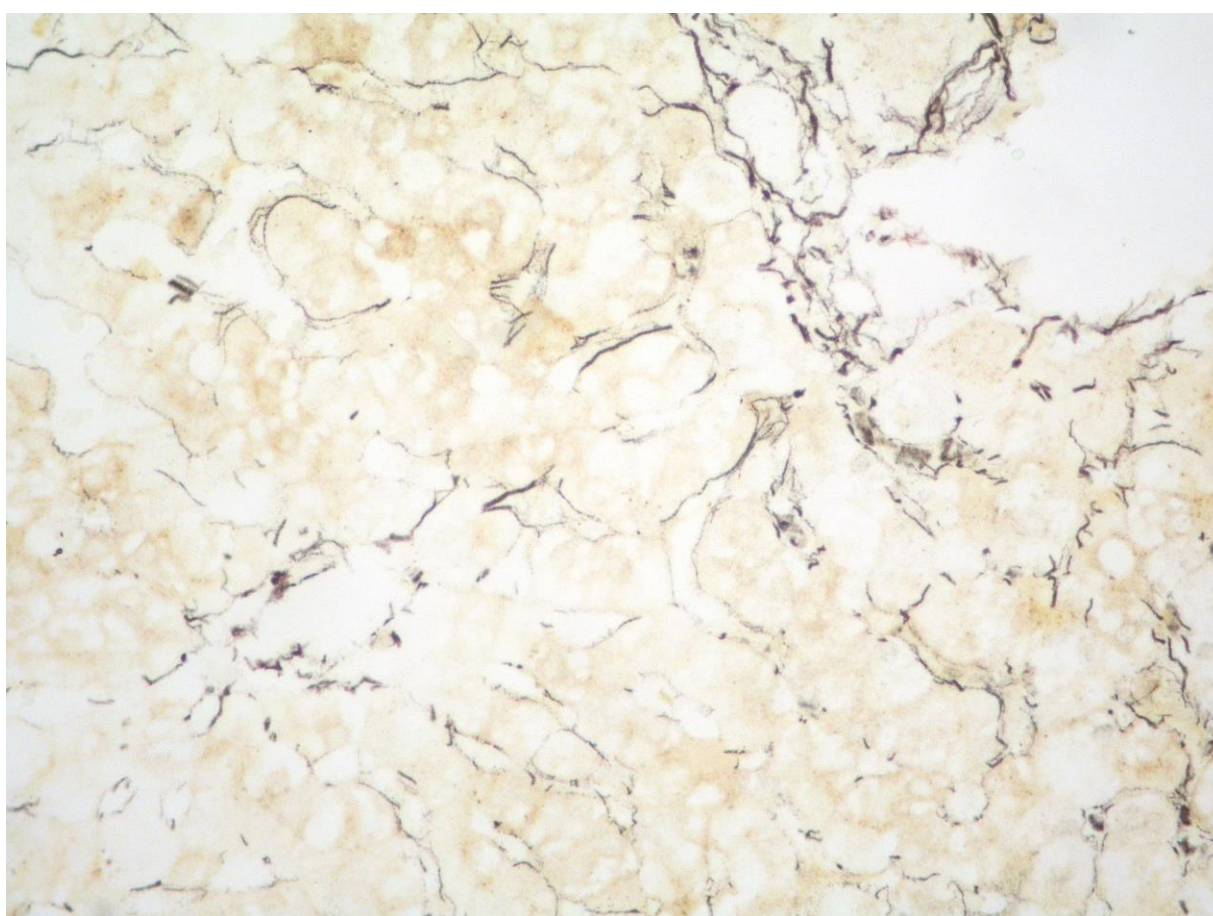


Фигура № 4: ХХС и хероинова злоупотреба. Разширено перипортално пространство с умерено изразени кръглоклетъчни инфилтрати, пийс мийл некроза. Част от хепатоцитите, са с балонна дегенерация. В цитоплазмата на малка част от хепатоцитите се наблюдава цикламено розово (PAS-позитивно) оцветяване, свидетелстващо за наличие на гликоген (данни за редуциране на гликогеновото съдържание). Оцв. PAS, 100x.

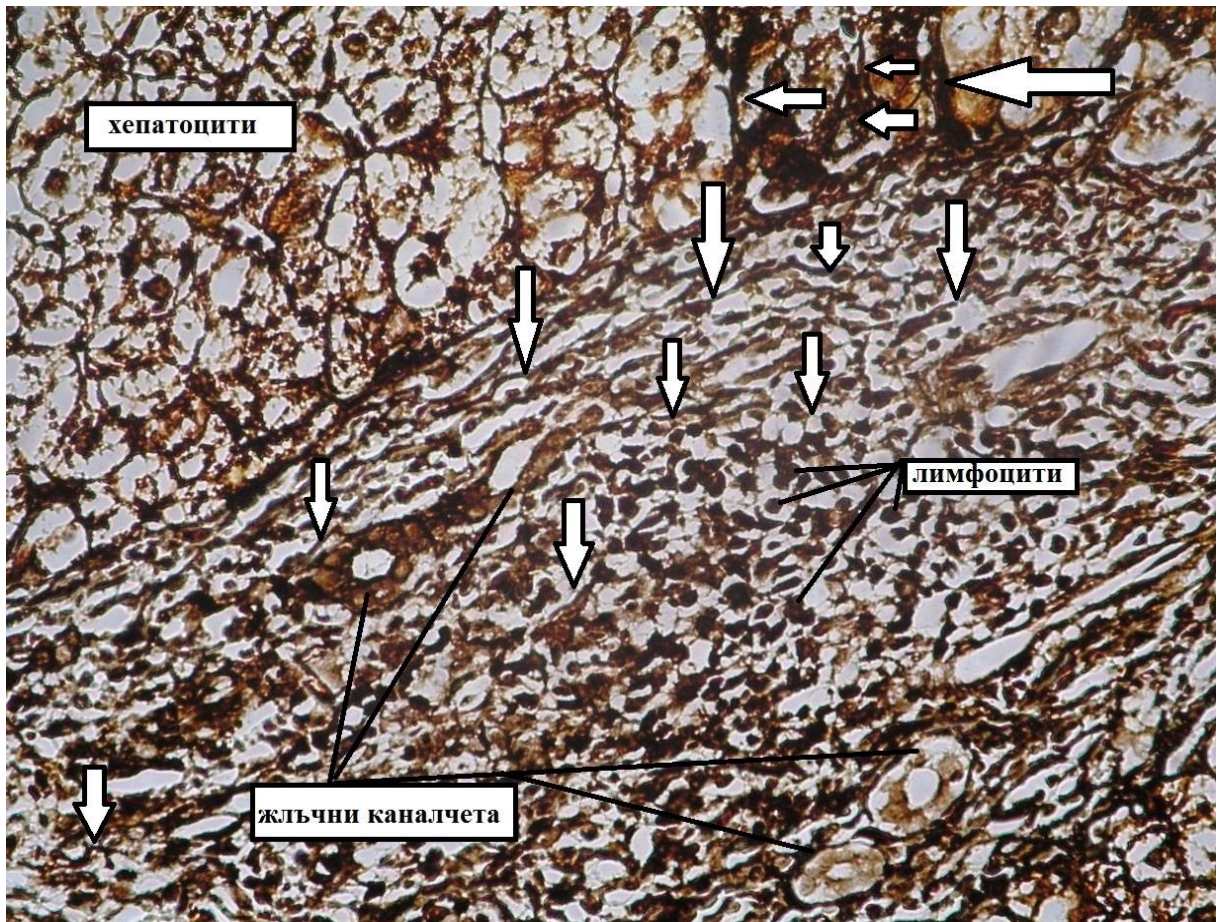
Таблица № 16

Разпределение на изследваните пациенти по групи
и по тежест на промените в хепатоцитите
при оцветяване по Gomori - оценка на фиброзата ($p = 0,016$)

Тежест на промените в хепатоцитите	Хероиномани с ХХС (брой)	Пациенти с ХХС без хероин (брой)	Пациенти с ХХВ без хероин (брой)	Общо (брой)
Липсва	0	2	7	9
Лека	4	10	4	18
Умерена	5	9	1	15
Тежка	1	1	2	4
Общо	10	22	14	46



Фигура № 5: ХХС и хероинова злоупотреба. Група хепатоцити, сред които се наблюдават дискретни ретикуларни влакна. Клетъчните ядра и ретикуларните влакна са тъмнокафеви до черни. Оцветяване Gomori, 400x.

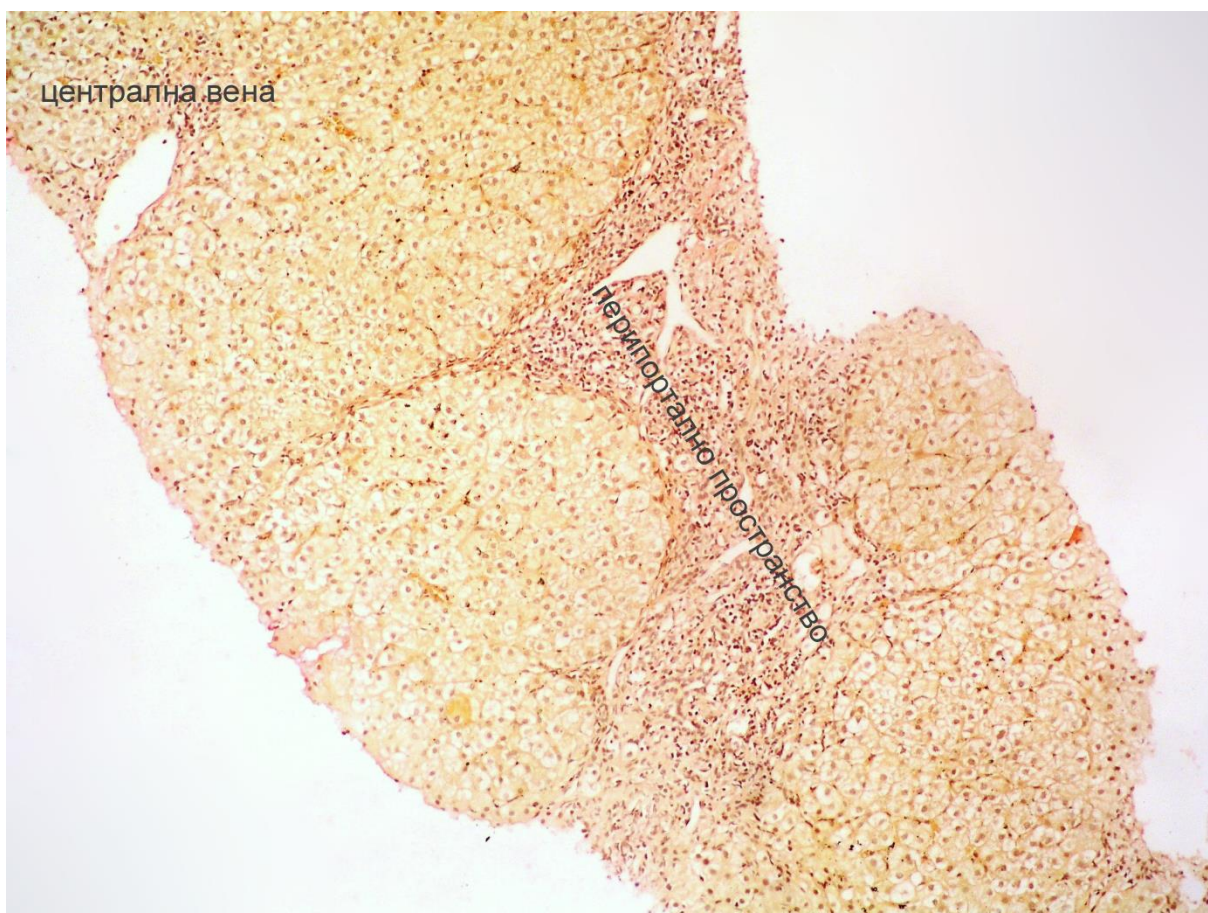


Фигура № 6: ХХС при пациент без данни за хероинова злоупотреба. В перипорталното пространство се наблюдават ретикуларни влакна (означени със стрелки), кръглоклетъчни инфилтрати и пролиферация на жлъчни каналчета. Клетъчните ядра и ретикуларните влакна са тъмнокафеви до черни. Оцветяване Gomori, 400x.

