



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ – ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА
КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ

Д-Р МАРГАРИТА ИВАНОВА НИКОЛОВА

ГЕНОТИП - ФЕНОТИП КОРЕЛАЦИЯ ПРИ
ПАЦИЕНТИ С КИСТОЗНА ФИБРОЗА

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ
НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН "ДОКТОР"

Научна специалност: „Педиатрия“

НАУЧНИ РЪКОВОДИТЕЛИ:
ПРОФ. Д-Р МИГЛЕНА ГЕОРГИЕВА, Д.М.
ПРОФ. Д-Р ГЕРГАНА ПЕТРОВА, Д.М.

ВАРНА, 2024 г.

Дисертационният труд е представен на 137 страници и съдържа 16 таблици, 32 фигури и 2 приложения. Цитирани са 285 литературни източници, от които 16 са на кирилица и 268 са на латиница. Публикациите, свързани с дисертационния труд, са 5.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита на заседание на Катедрен съвет към Катедрата по педиатрия, Медицински университет – Варна.

Научно жури

Председател:

Проф. д-р Димитричка Дучева Близнакова, д.м.

Външни членове:

Проф. д-р Мирослава Николова Бошева, д.м.

Доц. д-р Сирма Милева Димитрова, д.м.

Доц. д-р Иван Венциславов Янков, д.м.

Вътрешни членове:

Проф. д-р Димитричка Дучева Близнакова, д.м.

Проф. Ружа Златанова Панчева – Димитрова, д.м.н.

Резервни членове:

Доц. Йорданка Георгиева Узунова, д.м.

Доц. д-р Красимира Иванова Колева, д.м.

Материалите по защитата се намират на разположение в Научния отдел на Медицински университет – Варна.

Публичната защита ще се състои на 11.06.2024 г. в Катедрата по педиатрия, УМБАЛ „Света Марина“, гр. Варна, зала 501.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	4
I. ВЪВЕДЕНИЕ	5
II. ПРЕДПОСТАВКИ, ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	5
III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	7
1. УЧАСТНИЦИ.....	7
2. ДИЗАЙН НА ПРОУЧВАНЕТО.....	8
3. МЕТОДИ.....	8
IV. РЕЗУЛТАТИ.....	14
V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИ	42
ОСНОВНИ ИЗВОДИ	55
ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	57
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	58
НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	59
БЛАГОДАРНОСТИ	60

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БЕ – бронхиектазии

БОС – бронхообструктивен синдром

ГИТ – гастроинтестинален тракт

ДН – дихателна недостатъчност

ЕРПМ – Европейски регистър на пациентите с муковисцидоза

ИРТ – имунореактивен трипсин

МВ – муковисцидоза

МИ – мекониум илеус

НС – неонатален скрининг

САЩ – Съединени американски щати

ССИ – сърдечно – съдов инцидент

ФЕО1 – форсиран експираторен обем за 1 секунда

BMI – body mass index (индекс на телесната маса)

СBAVD - Congenital bilateral absence of the vas deferens (вродена билатерална липса на vas deferens)

CFLD – cystic fibrosis-associated liver disease (чернодробно заболяване при муковисцидоза)

CFRD – cystic fibrosis-related diabetes (диабет, свързан с муковисцидоза)

CFTR - cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (регулатор на трансмембранната проводимост при муковисцидоза)

DIOS - distal intestinal obstruction syndrome (синдром на дистална чревна обструкция)

РА - Pseudomonas Aeruginosa

SA – Staphylococcus Aureus

VUS - variant of uncertain significance (вариант с несигурно значение)

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Кистозната фиброза или още муковисцидоза (МВ), е наследствено автозомно - рецесивно заболяване, спадащо към групата на редките болести. Причинява се от дефект в ген, кодиращ протеин – CFTR. Представлява хлориден канал, регулиращ предимно транспорта на вода и електролити (Antoniou et al.). Дисфункцията му води до натрупване на вискозни секрети във всички каналчести структури, а стеснението и обструкцията на лумена им уврежда съответния орган и поддържа процес на хронична инфектираност (Галева и съав.).

Според вида на дефекта в CFTR, мутациите са разпределени в шест класа, като по-късно е обособен и седми клас (Bell et al.). Към днешна дата броят на описаните мутации надхвърля 2000 (CF mutation database), като над 300 от тях се асоциират със заболяване (Antoniou et al., Veit et al., Zielenski et al.).

Фенотипната проява на МВ варира от засягане на една единствена система до мултисистемно. Най-значителни промени се наблюдават в дихателните пътища, ГИТ, потните жлези и урогениталната система (Egan et al.).

Генотип - фенотип корелациите при пациентите с МВ са обект на редица проучвания и са от значение не само за диагнозата, но и за прогнозата на заболяването. Фенотипните прояви зависят от процента нормално функциониращ CFTR и варират от “класическа“ МВ с екзокринната панкреасна недостатъчност, белодробно засягане, високи нива на потен тест и обструктивна азооспермия, до засягане на една единствена система – напр. обструктивна азооспермия, поради CBAVD (Castellani et al, Kulczycki et al.).

Първи и втори клас мутации по правило обуславят по-тежка клинична картина, като генотип - фенотип корелациите са по-демонстративни за симптомите от страна на ГИТ. Въпреки огромния брой проучвания, категорична връзка между генотип и пулмонален фенотип не се установява. Тежестта на белодробното засягане е определяща за болестността и смъртността при болните от МВ. Вариабилността на фенотипните прояви се определя от влиянието на генетичните фактори, околната среда и придържането към терапията и е трудно предвидима (Zielenski et al.).

II. ПРЕДПОСТАВКИ, ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Съвременното лечение на пациентите с МВ и грижата за тях от мултидисциплинарни екипи в голяма степен зависят от тяхната диагноза и навременно насочване към специализиран център. За страните без въведен масов НС, като България, фенотипните прояви са основен индикатор за търсене на

подлежащ генотип и потвърждаване на диагнозата. Освен това корелациите генотип-фенотип са от значение предвиждане хода на заболяването и навременна профилактика, диагноза и лечение на усложненията. Това важи особено за пациентите с МВ в детска възраст, защото родителите се интересуват преди всичко от прогнозата за тяхното дете и какво да направят, за да подобрят шансовете за по – дълъг и пълноценен живот. Това породило интересът към настоящата работа и определи нейната цел и задачи, базирани на следните предпоставки:

ПРЕДПОСТАВКИ:

1. Липса на разработки по темата на територията на Североизточна България.
2. Липса на възможност за ранно диагностициране, поради липса на масов НС.
3. Концентрация на мултидисциплинарните екипи, обгрижващи пациентите с МВ в няколко от областните градове на България.
4. Значение на ранната диагноза за навременно стартиране на подходяща терапия.
5. Значение на генотипа за прогноза и навременна профилактика и лечение.
6. Наличие на подходяща група за изследване - пациентите с МВ от Североизточна България, които се проследяват и лекуват във ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“.

РАБОТНА ХИПОТЕЗА:

Пациентите с генотип, включващ мутации от клас I или клас II според дефекта в CFTR, имат по-тежки фенотипни прояви, отколкото пациентите с генотип, включващ мутации от останалите класове. F508del е най-често срещаната мутация сред пациентите с МВ и наличието ѝ в генотипа им в хомозиготно или хетерозиготно носителство се асоциира с по-тежки фенотипни прояви.

ЦЕЛ:

Целта на настоящия дисертационен труд е да се оцени наличието на генотип-фенотип корелация при пациентите с МВ от Североизточна България, които се проследяват и лекуват във ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“.

ЗАДАЧИ:

1. Да се включат пациентите с МВ от Североизточна България в ЕРПМ.
2. Да се анализират мутациите в CFTR при пациентите с МВ от Североизточна България според тяхната честота, разпределение, етническа принадлежност.
3. Да се анализират възрастта и фенотипните прояви при потвърждаване на диагнозата в условията на липсващ масов НС.
4. Да се потърсят генотип-фенотип корелации при пациентите с МВ от Североизточна България.
 - 4.1 Да се потърси корелация между генотип и фенотипни прояви от страна на дихателната система (ФЕО1, БЕ, бактериална колонизация, назална полипоза).
 - 4.2 Да се потърси корелация между генотип и фенотипни прояви от страна на ГИТ (BMI, CFLD, МИ, панкреатит).
 - 4.3 Да се потърси корелация между генотип и други фенотипни прояви (потен тест, CFRD, инфертилитет).
5. Да се предложи алгоритъм на база алармиращи симптоми за ранно насочване към експертен център, с цел диагностициране на МВ и последващо лечение.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. УЧАСТНИЦИ

В настоящото проучване участват 45 пациенти с доказана МВ, които са включени в ЕРПМ и се проследяват в ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“.

Включващи критерии:

1. Потвърдена диагноза МВ чрез откриване на две патологични мутации в CFTR при генетичен анализ и/или потвърдена диагноза МВ чрез два патологични потни теста и наличие на клинични прояви.
2. Подписано информирано съгласие за включване в ЕРПМ и използване на въведените данни за настоящия дисертационен труд.
3. Наличие на данни за пациентите през последните 5 години.

Изключващи критерии:

1. Липса на достатъчно критерии за категорично потвърждаване на диагноза МВ.

2. Други тежки придружаващи заболявания (белодробни, сърдечно-съдови, неврологични и др.) поради припокриване на фенотипни прояви.
3. Липса на подписано информирано съгласие за включване на пациентите с МВ в ЕРПМ.
4. Изгубени от проследяване пациенти с МВ през последните 5 години.

Пациентите или техните родители/настойници (за деца под 18 годишна възраст) подписаха информирано съгласие за въвеждане на наличните за тях данни в системата на УМБАЛ „Света Марина“ в ЕРПМ. Протокол № 75/07.06.2018 г. за включване на пациентите с МВ от Североизточна България бе одобрен от Комисията по етика на научните изследвания (КЕНИ) към Медицински университет-Варна, а използването на въведените данни в ЕРПМ за настоящия дисертационен труд бе одобрено чрез добавена промяна – протокол № 87/24.10.2019 г.

2. ДИЗАЙН НА ПРОУЧВАНЕТО

В настоящия дисертационен труд е включено ретроспективно проучване като е използвана е информацията от ЕРПМ за 45 пациенти от Североизточна България с диагноза МВ, които се проследяват и лекуват във ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“. Обхванат е период от 5 години – от януари 2019 година до декември 2023 година.

3. МЕТОДИ

Ретроспективното проучване представлява анализ на данните от ЕРПМ, които са на база медицинската документация на пациентите с МВ към ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“ за периода от януари 2019 до декември 2023 година. Включени са данни за 45 пациенти на възраст от 5 месеца до 37 години.

1. За пациентите е систематизирана следната информация от анамнеза и физикален статус:
 - паспортни данни – пол, възраст
 - етническа принадлежност
 - данни за бременността и раждането – МИ, НС
 - данни за неонаталния период
 - клинична изява при диагностициране на МВ
 - клинична изява към момента по органи и системи
 - антропометрични данни
 - фертилитет
 - усложнения
 - продължителност на живот и причина за смърт

2. Включени са данни от следните изследвания, проведени на пациентите с МВ:

- лабораторни данни
- резултати от потен тест
- резултати от генетичен анализ
- резултати от микробиологични изследвания
- резултати от функционално изследване на дишането – спирометрия
- резултати от образни изследвания

Описание на методите

Антропометричните показатели

Пациентите с МВ от Североизточна България се проследяват на всеки 3 или 6 месеца във ВЕЦ, като се отбелязват ръст (в cm), тегло (в kg) и индекс на телесна маса (ИТМ) (в kg/m^2), изчислен по стандартната формула: $\text{ИТМ} = \text{телесна маса (kg)}/\text{ръст}^2 (\text{m}^2)$.

Микробиологичните изследвания

Извършват се на територията на УМБАЛ „Света Марина“ в лаборатория по микробиология. Те включват посевка на секрет от нос, секрет от гърло и храчка. Материалите се посеват на селективни и диференциращи хранителни среди. След инкубация от 24 часа се прави идентификация на микроорганизма чрез мануални биохимични или автоматизирани методи (MALDI, VITEK). Паралелно с процеса на идентификация се осъществява изследване за антибиотична чувствителност на изолирания микроорганизъм. Антибиограмата се изработва посредством мануален метод на Kirby-Bauer върху *Mueller Hinton agar* или чрез определяне на минимална инхибираща концентрация (VITEK). Интерпретация на получените резултати за антибиотична чувствителност (чувствителен, интермедиерен, резистентен) се извършва чрез последна версия EUCAST.

Потен тест

Потен тест се провежда при всички пациентите със съмнение за МВ, като освен за диагностика се прилага и за проследяване ефекта от CFTR-модулиращата терапия. Апаратът, използван в УМБАЛ „Света Марина“ е галваностат-бикулсатор, който работи с галваничен ток за осъществяване на йонофореза. Върху анодът се поставя фотил, разреден с дестилирана вода, който

се фиксира на ръката на пациента. Катодът се фиксира на гърба, като него се поставя натриев карбонат. След осъществяване на йонофорезата, на мястото на анода се поставя предварително измерена филтърна хартия, която престоява един час. Отстранява се, претегля се отново и се пристъпва към лабораторно определяне на количеството на хлоридните йони. Това става чрез меркуриметричен титриметричен метод на Шейлс. Използваните реактиви са дифинил карбазон – 250 mg до 100 ml 95% етилов спирт; разтвор на меркури нитрат – 800 mg субстанция, разтворени в 10 ml азотна киселина и последващо доливане на 600 ml дестилирана вода; стандартен разтвор на натриев хлорид. Извършва се филтрация, като изчисленията се извършват със следния коефициент на разреждане: $(5 \text{ ml} + \text{теглото на потта}) / \text{теглото на потта} = A$ и по следната формула: $\text{mmol/l пот} = A \text{ ml живачен нитрат} \cdot 4.4 \times 2$. За нормални стойности се считат тези под 40 mmol/l, от 40 до 60 mmol/l – за гранични, а над 60 mmol/l – за патологични.

Генетични изследвания за идентификация на патогенните мутации

Генетичните изследвания, чрез което са идентифицирани патогенните мутации при пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ, включват следните панели:

- CFTR панел, включващ най-често срещаните варианти, който е подходящ за пациенти с ясна диагноза и често се използва при скрининг.
- Секвениране по Sanger, което открива всички промени в последователността на екзоните и интроните, но не и големи делеции и дупликации.
- Анализ за делеции и дупликации (MLPA- Multiplex ligation-dependent probe amplification).
- Следващо поколение секвениране (NGS- Next-generation sequencing), което открива промени в последователността на екзони и интрони, но за откриване на големи делеции и дупликации са необходими специфични допълнителни лабораторни анализи.

При наличие на алармиращи симптоми и след осъществяване на потен тест, пациентите се консултират с генетик и се препоръчва най – подходящият вид генетично изследване.

Функционално изследване на дишането (ФИД)

ВЕЦ разполага със спирометър MIR Spirolab, чрез който се извършва ФИД при пациентите с МВ над 6 годишна възраст. Необходимите данни за изчисляване на референтни стойности са пол, възраст, ръст, тегло и расова

принадлежност. След обяснение и демонстрация от страна на изследващия, пациентът извършва маневрата, като се следи за правилното ѝ изпълнение, а впоследствие се отчитат следните три ключови моменти: максимално дълбоко вдишване, максимално рязко издишване, продължително издишване докрай. Показателят, който ще използваме за функционална оценка на дишането е ФЕО1 (форсиран експираторен обем за 1 секунда), който се изчислява в проценти (%). ФЕО1=100% означава, че измерването на белодробната функция на пациента е равно на средното измерване на белодробната функция на здрава референтна популация със същите пол, възраст и антропометрични показатели. ФИД се извършва при строг контрол на инфекциите, като допълнително се използва филтър - Neumofilt Ergo. Абсолютни контраиндикации за провеждане изследването са хемоптиза с неясен произход, пневмоторакс, нестабилно състояние на ССС – ОМИ, БТЕ, известна аневризма, непосредствено след очна, коремна или гръдна операция.

Образни изследвания

Рентгенографията на гръден кош е най-често използваното образно изследване за оценка на структурното увреждане на белия дроб при пациентите с МВ. Причината за това е по-ниската степен на облъчване, по-голямата достъпност и не на последно място – по-ниската цена. Недостатък на конвенционалната рентгенография е по-малката информативна стойност спрямо другите образни изследвания, напр. компютърната томография (КТ). Рентгенографиите на гръден кош при пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ, са извършени на територията на УМБАЛ „Света Марина“ чрез апаратура Siemens Multix. Рутинни рентгенографии с цел оценка прогресията на заболяването се извършват веднъж годишно, а рентгенографии по спешност - при съмнение за белодробна екзацербация, хемоптиза, пневмоторакс или ателектаза.

КТ на торакас е по-чувствителен метод за оценка на структурното засягане на белия дроб при пациентите с МВ. Чрез нея се откриват ранни промени дори при асимптоматични пациенти и позволява по-детайлно проследяване на прогресията на заболяването. Подходяща е за търсене на БЕ, ателектази, консолидации и емфизематозни промени. Недостатъци са по-високата степен на облъчване, по-трудната достъпност и по-високата цена. КТ при пациентите с МВ от Североизточна България е извършена чрез два апарата - Siemens Somatom и Force Siemens, които са със стандартно ниска доза облъчване (1-2 mSv).

Абдоминална ехография е неинвазивно и лесно достъпно образно изследване, подходящо за оценка на анатомичните особености, размерите и патологичните изменения на коремните органи. Подходяща е за пациентите във всички възрасти поради липсата на йонизиращо облъчване. Ехографските апарати, използвани на територията на УМБАЛ „Света Марина“ са Hitachi Aloka F31 и Hitachi Aloka Arietta 70. Чрез тях е оценена степента на структурно чернодробно засягане при пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ.

Статистически методи

За целите на настоящото проучване са приложени следните статистически методи:

1. Метод на статистическа групировка на данните - всички параметри са подредени според вида си във вариационни, интервални, категорийни, степенни и динамични статистически редове.
2. Дескриптивен статистически анализ – в табличен и графичен вид са представени изходните данни за изследването.
3. Статистическа проверка на хипотези
 - 3.1 За разлика между две средни величини, като проверката преминава през следните етапи:
 - Формулиране (дефиниране) на H_0 - нулева хипотеза и на H_1 – алтернативна хипотеза:
 $H_0: \mu_1 = \mu_2$ (между двете средни величини няма статистически значима разлика)
 $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$ (между двете средни величини има статистически значима разлика)
 - Фиксиране на равнище на значимост $\alpha=0.05$ за проверка на хипотезата
 - Избиране на статистически критерий за проверка на хипотезата – t-критерий на Student
 - Изчисляване на емпиричната характеристика на избрания статистически критерий – темп.
 - Определяне теоретичната характеристика на избрания статистически критерий от таблицата за квантили на t-разпределение на Student – tтеор.
 - Сравняване емпиричната и теоретичната характеристики на избрания статистически критерий и вземане на решение
 $темп. < tтеор.$, приема се за вярна H_0 (нулевата хипотеза)
 $темп. > tтеор.$, отклоняване на H_0 (нулевата хипотеза) в полза на H_1 (алтернативната хипотеза)

3.2 За разлика между два относителни дяла, като проверката преминава през следните етапи:

- Формулиране (дефиниране) на H_0 - нулева хипотеза и на H_1 – алтернативна хипотеза:

$H_0: P_1 = P_2$ (между двете средни величини няма статистически значима разлика)

$H_1: P_1 \neq P_2$ (между двете средни величини има статистически значима разлика)

- Фиксиране на равнище на значимост $\alpha=0.05$ за проверка на хипотезата
- Избиране на статистически критерий за проверка на хипотезата – t-критерий на Student
- Изчисляване на емпиричната характеристика на избрания статистически критерий – темп.
- Определяне теоретичната характеристика на избрания статистически критерий от таблицата за квантили на t-разпределение на Student – tтеор.
- Сравняване емпиричната и теоретичната характеристики на избрания статистически критерий и вземане на решение:

темп. < tтеор., приема се за вярна H_0 (нулевата хипотеза)

темп. > tтеор., отклоняване на H_0 (нулевата хипотеза) в полза на H_1 (алтернативната хипотеза)

4. Корелационен анализ – изследване на силата (теснотата) на връзката между две променливи. Използвани са корелационни коефициенти (параметрични и непараметрични) – коефициент на корелация на Pearson, бисериален корелационен коефициент и коефициент на асоциацията на Yule. Статистически значими връзки са тези, при които граничния показател $\alpha < 0.05$.