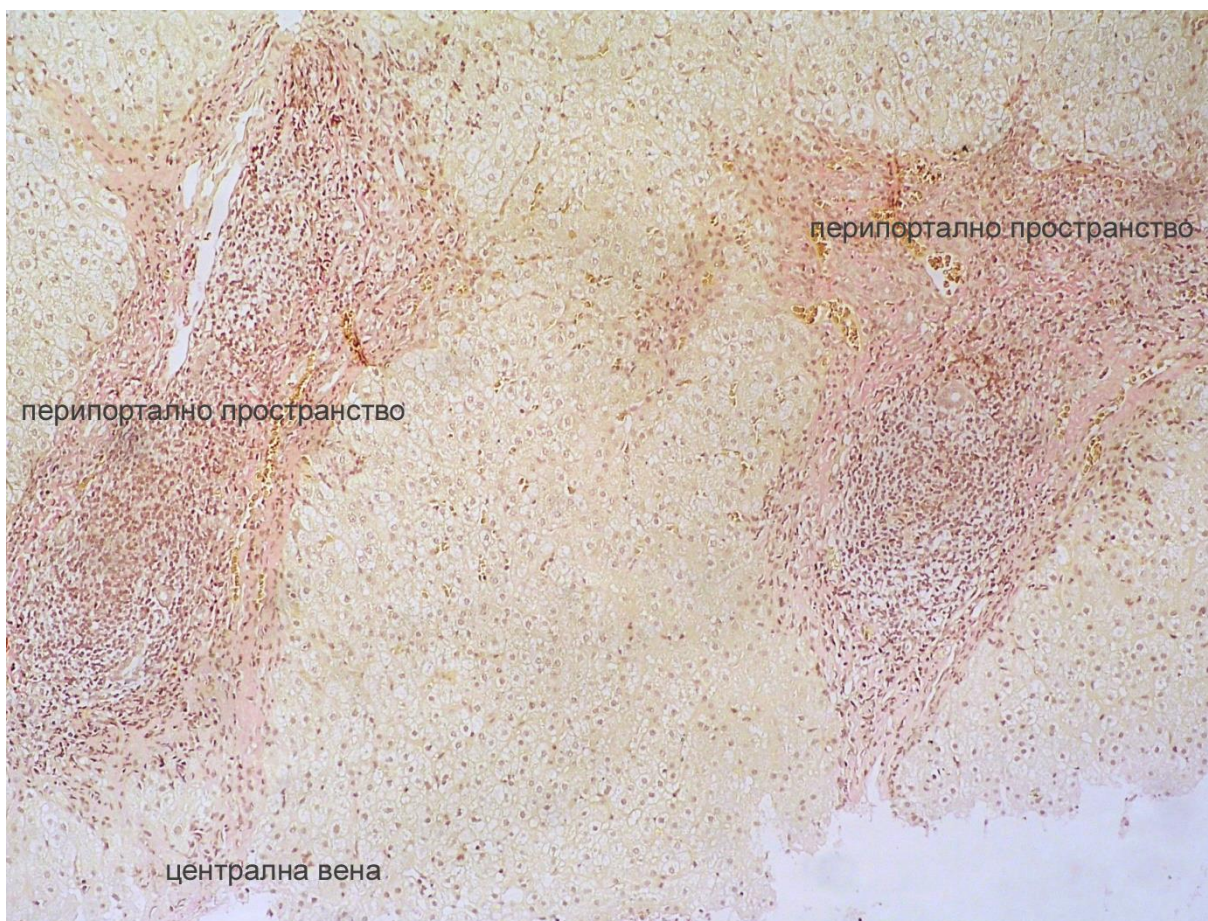
Таблица № 17

Разпределение на изследваните пациенти по групи и по тежест на промените в хепатоцитите при оцветяване по Van Gieson ($p = 0,184$)

Тежест на промените в хепатоцитите	Хероиномани с ХХС (брой)	Пациенти с ХХС без хероин (брой)	Пациенти с ХХВ без хероин (брой)	Общо (брой)
Липсва	8	7	8	23
Лека	1	9	4	14
Умерена	0	3	2	5
Тежка	1	3	0	4
Общо	10	22	14	46



Фигура № 7: ХХС и хероинова злоупотреба. Наблюдава се набелязана фиброза в увеличено перипортално пространство, пийс мийл некрози и набелязана перицентрална фиброза. Зрелите колагенови влакна са оцветени розово/бледо червено. Оцветяване по Van Gieson 100x



Фигура № 8 ХХС при пациент без данни за хероинова злоупотреба. Наблюдава се разширяване и фиброзиране на перипорталните пространства, фокално навлизащо сред чернодробни делчета, пийс мийл некрози, изразени кръглоклетъчни инфилтрати, фокално до образуване на лимфоидни фоликули. Зрелите колагенови влакна са оцветени розово/бледо червено. Оцветяване по Van Gieson 100x.

Отчитайки данните за значението на флебосклерозата за оценка на степента на авансиране на чернодробните увреждания и тенденцията към преминаване към цироза беше направена оценка на същата при изследваните НА и при независимите пациенти с ХХС и ХХВ. Не установихме съществени разлики между трите сравнявани групи. Данни за различно изразена флебосклероза, обаче бяха налице при почти всички изследвани НА - 8 от 10-те изследвани хероиновозависими. В групата на пациентите с ХХС и ХХВ данни за флебосклероза имаше съответно при около половината от пациентите с ХХС и при около 20% от групата с ХХВ (Таблица № 18).

Таблица № 18

Разпределение на изследваните пациенти по групи и по тежест на флебосклерозата (p = 0,123)

Степен на изразеност на промените	Хероиномани с ХХС (брой)	Пациенти с ХХС без хероин (брой)	Пациенти с ХХВ без хероин (брой)	Общо (брой)
Липсва	2	12	11	25
Лека	2	4	1	7
Умерена	4	5	2	11
Тежка	2	1	0	3
Общо	10	22	14	46

При сравнителния анализ между групата на хероиноманите и групата пациенти с ХХС без хероин не бяха установени сигнификантни различия по отношение на чернодробните промени, описани при горепосочените допълнителни имунохистохимични оцветявания, а именно:

- По отношение оцветяване PAS $p = 0,220$;
- При оцветяване по Gomori $p = 0,702$;
- При оцветяване по Van Gieson $p = 0,074$;
- По отношение тежестта на флебосклерозата $p = 0,224$.

Проведохме сравнителен анализ, използвайки горните показатели и разделяйки изследваната група наркомани на 2 подгрупи според продължителността на хероиновата злоупотреба - до 5 години и над 5 години. Изследваните НА в първата бяха 3, докато 7 от изследваните наркомани бяха с данни за продължителност на злоупотребата над 5 години.

Установените различия между двете групи са несъществени ($p > 0,05$), но все пак прави впечатление, че в групата с по-малка продължителност преобладават леките промени, докато в групата с по-голяма продължителност са налице и умерено-изразени и тежки промени.

При сравнение на тежестта на стеатозата между двете групи също не установихме съществени разлики, но при НА с над 5 години злоупотреба е налице стеатоза при 4 от 7 изследвани лица, докато при трите лица с под 5 години злоупотреба стеатоза липсва (Таблица № 19).

Таблица № 19

Разпределение на изследваните хероиномани по тежест на патологичните чернодробни промени при специфичните хистохимични оцветявания и продължителността на хероиновата злоупотребата

Тежест на патологичните чернодробни промени при специфичните хистохимични оцветявания		Продължителност на злоупотребата		Общо (брой)
		до 5 години (брой)	Над 5 години (брой)	
PAS ($p = 1,00$)	лека	3	5	8
	умерена	0	2	2
	общо	3	7	10
Gomori ($p = 0,7$)	лека	1	3	4
	умерена	2	3	5
	тежка	0	1	1
	общо	3	7	10
Van Gieson ($p = 0,240$)	липсват	2	6	8
	леки	1	0	1
	умерени	0	1	1
	общо	3	7	10
Флебосклероза ($p = 0,41$)	липсва	0	2	2
	лека	1	1	2
	умерена	2	2	4
	тежка	0	2	2
	общо	3	7	10
Стеатоза ($p = 0,2$)	липсва	3	3	6
	лека	0	4	4
	общо	3	7	10

Морфометрични проучвания

Морфометричните проучвания върху черен дроб на НА са малко на брой в световен мащаб. Повечето изследователи отчитат отклонения в морфометричните показатели, свързани с развитието на неопластични процеси в черния дроб.

В България до момента морфометрични проучвания върху черен дроб на НА не са докладвани.

В таблица № 20 и № 21 са представени средните стойности на изследваните показатели: дебелина на v. centralis, повърхност на хепатоцита, ядрена повърхност, клетъчно-цитоплазматичен индекс, клетъчен диаметър, диаметър на ядрото на хепатоцита, брой Купферови клетки на 1 оптично поле, брой бинулеарни хепатоцити на 1 оптично поле.