Таблица 1. Интерпретация на корелационните коефициенти.

Стойност на корелационния коефициент - R	Сила на връзката
0.0	Липсва връзка
0.0-0.1	Много слаба връзка
0.1-0.3	Слаба връзка
0.3-0.5	Умерена връзка
0.5-0.7	Значителна връзка
0.7-0.9	Силна връзка
0.9-1.0	Много силна връзка
1.0	Функционална връзка

5. Регресионен анализ – изследвана е формата на връзката между зависими и независими променливи, изразени количествено. Отчита се влиянието на факторната променлива чрез математически модели. На база наличната информация са избрани еднофакторни регресионни модели: $Y_i = b_0 + b_1 X_i$.

Изчислени са следните показатели:

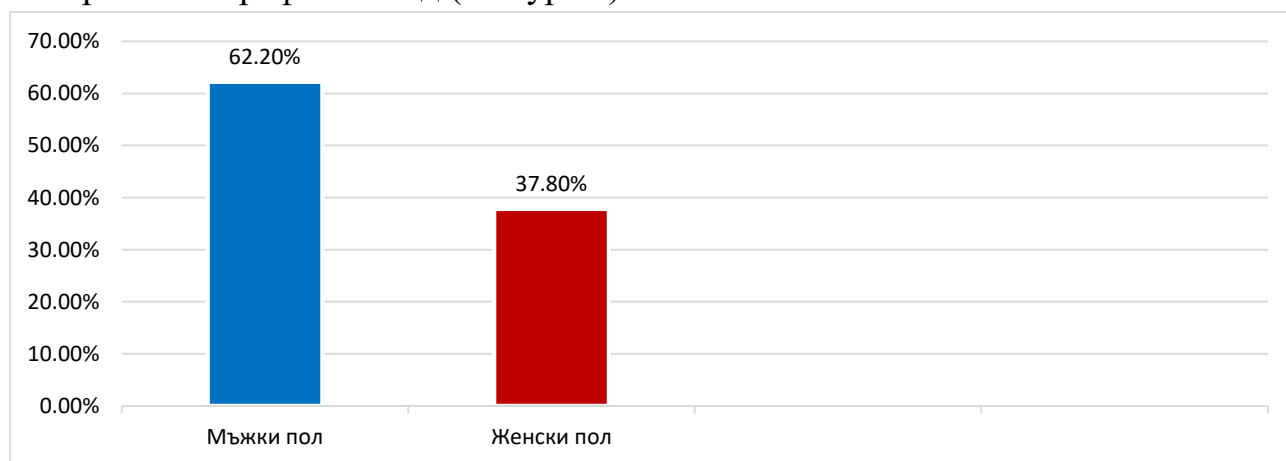
- Коефициенти (b_0 , b_1)
- Емпирични стойности на t - критерия (темп.)
- Коефициент на детерминация ($R^2 \cdot 100$) - %
- Емпирични стойности на F -критерия
- Стандартна грешка на модела (σ)
- Емпирични стойности на критерия на Durbin - Watson (d)

Обработката на данните е извършена чрез SPSS for Windows (ver. 22.0) Стойностите са представени като средни, SD или процент (%). За статистически значими са приети резултати с $p < 0,05$.

IV. РЕЗУЛТАТИ

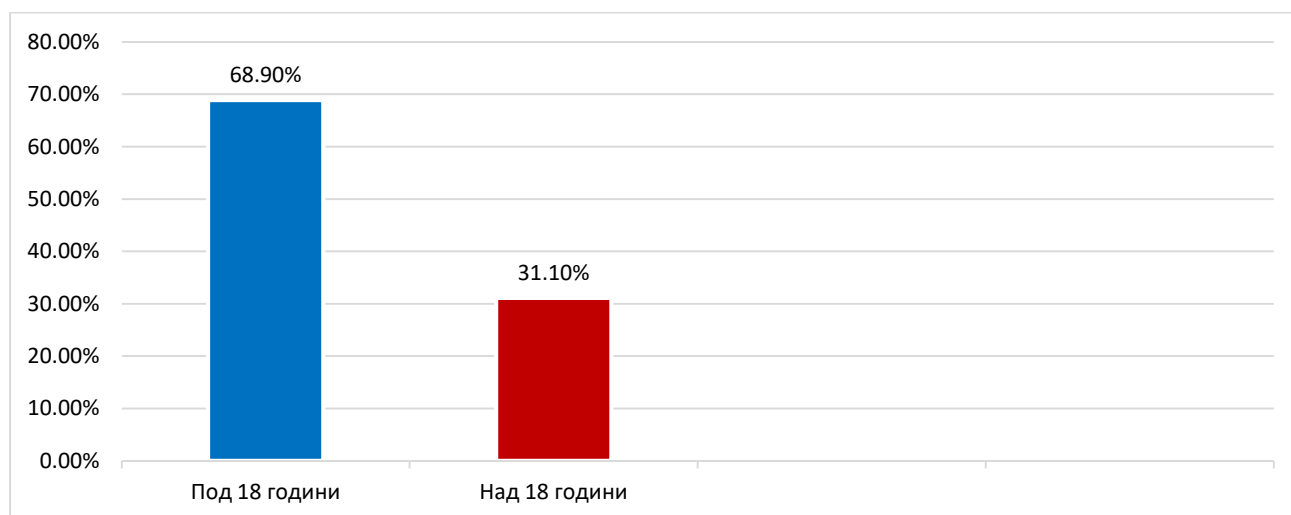
В ретроспективното проучване са включени 45 пациенти от Североизточна България с диагноза МВ, които се проследяват и лекуват във ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“. Обхванат е период от 5 години – от януари 2019 година до декември 2023 година. През този период, след подпис на информирано съгласие, пациентите са включени в ЕРПМ и данните от него са използвани за настоящия дисертационен труд. Трима пациенти са починали, а двама са напуснали страната и са продължили своето лечение и проследяване в чужбина.

От включените 45 пациенти, 28 са от мъжки пол, а 17 – от женски пол. Наблюдава се превес на мъжкия пол, като процентното съотношение е изобразено в графичен вид (Фигура 1).



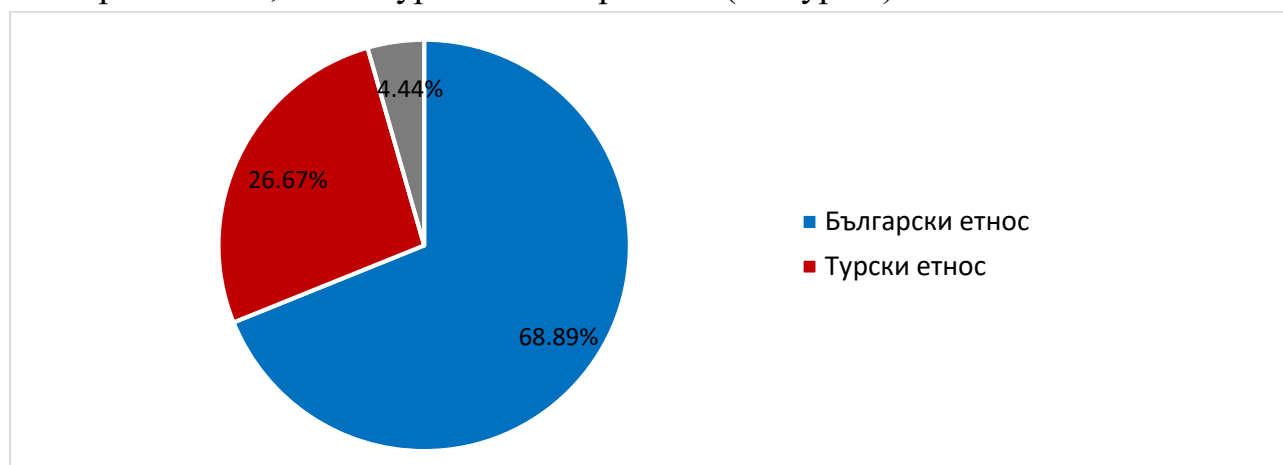
Фигура 1. Разпределение на пациентите по пол.

Възрастта на пациентите с МВ варира от 5 месеца до 37 години. От включените пациенти, 31 са на възраст под 18 години, а 14 са на възраст над 18 години. Средната възраст на популацията е 14.94 ± 9.80 години. Процентното съотношение на разпределението по възраст е представено в графичен вид (Фигура 2).



Фигура 2. Разпределение на пациентите с МВ по възраст.

Според етническата си принадлежност 31 от пациентите с МВ са от български етнос, 12 от турски и 2 от ромски (Фигура 3).



Фигура 3. Разпределение на пациентите с МВ според етническата им принадлежност.

При 44 от пациентите с МВ чрез генетичен анализ са идентифицирани по две мутации в CFTR. При 1 пациент втора мутация не е открита, а диагнозата МВ е потвърдена чрез два патологични потни теста и наличие на клинични прояви (Таблица 2).

Таблица 2. Разпределение на мутациите при пациентите с МВ.

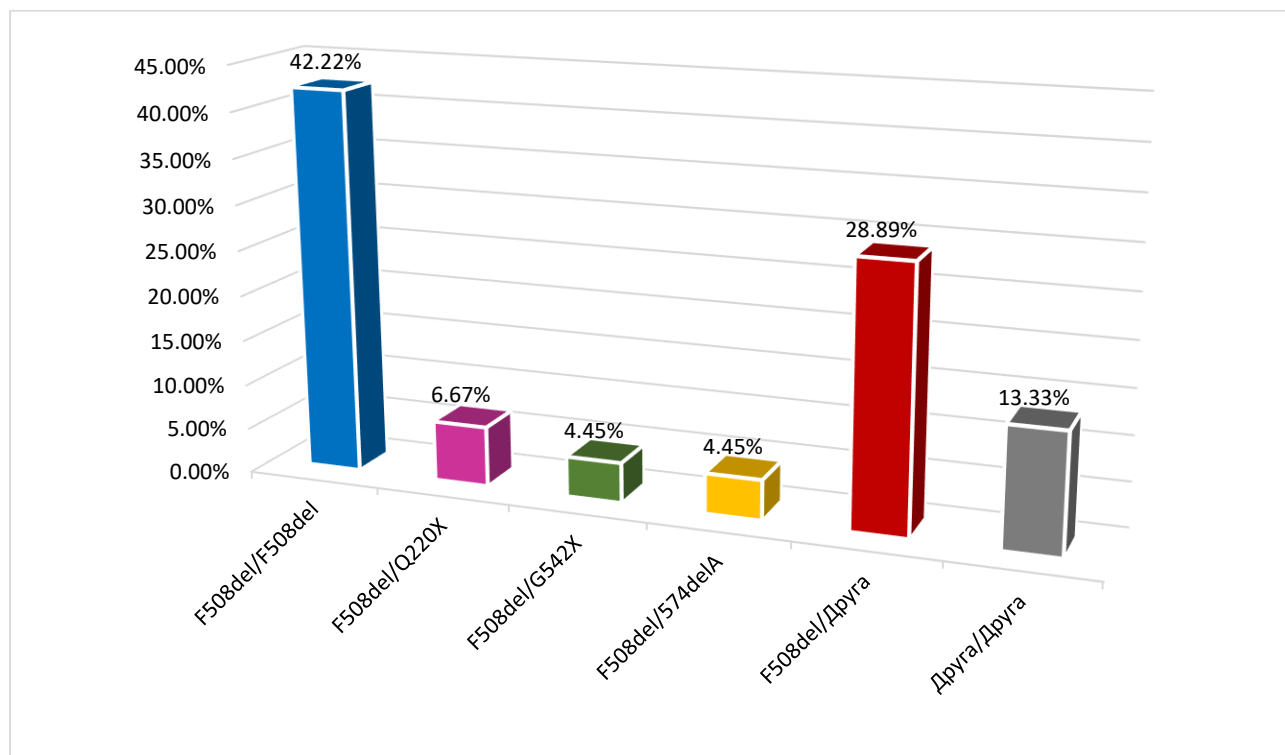
Мутации в CFTR	Клас	Брой пациенти	Честота на мутацията
c.1521_1523delCTTp.(Phe508del) F508del	II	39	64.45%
c.1624G>T p.(Gly542*) G542X	I	4	4.45%
c.658C>T p.(Gln220X) Q220X	I	3	3.33%
c.442delA p.(Ile148Leufs*5) 574delA	I	2	2.22%
c.3909C>G p.(Asn1303Lys) N1303K	II	2	2.22%
c.1040G>C p.(Arg347Pro) R347P	VI	1	2.22%
c.1712C>T p.(Leu571Ser) L571S	VUS	1	2.22%
c.3472C>T p.(Arg1158*) R1158X	I	1	1.11%
c.3846G>A p.(Trp1282X) W1282X	I	1	1.11%
c.2491G>T p.(Glu831) E831X	I	1	1.11%
c.2051_2052delAAinsG p.Lys684Serfs*38 2183delAA>G	I	1	1.11%
c.3731G>A p.(Gly1244Glu) G1244E	III	1	1.11%
c.254G>A p.Gly85Glu G85E	II	1	1.11%
c.274G>A p.(Glu92Lys) E92K	IV	1	1.11%
c.3160C>G p.(His1054Asp) H1054D	IV	1	1.11%
c.1766+1G>C 1898+1 G>T	V	1	1.11%
c.3718-2477C>T 3849+10kbC>T	V	1	1.11%
c.1585-8G>A 1717-8G>A	V	1	1.11%
c.4242+1G>A 4374+1G>A	V	1	1.11%
c.254G<A p.Glu85Glu	VUS	1	1.11%
c.3475T>C pS1159P	VUS	1	1.11%
c.3909>G p.Asn1303Lys	VUS	1	1.11%
L997F	VUS	1	1.11%
Неидентифицирани		1	1.11%

С най-висока честота е мутацията от клас II F508del. От всички идентифицирани 89 мутации в CFTR, тя се среща 58 пъти или в 64.45% в хомозиготно или хетерозиготно носителство. Следващата по честота е мутацията от клас I G542X, която е идентифицирана в хетерозиготно носителство при четирима от пациентите с МВ и представлява 4.45% от всички мутации. На трето място е мутацията от клас I Q220X, която се среща в хетерозиготно носителство при трима пациенти или в 3.33% от случаите. Мутации N1303K (клас II) и 574delA (клас I) са открити в хетерозиготно носителство при двама пациенти или това са 2.22% от всички мутации. Следващите по честота мутации - R347P (VI) и L571S (VUS), имат същата честота – 2.22%, но се срещат в хомозиготно носителство при един пациент. Останалите 16 идентифицирани мутации са в хетерозиготно носителство при единствен пациент – 1.11% от всички мутации.

Генотипното разпределение на мутациите в CFRT при пациентите от ВЕЦ при УМБАЛ „Света Марина“ е представено в табличен и графичен вид (Таблица 3, Фигура 4).

Таблица 3. Разпределение на пациентите по генотип.

<u>Генотип</u>	<u>Клас</u>	<u>Брой пациенти</u>
F508del/F508del	II/ II	19
F508del/Q220X	II/ I	3
F508del/G542X	II/ I	2
F508del/574delA	II/ I	2
F508del/Друга	II/ -	13
Друга/Друга	-/-	6



Фигура 4. Процентно разпределение на генотипа.

С най-висока честота е генотип F508del/F508del – при 19 пациенти или това са 42.22% от всички, включени в изследването генотипове. Следващите по честота са F508del/1220X при трима пациенти (6.67%), F508del/G542X при двама (4.45%) и F508del/574delA също при двама пациенти (4.45%). Извън изброените, F508del в хетерозиготно носителство се среща при 13 болни от МВ (28.89%). Процентът пациенти с поне една F508del мутация е 84.45%. Генотипове, които нямат нито една F508del мутация са идентифицирани при шест от пациентите с

МВ или това са 13.33% от всички генотипове. В табличен вид са представени генотиповете, които включват F508del и се срещат при един пациент, като са отбелязани и класовете на мутациите (Таблица 4). Също така са представени и шестте генотипа, които нямат F508del и съответно комбинацията от класове мутации при тях (Таблица 5).

Таблица 4. F508del/Друга.

Генотип F508del/Друга	Класове мутации
F508del/S1159P	II/VUS
F508del/ E831X	II/ I
F508del/R1158X	II/ I
F508del/N1303K	II/ II
F508del/E92K	II/ IV
F508del/ 1898+1G>	II/V
F508del/ 2183AA+G	II/ I
F508del/ 1717-8G>A	II/V
F508del/H1054D	II/ IV
F508del/L997F	II/VUS
F508del/W1282X	II/ I
F508del/4374+1G>A	II/V

Таблица 5. Друга/Друга.

Генотип Друга/Друга	Класове мутации
R347P/R347P	VI/VI
L571S/L571S	VUS/VUS
G542X/3849+10kbC>T	I/V
c.3909C>G/c.254G<A	VUS/VUS
N1303K/G85E	II/II
G542X/G1244E	I/III

Според етническата принадлежност разпределението на тези генотипове е следното:

- От 31 пациенти от български етнос, 14 са хомозиготи по F508del, 11 са двойно хетерозиготи с поне една F508del, а шест са двойни хетерозиготи без нито една F508del.
- От 12 пациенти от турски етнос, трима са хомозиготи по F508del, 8 са двойно хетерозиготи с поне една F508del, а един пациент е двоен хетерозигот без нито една F508del.
- От двамата пациенти от ромски етнос, един е хомозигот по F508del, а другия е двоен хетерозигот - F508del/Друга.

Таблица 6. Процентно разпределение на генотиповете според етническата принадлежност на пациентите

Етнос	F508del/F508del	F508del/Друга	Друга/Друга
Български	<u>45.16%</u>	35.48%	19.36%
Турски	25.00%	<u>66.67%</u>	8.33%
Ромски	50%	50%	-

Обобщено с най-голяма честота сред българския етнос е генотипът F508del/F508del (45.16%), а сред турския етнос преобладават двойните хетерозиготи, носители на една F508del и една друга мутация.

Средната възраст на потвърждаване на диагнозата МВ на включените 45 пациенти е 2.14 ± 5.32 години. Най-рано диагностицираният пациент е на 2 месеца, а най-късно диагностицираният – на 18 години.