Таблица № 20

Разпределение на изследваните пациенти по групи и морфометрични показатели

Морфометрични показатели		Дебелина на v. centralis	Повърхност на хепатоцита	Ядрена повърхност	Клетъчно-цитопл. индекс
Група					
НА с ХХС (n = 10)	Mean	2,45	306,24	32,00	0,11
	SD	± 0,38	± 52,59	± 4,02	± 4,02
	Min.	1,90	248,02	26,96	0,08
	Max.	3,05	388,83	40,90	0,14
Пациенти с ХХС без хероин (n = 14)	Mean	1,99	316,27	33,94	0,11
	SD	± 1,02	± 87,07	± 6,26	± 0,032
	Min.	1,06	201,29	22,82	0,05
	Max.	5,31	500,89	49,60	0,15
Пациенти с ХХВ без хероин (n = 7)	Mean	1,61	328,33	30,94	0,093
	SD	± 0,31	± 75,15	± 7,34	± 0,017
	Min.	1,08	267,22	23,69	0,07
	Max.	2,04	481,75	41,23	0,12

Таблица № 21

Разпределение на изследваните пациенти по групи и морфометрични показатели

Морфометрични показатели		Клетъчен диаметър	Диаметър на ядрото	Купферови клетки на 1 оптично поле (брой)	Бинулеарни клетки на 1 оптично поле (брой)
Група					
НА с ХХС (n = 10)	Mean	22,70	6,77	21,08	2,88
	SD	± 2,08	± 0,65	± 2,78	± 1,04
	Min.	20,19	6,08	15,6	1,40
	Max.	26,36	7,87	24,20	4,75
Пациенти с ХХС без хероин (n = 14)	Mean	23,33	6,84	20,60	3,20
	SD	± 4,83	± 0,68	6,13	± 1,97
	Min.	17,28	5,70	8,00	1,00
	Max.	35,90	8,08	35,00	7,00
Пациенти с ХХВ без хероин (n = 7)	Mean	22,10	6,21	19,57	2,85
	SD	± 2,34	± 0,48	± 4,50	± 1,77
	Min.	18,76	5,55	15,00	1,00
	Max.	25,25	6,75	28,00	6,00

Статистическата обработка на данните показва, че липсват сигнификантни разлики в измерените дебелина на v. centralis, повърхност на хепатоцита, клетъчно-цитоплазматичен индекс, клетъчен диаметър, брой на Купферови клетки на 1 оптично поле, бинуклеарни клетки на 1 оптично поле между изследваните групи, повърхност на ядрото и диаметър на ядрото ($p > 0,05$).

При изследваните групи болни не бяха открити съществени разлики в морфометричните измервания между трите сравнявани групи. Литературните данни показват, че те могат да бъдат използвани като допълнителен инструмент за характеризирание на патологичните чернодробни промени при хронични чернодробни увреждания. Показателни са, обаче при напредналите такива и за оценка на диспластичните промени, водещи до възникване на неоплазми.

При хероиноманите не установихме морфометрични промени при извършените изследвания, които могат да бъдат свързани с действието на хероина.

При сравнение между наркоманите с продължителност на хероиновата злоупотреба до 5 години и тези със злоупотреба над 5 години с тест на Фишер за две независими извадки бяха установени **сигнификантни разлики в двете групи по отношение на повърхност на ядрото ($t = -2,30$; $p = 0,05$) и диаметър на ядрото ($t = -2,86$; $p = 0,027$).** По големият диаметър и по-голяма повърхност на ядрото вероятно са свързани с необходимостта да се отговоря на повече външни стимули, представени като увеличен брой на екзогенните токсични субстанции, нарастващ в годините на поддържане на наркоманното поведение, както и вероятно по-продължителното действие на хепатотропния вирус C, за който е налице активна вирусна репликация при всички изследвани болни (Таблица № 22).

Таблица № 22

Разпределение на стойностите на морфометричните показатели при изследваните хероиновозависими според продължителност на хероиновата злоупотреба

Морфометрични показатели	Средни стойности в зависимост от продължителност на злоупотребата			
	до 5 години (n = 3)		Над 5 години (n = 7)	
	Mean	SD	Mean	SD
Дебелина на v. centralis ($t = -0,75$; $p = 0,48$)	2,30	± 0,49	2,51	0,35
Повърхност на хепатоцита ($t = -1,05$; $p = 0,32$)	279,68	± 38,16	317,62	56,21
Ядрена повърхност ($t = -2,30$; $p = 0,05$)	28,32	± 1,35	33,58	3,74
Клетъчно-цитоплазматичен индекс ($t = -0,87$; $p = 0,40$)	0,10	± 0,01	0,11	0,02
Клетъчен диаметър ($t = -0,90$; $p = 0,40$)	21,78	± 0,71	23,09	2,40
Диаметър на ядрото ($t = -2,85$; $p = 0,027$)	6,27	± 0,08	7,00	0,66
Купферови клетки на 1 оптично поле (брой) ($t = 0,23$; $p = 0,83$)	21,40	± 1,24	20,94	3,31
Бинуклеарни клетки на 1 оптично поле (брой) ($t = -0,43$; $p = 0,68$)	2,65	± 1,83	2,97	0,69

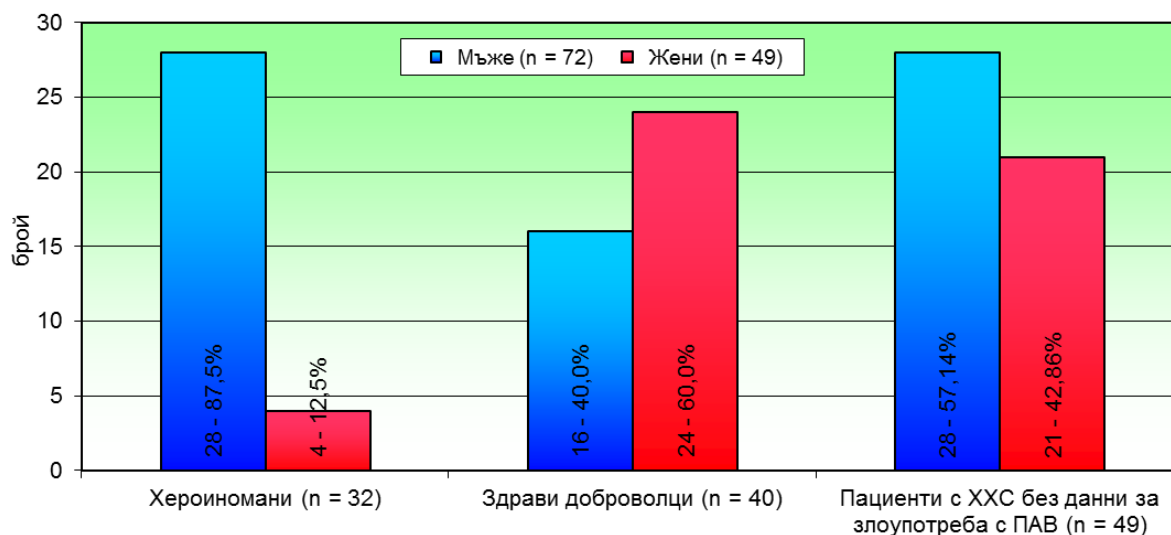
2. ПРОМЕНИ В НИВАТА НА ФЕРИТИН, ВИТАМИН В 12 И ФОЛИЕВА КИСЕЛИНА ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ Група 2

Епидемиологична характеристика на изследваните групи лица

Разпределение по пол и възраст: при проведения статистически анализ беше установена обичайната за групата на хероиновозависимите разлика в пола, с преобладаване на мъжете (87,5% мъже спрямо 12,5% жени), което е и причината за сигнификантната разлика в разпределението по пол в трите сравнявани групи - $\chi^2 = 16,84$; $p = 0,0002$; $r = 0,35$ (Таблица № 3, Фигура № 9).

В подгрупата, чийто данни са представени в таблица № 4 нямаше статистически значими разлики по пол ($p > 0,05$).

В подгрупата, чийто данни са представени в таблица №5 нямаше статистически значими разлики по пол ($p = 0,002$).



Фигура № 9: Разпределение на сравняваните групи по пол.

При проведения анализ за разпределението по възраст беше установена статистически значима разлика между трите сравнявани групи в общата група 2 - $F = 50,38$ и $p = 0,0001$ (Таблица № 3). При хероиновозависимите пациенти - средна възраст 27,22 години, и съответно 36,30 години при здравите доброволци и 50,55 г. при пациентите с хроничен хепатит С без данни за хероинова употреба. Такава разлика беше налице и в подгрупите (таблицы № 4 и № 5 в Материал и методи).

Биохимични показатели

Серумни нива на АЛАТ, АСАТ и ГГТ

По отношение на серумното ниво на АЛАТ, АСАТ и ГГТ бяха установени сигнификантни различия между трите изследвани групи. Медианата на АЛАТ, както и средната стойност на АСАТ показаха най-високи нива при независимите

пациенти с доказан серологично и хистологично хроничен хепатит С, което е свързано от една страна със средната възраст в тази група и съответно на това с давността на заболяването (Таблица № 23 и № 24).

При сравняване на трите групи пациенти по отношение на нива на ГГТ също бяха налице сигнификантни различия между трите групи, като най-високо ниво беше отчетено в групата на хероинозависимите. Последното вероятно е свързано с съобщаваната от тях едновременна злоупотреба и с други ПАВ и алкохол (Таблица № 25).

Между хероинозависимите и пациентите с хроничен хепатит С не бяха установени съществени разлики по отношение нивата на АСАТ и ГГТ, което от една страна отрича връзката на хероина с установени промени, но от друга за пореден път показва биохимична активност на чернодробното заболяване, сходна при лица със средна възраст 27 години и такива със средна 55 години.

Таблица № 23

**Нива на АЛАТ при трите изследвани групи лица
(F = 40, 9; K-W = 47; p < 0,001)**

Група	ALAT (IU/ml)	Median	IQR	Upper quartile	Lower quartile
Хероиномани (n = 32)		94,50	80,00	155,00	75,00
Здрави доброволци (n = 40)		30,00	5,00	33,00	28,00
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)		133,00	19,00	140,00	121,00

Таблица № 24

**Нива на АСАТ при трите изследвани групи лица
(F = 24, 8; K-W = 43,5; p = 0,0001)**

Група	АСАТ (IU/ml)	Средна стойност	SD	Min.	Max.
Хероиномани (n = 32)		91,94	± 37,84	35,00	162,00
Здрави доброволци (n = 40)		35,71	± 26,86	14,00	129,00
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)		103,78	± 49,64	28,00	209,00

Таблица № 25

Нива на ГГТ при трите изследвани групи лица (K-W = 50,96; p = 0,0001)

Група	GGT (IU/ml)	Median	IQR	Upper quartile	Lower quartile
Хероиномани (n = 32)		144,50	127,50	220,00	92,50
Здрави доброволци (n = 40)		29,00	20,00	42,50	22,50
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)		129,00	87,00	185,00	98,00

2.2.2. Серумни нива на витамин В12, фолиева киселина и феритин

Серумните нива на витамин В12, фолиева киселина и феритин се променят при много състояния и заболявания, свързани с храненето, патологични процеси на стомашно - чревния тракт, чернодробни увреждания. И

докато нивата на витамин В12 и фолиева киселина са свързани най-вече с алиментарни фактори, то за нивото на серумния феритин е доказано в множество проучвания, че заедно с другите компоненти на желязната обмяна е свързано със степента на чернодробното увреждане, най-изразено при алколна чернодробна болест и хроничен хепатит С.

Цел на нашето проучване на нивата на витамин В12, фолиева киселина и феритин беше да установим променят ли се и как при хероиновозависимите.

Серумни нива на витамин В12 и фолиева киселина.