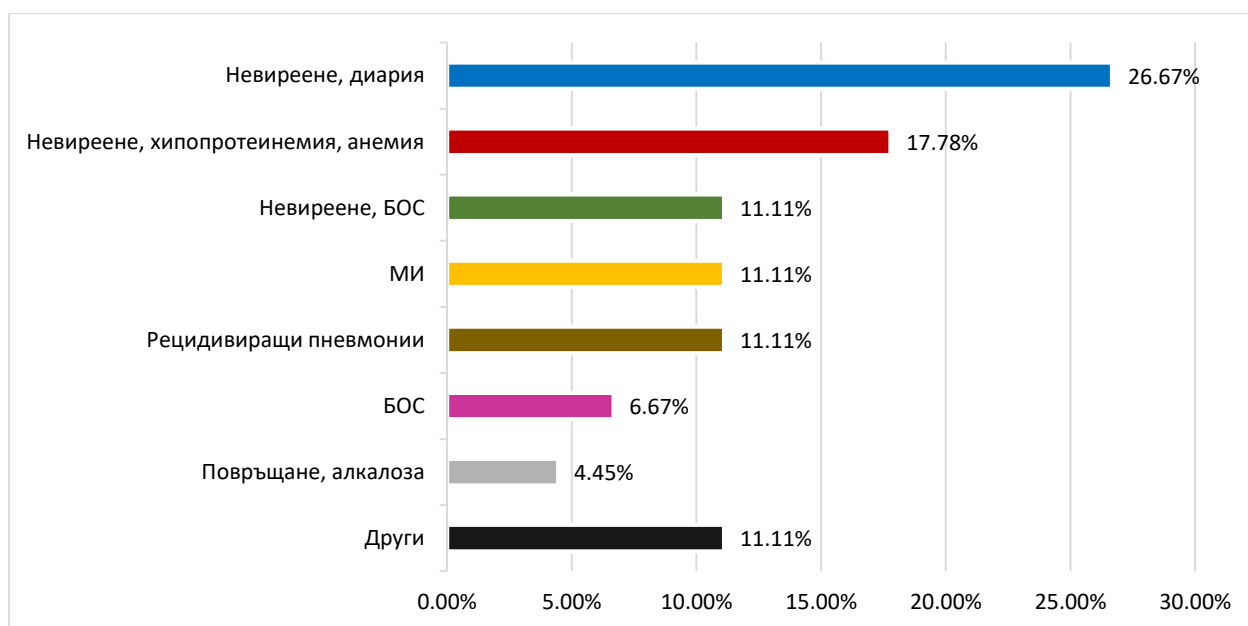
Клиничните прояви при диагностициране включват МИ, невиреене, хронична диария, БОС, анемия, хипопротеинемия, рецидивиращи пневмонии, чернодробно засягане, повръщане с алкалоза, панкреатит (Таблица 7, Фигура 5).

Таблица 7. Водещи клинични прояви при диагностициране.

Водеща клинична проява	Брой пациенти
Невиреене, диария	12
Невиреене, хипопротеинемия, анемия	8
Невиреене, БОС	5
МИ	5
Рецидивиращи пневмонии	5
БОС	3
Повръщане, алкалоза	2
Други	5

Към „Други“ са включени по един пациент с положителен НС, с панкреатит, с чернодробно засягане, с диария и с диария и БОС.

Средната възраст на потвърждаване на диагнозата се различава значително при отделните водещи клинични прояви. Пациентите с МИ, невиреене, хипопротеинемия, анемия и повръщане с алкалоза се диагностицират в кърмаческа възраст, докато тези с рецидивиращи пневмонии – в юношеска възраст (Таблица 8).



Фигура 5. Процентно разпределение на клиничните прояви при диагностициране.

Таблица 8. Водеща клинична проява и средна възраст при потвърждаване на диагнозата

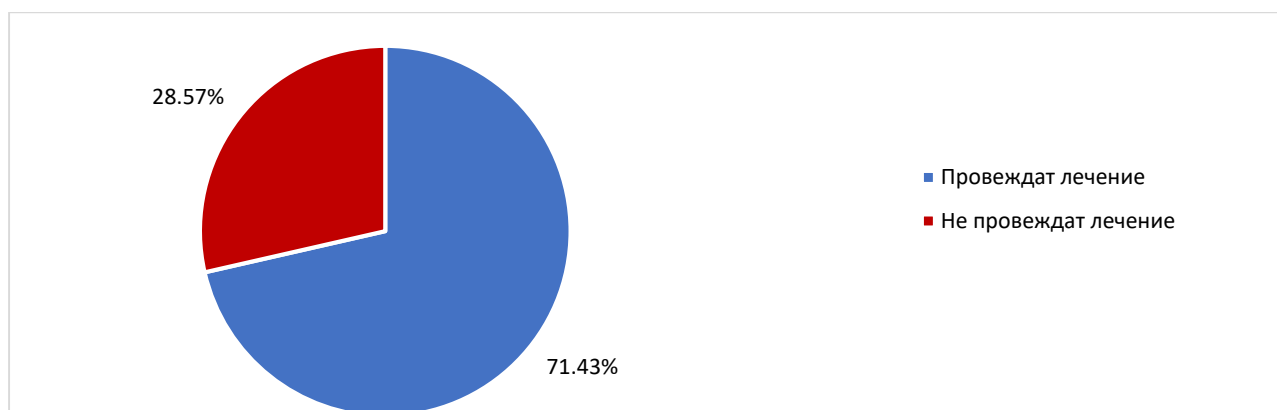
Водеща клинична проява	Средна възраст в години
Невиреене, диария	1.95±2.87
Невиреене, хипопротеинемия, анемия	0.35±0.15
Невиреене, БОС	1.2±0.66
МИ	0.32±0.18
Рецидивиращи пневмонии	15.14±6.82
БОС	2±0.61
Повръщане, алкалоза	0.35±0.07

За обхванатия период от 5 години има трима починали пациенти. Двама са от мъжки пол (М) – на 17 и на 22 години и един от женски пол (Ж) – на 14 години. Средната продължителност на живот е 17.67 ± 4.04 години. Двама от починалите са хомозиготи с генотип F508del/F508del и причината за смъртта е ДН в краен стадий на белодробно заболяване. Третият пациент е с генотип F508del/delA574 и причината за смъртта е сърдечно-съдов инцидент (ССИ) (Таблица 7).

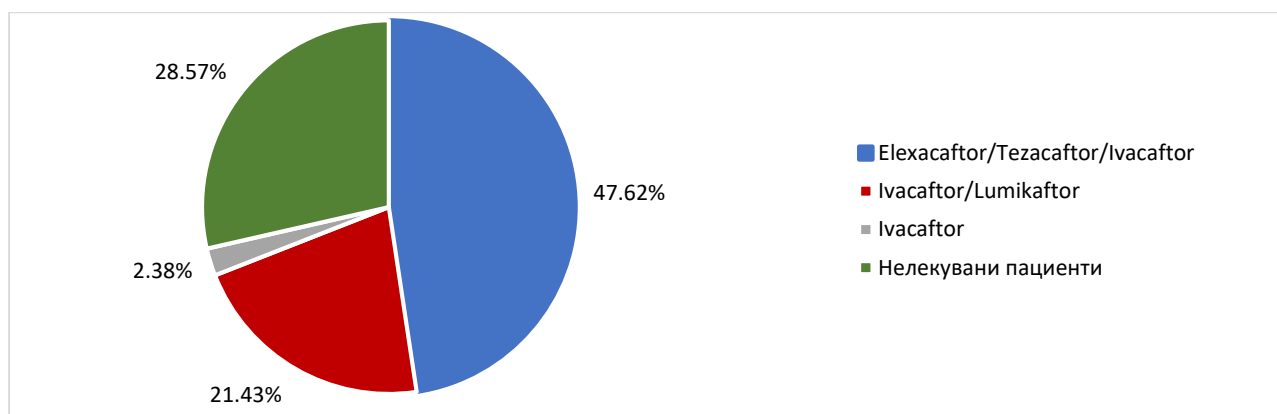
Таблица 9. Починали пациенти.

Пациент	Пол	Възраст	Генотип	Причина
1	М	17 год.	F508del/F508del	ДН
2	Ж	14 год.	F508del/F508del	ДН
3	М	22 год.	F508del/delA574	ССИ

От 2020 година постепенно при 30 от включените 42 пациенти с МВ, е стартирано лечение със CFTR-модулираща терапия или това са 71.43%. Най-голям брой пациенти провеждат лечение с Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor – 20 пациенти или 47.62%. Лечение с Ivacaftor/Lumikaftor провеждат 9 пациенти – 21.43%, а лечение с Ivacaftor само 1 пациент – 2.38%. 12 пациенти или това са 28.57% от пациентите с МВ от Североизточна България не провеждат генно-модифицираща терапия, като четирима от тях – 9.52% не отговарят на критериите за включване според вида на мутациите в генотипа им, а останалите 8 от тях, или това са 19.05%, не са включени заради други критерии – ненавършена минимална възраст за започване, липса на интерес от страна на родителите и/или пациента, или здравословно състояние, което не позволява стартиране на терапията (Фигури 6 и 7).



Фигура 6. Процент пациенти с МВ, провеждащи лечение със CFTR – модулираща терапия.



Фигура 7. Процентно разпределение на използваните медикаменти.

Генотип - фенотип корелация по отношение на белодробното засягане

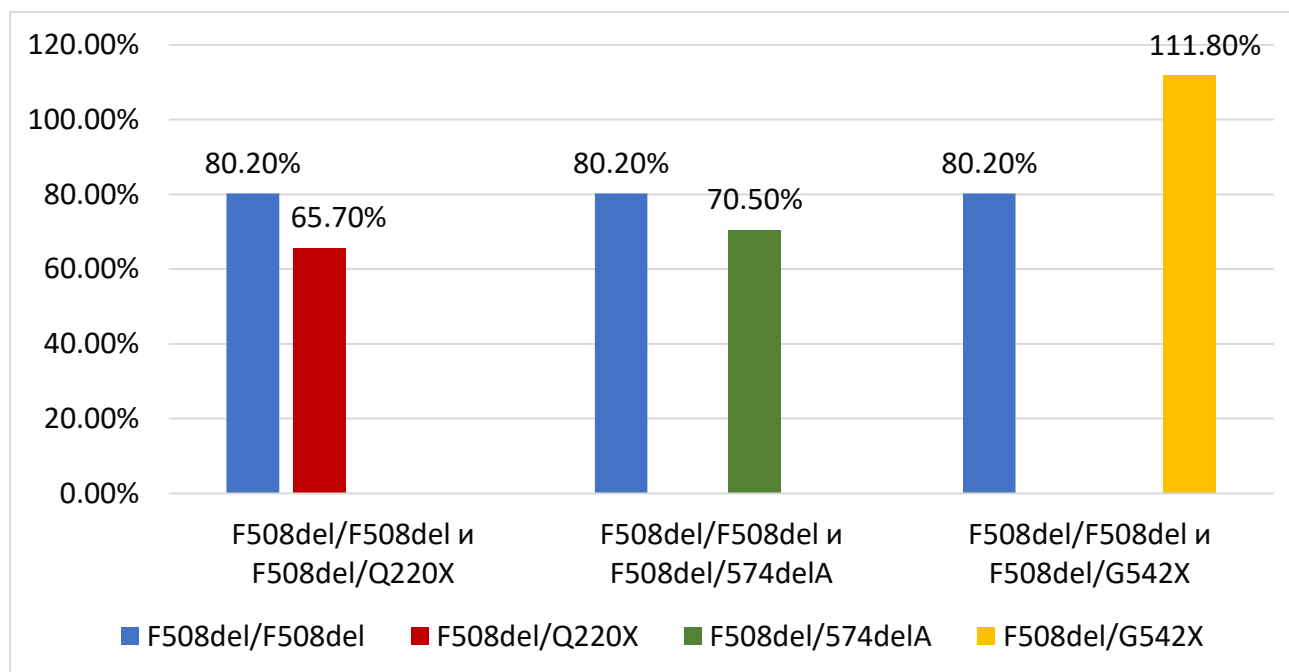
За търсене на корелации между описаните за пациентите с МВ от Североизточна България генотипове и фенотипните прояви от страна на дихателната система са използвани следните показатели:

- Актуална стойност на ФЕО1 в % от предвидения за съответните възраст, ръст, тегло, раса
- Наличие на БЕ от проведените образни изследвания
- Хронична инфекция с РА
- Изолат на SA (поне веднъж)

Изброените показатели са използвани за търсене на корелация между пациентите с най -честия генотип - F508del/F508del и следващите по честота генотипове - F508del/Q220X, F508del/G542X и F508del/574delA, както и между тези с генотип F508del/Друга и Друга/Друга.

Генотип - фенотип корелация по отношение на ФЕО1

Пациентите с генотип F508del/F508del имат по-високи средни стойности на ФЕО1, спрямо тези с генотип F508del/Q220X и генотип F508del/delA574, но по-ниски средни стойности от тези с генотип F508del/G542X. Докато хомозиготите включват две мутации от клас II, сравнените с тях двойни хетерозиготи имат една мутация от клас II - F508del и една мутация от клас I – Q220X, delA574, G543X (Фигура 8).

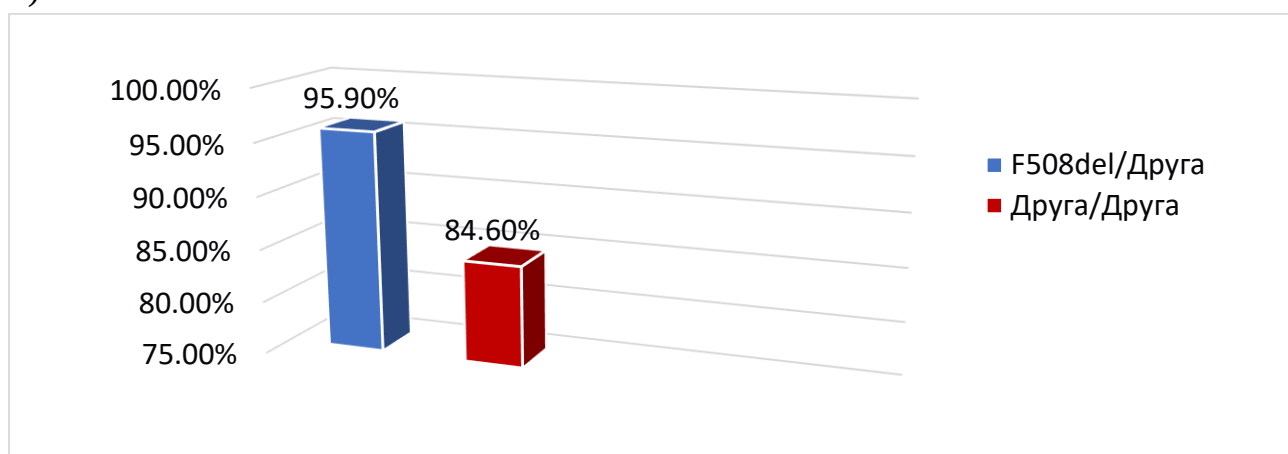


Фигура 8. Сравнение на ФЕО1 между пациентите с генотип F508del/F508del и следващите по честота генотипове.

По отношение на ФЕО1 е извършена статистическа проверка на хипотези чрез сравняване на две средни величини – в случая средната стойност на ФЕО1 в %. Използван е критерият на Student, като резултатите са следните:

- **Няма** статистически значима разлика в стойностите на ФЕО1 при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/Q220X (темп. = 0.914 < tтеор. = 1.725).
- **Няма** статистически значима разлика в стойностите на ФЕО1 при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/delA574 (темп. = 0.656 < tтеор. = 1.729).
- **Има** статистически значима разлика в стойностите на ФЕО1 в полза на двойните хетерозиготи **F508del/G542X**. (темп. = 3.174 > tтеор. = 1.729).

Стана ясно, че 29% от пациентите с МВ имат една F508del и една друга (различна от F508del) мутация в своя генотип. Беше направено сравнение отново чрез статистическа проверка на хипотези между два относителни дяла (средна стойност на ФЕО1) между двата генотипа - F508del/Друга и Друга/Друга, като резултатите показват статистически значима разлика в полза на пациентите с две мутации, различни от F508del - темп. = 3.796 > tтеор. = 1.711. Техният среден ФЕО1 е 95.90%, а този на пациентите с генотип F508del/Друга е 84.60% (Фигура 9).

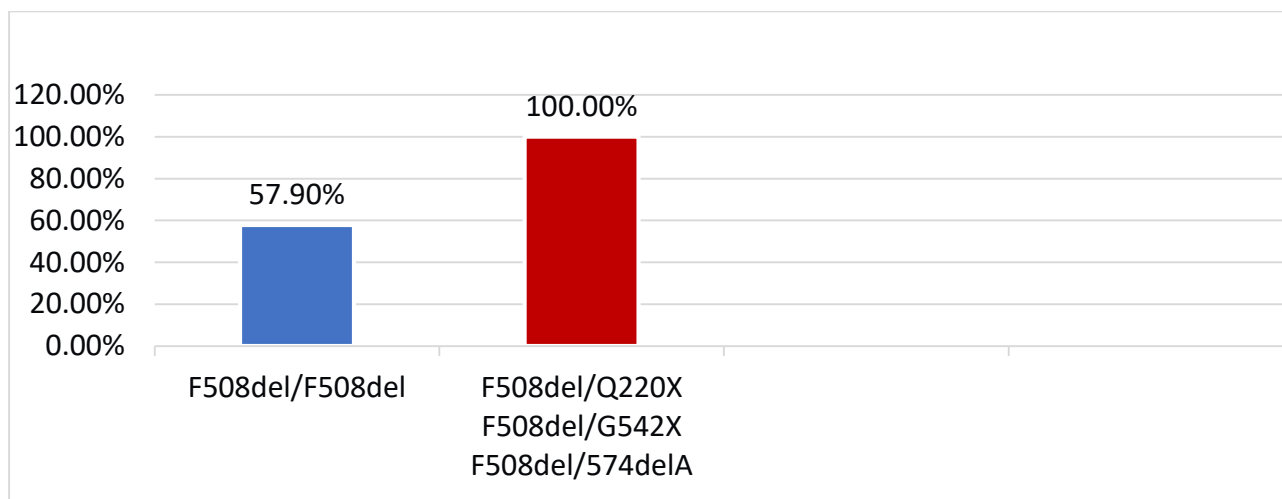


Фигура 9. Сравнение на ФЕО1 между пациентите с генотипове F508del/Друга и Друга/Друга

Генотип - фенотип корелация по отношение развитието на БЕ

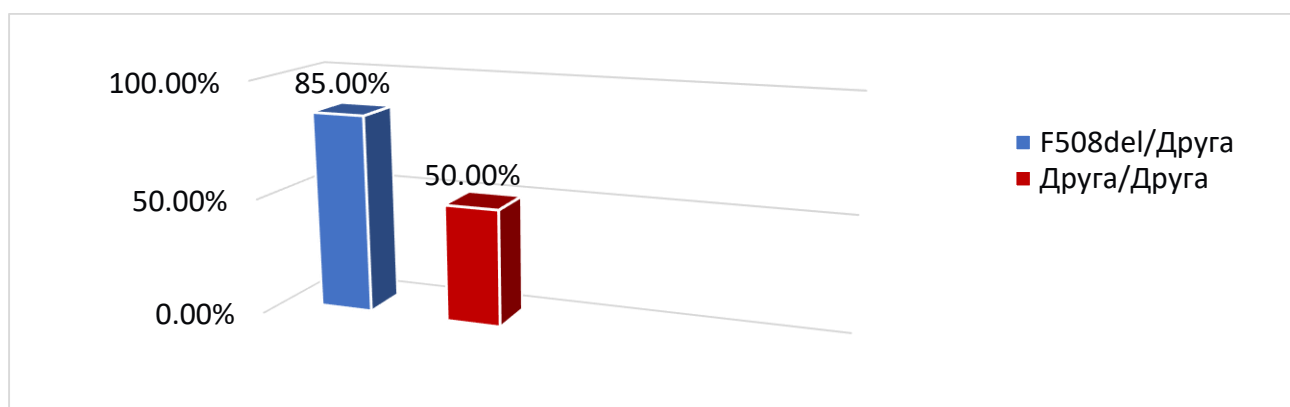
БЕ се доказани при 69% от пациентите с МВ от Североизточна България, като се предполага, че реалната им честота е дори по-висока (не при всички болни е осъществена КТ). Всички пациенти с генотип F508del/Q220X, F508del/G542X и F508del/574delA имат оформени БЕ или това са 100%. При пациентите, хомозиготи по F508del, броят на пациентите с БЕ е 11 от общо 19, като това са 57.90%. Чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student, се доказва,

че разликата между F508del и останалите сравнени генотипове е статистически значима - темп. > tтеор (Фигура 10).