Статистическият анализ не показва значими разлики в нивата на Витамин В12 между трите изследвани групи ($p > 0,05$). Като цяло отклонения в нивото на витамин В12 се установиха при малко на брой от изследваните лица - при 8 от 54 лица. В групата на хероиноманите нивото на витамин В12 бе завишено над горната референтна граница при 4 от пациентите, като при 3 от тях бяха установени anti HCV (+). В групата на здравите доброволци нивото на витамин В12 е над горната референтна граница при 2 от лицата. В групата пациенти с хроничен хепатит С стойности под долна референтна граница се установиха при двама от пациентите (Таблица № 26).

Липсва връзка между нивата на витамин В12 и пола и възрастта на изследваните лица ($p > 0,05$). Не се установява връзка и с продължителността на хероиновата злоупотреба и нивото на витамин В12 (Таблица № 27 и 28).

По литературни данни нивата на витамин В12 корелират с нивата на HCV RNA в серума . При нашите anti HCV (+) пациенти не установихме връзка между нивото на витамин В12 и позитивния серологичен маркер за хепатит С вирусна инфекция. Считаме, че това може да е свързано и с неголемия брой изследвани болни и с липсата на информация за количествената виремия при тях (Таблица № 29).

От направения анализ считаме, че нивото на витамин В12 не може да бъде свързано с пола и възрастта на изследваните лица, както и с хероиновата злоупотреба и нейната продължителност.

Таблица № 26

Разпределение на изследваните лица по групи и стойности на витамин В12 ($p > 0,05$)

Група	Vitamin B12 (pmol/ml)	Средна стойност	SD	Min.	Max.
Хероиномани (n = 32)		362,72	± 121,41	134,50	608,90
Здрави доброволци (n = 12)		386,33	± 107,49	287,40	673,20
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 12)		303,94	± 97,48	118,70	460,00

Таблица № 27

Разпределение на изследваните лица по пол и стойностите на витамин В12 ($p > 0,05$)

Група	Vitamin B12 (pmol/ml)	Средна стойност	SD
Мъже (n = 36)		351,12	± 128,33
Жени (n = 20)		362,73	± 90,52

Таблица № 28

Разпределение на хероиновозависимите лица по продължителност на хероиновата злоупотреба и стойностите на витамин В12 ($p > 0,05$)

Продължителност на хероиновата злоупотреба	Средна стойност	SD
1-5 години (n = 11)	326,37	± 98,65
6-10 години (n = 15)	402,52	± 131,03
Над 10 години (n = 6)	329,83	± 122,06

Таблица № 29

Разпределение на изследваните лица по стойностите на витамин В12 и наличието на anti HCV (+) серологичен статус ($p > 0,05$)

Група	Средна стойност	SD
anti HCV (-) (n = 19)	357,97	± 124,24
anti HCV (+) (n = 37)	353,88	± 112,52

При статистическата обработка на данните не беше установена връзка между нивото на витамин В12 и нивата на ALAT, ASAT, GGT ($p > 0, 05$).

Фолиева киселина

При лицата, които изследвахме нямаше нито един с ниво на фолиевата киселина над горната референтна граница. Понижени нива установихме при 12 от общо 56 изследвани лица (21,43% от всички изследвани). Понижените нива, по литературни данни са свързани с хронични възпалителни процеси, вкл. хронични чернодробни увреждания, повишен риск от вродени малформации, сърдечно-съдови заболявания.

Налице беше статистически значима разлика в нивата на фолиевата киселина между трите сравнявани групи, която е за сметка на разликата в нивата й между групата на хероиноманите и здравите доброволци, както и между групите на болните с хепатит С без хероинова злоупотреба и здравите доброволци ($F = 7,47$; $p = 0,0014$).

Не беше установена статистически значима разлика в нивата на фолиева киселина между групите на наркомани и пациенти с ХХС липсва ($p > 0,05$) (Таблица № 30).

Средната стойност на серумната фолиева киселина клони към долна референтна граница в тези две групи изследвани лица. Не е ясно дали това по-ниско ниво корелира със степента на активност на чернодробното увреждане или степента на фиброза, но това може да бъде уточнено само при наличен резултат от хистологично изследване на черен дроб.

Таблица № 30

Разпределение на изследваните лица по групи и нива на фолиева киселина

Група	Средна стойност	SD	Min.	Max.
Хероиномани (n = 32)	13,62	± 4,75	7,01	28,05
Здрави доброволци (n = 12)	20,38	± 6,63	11,20	35,02
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 12)	13,45	± 5,77	5,50	28,31

Статистическата обработка на данните не установи връзка на отклоненията в серумното ниво на фолиевата киселина с пола, възрастта и anti HCV статуса на изследваните лица ($p > 0,05$) (Таблица № 31, № 32, № 33).

Таблица № 31

**Разпределение на изследваните лица
в зависимост от нивото на фолиева киселина и пола**

Група	Folate (nmol/l)	в референтни граници		под долна референтна граница	
		брой	%	брой	%
Мъже (n = 19)		27	61,36	17	38,64
Жени (n = 37)		9	75,00	3	25,00

Таблица № 32

**Разпределение на изследваните лица
в зависимост от нивото на фолиева киселина и възрастта**

Възраст (години)	Folate (nmol/l)	в референтни граници		под долна референтна граница	
		брой	%	брой	%
15 - 30 (n = 33)		27	81,80	6	18,20
31 - 40 (n = 16)		12	75,00	4	25,00
41 - 50 (n = 3)		2	66,70	1	33,30
51 - 60 (n = 4)		6	75,00	4	25,00

Таблица № 33

**Разпределение на изследваните лица
в зависимост от нивото на фолиева киселина и anti HCV статус**

Група	Folate (nmol/l)	в референтни граници		под долна референтна граница	
		брой	%	брой	%
anti HCV (-) (n = 19)		17	89,47	2	10,53
anti HCV (+) (n = 37)		27	72,97	10	27,03

Не беше установена и статистически значима връзка с продължителността на хероиновата злоупотреба. По-големият брой изследвани лица са със серумно ниво на фолиевата киселина в референтни стойности - 23 от 32 изследвани лица (71,88%), но при 9 от лицата бяха установени нива на фолиева киселина под долна референтна граница ($p > 0,05$) (Таблица № 34).

Таблица № 34

Разпределение на изследваните лица в зависимост от нивото на фолиева киселина и продължителността на хероиновата злоупотреба

Продължителност на хероиновата злоупотреба	Folate (nmol/l)	в референтни граници		под долна референтна граница	
		брой	%	брой	%
1 - 5 години (n = 11)		7	63,64	4	36,36
5 - 10 години (n = 15)		13	86,67	2	13,33
> 10 години (n = 6)		3	50,00	3	50,00
Общо		23	71,88	9	28,22

Промени в серумното ниво на феритин

Статистическият анализ показва сигнификантна разлика в нивата на феритин между всички групи $K-W = 18,2$; $p = 0,0002$ (Таблица № 35). Такава разлика е налице и при сравняване на групите по отклоненията на нивото на серумния феритин от нормата, за сметка на по-голямата честота на завишен такъв в групата пациенти с хроничен хепатит С, без данни за хероинова употреба, което потвърждава установената в множество досегашни проучвания [86-93] на връзка между завишените стойности на серумен феритин и хронично чернодробно заболяване ($\chi^2 = 29,5$; $p = 0,0001$; $r = 0,44$) (Таблица № 36).

Налице е и сигнификантна връзка на нивото на феритина с възрастта на изследваните лица, което насочва още веднъж към зависимостта му от давността на хроничното чернодробно заболяването. Последното е потвърдено и от факта, че най-високи стойности на феритин бяха отчетени в групата пациенти с ХХС без данни за хероинова злоупотреба, която е и групата с най-висока средна възраст (Таблица № 37, Фигура № 10). Връзката е налице, както при проследяване на нарастването на възрастта и нарастването на стойностите на феритина $r = 0,31$ ($p = 0,0007$), така и при сравняване на пациентите по възрастови групи ($\chi^2 = 30,3$; $p = 0,0002$; $r = 0,45$).

Таблица № 35

Разпределение на изследваните лица по групи и нива на серумния феритин ($K-W = 18,2$; $p = 0,0002$)

Група \ Ferritin (ng/ml)	Median	IQR	Upper quartile	Lower quartile
Хероиномани (n = 32)	145,40	117,75	221,90	104,15
Здрави доброволци (n = 40)	97,00	79,89	126,50	46,61
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)	205,00	350,30	428,30	78,00

Таблица № 36

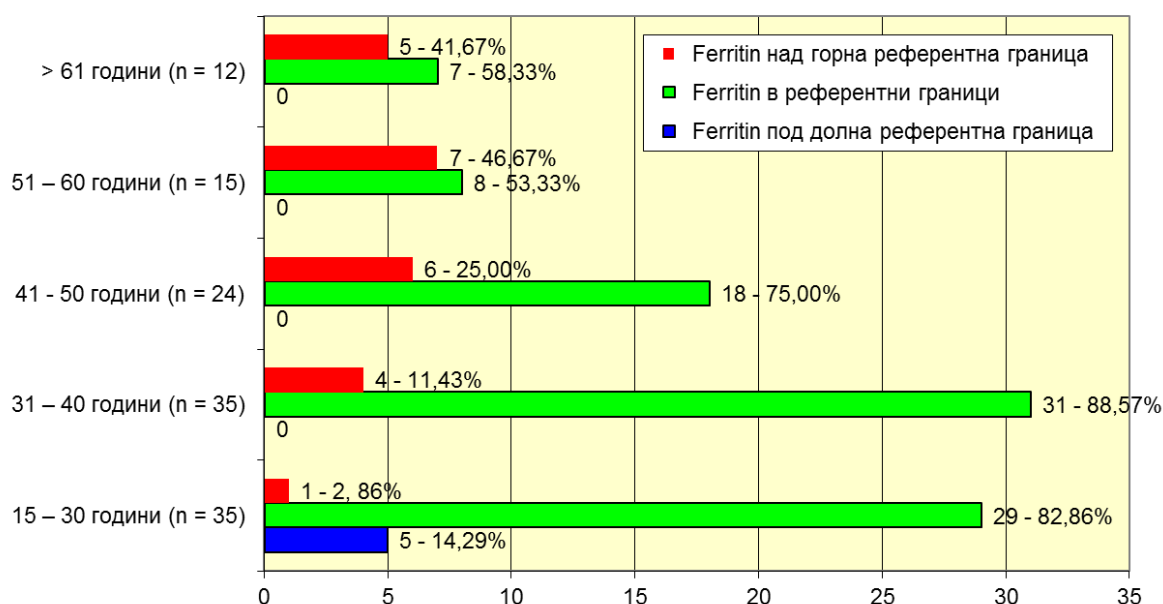
Разпределение на изследваните лица по групи и отклонения във феритиновото ниво ($\chi^2 = 29,5$; $p = 0,0001$; $r = 0,44$)

Група \ Ferritin (ng/ml)	в референтни граници		под долна референтна граница		над горна референтна граница	
	n	%	n	%	n	%
Хероиномани (n = 32)	29	90,63	1	3,13	2	6,25
Здрави доброволци (n = 40)	35	87,50	4	10,00	1	2,50
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ (n = 49)	29	59,18	0	0,00	20	40,82

Таблица № 37

Разпределение на изследваните лица според нивата на серумния феритин и възрастта ($\chi^2 = 30,3$; $p = 0,0002$; $r = 0,45$)

Възраст (години)	Ferritin (ng/ml)		в референтни граници		под долна референтна граница		над горна референтна граница	
	n	%	n	%	n	%	n	%
15 - 30 (n = 35)	29	82,86	5	14,29	1	2,86		
31 - 40 (n = 35)	31	88,57	0	0,00	4	11,43		
41 - 50 (n = 24)	18	75,00	0	0,00	6	25,00		
51 - 60 (n = 15)	8	53,33	0	0,00	7	46,67		
> 61 (n = 12)	7	58,33	0	0,00	5	41,67		



Фигура № 10: Нива на феритин по възрастови групи. Нарастването на възрастта корелира с нарастването на серумното ниво на феритина ($\chi^2 = 30,3$; $p = 0,0002$; $r = 0,45$).