Фигура 10. БЕ при най – честите генотипове.

Пациентите с генотип с поне една F508del (F508del/Друга) имат значително по-висок процент БЕ от тези с генотип, който не включва F508del (Друга/Друга). От общо 20 пациенти, при 17 са открити БЕ, докато половината от шестимата пациенти без F508del нямат – 50%. Разликата е оценена отново чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла и е определена като статистически значима - темп. = 3.796 > tтеор. = 1.711 (Фигура 11).

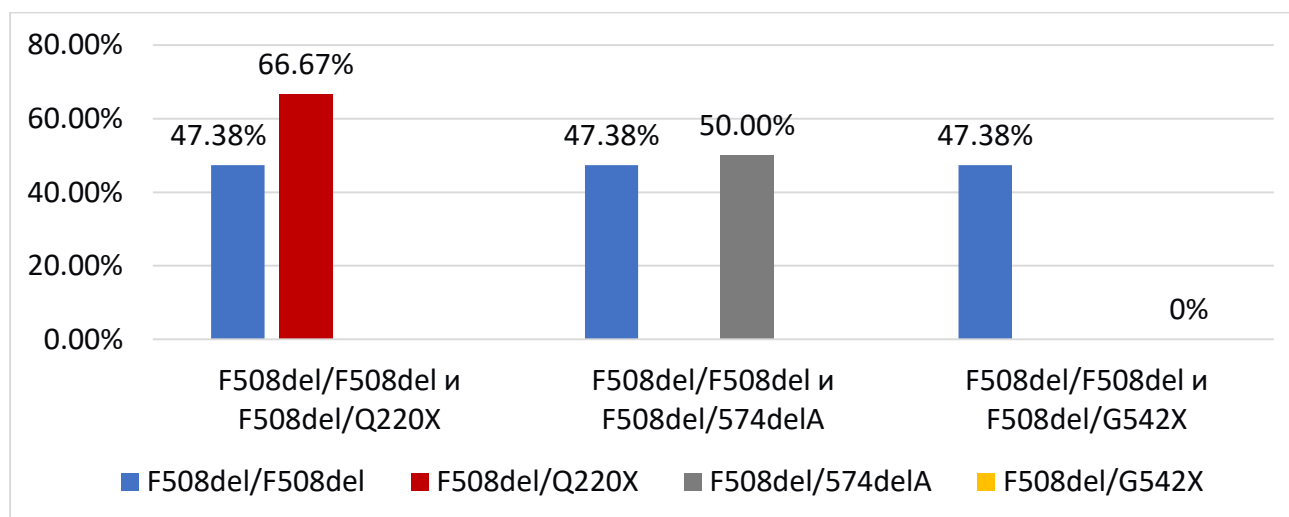


Фигура 11. БЕ при пациентите с генотипове F508del/Друга и Друга/Друга

Генотип - фенотип корелация по отношение на хроничната инфекция с РА

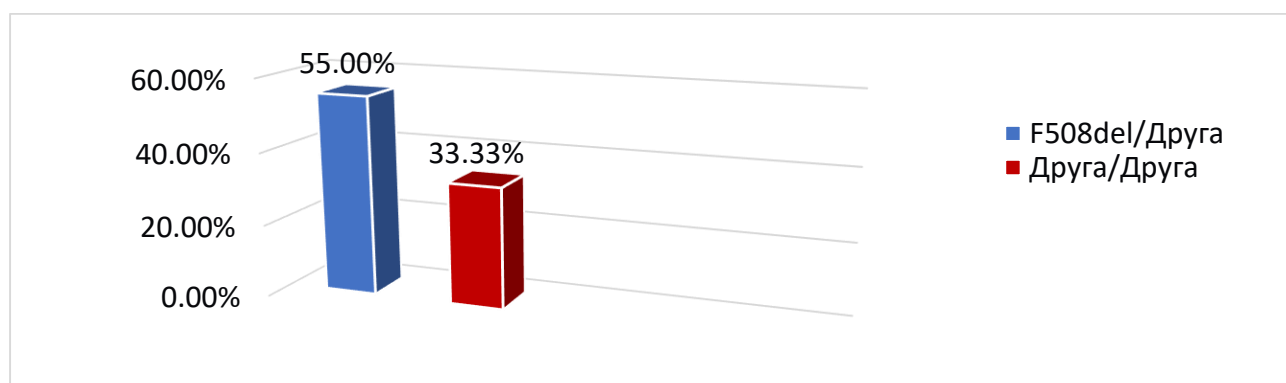
Хронична инфекция на белия дроб с РА имат 22 пациенти или 48.89% от всички включени в проучването пациенти, като за тези под 18 годишна възраст процентът е 32.26%, а за тези над 18 годишна – 85.72%.

Пациентите с генотип F508del/F508del имат близка по процент колонизация с тези с генотип F508del/Q220X и с тези с генотип F508del/574delA и значително по-висока от с тези с генотип F508del/G542X. Отново е използван същият статистически метод - статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student. Статистически значима по отношение на хроничната инфекция с РА е разликата между F508del/F508del и F508del/G542X (Фигура 12).



Фигура 12. Хронична инфекция с РА при най –честите генотипове при пациентите с МВ.

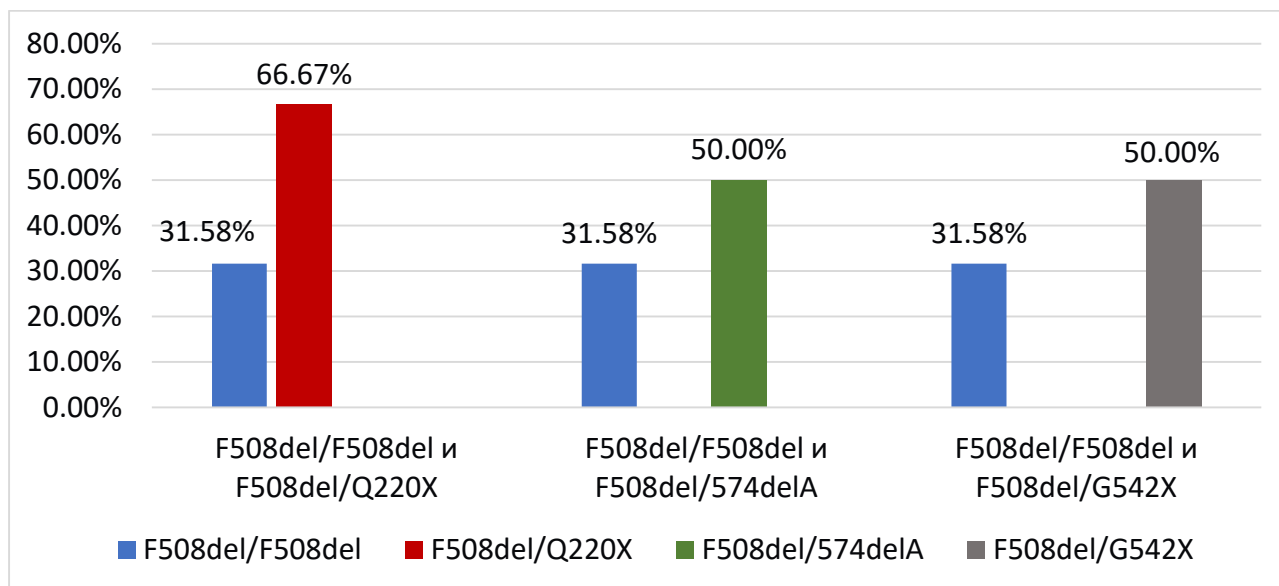
Чрез използване на същия статистически метод е сравнен процентът на хронична инфекция с РА при пациентите с генотип F508del/Друга и генотип Друга/Друга. 11 от 20 пациенти с поне една F508del имат хронична инфекция с РА, а от групата с пациенти без F508del, двама от общо шест са колонизирани. Разликата е статистически значима - $\text{temp.} = 2.523 > \text{теор.} = 1.711$ (Фигура 13).



Фигура 13. Хронична инфекция с РА при пациентите с генотипове F508del/Друга и Друга/Друга.

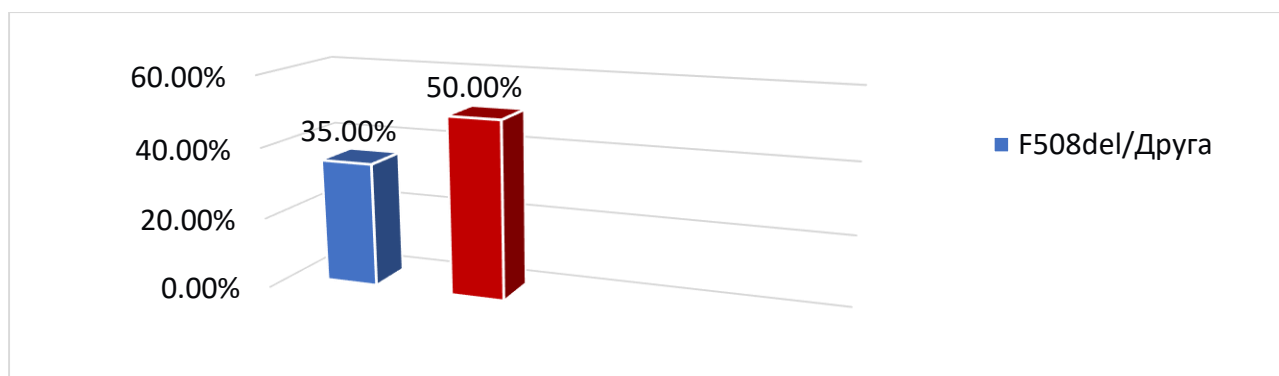
Генотип - фенотип корелация по отношение на изолата на SA

Интермитентната, нехронична инфекция със SA (изолат от хрчка или СНГ поне веднъж) се среща при 33.33% от пациентите с МВ от Североизточна България. Потвърсена е корелационна връзка между изолатът на SA и най-честите генотипове. Пациентите двойни хетерозиготи показват по-висок процент изолиран SA, спрямо пациентите хомозиготи по F508del. Чрез използване на статистическа проверка на хипотези, значима разлика има между F508del/F508del и F508del/Q220X - $t_{\text{емп.}} = 1.976 > t_{\text{теор.}} = 1.725$ (Фигура 14).



Фигура 14. Изолат на SA при най-честите генотипове.

Статистически значима е и разликата между изолата на SA при пациентите с поне една F508del и тези без нито една - $t_{\text{емп.}} = 2.032 > t_{\text{теор.}} = 1.711$ (Фигура 15).



Фигура 15. Изолат на SA при пациентите с генотипове F508del/Друга и Друга/Друга.

От изследваните показатели прави впечатление по-слабото белодробно засягане на пациентите с МВ и генотип F508del/G542X, въпреки че представлява комбинация от мутация от клас II и мутация от клас I, каквито са и генотиповете F508del/Q220X и F508del/574delA.

Генотип - фенотип корелация по отношение други прояви от страна на дихателната система

Назалната полипоза се среща при 20 от 45 пациенти в МВ или това са 44.45% от включените в проучването пациенти. Не се доказаха статистически значими разлики според генотипа, но се наблюдава нарастване на честотата на сино - назалното засягане с нарастване на възрастта.

Алергична бронхопулмонална аспергилоза с IgE>1000 ng/mL е доказана при един пациент на 13 годишна възраст от женски пол и с генотип F508del/F508del. Положително изследване за *Aspergillus* има и един пациент на 22 годишна възраст от мъжки пол и с генотип F508del/W1282X.

През изследвания период от 5 години има и една успешна **трансплантация на бял дроб** при възрастен пациент от женски пол в краен стадий на белодробно заболяване с генотип F508del/F508del.

Генотип – фенотип корелации спрямо проявите от ГИТ

За търсене на корелации между описаните за пациентите с МВ от Североизточна България генотипове и фенотипните прояви от ГИТ са използвани следните показатели:

- BMI
- CFLD
- МИ
- Панкреатит

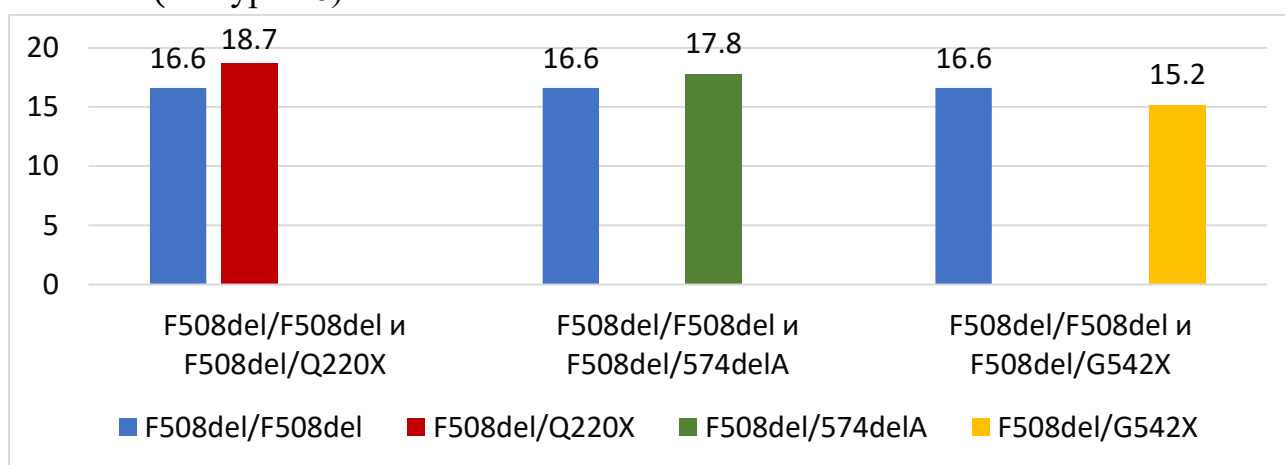
Изброените показатели са използвани за търсене на корелация между пациентите с най-честия генотип - F508del/F508del и следващите по честота генотипове - F508del/Q220X, F508del/G542X и F508del/574delA, както и между тези с генотип F508del/Друга и Друга/Друга.

Генотип - фенотип корелации по отношение на BMI

Използвана е актуална стойност на BMI. Пациентите с генотип F508del/F508del имат по-ниски средни стойности на BMI спрямо тези с генотип F508del/Q220X и генотип F508del/delA574, но по-високи средни стойности от тези с генотип F508del/G542X.

Както и при сравнението на ФЕО1 е използвана статистическа проверка на хипотези чрез сравняване на две средни величини – в случая средна стойност на BMI в kg/m². Използван е критерият на Student, като резултатите са следните:

- **Има** статистически значима разлика в стойностите на BMI при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/Q220X (темп. = 2.589 > tтеор. = 1.725).
- **Има** статистически значима разлика в стойностите на BMI при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/delA574 (темп. = 2.204 > tтеор. = 1.729).
- **Има** статистически значима разлика в стойностите на BMI в полза на двойните хетерозиготи **F508del/G542X**. (темп. = 1.988 > tтеор. = 1.729) (Фигура 16).



Фигура 16. Сравнение на BMI между пациентите с генотип F508del/F508del и следващите по честота генотипове.

Според средните стойности на BMI, пациентите хомозиготи по F508del имат средно недохранване, при генотип F508del/Q220X теглото е нормално, при F508del/574delA има леко недохранване, а при тези с генотип F508del недохранването е тежко (Таблица 10). Получените резултати се обясняват и със стартирането на ензимно-заместителна терапия, хиперкалорийна диета и CFTR-модулираща терапия.

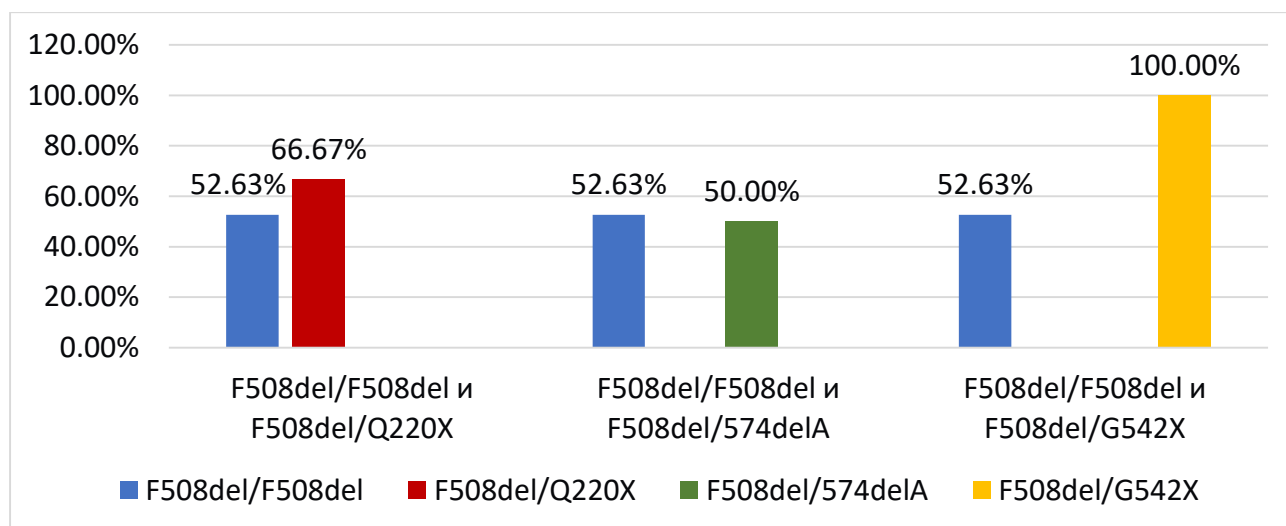
Таблица 10. Нутритивен статус според стойността на BMI.

Нутритивен статус	BMI kg/m ²
Тежко недохранване	< 16,0
Средно недохранване	16 - 16,99
Леко недохранване	17 - 18,49
Поднормено тегло	< 18,5
Нормално тегло	18,5 - 24,99

Пациентите с поне една F508del мутация имат средни стойности на МВІ 18.3 kg/m², тоест поднормено тегло. Същото се отнася и за групата пациенти с генотип Друга/Друга, които имат среден ВМІ 18.2 kg/m². Съответно между двете изследвани групи няма установена значима разлика чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на две средни стойности.