И при нашите пациенти беше отчетена значима връзка между серумното ниво на феритин и пола, потвърждаваща литературните данни - по-високо средно ниво е налице при мъжете (Таблица № 38).

Таблица № 38

Разпределение на изследваните лица според серумно ниво на феритин и пол ($K - W = 26,3$; $p = 0,0001$)

Група	Ferritin (ng/ml)	Median	IQR
Мъже (n = 72)		160,45	221,85
Жени (n = 49)		85,00	105,49

При изследваните хероиномани, включени в нашето проучване не установихме връзка между продължителността на хероиновата злоупотреба и отклоненията в нивата на серумния феритин ($p > 0,05$). При по-голямата част от пациентите нивото на феритина беше в референтни граници, само при двама беше налице завишаване (Таблица № 39).

Таблица № 39

Разпределение на пациентите с хероинова зависимост според продължителността на хероиновата злоупотреба и отклоненията в серумното ниво на феритин

Ferritin (ng/ml) \ Продължителност на хероиновата злоупотреба	в референтни граници	под долна референтна граница	над горна референтна граница
1 - 5 години (n = 11)	11	0	0
6 - 10 години (n = 15)	12	1	2
над 10 години (n = 6)	6	0	0

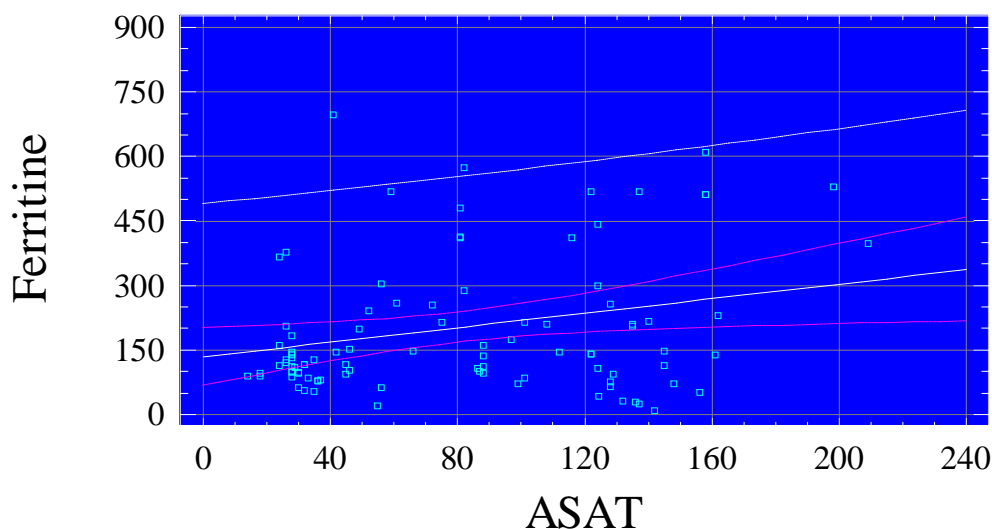
Установи се и сигнификантна връзка между промените в нивата на феритин и anti HCV статуса на изследваните лица. Само при 1 от всички 47 лица, при които anti HCV са негативни е установено серумно ниво на феритин над горна референтна граница. При anti HCV (+) 22 от от изследваните 74 лица са със завишени стойности на серумен феритин (Таблица № 40).

Таблица № 40

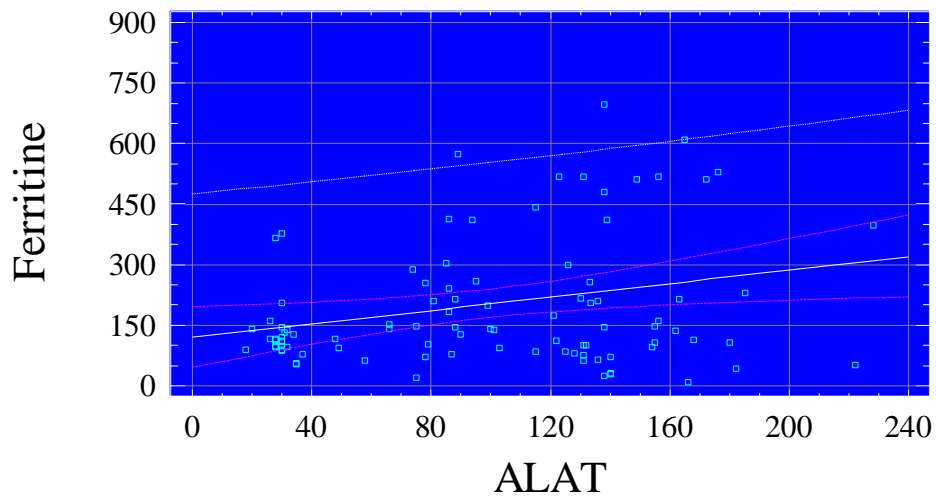
Разпределение на изследваните лица според anti HCV статуса и отклоненията в серумното ниво на феритин

Ferritin (ng/ml) \ Групи	в референтни граници		под долна референтна граница		над горна референтна граница	
	n	%	n	%	n	%
anti HCV (-) (n = 47)	42	89,36	4	8,51	1	2,13
anti HCV (+) (n = 74)	51	68,96	1	1,35	22	29,73

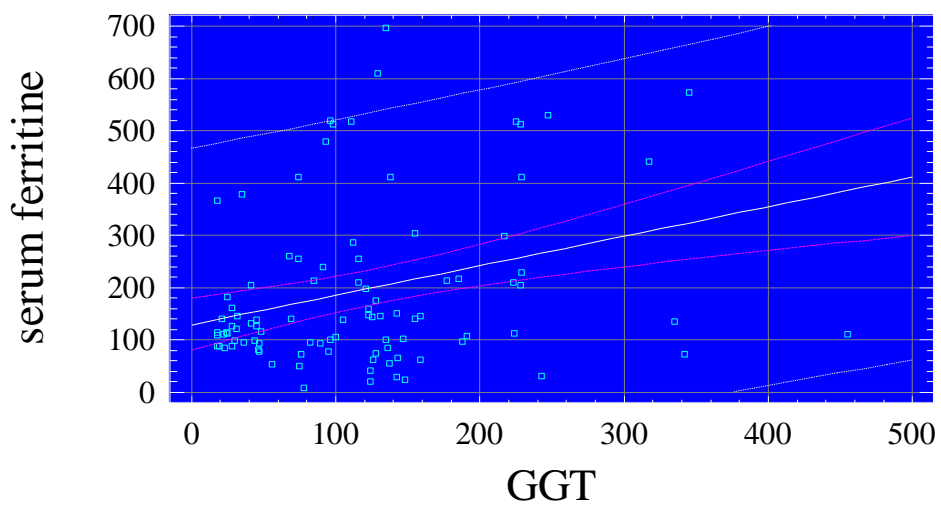
При използване на регресионен анализ беше установена корелационна зависимост между нивата на феритин и нивата на ASAT, ALAT и GGT (Фигури № 11, 12, 13).



Фигура № 11: Връзка между серумното ниво на феритин и ASAT (Ferritine = 134,01+0,85x ASAT; p = 0,0002).



Фигура № 12: Връзка между серумното ниво на феритин и ALAT
 (Ferritine = 119,3+0,25x ALAT; $p = 0,0002$).

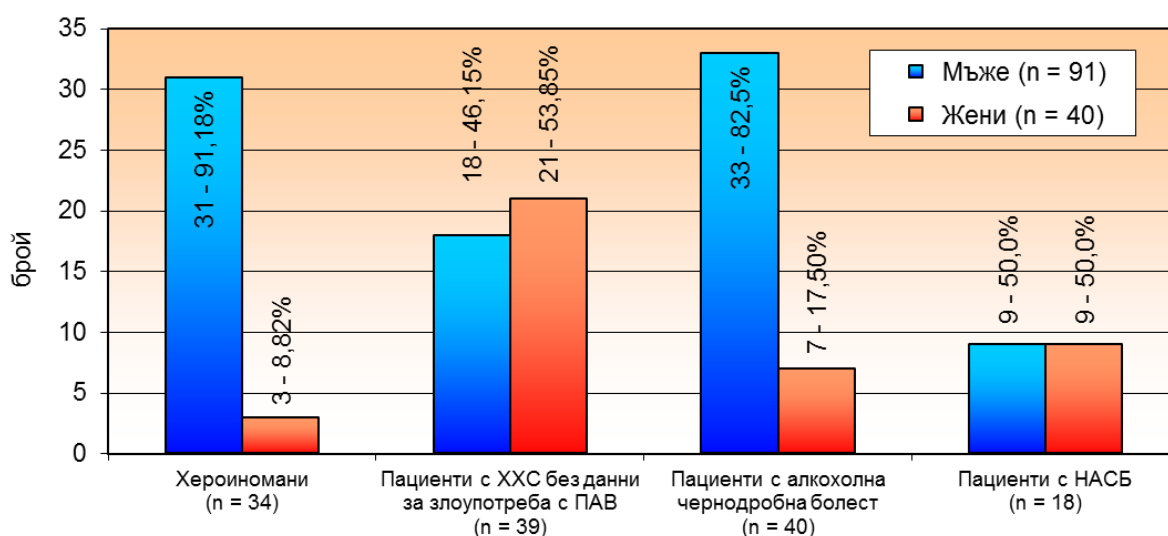


Фигура № 13: Връзка между нивото на серумен феритин и GGT
 (Ferritine = 129,3+0,6xGGT; $p = 0,0002$).

3. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ, КАСАЕЩИ ХРОНИЧНИТЕ ХЕПАТИТИ В И С ПРИ ИНТРАВЕНОЗНИТЕ ХЕРОИНОМАНИ Група 3

Епидемиологични данни

Разпределение по пол и по възраст: от изследваните 131 лица 91 (69,47%) бяха мъже и 40 (30,53%) жени. Между четирите изследвани групи установихме съществени разлики в разпределението по пол ($\chi^2 = 23,97$; $p = 0,0001$; $r = 0,39$), което съответства на данните в проучванията, публикувани в литературата. Особено изразено беше различието по пол при групата с хероинова злоупотреба, където над 90% от случаите (общо 31) бяха мъже, доказвайки тенденцията мъжкият пол да е рисков фактор за развитие на зависимо поведение (Фигура №14).