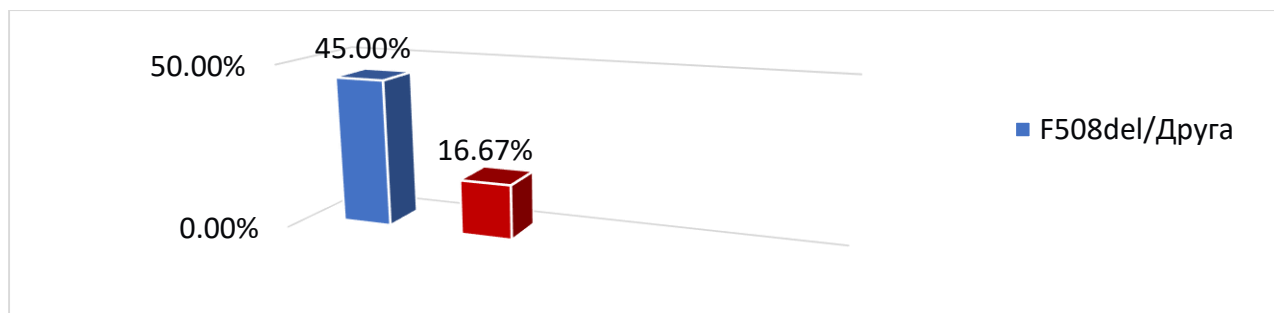
Генотип - фенотип корелация по отношение на CFLD

CFLD е доказано при 20 от 45 пациенти с МВ или това е честота 44.45%. При пациентите с генотип F508del/F508del се среща при 10 от 19 пациента – честота 52.63%. С близка честота е при пациентите с генотип F508del/Q220X и F508/574delA – съответно 66,67% и 50.00%. Отново чрез проверка на хипотези между два относителни дяла и използван критерий на Student, се открива значима разлика между хомозиготите по F508del и пациентите с генотип F508del/G542X - темп. = 1.971 > tтеор. = 1.729 (Фигура 17).



Фигура 17. CFLD при най-честите генотипове.

Пациентите с генотип с поне една F508del (F508del/Друга), имат значително по-висок процент CFLD от тези с генотип, който не включва F508del (Друга/Друга). От общо 20 пациенти, при 9 е доказано CFLD, докато само един от шестте пациенти без F508del чернодробно засягане. Разликата е оценена отново чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла и е определена като статистически значима - темп. = 3.267 > tтеор. = 1.711 (Фигура 18).



Фигура 18. CFLD при пациентите с генотипове F508del/Друга и Друга/Друга.

Генотип - фенотип корелация по отношение на МИ

Операция по повод МИ са преживели 5 от пациентите МВ, съответно честотата му сред пациентите с МВ от Североизточна България е 11.11%. Поради ниската честота и различните генотипове, няма как да се търси корелация по този показател (Таблица 11).

Таблица 11. Генотип и клас при пациентите МИ.

Пациент	Генотип	Клас
1	F508del/F508del	II/II
2	F508del/F508del	II/II
3	F508del/G542X	II/I
4	F508del/574delA	II/I
5	c.3909C>G/c.254G<A	VUS/VUS

Генотип - фенотип корелация по отношение на панкреатита при МВ

Остър (ОП) или остър рецидивиращ панкреатит (ОРП) е доказан при 5 от пациентите с МВ, а един пациент е с хроничен панкреатит (ХП) (Таблица 12). Честотата в проценти е 13.33% и е малка, за да се търси статистически значима разлика и корелации.

Таблица 12. Генотип и клас при пациентите с панкреатит.

Пациент	Генотип	Клас
1 - ОП	R347P/R347P	VI/VI
2 - ОП	F508del/ E831X	II/ I
3 - ОП	F508del/F508del	II/II
4 - ОРП	N1303K/G85E	II/II
5 - ОРП	F508del/W1282X	II/ I
6 - ХП	F508del/L997F	II/VUS

При пациента с генотип F508del/L997 острите рецидивиращи панкреатити бяха и водеща клинична проява за потвърждаване на диагнозата МВ, като впоследствие панкреатитът хронифицира.

За проследения период от 5 години има един възрастен пациент с генотип F508del/F508del от женски пол с диагностициран карцином на дебелото черво.

Генотип – фенотип корелация спрямо други фенотипни прояви

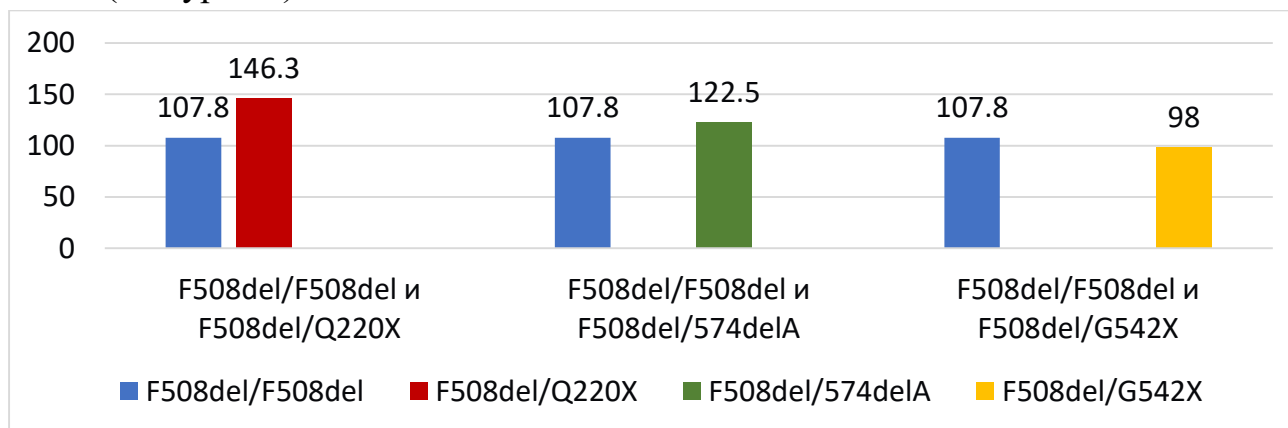
Потърсени са корелации между описаните за пациентите с МВ от Североизточна България генотипове и следните други фенотипни прояви:

- Стойност на потен тест
- CFRD
- Инфертилитет

Генотип - фенотип корелация по отношение стойностите на потния тест

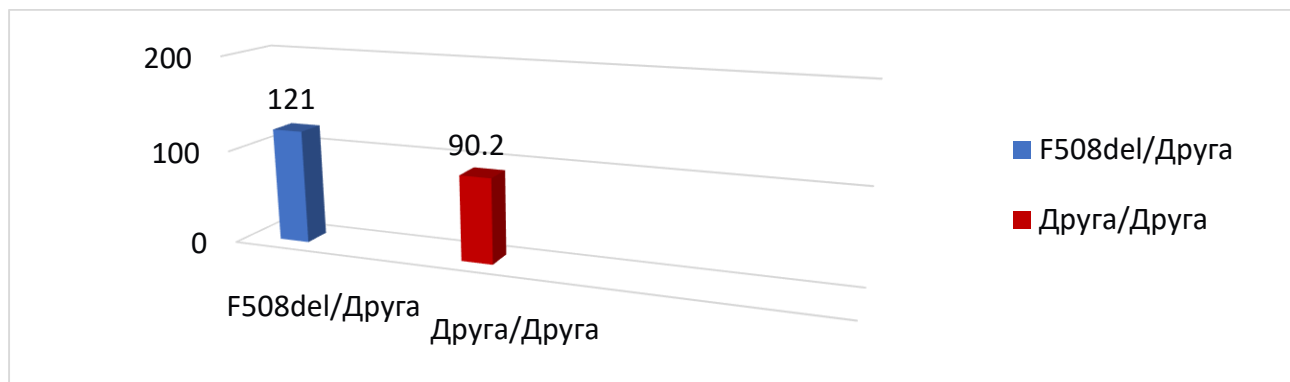
За търсене на корелации са използвани стойностите на потния тест при потвърждаване на диагнозата МВ. Направена е статистическа проверка на хипотези чрез сравнение на две средни величини, като е използван критерият на Student и резултатите показват, че:

- **Има** статистически значима разлика в стойностите на потния тест при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/Q220X (темп. = 1.918 > tтеор. = 1.725).
- **Има** статистически значима разлика в стойностите на потния тест при хомозиготите по F508del и двойните хетерозиготи F508del/delA574 (темп. = 1.842 > tтеор. = 1.729).
- **Няма** статистически значима разлика в стойностите на потния тест в полза на двойните хетерозиготи **F508del/G542X**. (темп. = 0.928 < tтеор. = 1.729) (Фигура 19).



Фигура 19. Средна стойност на потен тест в mEq/L при най – честите генотипове.

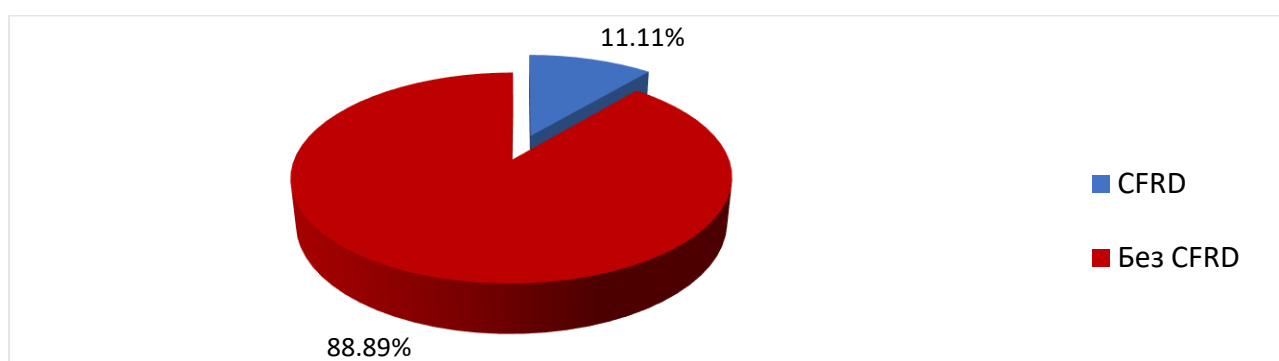
Пациентите с генотип с поне една F508del (F508del/Друга), имат значително по-високи средни стойности на потния тест от тези с генотип, който не включва F508del (Друга/Друга). Разликата е оценена отново чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на две средни стойности с използван критерий на Student и е определена като статистически значима - $t_{\text{емп.}} = 2.086 > t_{\text{теор.}} = 1.711$ (Фигура 20).



Фигура 20. Средни стойности на потен тест в mmol/L за генотип F508del/Друга и Друга/Друга.

Генотип-фенотип корелация по отношение на CFRD

CFRD имат пет от пациентите с МВ или това са 11.11% от всички, включени в изследването. И петимата са с генотип F508del/F508del, като средната им възраст е 21.60 ± 7.27 години. Съответно разликите спрямо всеки друг генотип са значими и CFRD е с по-висока честота при пациентите над 18 годишна възраст (Фигура 21).



Фигура 21. Честота на CFRD сред пациентите с МВ.

Генотип - фенотип корелация по отношение на инфертилитет

Въпреки липсата на проведени изследвания при пациентите с МВ от мъжки пол се предполага, че 100% от тях са инфертилни поради липсата на потомство. При пациентите от женски пол над 18 годишна възраст има две

успешни раждания и една бременност, като и в трите случая е стартирана CFTR-модулираща терапия. Броят е малък и не позволява търсене на корелации.

Корелация между клас мутация и фенотипна проява

За оценка на корелацията между класовете мутации, пациентите с МВ от Североизточна България бяха разделени в три групи спрямо комбинацията от класове в генотипа им (Таблица 13). Един пациент с една идентифицирана мутация и една неизвестна не е включен.

Таблица 13. Разпределение на мутациите в генотипа на пациентите с МВ по класове.

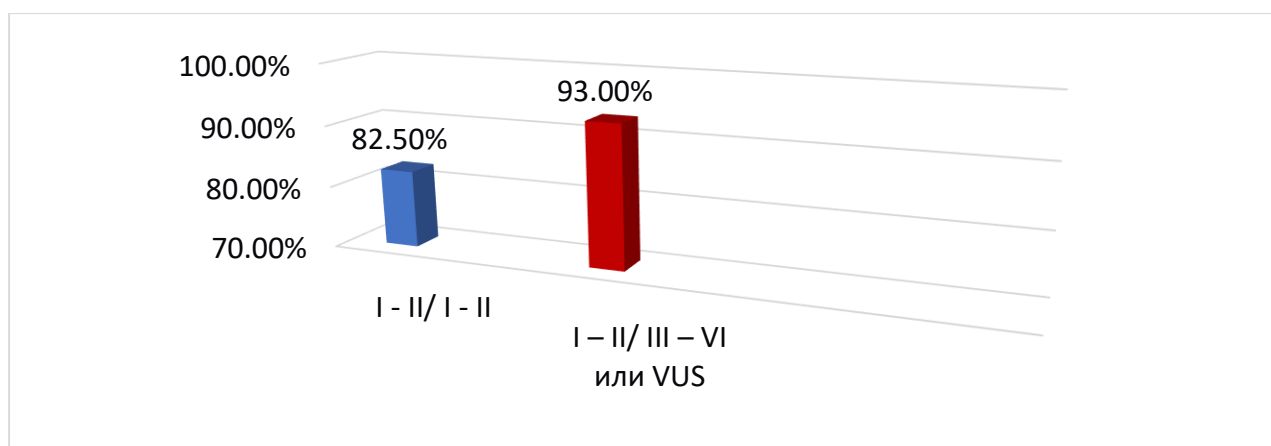
Група пациенти	Генотип според класа на включените мутации	Брой пациенти	Процент пациенти
Първа	I - II/ I - II	33	73.33%
Втора	I – II/ III – VI или VUS	8	17.78%
Трета	III – VI или VUS/ III – VI или VUS	3	6.67%

Корелация между класовете мутации и белодробното засягане

По отношение на белодробното засягане бяха сравнени отново показателите стойност на ФЕО1, наличие на БЕ, колонизация с РА, изолат на SA, назална полипоза.

Корелация между класовете мутации и стойността на ФЕО1

Пациентите с две мутации от клас I или клас II в генотипа си (първа група) имат по-ниски средни стойности на ФЕО1 от пациентите с генотип, включващ някои от следните класове - I – II/ III – VI или VUS (втора група). Участващите пациенти с генотип III – VI или VUS/ III – VI или VUS (трета група) не са включени в сравнението поради ниската средна възраст на извадката – всички са под 6 годишна възраст и няма как да бъде извършено функционално изследване на дишането. Средната възраст на пациентите от първа и втора група е 14.24 ± 8.36 години и 19.25 ± 13.20 . По отношение на ФЕО1, между първите две групи пациенти е извършена статистическа проверка на хипотези чрез сравняване на две средни величини – в случая средната стойност на ФЕО1 в %. Използван е критерият на Student, като резултатите показват, че $t_{\text{емп.}} = 2.546 > t_{\text{теор.}} = 1.684$, следователно се приема, че между двете средни величини има статистически значима разлика, което показва корелация между по-тежкото функционално засягане на белия дроб и наличието на мутация от клас I или клас II в генотипа на пациентите (Фигура 22).



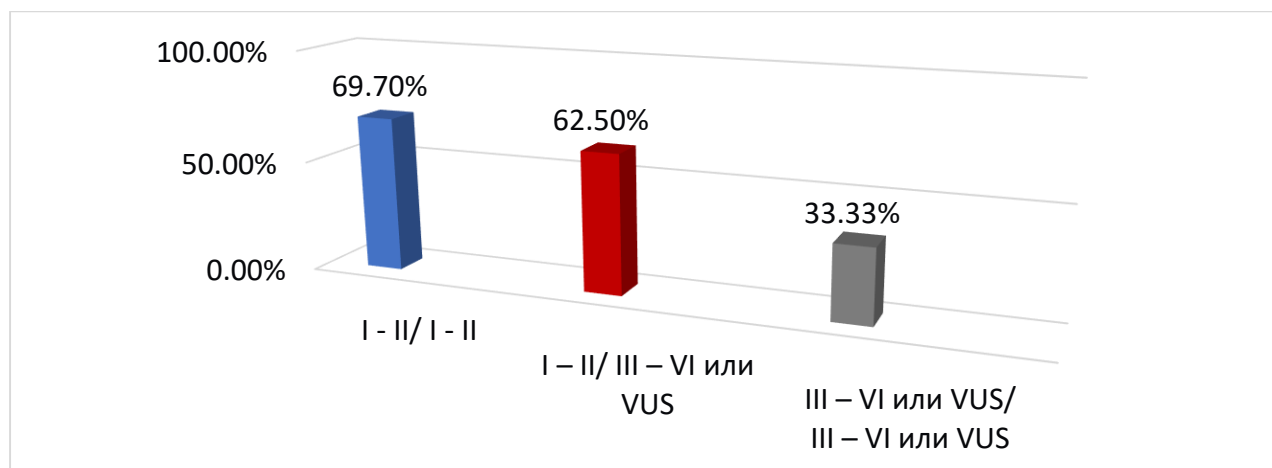
Фигура 22. ФЕОI при пациентите от първа и от втора група.

Корелация между класовете мутации и наличието на БЕ

По отношение на структурното засягане на белия дроб - наличието на БЕ, процентът е най-висок за първата група и най-нисък за третата, като отново се взима под внимание ниската средна възраст на пациентите от третата група. Над 60% от пациентите, които имат поне една мутация от клас I или клас II имат доказани БЕ. След използвана статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student се установи статистически значима разлика по отношение на наличието на БЕ между трите групи:

- Сравнение между първа и втора група: $t_{\text{емп.}} = 1.796 > t_{\text{теор.}} = 1.684$
- Сравнение между първа и трета група: $t_{\text{емп.}} = 5.897 > t_{\text{теор.}} = 1.697$
- Сравнение между втора и трета група: $t_{\text{емп.}} = 6.189 > t_{\text{теор.}} = 1.833$

Тези резултати показват корелацията между по-тежкото структурно белодробно засягане при пациентите с поне една мутация от клас I или II, сравнени с тези с мутации от класовете III – VI или VUS (Фигура 23).



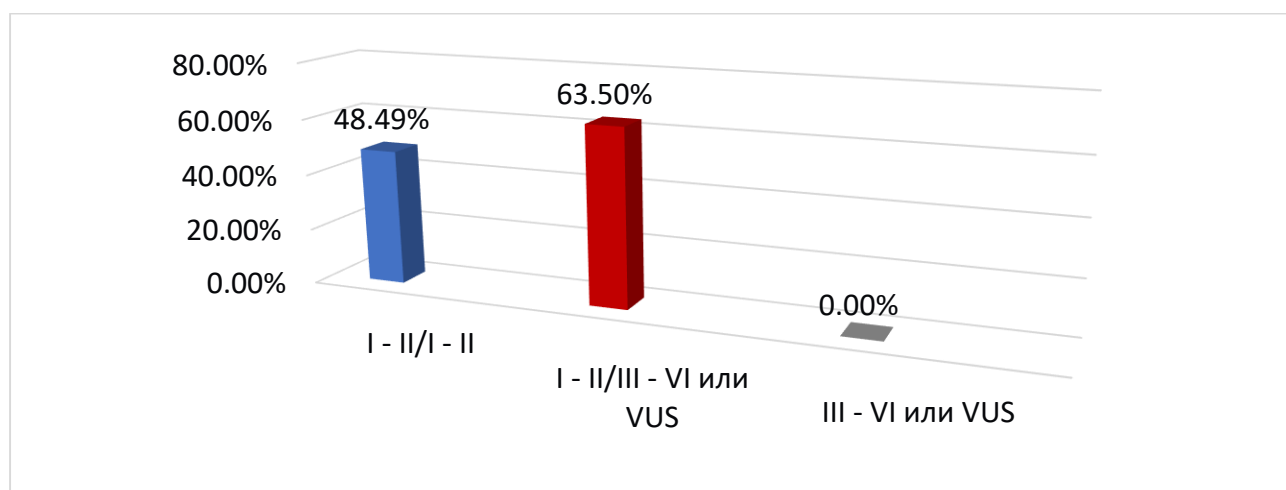
Фигура 23. БЕ при пациентите от трите групи.