Фигура № 14: Разпределение на пациентите по пол в сравняваните групи. Налице са съществени разлики в разпределението по пол ($\chi^2 = 23,97$; $p = 0,0001$; $r = 0,39$).

Между четирите изследвани групи имаше съществени разлики във възрастта ($p = 0,0001$; $F = 43,13$) поради факта, че наркоманите са предимно млади хора, във възрастта до 40 години (Таблица № 8). Пациентите, лекувани в клиниката по гастроентерология, УМБАЛ, Плевен с хроничен хепатит С, АЧБ и НАСБ са основно във възрастта над 40 години.

Горепосочената разлика е свързана с тенденцията в световен мащаб най-активната възраст за употреба на наркотици да е 15 - 40 години.

3.2. Ензимна активност на заболяването

По отношение на ензимната активност на заболяването налице беше също сигнификантна разлика между четирите изследвани групи, като най-изразена беше същата при пациентите с алкохолна чернодробна болест, следвана от групата независими пациенти с хроничен хепатит С. В тези две групи лица изследваните пациенти са с хронично чернодробно заболяване, като в повечето случаи е налице голяма давност на уврежданията и разнообразни чернодробни промени, вкл. чернодробна цироза. Поради

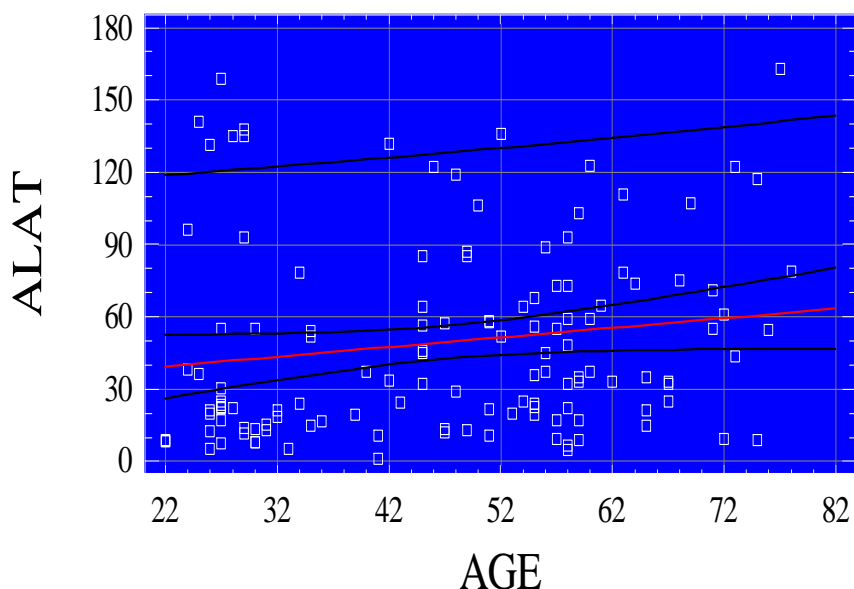
непараметрично разпределение на данните използвахме тестът на Kruskal - Wallis за обработка на данните, като $K-W = 7,83$ и $p = 0,049$ (Таблица № 41).

Таблица № 41

Стойности на АЛАТ при изследваните групи лица ($K-W = 7,83$ и $p = 0,049$)

Група \ АЛАТ	Медиана	IQR	Min.	Max.
Хероиномани	46,63	25,5	5,1	308
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ	53,30	53,00	9,2	163
Пациенти с алкохолна чернодробна болест	61,46	50,95	1,1	290,6
Пациенти с НАСБ	57,51	68,9	4,71	122,6

При обработката на данните с използване на регресионен анализ и експоненциален модел, където "X" е възрастта, а "Y" е стойността на АЛАТ установихме зависимост между стойностите на АЛАТ и възрастта на изследваните лица, което още веднъж доказва значението на **времето** за действие на увреждащия фактор върху работата на черния дроб и обяснява защо по - тежки са промените при алкохолици, пациенти с хроничен хепатит и НАСБ, в сравнение с лицата с данни за зависимост от хероин, чиято средна възраст е значително по-ниска в сравнение със средната възраст на пациентите от другите 3 групи (Фигура № 15).



Фигура № 15: Корелация между възрастта и стойностите на АЛАТ ($ALAT = 30,36 + 0,4 \times \text{възрастта}; r = 0,20; p = 0,02$).

Серологични маркери за окултна хепатит В вирусна инфекция

По отношение на честотата на anti HBc total, който вече се използва все по-широко като скринингов маркер за скрита хепатит В вирусна инфекция не установихме съществени разлики между групата на хероиноманите и контролните групи ($p > 0,05$). Установените честоти са близки до тези, докладвани от други изследователи при сходни групи пациенти (Таблица № 42).

В хода на статистическата обработка на данните беше отчетена значима разлика в честотата на anti HBc total между групата пациенти с алкохолна чернодробна болест и тези с НАСБ ($p < 0,05$).

Таблица № 42
Честота на anti HBc total антитела в групите изследвани лица

Група	положителни (+)		отрицателни (-)	
	n	%	n	%
Хероиномани	12	35,29	22	64,71
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ	14	35,90	25	64,10
Пациенти с алкохолна чернодробна болест	20	50,00	20	50,00
Пациенти с НАСБ	4	22,22	14	77,78
Общо	50		81	

В групата на хероиноманите потърсихме връзка между наличието на anti HBc total антителата с продължителността на хероиновата злоупотреба, като такава не беше установена при лицата, които сме обхванали в проучването ($p = 0,2$).

С оглед по-пълна оценка на серологичния статус по отношение на хроничната хепатит В вирусна инфекция при част от пациентите (според отпуснатите по горепосочения проект финансови средства) изследвахме и anti HBs антитела, чието наличие в серума в концентрация над 100 IU/ml се счита, че има протективна функция по отношение развитието на активна хепатит В вирусна инфекция. В таблица № 43 е представено разпределението на положителни (anti HBs антитела > 100 IU/ml) и отрицателни (anti HBs антитела < 100 IU/ml) за anti HBs антитела случаи. Това е и титър на антителата, при който в някои страни се разрешава даряване на кръв и органи за трансплантация.

Таблица № 43
Честота на anti HBs при изследваните групи лица.

Група	Anti HBs (+)		Anti HBs (-)		Общо	
	n	%	n	%	n	%
Хероиномани	9	26,5	25	73,5	34	100,0
Пациенти с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ	3	21,4	11	78,6	14	100,0
Пациенти с алкохолна чернодробна болест	6	26,1	17	73,9	23	100,0
Пациенти с НАСБ	4	26,7	11	73,3	15	100,0
Общо	22		64		86	

Само 4 от изследваните хероиноманна са едновременно позитивни за anti HBc total и anti HBs, като в същото време са позитивни и за anti HCV, което предполага протективен ефект за развитието на активен хроничен хепатит В.

В групата болни с ХХС без данни за злоупотреба с хероин от 19 изследвани болни само 3 са едновременно позитивни за anti HBc total и anti HBs.

При пациентите с НАСБ трима от изследваните 18 лица са позитивни едновременно за anti HBc total и anti HBs.

При пациентите с алкохолна чернодробна болест само 6 от изследваните 40 болни са позитивни едновременно за anti HBc total и anti HBs.

Установяването на anti HBc total и anti HBs (+) антитела насочва клинициста към възможността за наличие на скрита хепатит В вирусна инфекция. Във всички останали случаи с колаборативни, отговорни пациенти, с поведение, различно от това на зависим при осъществяване на повторен контакт се провежда и PCR за търсене на активна вирусна репликация на вирус В. В групата, обект на нашите проучвания повторна среща не беше възможна поради липсата на мотивация на зависимите за по-нататъшни изследвания, проследяване от специалист и вземане на решение за терапевтично поведение. Серуми за горепосочените изследвания бяха събрани в рамките на няколко седмици. *В периода на събирането, изчакването на резултатите интересът на лицата към изясняване на наличието/липсата на хроничен хепатит В при тях беше отминал.*

4. СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА АКТИВНОСТ НА ВИРУСНАТА РЕПЛИКАЦИЯ ЗА ВИРУСИ В И С ПРИ ХЕРОИНОВОЗАВИСИМИ ПАЦИЕНТИ

Група 4

От изследваните 17 хероиновозависими авиремия и за двата вируса беше доказана при 6 от лицата, като при 1 от тях бяха налице анамнестични данни за приключило 3 месеца преди горепосочения скрининг специфично противовирусно лечение за хроничен хепатит С с PegIF и Ribavirine. Двама от горните 6 пациента бяха с анамнестични данни за използване на хероин единствено чрез смъркане. При тези пациенти липсваха и обективни белези за скоростни или чести в миналото белези от венозни манипулации. Интересно е, че продължителността на употреба на хероин при тези двама пациенти е сравнително немалка - 4 и 5 години. Останалите 3 болни, при които липсваше виемия, както за В, така и за С вирус бяха на възраст 22, 23 и 24 години и съответно продължителност на употребата 3, 4 и 7 години.

При 8 от пациентите бяха налице данни само за активна вирусна репликация на HCV при продължителност на хероиновата употреба от 1 до 16 години. За разлика от повечето литературни източници в изследваната група пациенти не установихме сигнификантна връзка между продължителността на хероиновата злоупотреба и налична активна вирусна репликация за хепатитен вирус С (Таблица № 4). При НА, при които беше налице активна вирусна репликация за вирус С средната продължителност на злоупотребата бе 5,40 години ($\pm 4,48$). При НА, при които липсваше вирусна репликация за вирус С средната продължителност на хероиновата злоупотреба беше 4,57 години ($\pm 2,37$) - $p > 0, 05$.

Последното много вероятно е свързано с малкия брой пациенти, обхванати в проучването.

Някои от болните съобщиха, че им е известно, че са anti HCV (+) - изследвани са били профилактично чрез бързи тестове по различни програми за превенция на разпространението на HIV и хронични вирусни хепатити 2 месеца до 4 години назад. Пациентът с анамнестични данни за най-дълга злоупотреба беше информиран, че е anti HCV (+) от 4 години назад. **Според литературата половината от хронично инфектираните зависими лица не са информирани, че са такива, а от диагностицираните едва 1 от 10 достигат лечение.** При 7 от изследваните лица с активна вирусна репликация за вирус С генотипът беше 3, при останалите трима - генотип 1.

Таблица № 44

Разпределение на изследваните НА според наличието на активна вирусна репликация за вирус С и продължителност на хероиновата злоупотреба.

Продължителност на хероиновата злоупотреба	Mean	SD
Група		
HCV RNA (+) (n = 10)	5,40	± 4,48
HCV RNA (-) (n = 7)	4,57	± 2,37

При двама от изследваните пациенти бяха налице данни за ко-инфекция за HBV и HCV. От тях единствената жена в групата - 25 годишна, i.v. злоупотребяваща от 5 години с хероин и 33 годишен мъж, зависим от 8 години. При мъжа времето и за двата вируса беше нискостепенна. При жената нискостепенна (под 2000 IU/ml) беше времето за хроничната HBV инфекция, докато репликацията на HCV беше изразена - около 200 000 IU/ml.

По литературни данни ко-инфекция с HBV и HCV е налице при около 1% от и.в. злоупотребяващите с хероин, като данните се отнасят за лица, положителни едновременно за HBsAg и anti HCV. Честотата на положителни anti HCV, HCV RNA и anti HBc total е свързана в по-голяма степен с възрастта, броя на убежденията и времето от първата инжекция в сравнение с честотата на откриване на положителен HBsAg.

Само при 1 от болните бяха налице данни за активна репликация само за вирус В, като същият беше лекуван в инфекциозна клиника за остър хепатит В около 6 месеца преди изследването. Статистическият анализ показва, че по отношение на активната вирусна репликация на HBV би могла да съществува връзка между продължителността на злоупотребата и заразяването с HBV - $p = 0,065$ (Таблица № 45). Резултатите не са категорични поради малкия брой изследвани лица.

Таблица № 45

Разпределение на хероиновозависимите, изследвани за активна вирусна репликация на вируси В и продължителност на злоупотребата с ПАВ

Продължителност на хероиновата злоупотреба	Median	IQR
Група		
HBV DNA (+) n = 3	8,00	3,00
HBV DNA (-) n = 14	4,00	5,00

VI. ОБСЪЖДАНЕ

Сред всички видове зависимости, тази към хероин продължава да бъде свързана с най-големи здравни, социални и психологически щети в национален и световен мащаб. Въпреки действащите превантивни програми все още най-голям е броят на злоупотребяващите, търсещи помощ поради зависимост към опиати и в частност хероин.

Наркоманиите на първо място имат разрушително действие върху личността и социалния живот на засегнатия. Напълно потисната е волята на наркоманите за съществуване, полезно както за самите тях, така и за околните. Всичките им действия са насочени единствено към снабдяване с поредната доза наркотик, без грижа за последствията върху психическото и физическото им здраве. Особено тежки са те при интравенозната злоупотреба с хероин, от "нежния допир" на който експериментиращите бързо стават зависими

Множество положителни ефекти върху поведението на зависимия са отчетени след включването както в комплексните рехабилитационни програми (такива, финансирани и контролирани на национално ниво в България липсват), така и в програмите за субституиращо лечение, които могат да бъдат използвани като първо стъпало към промяната на живота на наркомана].

Борбата със зависимостта е дългогодишна и тежка, но и за тези, които са успели да се откъснат от този начин на живот, продължава борбата за физическото оздравяване, в която особено място заемат **хроничните чернодробни заболявания**.

Множеството разработени стратегии и планове за борба с наркоманиите включват и част за ограничаването на разпространението на кръвнопреносими заболявания. Успехи са постигнати по отношение на редуциране честотата на случаите с HIV, но не и по отношение на хроничните хепатити, за които интравенозните наркозависими са основна рискова група. Ефект от горепосочените стратегии липсва и по отношение на справянето с хроничната болестност и смъртност от чернодробни заболявания, свързани със зависимостта от хероин.

Обект на настоящето проучване бяха 4 групи хероиновозависими млади лица (възраст 18-40 години) от Плевенски регион. Изследванията при тях бяха извършвани според проектите, финансирани от Медицински Университет, Плевен (отразено в частта "Материал и методи").

И в четирите изследвани групи наркомани беше налице съществено по-млада възраст спрямо използваните контролни групи.

Съществени различия по пол с преобладаване на мъжкия пол също бяха отчетени и в четирите групи хероиновозависими.

Хероинова зависимост и чернодробни увреждания

В представеното проучване бяха направени подробни морфологични изследвания върху чернодробна тъкан на 10 хероиновозависими. Наблюдавани и описани бяха разнообразни хистологични промени като балонна дегенерация, намаляване на гликогеновото съдържание, флебосклероза, хепатитни промени с различна степен на активност и фиброза, извършени бяха редица морфометрични измервания.

При сравнение между същата група наркомани и двете контролни групи-независими лица с хроничен хепатит В и С не установихме сигнификантни различия в биохимичната активност на чернодробното заболяване в групата

наркомани. Налице бяха данни, обаче за биохимична активност на заболяването при 9 от 10-те хероиномани, включени в изследваната група.

При сравнителен анализ между групата хероиновозависими с ХХС и независими пациенти с ХХС и ХХВ не установихме специфични за действието на хероина патологични промени в черния дроб на наркоманите както при стандартното оцветяване с ХЕ, оценени по системата МЕТАВИР, така и при проведените допълнителни хистохимични оцветявания PAS и Van Gieson, и при морфометричните изследвания.

Тревожен факт е, че при хероиновозависимите лица са налице патологични чернодробни промени, сходни на тези при значително по-възрастните пациенти с хепатит С, които сме използвали като контролна група.

Изследваната група хероиновозависими беше малка - представена от 10 лица на възраст 18 - 31 години. Сигнификантни различия в хистологичните промени при наркомани с различна продължителност на хероиновата злоупотреба (до 5 и над 5 годишна продължителност на злоупотребата) не бяха установени, но трябва да отбележим, че:

- В групата наркомани с продължителност над 5 години, преобладаваше степен на фиброзата F2, както и умерени и тежки промени по отношение на **флебосклерозата**, считана за един от ключовите моменти в преминаването към цироза.
- При всички наркомани с над 5-годишна продължителност на злоупотребата бяха налице промени в гликогеновото съдържание на хепатоцитите в посока намаляване (оценено чрез реакция **PAS**). Последното още веднъж доказва наличието на хронично чернодробно увреждане и данни за ограничаване на енергийните резерви на черния дроб.

Морфометрични изследвания върху черен дроб на хероиновозависими бяха извършени **за първи път** в България. Като резултат от проведените проучвания можем да заключим, че морфометричните изследвания върху черен дроб не са от особено диагностично значение в случаите на ниска и умерена активност на чернодробното възпаление и ниска степен на фиброзата, каквито са всички наши случаи. Този тип изследвания биха могли да бъдат използвани като допълнителен инструмент за оценка на патологичните чернодробни промени, но поради трудоемкостта не са подходящи за рутинната практика.

При сравняване на патологичните промени в черния дроб на **НА според продължителността на хероиновата злоупотреба** установихме сигнификантни разлики в диаметъра и повърхността на ядрото, като същите са значително по-големи при НА с по-голяма продължителност на хероиновата злоупотреба. Установената зависимост най-вероятно е резултат на по-продължителното действие на увреждащите фактори, свързани с наркоманното поведение (по-голяма продължителност не само на хероиновата злоупотреба, но и на злоупотреба с други ПАВ, по-продължително действие на вирус С) върху черния дроб. Значението на тези промени е неясно, но би могло да е свързано със създаването на възможности за последващи диспластични промени в черния дроб.

Нива на Vitamin B12, фолиева киселина и феритин при интравенозно хероиновозависими - група 2

Vitamin B12, фолиева киселина и феритин са важни биохимични показатели, чиято промяна е свързана с редица хронични заболявания - сърдечно-съдови, системни кръвни заболявания, хранене, хронични хепатити, злоупотреба с психоактивни вещества.

В изследваната група хероиновозависими пациенти установихме характерната за групата значима разлика в разпределението по **пол** - преобладават мъжете. Налице беше и статистически значима разлика в разпределението по пол между трите сравнявани групи. Налице беше и статистически значима разлика в разпределението по **възраст**, дължаща се на доста по-младата средна възраст на НА.

При анализиране на отчетените серумни нива на **Vitamin B12** не установихме сигнификантни разлики между изследваната група и двете контролни групи лица. Лицата с отклонения в серумните нива на Vitamin B12 бяха малко на брой и в трите изследвани групи.

Не установихме корелация между нивото на витамин B12 и нивата на чернодробните ензими ASAT, ALAT, GGT. Не беше установена и статистически значима връзка между отклоненията в нивата на Vitamin B12 и пола, възрастта, продължителността на хероиновата злоупотреба и anti HCV статуса.

В резултат на горепосочените изследвания и анализи може да заключим, че серумното ниво на Vitamin B12 не може да бъде използвано като маркер за интравенозна злоупотреба с наркотици.

При анализиране на отчетените нива на **фолиева киселина** установихме сигнификантни разлики в средните стойности на серумните й нива между изследваната група и двете контролни групи. Такава разлика липсваше между групата на НА и пациентите с ХХС без данни за злоупотреба с ПАВ. В тези две групи средната стойност на серумната фолиева киселина клони към долна референтна граница. Не е ясно дали това по-ниско ниво корелира със степента на активност на чернодробното увреждане или степента на фиброза, но това може да бъде уточнено само при наличен резултат от хистологично изследване на черен дроб.

Статистическата обработка на данните не установи връзка на отклоненията в серумното ниво на фолиевата киселина с **пола, възрастта и anti HCV статуса** на изследваните лица. В изследваната група НА не установихме връзка между серумното ниво на фолиева киселина и продължителността на хероиновата злоупотреба.

В резултат на горепосочените изследвания и анализи може да заключим, че **фолиевата киселина** също не може да бъде използвана като маркер за интравенозна злоупотреба с наркотици.

При статистическата обработка на данните за серумните нива на **феритин** установихме сигнификантна разлика в нивата на феритин между всички групи. Разликите са налице и при сравняване на групите по отклоненията на нивото на серумния феритин от нормата, за сметка на по-голямата честота на завишен такъв в групата пациенти с хроничен хепатит С, без данни за хероинова употреба. Последното е потвърждение на установената в множество досегашни проучвания връзка между завишените стойности на серумен феритин и хроничен хепатит С.

Статистическият анализ показва и сигнификантна връзка на нивото на феритина с възрастта на изследваните лица, което насочва още веднъж към зависимостта му от давността на заболяването.

При изследваните хероиномани, включени в нашето проучване не установихме връзка между продължителността на хероиновата злоупотреба и отклоненията в нивата на серумния феритин.

Установена беше сигнификантна връзка между промените в нивата на феритин и anti HCV статуса на изследваните лица. Само при 1 от всички 47 лица, при които anti HCV са негативни беше налице серумно ниво на феритин над горна референтна граница. При anti HCV (+) статус 22 от от изследваните 74 лица са със завишени стойности на серумен феритин. При използване на регресионен анализ беше установена корелационна зависимост между нивата на феритин и нивата на ASAT, ALAT и GGT.