Корелация между класовете мутации и хроничната инфекция с РА

От анализа на данните се вижда, че процентът на хронична инфектираност с РА се увеличава с нарастване на възрастта. Това обяснява защо той е по-висок при втората група пациенти, които са със средна възраст 19.25 ± 13.20 . При пациентите от третата група няма нито един с положително за РА микробиологично изследване. След използвана статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student се установи статистически значима разлика по отношение на хроничната инфекция с РА между трите групи:

- Сравнение между първа и втора група: $t_{\text{емп.}} = 2.123 > t_{\text{теор.}} = 1.684$
- Сравнение между първа и трета група: $t_{\text{емп.}} = 10.063 > t_{\text{теор.}} = 1.697$
- Сравнение между втора и трета група: $t_{\text{емп.}} = 12.321 > t_{\text{теор.}} = 1.833$

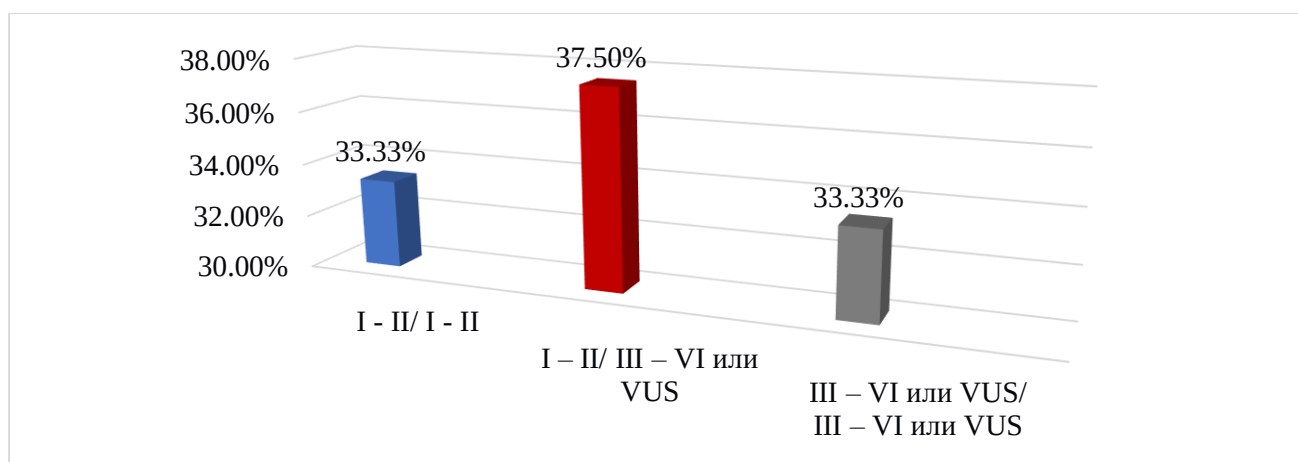
И по отношение на хроничната инфекция с РА резултатите показват корелация в посока по-тежко засягане при налична мутация от клас I или клас II (Фигура 24).



Фигура 24. Хронична инфекция с РА при трите групи.

Корелация между класовете мутации и изолата на SA

И при трите групи пациенти в 30-40% се изолира SA при поне едно микробиологично изследване на храчка или СНГ (Фигура 25). Не се открива статистически значима разлика между процента в трите групи чрез статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла - $t_{\text{емп.}} < t_{\text{теор.}}$. Следователно при включените в изследването пациенти не се откриват корелации спрямо класа на мутациите в генотипа и изолата на SA.



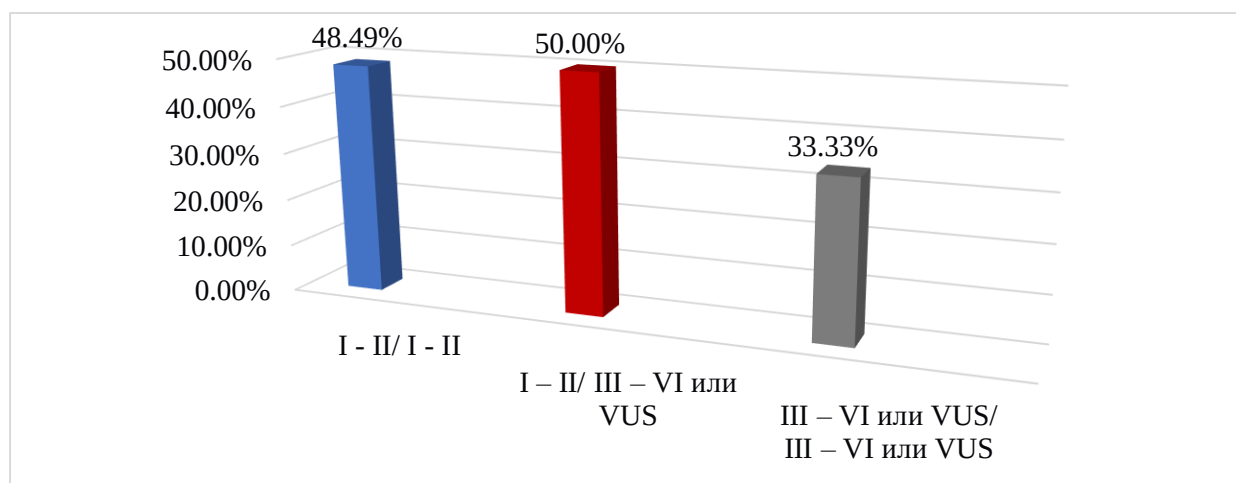
Фигура 25. Изолат на SA при трите групи пациенти.

Корелация между класовете мутации и назалната полипоза

Назалната полипоза се среща в по-висок процент при пациентите от група едно и група две, съответно в 48.49% и в 50.00%. За пациентите с комбинация от класове мутации процентът е значително по-малък – 33.33%, като отново се обръща внимание и на по-ниската средна възраст на извадката (Фигура 26). След използвана статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student се установи статистически значима разлика по отношение на назалната полипоза между първа и трета група и между втора и трета група:

- Сравнение между първа и трета група: $t_{\text{емп.}} = 1.823 > t_{\text{теор.}} = 1.697$
- Сравнение между втора и трета група: $t_{\text{емп.}} = 2.852 > t_{\text{теор.}} = 1.830$
- Сравнение между първа и втора група: $t_{\text{емп.}} = 1.025 < t_{\text{теор.}} = 1.833$

Резултатите от анализа отново показват, че по отношение на назалната полипоза, пациентите с поне една мутация от клас I или клас II имат по-изразено засягане от тези с нито една.



Фигура 24. Назална полипоза при пациентите от трите групи.

Корелация между класовете мутации и засягането на ГИТ

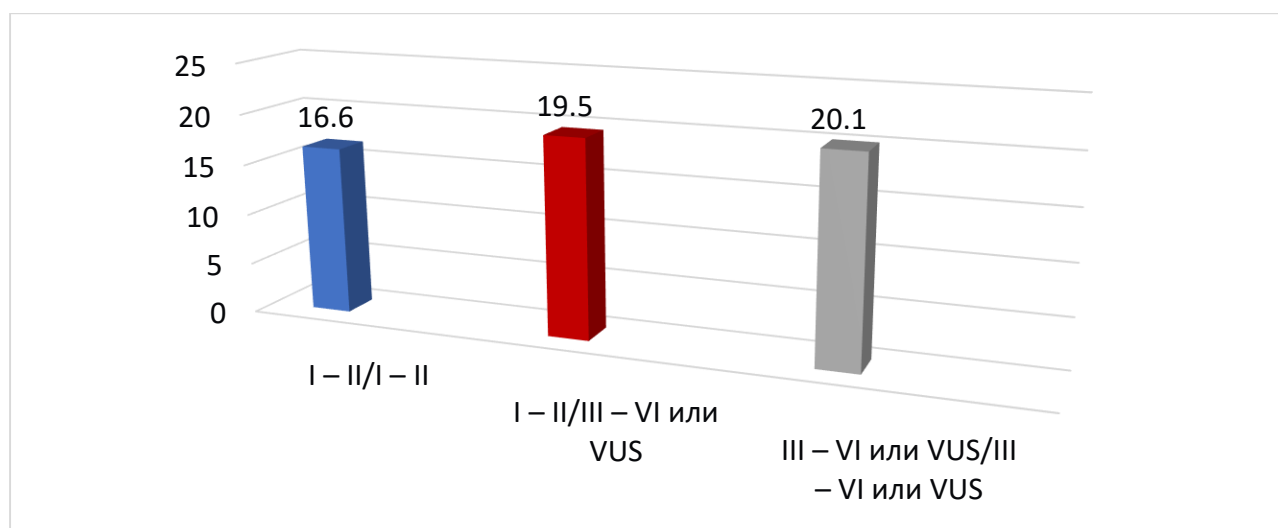
По отношение на засягането на ГИТ бяха сравнени отново следните показатели: стойност на BMI, CFLD, МИ и панкреатит.

Корелация между класовете мутации и стойността на BMI

За търсене на корелации по отношение на стойностите на BMI са използвани актуални последни стойности на фона на комплементация с ензими, хиперкалорийна диета и CFTR-модулираща терапия при някои от пациентите. Средните стойности на BMI при трите групи пациенти показват средно недохранване за първата група (BMI - 16.6 kg/m²) нормално средно тегло за тези от втора и трета група (BMI – 19.5 kg/m² и BMI 21.1 kg/m²) (Фигура 27). Направена е статистическа проверка на хипотези, чрез сравняване на две средни величини с използван критерий на Student, като резултатите показват:

- Статистически значима разлика между първа и втора група - темп. = 2.875 > tтеор. = 1.684
- Статистически значима разлика между първа и трета група - темп. = 3.123 > tтеор. = 1.697
- Липса на статистическа разлика между втора и трета група - темп. = 1.025 < tтеор. = 1.833

Следователно при включените пациенти се наблюдава корелация между генотип, съставен от мутации от класове I и II и по-ниски стойности на BMI.



Фигура 27. Средни стойности на BMI при трите групи пациенти.

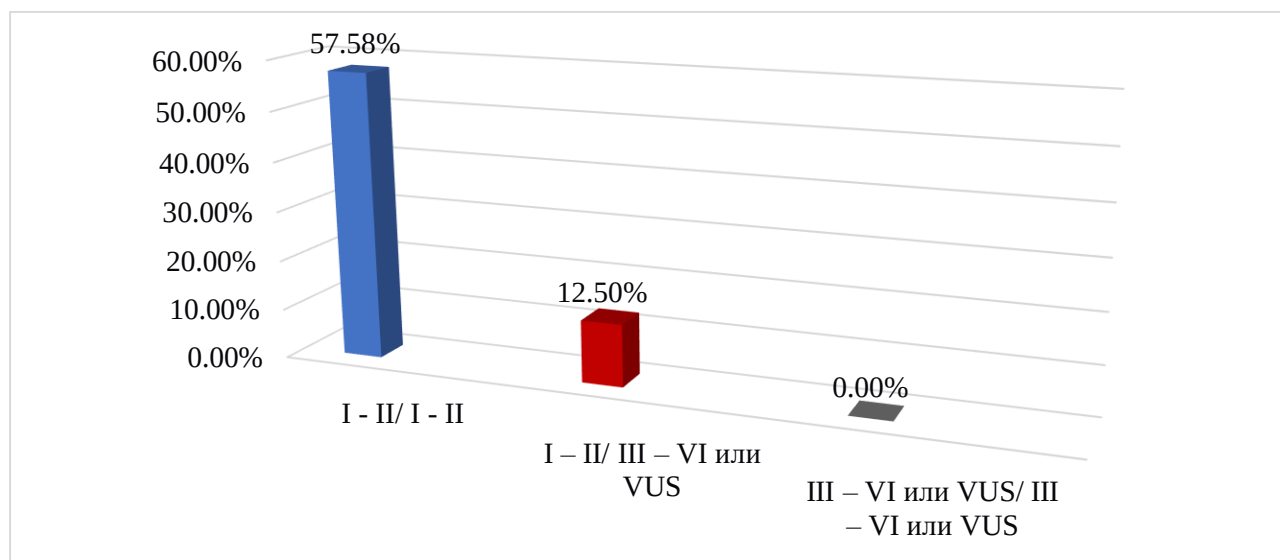
Корелация между класовете мутации и CFLD

CFLD се среща в значително по-висок процент при пациентите от първата група, като повече от половината болни са с различно по степен чернодробно

засягане. От втората група има само един пациент със CFLD, а в третата няма нито един (Фигура 28). След използвана статистическа проверка на хипотези и сравняване на два относителни дяла, като отново е използван критерият на Student се установи статистически значима разлика по отношение на CFLD между първа и втора група и между първа и трета група:

- Сравнение между първа и втора група: $\text{темп.} = 8.267 > \text{теор.} = 1.684$
- Сравнение между първа и трета група: $\text{темп.} = 14.123 > \text{теор.} = 1.697$
- Сравнение между втора и трета група: $\text{темп.} = 2.468 > \text{теор.} = 1.833$

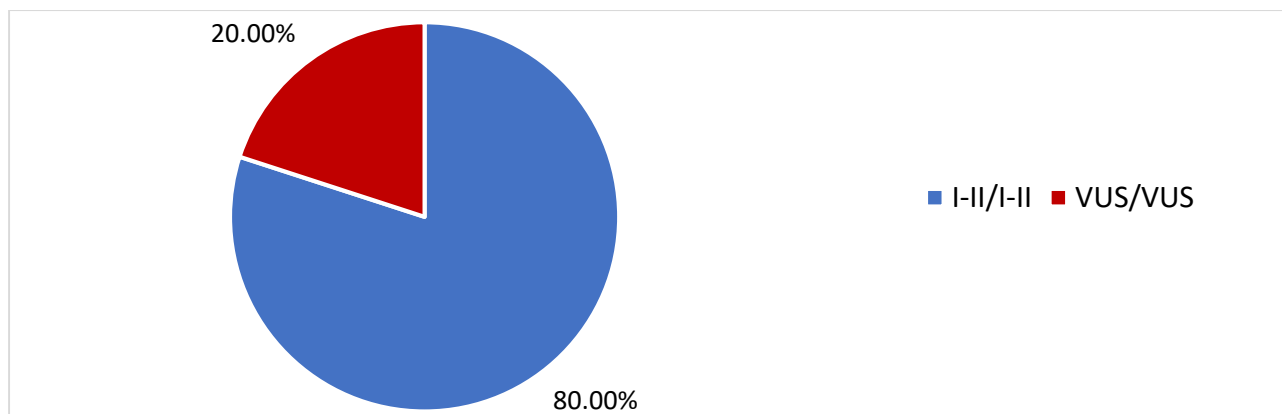
Съответно пациентите с генотип, съставен от мутации от клас I и клас II имат значителна корелация по отношение на наличието на CFLD, за разлика от тези които имат само една мутация от клас I или клас II или нямат нито една. Въпреки, че между втора и трета група разликата е отчетена като значима и двете групи се причисляват към минимално и липсващо чернодробно засягане.



Фигура 28. CFLD при трите групи пациенти.

Корелация между класовете мутации и МИ

Стана ясно, че 5 от пациентите с МВ са преживели операция по повод МИ. Според разпределението им по класове (Таблица 11), 4 от тях са с генотип от първа група и един от трета (Фигура 29). Следователно на база малката извадка може да се предположи, че МИ е значително по-чест при с генотип, съставен от мутации от класове I и II.



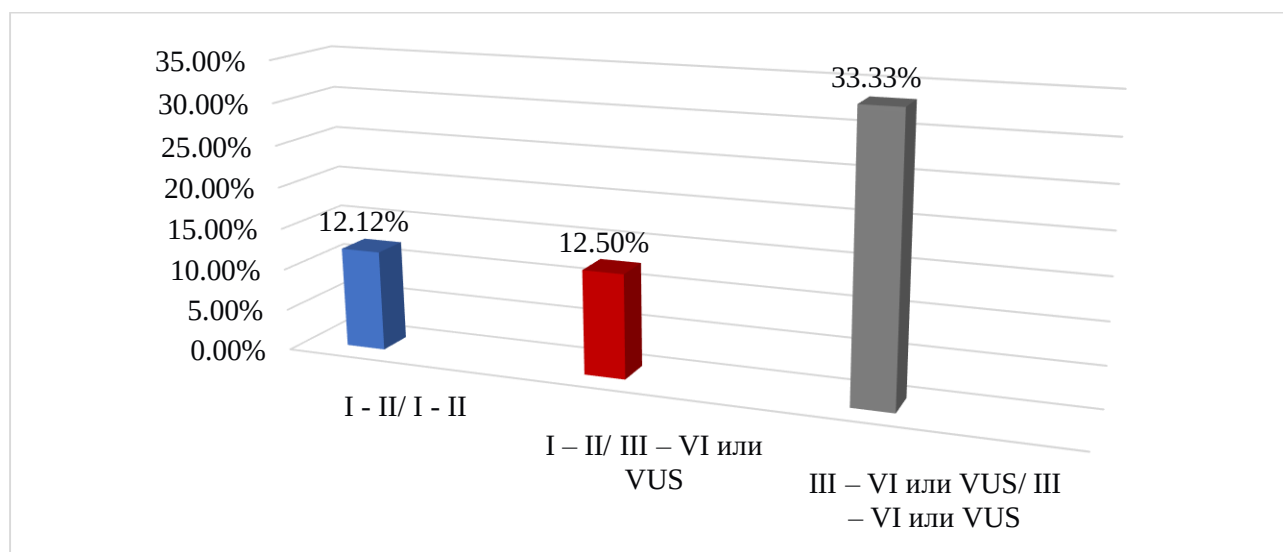
Фигура 29. Разпределение в процент на МИ между групите пациенти според класа на мутациите.

Корелация между класовете мутации и панкреатит при МВ

Панкреатитът също беше разгледан според мутациите в генотипа (Таблица 12), но спрямо класовете на мутациите, включени в него (Фигура 30), при направена статистическа проверка на хипотези чрез сравняване на два относителни дяла и използван критерий на Student, статистически значима разлика се открива между третата група пациенти и първа и втора:

- Сравнение между първа и трета група: $\text{темп.} = 3.462 > \text{теор.} = 1.697$
- Сравнение между втора и трета група: $\text{темп.} = 3.855 > \text{теор.} = 1.833$
- Сравнение между първа и втора група: $\text{темп.} = 0.873 < \text{теор.} = 1.684$

Въпреки малкия брой на пациентите от трета група, поради описаната статистически значима разлика между дела на пациенти с панкреатит сред тях и този при пациентите от първа и втора група, може да се предположи корелация между генотип III – VI или VUS/ III – VI или VUS и панкреатит.



Фигура 30. Панкреатит при трите групи пациенти.

Корелация между класовете мутации и други фенотипни прояви

От „другите“ прояви, включени при търсенето на генотип-фенотип корелации, стана ясно, че CFRD е описан само при хомозиготи по F508del, тоест при пациенти от първа група, като освен по отношение на класа мутация, корелацията е демонстративна и спрямо възрастта на пациентите.

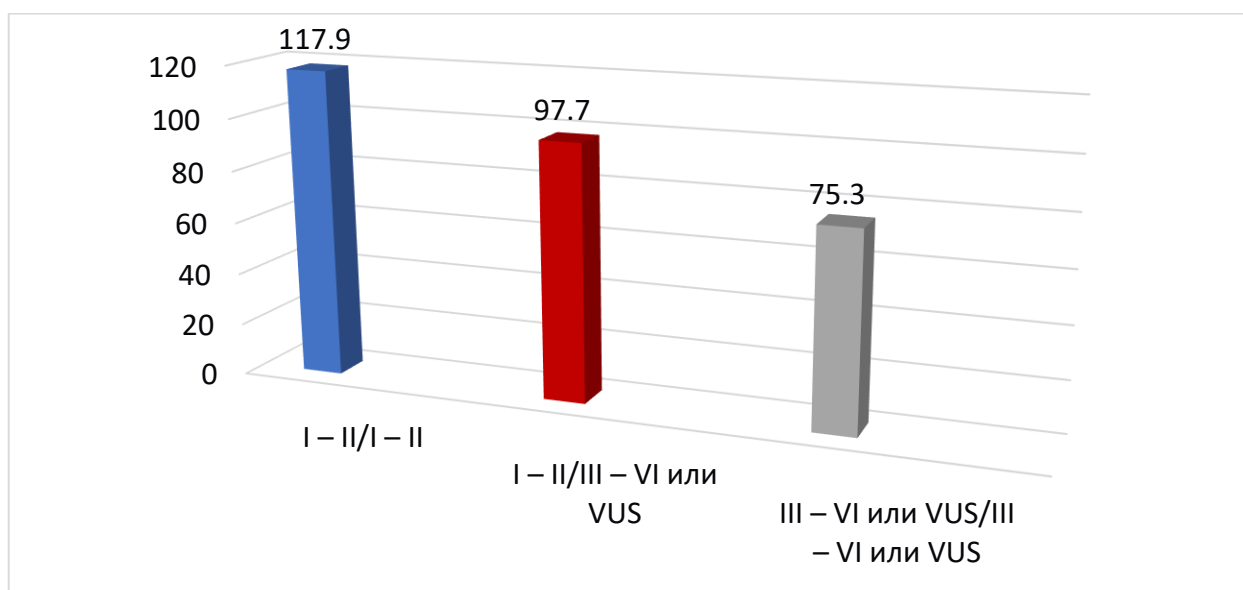
За инфертилитет данните се оскъдни и не могат да бъдат използвани за търсене на корелации според класа на мутациите в генотипа.

Корелация между класовете мутации и стойността на потния тест

Най-високи средни стойности на потния тест имат пациентите от първа група, следвани от тези от втора и накрая тези от трета (Фигура 31). Направена е статистическа проверка на хипотези, чрез сравняване на две средни величини между групите с използван критерий на Student, като резултатите показват:

- Статистически значима разлика между първа и втора група - $t_{\text{емп.}} = 4.856 > t_{\text{теор.}} = 1.684$
- Статистически значима разлика между първа и трета група - $t_{\text{емп.}} = 7.873 > t_{\text{теор.}} = 1.697$
- Статистически значима разлика между втора и трета група - $t_{\text{емп.}} = 4.283 > t_{\text{теор.}} = 1.833$

Следователно с нарастване на класа мутация, стойностите на потния тест намаляват. Пациентите с мутации от клас I и клас II имат по-високи стойности, отколкото тези с по една мутация от клас I или клас II, които пък имат по-високи стойности от тези без нито една мутация от клас I или клас II.



Фигура 31. Средни стойности на потния тест в mmol/L за трите групи.

Допълнителен корелационен анализ

За допълнителни корелации между отделните фенотипни прояви, извън генотип-фенотип, се извърши корелационен анализ със следните резултати:

1. Корелационни връзки на актуалната възраст на пациента с останалите показатели:
 - Значителна положителна корелационна връзка между актуалната възраст на пациента и стойността BMI чрез коефициент на корелация на Pearson - $R = 0.649$ (отново ролята на ензимно – заместителната терапия).
 - Значителна положителна корелационна връзка между актуалната възраст и наличието на ВЕ чрез бисериален корелационен коефициент - $R = 0.545$.
 - Значителна положителна корелационна връзка между актуалната възраст и CFRD чрез бисериален корелационен коефициент - $R = 0.532$.
 - Значителна отрицателна корелационна връзка между актуалната възраст на пациента и стойностите на ФЕО1 чрез коефициент на корелация на Pearson - $R = - 0.533$.
2. Корелационни връзки на потния тест с останалите показатели:
 - Умерена отрицателна корелационна връзка между стойностите на потния тест и тези на ФЕО1 чрез коефициент на корелация на Pearson - $R = - 0.473$.
3. Корелационни връзки на индекс ФЕО1 с останалите показатели:
 - Значителна отрицателна корелационна връзка между стойностите на ФЕО1 и наличието на БЕ чрез бисериален корелационен коефициент: $R = - 0.532$.
 - Умерена отрицателна корелационна връзка между стойностите на ФЕО1 и хроничната инфекция с РА чрез бисериален корелационен коефициент - $R = - 0.487$.
4. Корелационни връзки между наличието на ВЕ с останалите показатели:
 - Много силна положителна корелационна връзка между наличието на ВЕ и колонизацията с РА чрез коефициент на асоциация на Yule - $R = 0.937$.
 - Силна корелационна връзка между наличието на ВЕ и изолата на SA чрез коефициент на асоциация на Yule - $R = 0.807$.

Чрез избор на най-походящ еднофакторен регресионен модел за регресионен анализ е установена корелационната връзка между показателите актуална възраст, стойност на потен тест, стойност на BMI и стойност на ФЕО1 (Таблицы 14, 15, 16).

Таблица 14. Влияние на възрастта на възрастта на пациента върху стойностите на BMI.

Модел	b_0, b_1	$t_{емп.}$	$R^2.100$	F	σ	d
	13.8746 0.4443	17.851 5.6	42.17	31.362	2.756	1.76

Таблица 15. Влияние на стойността на потния тест върху стойността на BMI.

Модел	b_0, b_1	$t_{емп.}$	$R^2.100$	F	σ	d
	97.7622 -2.1868	14.228 -2.299	28.41	5.287	4.372	1.68

Таблица 16. Влияние на стойността на потния тест върху стойността на ФЕО1.

Модел	b_0, b_1	$t_{емп.}$	$R^2.100$	F	σ	d
$Y_i = b_0 + b_1 X_i$	139.6125 -0.9408	6.605 -1.919	22.37	4.654	6.261	1.66

На база получените резултати могат да се направят следните обобщения и изводи:

- С нарастване на възрастта на пациентите с МВ с една година, стойността на BMI нараства с 0.44 kg/m² (резултат от лечението).
- С нарастване на възрастта на пациентите с МВ с една година, стойността на ФЕО1 намалява с 2.19%.
- С нарастване на стойността на потния тест с един mmol/L, стойността на ФЕО1 намалява с 0.94%.

V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИ

1. Демографски особености, честота на мутациите в CFTR и генотипно разпределение при пациентите с МВ

В дисертационния труд са анализирани данни на 45 пациенти с доказана МВ, които преди това са включени в ЕРПМ. Извадката представлява близо ¼ от пациентите с МВ в България. ЕРПМ включва демографски и клинични данни за над 50 000 пациенти с МВ от 40 участващи държави. След съгласие от страна на пациентите за участие, информацията се подава или от национални регистри или от локални центрове – в случая ВЕЦ. Участието на болните от МВ от Североизточна България в ЕРПМ позволява проследяване на протичането и лечението на заболяването, както и сравнение между участващите страни, с цел

по-задълбочени познания относно МВ, насърчаване на нови стандарти за грижа, придобиване на епидемиологична информация, която да подобри планирането на интервенции в областта на общественото здраве.

По данни на ЕРПМ относно разпределението на пациентите по пол, има лек превес на мъжкия. За пациентите с МВ от Североизточна България, процентът на пациентите от мъжки пол е 62.20%. За Румъния например е дори още по-висок. Има доста разработки по темата за по-изразената прогресия на заболяването при женския пол, като основното предположение е влиянието на половите хормони върху белодробната функция чрез нарушаване на мукоцилиарния клирънс и имунния отговор към инфекция (CF Registry, Lam et al.).

Относно разпределението по възраст, вече е известно, че от чисто педиатрично заболяване с лоша прогноза, постепенно МВ става болест и на възрастните. В развитите страни се прогнозира 70% увеличение на броя на възрастните пациенти в периода 2010 год. и 2025 год. (Bell et al., Burgel et al.). По данни на ЕРПМ 50% от пациентите с МВ са над 18 годишна възраст. За разлика от повечето европейски страни, сред нашата извадка от пациенти, процентът на възрастните е нисък – 31.10%, като могат да се отдиференцират няколко причини за това – липса на НС и съответно по-късна диагноза, въвеждане на CFTR-модулиращата терапия едва през 2019 година и не на последно място – социално - икономическите условия в страната и устройството на здравната система (Байчева, Петрова и съав).

Известно е, че средната продължителност на живот на пациентите с МВ е нарастнала значително в световен мащаб, но продължава да бъде ниска – около 30 години и за мъжете и за жените (CF registry). Прогнозата в страните от Европейския съюз е по-добра, отколкото на тези извън него и е силно зависима от качеството на здравната система (Burgel et al., McCormick et al.). Между 2012 год. и 2016 год. е докладвана средна продължителност на живот 43 години в САЩ, 47 години в Англия и Германия и 53 години в Канада (Bell et al.). По данни от ЕРПМ от 2021 г. очакваната продължителност на живота на родените между 2018 год. и 2022 год., се предвижда да бъде 56 години (CF Registry). За включените пациенти от Североизточна България, тя е значително по-ниска – приблизително 18 години, като причините отново са късната диагноза, социално-икономическите условия, функционирането на здравната система и централизацията на мултидисциплинарните екипи.

Процентното разпределение според етническата принадлежност на пациентите с МВ от Североизточна България се различава от разпределението за България. През 2019 год. голямо съвместно изследване на български и чешки колектив (Petrova et al), обхващащо пациенти от цялата страна, дава следното

процентно разпределение на МВ според етническата принадлежност на пациентите: 76.43% за български етнос, 12.14% за турски етнос и 11.43% за ромски етнос (Petrova et al.). За включените в настоящата разработка пациенти, процентът на тези от български етнос е близък до този за цяла България, но пациентите от ромски етнос са едва 4.44% за сметка на тези от турски – 26.67%.

По отношение на разпределението на муковисцидозните мутации не е изненада, че най-честа за изследваната група пациенти е F508del. Честотата ѝ спрямо всички идентифицирани мутации е 64.45%, а процентът пациенти с поне една F508del е 84.45%. В световен мащаб честотата и също достига до 70%, а в Европа 82,4% от пациентите с МВ имат поне една F508del мутация, като е по-характерна за Северна Европа - напр. 83% в Дания срещу 40-60% в Испания, Италия, Гърция. За България отново по данни от публикацията на Petrova et al, F508del е със средна честота 55% (Petrova et al., Salvatore et al.).

Всички останали мутации при пациентите с МВ от Североизточна България и България като цяло, както и в Европа се срещат в едва няколко процента. Мутациите G542X и N1303K са следващите по честота (след F508del) за включените в изследването пациенти, за България и за Европа. Дори в Исландия N1303K е с честота 46.4%. Мутацията Q220X е с честота 3.37% при болните от МВ в Североизточна България и е сред десетте най-чести мутации за България, но не и за Европа. Следващата по честота за участващите пациенти е 574delA, която е идентифицирана при 2.25% от тях. Честотата и за България е 0.3%, но не попада в най-честите мутации за Европа според ЕРПМ (CF Registry, Salvatore et al.).

Най-честият генотип е хомозиготното носителство на F508del. За включените в дисертационния труд пациенти, неговата честота е 42.22%. За България е 40% и се доближава до тази в Европа. Най-ниска е честотата му в Германия – под 10%, а най-висока в Дания и Албания – близо 70% от всички генотипове (CF Registry).

В ЕРПМ е показано и разпределението на генотип F508del/Друга, който е с подобна средна честота като F508del/F508del, варираща от 10% при арменците до 50% при украинци и естонци. За пациентите от Североизточна България честотата му е 28.98%, а за България като цяло 40%. Отдиференциран е и генотип Друга/Друга със средна честота близо 20% за Европа, както и за България, но с честота до 90% в Армения и Германия. За пациентите с МВ от Североизточна България честотата на генотипове, които не включват нито една F508del мутация е 13.33% (Clinical Review Report - Vertex).

2. Влияние на липсата на масов НС и значение на ранното разпознаване на алармиращи симптоми за възрастта на поставяне на диагноза МВ

Причината за късното потвърждаване на диагнозата в България е липсата на масов НС. За включените в изследването пациенти с МВ от Североизточна България средната възраст на диагностициране е приблизително 2 години, като варира спрямо водещата клинична проява. За страни като САЩ, Канада, Австралия, Русия, Турция, Бразилия и повечето европейски страни с наличен НС, диагнозата се потвърждава рано в кърмаческа възраст. (Barben et al.). За страните, включени в ЕРПМ, средната възраст на потвърждаване на диагнозата МВ е 8 месеца. За България тя е 1.9 години. С подобна висока средна възраст на диагностициране са Сърбия, Армения, Беларус и Унгария. С най – висока такава са Литва – 2.7 години и Грузия – 2.6 години. Данните от ЕРПМ включват и средната възраст на потвърждаване на диагнозата при пациентите, които вече са възрастни (над 18 годишна възраст). Средната такава за участващите страни е 7 години и е съпоставима с тази за България. За Испания например се наблюдава спад от 9.4 год. при пациентите на възраст над 18 години, за сметка на 8 месеца сред всички пациенти. Това още веднъж отразява ролята на НС за навременното диагностициране (CF Registry).

Известно е, че НС е с 98% откриваемост на заболяване, като фалшиво положителните резултати са около 5% (Scotet et al.). Новородените с положителен НС, при които диагнозата не може да бъде потвърдена или изключена, се насочват за наблюдение към референтни центрове, като 10% от тях в последствие развиват симптоми на МВ (Ren et al.). Сред участващите в изследването пациенти има един с открита чрез НС в чужбина една муковисцидозна мутация – F508del, който е насочен към ВЕЦ и впоследствие диагностициран с генотип F508del/E831X.

В условията на липсващ масов НС, за потвърждаване на диагнозата МВ се разчита на ранното разпознаване на алармиращи симптоми (Farrel et al). От получените в настоящия дисертационен труд резултати се вижда, че най-честите прояви при пациентите от Североизточна България са невиреене с диария, невиреене с хипопротеинемия и анемия, невиреене и БОС, МИ, рецидивиращи пневмонии. По показателни за българското население данни с обхващане на 167 пациенти, което е и репрезентативна извадка на пациентите в страната, са показани в дисертационния труд на д-р М. Байчева, като отново като най-чести симптоми при потвърждаване на диагноза са отбелязани невиреене и диария, невиреене и БОС и изолиран БОС (Байчева).

Невиреенето със или без диарийен синдром, освен най-честа причина за потвърждаване на диагноза МВ е и ранна проява. Известно е, че невиреенето

може да бъде от органична причина – медицинско заболяване или от неорганична – психосоциални фактори. В случая причината е органична – малабсорбционен синдром в резултат на екзокринна панкреасна недостатъчност, като и психосоциалните фактори несъмнено се отразяват (Smith et al.). Панкреасът е от първите засегнати органи при болните от МВ. Промени в него, в резултат на натрупаните вискозни секрети, се наблюдават още интраутеринно като около 60% от новородените вече имат панкреасна недостатъчност, като още 30% я развиват през следващите 36 месеца от живота си. (Galante et al., Irmie et al., Lee et al.). Важно е раграничаването на тези прояви, особено при липсата на симптоми от страна на ДС от други заболявания с такава клиника – най-вече от целиакията, предвид историческите данни (Navarro et al.) При пациентите от Североизточна България невиреенето с диария е първа изява на МВ при 26.67% от болните, а за българските пациенти като цяло – около 50% (Байчева).

И в двете разработки прави впечатление, че пациентите с респираторни проблеми се диагностицират в по-късна възраст. Типичните респираторни находки при потвърждаване на диагноза при по-големи деца, юноши и възрастни могат да включват рецидивиращ синусит, бронхит, пневмония, астма, която не се повлиява от стандартното лечение, назална полипоза, както и БЕ на белия дроб от образни изследвания (Dickinson et al., Paranjape et al.).

За пациентите от Североизточна България, най-късно диагностицирани са тези с рецидивиращи пневмонии, като средната възраст на потвърждаване на диагнозата при тях е приблизително 15 години. Причината за това е, че децата с МВ се раждат със здрав бял дроб и възпалението започва още в първите седмици от живота им, често при липса на симптоми и негативни микробиологични изследвания (Ranganathan et al., Thursfield et al.). Друга причина е, че МВ е рядко заболяване и при липса на други симптоми на преден план излизат по-чести причини като вирусни и бактериални инфекции на долни дихателни пътища и астма. Няколко от включените пациенти са били неправилно диагностицирани и лекувани за астма, което също е причина за забавяне в потвърждаването на диагнозата. МВ също се характеризира със симптоми като кашлица, затруднено дишане, „свирене“ в гърдите, като разликата освен неповлияването от стъпаловидната терапия е и наличието на други алармиращи симптоми. В някои случаи е възможни и наличието на двете заболявания - CFAOS (cystic fibrosis-asthma overlap syndrome) (Marion et al.).

Анемията, хипопротеинемията и отоците са отдавна известна проява на МВ, като в миналото дори е била класифицирана като отделна форма – оточна - анемийна форма на МВ. В публикация от края на миналия век с данни от датския център се описва, че възрастта на диагностициране при тази проява е ниска –

между 1 и 5 месеца от раждането (Nielsen et al.). За пациентите от ВЕЦ също е една от най-ниските – средна възраст около 4 месеца.

Повръщането и алкалозата с диселектолитемия или Псевдо-Бартер синдромът също са важни алармиращи прояви при МВ. Известно е, че по-честа причина за метаболитна алкалоза в първите месеци след раждането е хипертрофичната пилорна стеноза, която е с честота 1-8 на 1000 живородени деца от европейската раса (Faraji-Goodarzi et al., Quinn et al.). От включените пациенти с МВ в настоящия труд има един пациент с водещи клинични прояви при диагностициране повръщане и алкалоза. При него, независимо от подходящата възраст на изява, мъжкият пол, експлозивното повръщане "на фонтан" и метаболитната алкалоза с диселектролитемия, чрез проведени изследвания – ВСТ и ултразвук, пилорна стеноза се отхвърли и след проведен потен тест с патологична стойност (115 mmol/L), диагнозата МВ се потвърди чрез генетичен анализ (p.R347P- хомозигот).

В световен мащаб МИ се среща като първа проява на МВ при 12,5% до 25,9% от новородените, за България този процент е между 15 и 20% (Байчева, Galante et al.). За пациентите с МВ от Североизточна България процентът е 11%. Известно е, че МИ може да бъде диагностициран ехографски още пренатално (Mekki et al., Sathe et al.). При такава находка се процедира по разработени алгоритми за оценка на риск за МИ и МВ и се препоръчва раждане в лечебно заведение с наличие на мултидисциплинарен педиатричен екип, интензивна грижа и детска хирургия (Carlyle et al., Ruiz et al., Sathe et al.).

3. Генотип - фенотип корелации по отношение засягането на дихателната система, ГИТ и други прояви като стойности на потен тест, CFRD и инфертилитет

Освен за навременна диагноза МВ в условията на липсващ масов НС, генотип - фенотип корелациите са от значение и за прогнозата на заболяването. От получените резултати при анализа на данните на пациентите с МВ от Североизточна България се потвърждава, че хомозиготното носителство на мутацията F508del се характеризира с тежки фенотипни прояви. В литературата също е описана като „тежка“ мутация, каквито са и другите мутации без остатъчна CFTR функция и фенотипно се проявяват с ранна екзокринната панкреасна недостатъчност, хронична обструктивна белодробна болест, високи нива на потен тест и обструктивна азооспермия (Kerem et al., Kulczynski et al.).