Проведените анализи потвърждават факта, че серумното ниво на **феритин** е надежден бихимичен маркер на хроничното чернодробно увреждане. *Завишените му нива насочват към хронично чернодробно заболяване и могат да бъдат използвани като част от лабораторните анализи, провеждани при хероиновозависимите лица във при оценка на чернодробните увреди.*

Хронични хепатити В и С при хероиновозависими лица

В световен мащаб серологичният статус по отношение честота на хроничните хепатити В и С при интравенозните наркомани продължава да бъде оценяван чрез изследване на HBsAg и anti HCV антитела. Получените резултати са представяни в статистическите анализи на заболяемостта и хроничната болестност при тази група зависими. Малко на брой са проучванията, които са анализирали активността и тежестта на хроничен хепатит В и С при тази група лица чрез допълнителни изследвания на количествена вiremия и хистоморфологична оценка на промените в черен дроб.

Малко на брой са групите наркомани, които са изследвани допълнително за anti HBc и anti HBs антитела за оценка на скрита хепатит В вирусна инфекция. Не са реализирани програми за ваксиниране срещу хепатит В. Инсуфициентно повсеместно е скринирането за хронични хепатити при интравенозно злоупотребяващите - резултат на специфичното поведение, а също и извън него. Ограничен е достъпът им до програмите за провеждане на специфично противовирусно лечение в случаите с доказан хроничен хепатит В и С.

Сред 20-те НА пациенти, при които беше установена активна вирусна репликация за вирус С при 9 беше отчетен генотип 3, а при останалите 11 - генотип 1. При двама от изследваните за активна вирусна репликация НА беше налице коинфекция с HBV и HCV. При статистическата обработка на данните не установихме връзка между наличието на активна вирусна репликация за вирус С и продължителността на хероиновата злоупотреба ($p > 0,05$).

Продължителността на хероиновата злоупотреба вероятно има значение за наличие на заразяване и активна хепатит В вирусна инфекция при интравенозно хероиново зависимите ($p = 0,065$).

Информирани, че са положителни за anti HCV бяха всички пациенти, при които беше потвърдена и активната вирусна репликация. Нито един от тях обаче, не беше предприел действия както за промяна на поведението в посока овладяване на зависимостта и преустановяване на трансмисията на вирусите

на други НА и хора от обкръжението, които не са токсикомани, така и за уточняване на стадия **на чернодробното заболяване и типа лечение, от което се нуждае.**

Въпреки малкият брой НА, изследвани за активна вирусна репликация за вируси В и С при нашите проучвания установихме значително по -висока честота на двата вируса в сравнение с останалото население и в съответната възрастова група. Особено обезпокоителен е и фактът, че никой от обхванатите пациенти не е предприел действия за промяна в поведението си и лечение на вирусния хепатит.

При анализиране на данните за групите пациенти, които изследвахме за окултна хепатит В вирусна инфекция установихме значими разлики във възрастта на зависимите пациенти и тези без данни за зависимост, като при хероиноманите случаите са на млади пациенти между 22 и 40 годишна възраст, а при останалите изследвани групи средната възраст е над 50 години. Тревожното заключение от представените резултати е фактът, че средната възраст в групата на хероиноманите е 25,5 ($\pm 3,2$), което е сигнификантно по-различно от средната възраст в останалите групи и представлява потенциална опасност за оформяне на група с хронични чернодробни заболявания и инвалидизиране по-рано във времето освен поради наркоманното поведение и поради хроничната чернодробна увреда. Такива са и световните тенденции, отбелязани в глобалните доклади за интравенозно зависимите, а така също и в гайдлайните на Европейската и Американската асоциация за изучаване на черен дроб.

Съществен извод от горепосочените резултати е и това, че при групата на интравенозните наркомани е недооценен рискът за предаване на хроничен хепатит В.

В нашето проучване не установихме сигнификантни разлики в честотата на маркерите за скрита хепатит В вирусна инфекция между четирите изследвани групи. Установената честота на anti HBc total и anti HBs (+) антитела е сходна на тази, докладвана от други автори. Тя обаче е различна от представената честота на HBsAg, който все още продължава да се използва като скринингов маркер за ХХВ. Официалните доклади на Националния център по наркомании, както и последният Европейският доклад за мониториране на наркомании все още представят честотата на ХХВ чрез изследването на HBsAg. Изследването на anti HBc и anti HBs антитела, с последващо изследване на HBV DNA вероятно би променило епидемиологичната характеристика на ИВН по отношение на ХХВ и би рефлектирало в терапевтичното поведение спрямо тази група пациенти с ХЧЗ. При негативните от тях би било уместно ваксинирането срещу хепатит А и хепатит В.

VII. ИЗВОДИ

1. Наркоманиите са актуален социален проблем, засягащ лица в млада възраст с преобладаване на мъжкия пол.
2. При интравенозните хероиномани с хроничен хепатит С са налице морфологични промени в черния дроб, сходни на тези, установени при значително по-възрастни от тях пациенти с хронични чернодробни заболявания.
3. Морфометричните изследвания върху черен дроб на хероиново зависими с хроничен хепатит С нямат диагностична стойност за оценка на тежестта на патологичните промени при ниска и умерена възпалителна активност на чернодробното увреждане.
4. Налице е корелация между продължителността на интравенозната хероинова злоупотреба и диаметъра и средната площ на ядрото на хепатоцита при интравенозни хероиномани с хроничен хепатит С.
5. Промените в серумните нива на Vitamin B12, Folate и ferritine не са специфични за зависимите от хероин.
6. Нивото на серумния феритин може да бъде използвано като част от биохимичната оценка за тежест на чернодробното увреждане при хероиновозависимите.
7. При хероиновозависимите лица с хроничен хепатит С в проучения регион честотата на генотип 1 и генотип 3 е сходна.
8. При диагностика на хепатит В е уместно освен HBsAg допълнително да бъдат изследвани и anti HBc и anti HBs антитела. Уместно е негативните хероиновозависими да бъдат ваксинирани срещу хепатит В.
9. *Групата на интравенозно хероиновозависими е източник за разпространение на хепатити В и С поради по-високата честота в сравнение с останалото население и поради ограничен достъп до терапия. С оглед съществуващите доказано високоефективни схеми за лечение на хепатит С и хепатит В и насоките в световен мащаб за включване на максимален брой пациенти е уместно да бъдат разработени стратегии за повишаване на достъпа под съответния специализиран контрол и на повече зависими пациенти.*

VIII. ПРИНОСИ

1. За първи път в България се направени подробни морфологични изследвания върху черен дроб на хероиново зависими с хроничен хепатит С. Доказани са разнообразни морфологични промени, характерни за пациенти с хроничен хепатит С на значително по-голяма възраст.
2. За първи път в България са направени подробни морфометрични изследвания върху черен дроб на хероиново зависими пациенти с хроничен хепатит С. Установена е сигнификантна връзка между продължителността на интравенозната хероинова злоупотреба и диаметъра и средната площ на ядрото на хепатоцита при хероиново зависими с хепатит С.
3. За първи път в България са направени подробни биохимични изследвания при хероиново зависими с и без хроничен хепатит С. Установените отклонения в нивата на ASAT, ALAT, GGT, тотален билирубин, серумно ниво на фолиева киселина, витамин В12, феритин са сходни на промените при пациенти с хроничен хепатит С на значително по-висока възраст.
4. За първи път са направени подробни вирусологични изследвания по отношение на хроничните вирусни хепатити В и С при хероиново зависими от Плевенски регион.
 - 4.1. При хероиново зависими от Плевенски регион е установена сходна честота на генотип 1 и генотип 3 при хроничен хепатит С.
 - 4.2. Установената честота на anti HBc total и anti HBs (+) антитела е сходна на тази, докладвана от други автори. Тя обаче е различна от представената честота на HBsAg, който все още продължава да се използва като скринингов маркер за хроничен хепатит В.

IX. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С НАУЧНИЯ ТРУД

1. **Любомирова Д.**, Маринова И. Увреждания на черния дроб при хронична интравенозна хероинова злоупотреба. В: Българска хепатогастроентерология., бр. 1, 2010, 60-62.
2. Бързашка Е, **Д. Любомирова**, Хр. Христов. Възможности за рехабилитация и реинтеграция на наркозависимите в България. В: Практическа педиатрия, бр. 1, 2011, стр. 22-23.
3. Ноева Е., Е. Бързашка, В. Минков, **Д. Любомирова**. Социален профил на наркозависимите. В: Практическа педиатрия, бр. 1, 2011, стр. 22-23.
4. **Любомирова Д.**, И. Маринова, С. Невати, Р. Иванова, И. Иванов. Окултна хепатит В вирусна инфекция и интравенозна хероинова злоупотреба. В: Мединфо, 11, 2011, XI. 17-19.
5. **D. Lubomirova**, Ivanova R, Ivanov I., Marinova I., Velkova A., Markova E., Iordanova P., Lalev I., Vlachova M. Liver damage from heroin misuse, combined with HCV infection: clinical and morphological changes. In: Journal of Biomedical and Clinical Research. Vol. 4, No 2, 2011, 95-99.
6. **Любомирова Д.**, Р. Иванова, И. Иванов, И. Маринова. Интравенозна хероинова злоупотреба и хроничен вирусен хепатит С. Мединфо, № 11, 2012 г., 44-45 с.
7. **Любомирова Д.** И. Маринова, П. Йорданова, К. Стойчев, А. Велкова, Ч. Мирчев, С. Невати, И. Лалев, М. Влахова. Честота на серологичните маркери за хронична хепатит В вирусна инфекция при интравенозна хероинова злоупотреба. В: Българска хепатогастроентерология, бр. 2, 2012.
8. **Lubomirova D.**, I. Marinova, R. Ivanova, I. Ivanov, A. Velkova, K. Stoychev, I. Lalev, R. Ivanova, P. Iordanova - Laleva, Z.Sabeva, M. Vlahova. HCV AND DRUG ABUSERS - morphological changes. Под печат в Medinform.

Х. ПРИЗНАТЕЛНОСТ

Благодаря на всички, които направиха възможно разработването и завършването на този труд:

Доц. Иванка Маринова – за идеите и примера за постоянство, отговорност, борбеност и преодоляване на проблемите с усмивка

Проф. Захарий Кръстев – за безценните професионални съвети и насоки

Доц. Иван Лалев – за безотказната помощ в ежедневната работа и волята за промяна

Доц. Павлина Йорданова - Лалева – ръководител на два от проектите, по които се извършиха част от изследванията за настоящия труд и за насърчителните съвети

Доц. Иван Иванов – незаменим приятел от Катедрата по Патоанатомия на Медицински Университет Плевен

Д-р Рени Иванова от Катедрата по Патоанатомия на Медицински Университет Плевен за професионалната работа при оценката на чернодробните биопсии

Проф. Анжелика Велкова - за професионалната помощ, позитивизъм, вдъхновение и страстта на будител, с които зарежда учениците си

Проф. Петкана Христова за професионалната помощ на най-високо ниво при статистическата обработка на резултатите

Доц. Калоян Стойчев от Клиниката по зависимости и Чавдар Мирчев – психолог от Фондация“ Социални и здравни инициативи“ за колегиалното отношение и осигуряване на възможност за контакт с повече зависими лица

Стефка Кънчева – за подаденото рамо и всеотдайност при техническото оформление на работата

Благодаря на семейството ми за разбирането и подкрепата!