За включените в дисертацияния труд пациенти, по отношение на белодробното засягане, хомозиготите по F508del имат средни стойности на ФЕО1 около 80%. Тези стойности са близки до средните стойности на ФЕО1 за

всички български пациенти, включени в ЕРПМ – 85%, което е свързано и в високата честота на генотипа F508del/F508del (CF Registry). Докато и следващите по честота генотипове за пациентите от Североизточна България F508del/Q220X и F508del/delA574 са свързани с подобни стойности на ФЕО1, пациентите с генотип F508del/G542X имат статистически значими по-високи средни стойности. Следователно дори мутации от един клас могат да бъдат свързани с различни фенотипни прояви. Средните стойности на ФЕО1 при пациентите с генотип F508del/Друга показват по-високи стойности спрямо тези на хомозиготите по F508del – 95.90%. Поради това се извърши и сравнение на тази фенотипна проява според комбинацията от класове мутации в CFTR и резултатите съответстват с публикуваните до момента данни за по-тежко протичане на МВ при мутации от класове I и II.

В шведско проучване на Geborek и съав., включващо 266 пациенти с МВ с мутации от класове I и II, по отношение на ФЕО1 резултатите показват по-ниски стойности за тези пациенти, носители на две мутации от клас I в генотипа си (Geborek et al.).

Друго проспективно проучване на de Gracia и съав., обхващащо пациенти над 18 години, показва по-ниски изходни стойности на стойности на показателите ФЕО1 и по-изразена загуба на белодробна функция при проследяването им при пациентите с мутации от класове I и II (de Garcia et al).

За включените в дисертационния труд пациенти с МВ от Североизточна България също има статистически значима разлика в средните стойности на ФЕО1 между пациентите с мутации от клас I и II и тези с поне една мутация от по-горен клас. Средната стойност на ФЕО1 при пациентите с генотип I - II/ I – II е същата като тази за хомозиготите по F505del, което отново е резултат от високата честота на генотипа.

Значителна корелация е открита и по отношение на спада във ФЕО1 и нарастването на възрастта на пациентите, което е потвърждение на прогресията на заболяването с времето. И докато преди крайният стадий на белодробно заболяване е включвал пациентите с МВ в списъка за белодробна трансплантация, с въвеждането на CFTR – модулиращата терапия тази стъпка се предприема все по-рядко, не само поради забавянето на прогресията, но и поради значителното подобрения в функцията на белия дроб (Benden et al.).

Структурното засягане на белия дроб при пациентите с МВ от Североизточна България е оценено чрез наличието на БЕ като най-ранен предиктор и откриващи се дори при асимптомни кърмачета (Sly et al.) . При 69% от включените болни, БЕ са доказани чрез образни изследвания, като се предполага, че честота им е много по-висока, поради липсата на осъществена КТ при всички пациенти, в резултат липсата на нискодозова такава на територията

на Североизточна България. По литературни данни БЕ присъстват в 30 до 40% от децата на възраст между 3 и 4 години и при до 80% от децата до възрастта над 5 години (Gustafsson et al., Owens et al., Ranganathan et al. Wainwright et al.). Относно генотип-фенотип корелациите, от получените резултати се забелязва значително по-високо засягане при пациентите с генотип I/II, спрямо II/II, както и по-висок процент БЕ при пациентите с поне една F508del, спрямо тези без нито една в генотипа си. Също така се потвърждават резултатите на de Gracia и съав. – мутациите от I и II се асоциират с по-тежко белодробно засягане. Чрез корелационен анализ е потвърдена и значителната положителна корелационна връзка между наличието на БЕ и нарастването на възрастта на пациента.

По отношение на бактериалната колонизация при пациентите с МВ от Североизточна България, половината от хомозиготите по F508del имат хронична инфекция с РА. Подобен е процентът и за пациентите с генотип I - II/ I – II. По данни на ЕРПМ 46% от пациентите в България са колонизирани с РА, а сред всички участващи в него страни процентът е 23% (CF Registry). Това показва от една страна, че хомозиготите по F508del могат да се считат за представителна извадка на пациентите с МВ за България по отношение на процента на колонизацията с РА и от друга, че този процент при българските пациенти като цяло и конкретно при тези от Североизточна България е доста по-висок от средния за Европа. Трябва да се вземе и под внимание, че за част от пациентите в детска възраст, особено за тези под 7 годишна възраст, е трудно да се отдели хрчка и за колонизацията им се съди от изследване на секрета от горните дихателни пътища (СНГ), което предполага по-ниска от реалната честота. (Mauch et al., Petrova et al.). При изследването на корелациите по този показател спрямо класа мутации, получения резултат – по-висок процент на хронична инфекция с РА при пациентите с генотип I – II/ III – VI или VUS, спрямо тези с генотип I - II/ I – II, се обяснява с по-високата средна възраст на пациентите от втората група. Известно е, че в детството 10 до 30% от пациентите с МВ са колонизирани с РА, а при възрастните този процент е между 80 и 90% (Palmer et al.).

За включените пациенти, освен влиянието на възрастта, се описва и корелация между стойностите на ФЕО1 и наличието на хронична инфекция с РА – процентът и е по-висок при пациентите с по-ниски стойности на ФЕО1. Тук обяснението е двупосочно – от една страна колонизацията е причина за прогресия на заболяването МВ, а от друга – увреденият бял дроб е благоприятна среда за колонизация с патогенни микроорганизми (Silva et al.).

Интермитентната, нехронична инфекция със SA (изолат от хрчка или СНГ поне веднъж) при пациентите с МВ от Североизточна България се среща при 33.33% от тях. В такъв процент се среща и при пациентите хомозиготи по F508del

и тези с генотип F508/del – отново поради високата честота на тези генотипове. В по-висок процент се изолира при следващите по честота генотипове F508del/Q220X, F508/574delA, F508del/G542X, както и при генотип Друга/Друга, което се обяснява с по-ниската възраст на извадката и по-малкият им брой. По литературни данни колонизацията със SA започва още в ранна възраст, като обикновено се изолира първи при до 30% от кърмачетата още през първите 6 месеца от живота (Ranganathan et al., Sly et al.). Наличието му в долните дихателни пътища е свързано с белодробно възпаление, дори при липса на клинична симптоматика. Разпространението му нараства в предучилищна възраст, като е и най-често срещания патоген през този период (Mott et al, Ranganathan et al.). По данни на ЕРПМ при 22.40% от пациентите под 18 годишна възраст се е изолирал поне веднъж, а при тези над 18 годишна процентът е 17.20%. Тези резултати се дължат на подобрената диагностика и на преобладаването на изолатите на други микроорганизми с нарастване на възрастта – PA, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Burkholderia cepacia complex* (Трифенова и съав.).

Разпространението на сино-назалното засягане също е често срещано и нараства с възрастта, като процентът варира от 6 до 48% (Chaaban et al., Mainz et al.). За пациентите от Североизточна България процентът е 44%, като между пациентите с най-честите генотипове не се наблюдава статистически значима разлика в честотата на назалната полипоза. По отношение на комбинацията от класове мутации в генотипа при пациентите с МВ, включени е дисертационния труд, се установи, че пациентите с поне една мутация от клас I или клас II в генотипа си имат по-висок процент сино-назално засягане от тези, в чийто генотип няма нито една мутация от съответните класове.

През 2000 год. Wang и съав. публикуват резултатите от изследване на 147 пациенти с хроничен риносинут и 127 здрави контроли, като доказват по-високата честота на поне една мутация в CFTR при първата група пациенти – 7%, спрямо втората – под 1 %. При един от пациентите е дори е диагностицирана МВ, чрез идентификация на две болест определящи мутации, което е още един пример за фенотипна проява, която може да налага търсене на подлежащ генотип (Wang et al.). Според честотата на сино-назалното засягане спрямо класа мутации в генотипа, данни на Berkhout и съав. от проучване в Хага върху 104 пациенти показва по-висок процент при наличието на мутации от първите три класа (Berchout et al.).

От изследваните показатели за оценка на белодробното увреждане прави впечатление по-слабото белодробно засягане на пациентите с МВ и генотип F508del/G542X, въпреки че представлява комбинация от мутация от клас II и мутация от клас I, каквито са и генотиповете F508del/Q220X и F508del/574delA.

Също така пациенти хомозиготи по F508del на еднаква възраст могат да имат различна по степен белодробна увреда и въпреки значителния брой проучвания, категорична връзка между генотип и пулмонален фенотип не е установена. Вариабилността, освен от генотипа, се определя от фактори като социален статус, придържане към терапията, състояние на здравна система и генни модификатори, като изследвания при болни от МВ еднояйчни близнаци, проведени след разделянето им и заживяването им поотделно, отдава различията им на ролята на средата и стохастичните фактори в 50% и на генни модификатори в останалите 50% (Collaco et al., Cutting et al., Mekus et al.).

За разлика от пулмоналното засягане, корелациите по отношение на проявите от страна на ГИТ са по-демонстративни (Zielenski et al.). Известно е, че панкреасът е органът, който се засяга най-рано при болните от МВ – 60% от тях вече имат панкреасна недостатъчност още при раждането, а 30% я развиват в следващите 36 месеца (Galante et al.). Тя води до малабсорбция и затова за оценка на степента на увреда за настоящия дисертационен труд за търсене на корелации са използвани актуалните стойности на BMI. Резултатите показват значително по-ниски стойности на BMI при пациентите с генотип, включващ мутации от I или II клас, като пациентите са със средно недохранване - BMI - 16.6 kg/m². Със същите средни стойности на BMI са и пациентите с генотип F508del/F508del, което отново потвърждава по-тежките фенотипни прояви за най-често срещаната мутация. Преди напредъкът в грижата за пациентите с МВ, стойностите на BMI са намалявали с нарастване на възрастта поради прогресията на заболяването. Данните от извършения корелационен анализ между стойностите на BMI и възрастта на пациента в настоящия дисертационен труд показват увеличение на стойностите му с нарастване на възрастта. Причина за тези резултати е провеждането на ензимно - заместителна терапия, хиперкалорийната диета, а при част от пациентите и стартираната CFTR-модулираща терапия.

CFLD при пациентите с МВ варира по тежест и процентът му се увеличава с нарастване на възрастта (Toledano et al.). В САЩ честота му достига 47% (Shteinberg et al.). За българските пациенти с МВ честотата на CFLD е 51% (Байчева). За включените в проучването пациенти в МВ от Североизточна България тя е 44%, като се наблюдават значителни генотип-фенотип корелации – пациентите с генотип, включващ мутации от клас I или II имат значително по-висок процент чернодробно засягане (над 50%), за разлика от тези с една мутация от тези класове или без нито една. Това е още един пример за по-тежкото засягане при мутациите, водещи до липса на CFTR, както и за по-убедителните корелации по отношение на ГИТ (Zielenski et al.).

МИ при болните от МВ е първа проява при 12,5% до 25,9% от тях (Galante et al.). За пациентите от Североизточна България честотата му е 11.11%, като

80% от случаите са при пациенти с генотип, включващ мутации от клас I или II, съответно отново се наблюдава демонстративна корелация и по отношение на тази проява от страна на ГИТ.

По литературни данни панкреатитът е рядка проява на МВ, като честотата му е 2% (De Boeck et al.). При изследваните пациенти, включени в настоящия труд, различно по степен панкреасно засягане се среща при 13%, като прави впечатление, че е значително по-често при пациенти с генотип, включващ мутации от класове III – VI или VUS. Мутацията L997F, включена в генотип F508del/L997F, е идентифицирана при един от пациентите от Североизточна България, като първоначална проява на МВ бяха рецидивиращи панкреатити, а впоследствие се разви и хроничен панкреатит. Тази мутация е определена като VUS – вариант с несигурно значение.

В литературата L997F се асоциира с идиопатични дисеминирани БЕ, рецидивиращ панкреатит и хипертрипсинемия при кърмачета (Conklin et al.). В проучване на Castellani и съав., включващо 32 пациенти с идиопатичен панкреатит, L997F е идентифицирана при 4 от тях, като при един дори е доказана МВ с генотип L997F/F508del (Castellani et al.).

В друго проучване на Gomez и съав. са изследвани 49 кърмачета с хипертрипсинемия, като при 4 от тях е идентифицирана мутация L997F.

Trininger и съав. провеждат изследвания на 14 възрастни пациенти с идиопатичен хроничен или остър рецидивиращ панкреатит, като L997F е идентифицирана при трима от тях .

Подобен на включеният в настоящият дисертационен труд пациент описват Conklin и съав. през 2008 година – 4 годишно момче в рецидивиращ панкреатит, негативен потен тест и панкреас дивизум. След измерване на разлики в назалните трансепителни потенциали и разширен CFTR мутационен анализ са идентифицирани две болест – определящи мутации F508del и L997F (Conklin et al., Derichs et al.).

Стойностите на потния тест при включения в дисертационния труд пациент са гранични. Известно е, че мутациите от класовете след II се асоциират с по-ниски стойности на потния тест – могат да бъдат гранични или дори в редки случаи отрицателни (Wilshanski et al.).

За включения в проучването пациенти с МВ от Североизточна България с най-високи стойности са тези с генотип, включващ мутации от клас I и II, което е още едно доказателство за по-тежкото и мултиорганно засягане при тези генотипове. Също така чрез корелационен анализ се установи, че по-високите стойности на потния тест, респ. началните класове в генотипа, се асоциират с по-ниски стойности на ФЕО1 – отново пример за „тежко“ засягане.

Развитието на CFRD също е характерно за пациентите с мутации от класове I и II и нараства с възрастта (Alexandre et al). Освен генотипът, значение за възникването му имат и фамилната анамнеза за диабет в семейството, наличието на генни модификатори (напр. TCF7L2) и необходимостта от употреба на кортикостероиди като част от терапевтичната схема при някои от пациентите с МВ (Blackman et al.). Приблизително 11% от включените в дисертационния труд пациенти имат CFRD, като средната им възраст е близо 22 години и всички са с генотип F508del/F508del. По литературни данни честотата му е приблизително 19% при пациентите под 18 годишна възраст и 40-50% при възрастните (Ode et al.). Причина за ниската му честотата сред пациентите от Североизточна България е значително по-малкият процент възрастни пациенти, както и ниската средна възраст на популацията.

Докато почти всички пациенти с МВ от мъжки пол са инфертилни – 98%, при жените има намалена репродуктивна способност, но с подобрената грижа и съвременните методи на лечение, процентът на фертилност нарасна значително (Castellani et al, McMullen et al.). Нито един от пациентите с МВ от Северпизточна България в репродуктивна възраст няма потомство, което предполага 100% инфертилитет.

За пациентите от женски пол над 18 години има само две успешни раждания на фона на стартирана CFTR-модулираща терапия, като трябва да се вземе предвид малката извадка от възрастни пациенти от женски пол, включени в настоящия труд – 7 пациенти. В световен мащаб броят на бременностите при пациентите с МВ нараства, като паралелно с това текат множество проучвания за безопасността на CFTR модулаторите (Чолакова и съав., Allen et al.).

4. Роля на ранното потвърждаване на диагнозата МВ за стартиране на CFTR - модулираща терапия в условията на липсващ масов НС

Ролята на генотип - фенотип корелациите при пациентите с МВ е от значение за предвиждане хода на заболяването, както и за търсене на подлежащ генотип при определени фенотипни прояви и навременна диагноза в условията на липса на масов НС (Савов и съав.). Дори с предстоящото му въвеждане в България, което се очаква да стартира през 2025 година, в следващите 10 и повече години ще има диагностицирани случаи на необхванати от скрининга пациенти. Освен това, въведения скрининг няма да включва заложили мутации в CFTR, а ще се базира на само на измерване на ИРТ, което означава, че генетичната диагноза може да бъде повлияна от редица фактори – финансови, социални,

функционалност на здравната система, което от своя страна може да доведе до забавяне в стартирането на съвременна терапия.

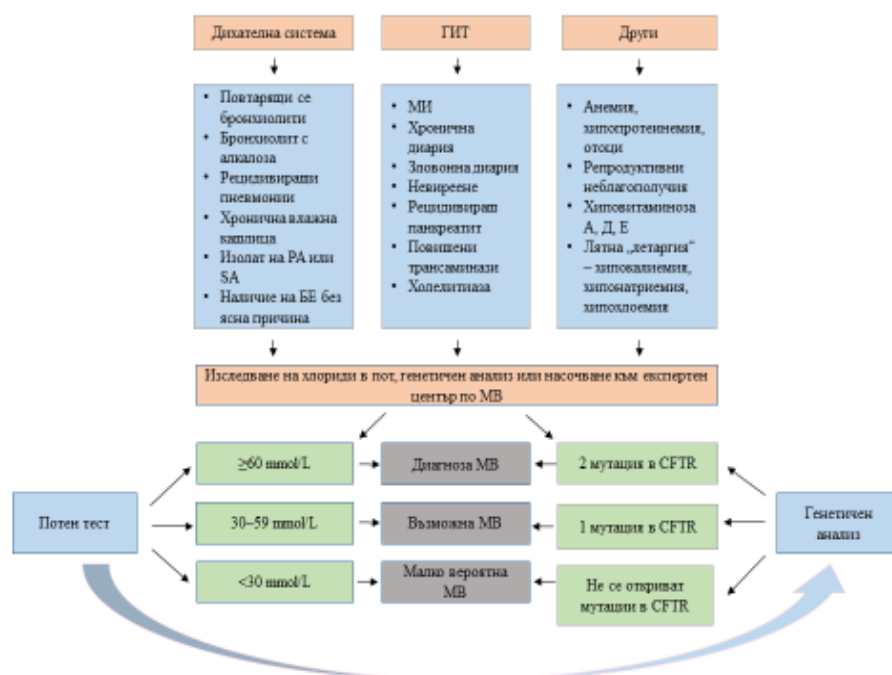
От настоящия труд стана известно, че 71.34% от пациентите с МВ от Североизточна България вече са стартирали своето лечение със CFTR модулатори, като още 19.05% са подходящи според генотипа. Този процент съвпада и със средният за Европа – 90% от пациентите с МВ имат подходящи мутации за провеждане на CFRT модулираща терапия (Regard et al.).

Най-висок процент от пациентите, включени в настоящия дисертационен труд са на тройна терапия - Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor. Недостатъкът е, че стартирането и е възможно за пациенти над 6 годишна възраст (CF Registry). За това време, особено при късно диагностицирани пациенти, е възможно тежко засягане на редица органи и системи. Друг недостатък е възможното чернодробно увреждане при употребата на този медикамент (Lopez et al.). Предвид високия процент на CFLD – 44.62%, сред пациентите с МВ от Североизточна България е необходимо тяхното редовно проследяване след стартиране на терапията с цел оценка на чернодробната функция.

Двойно по-малък процент са на терапия с Ivacaftor/Lumikaftor, а само един пациент провежда лечение с Ivacaftor. При тези медикаменти подходящата възраст на стартиране е над 2 навършени години за Ivacaftor/Lumikaftor и над 4 месеца за Ivacaftor (CF Registry). Това още веднъж подчертава необходимостта от ранна диагноза чрез НС и започване на своевременно лечение преди развитието на трайни поражения – най-вече в белия дроб.

5. Алгоритъм на база алармиращи симптоми за ранно насочване към експертен център с цел диагностициране на МВ и последващо лечение

На база получените резултати и дискутираните проблеми, се изготви алгоритъм на база фенотипни прояви, с цел ранно потвърждаване на диагнозата МВ в условията на липсващ масов неонатален скрининг, както и в периода след въвеждането му, в който все още ще има новодиагностицирани, необхванати от него пациенти. Алгоритъмът е насочен към амбулаторната и болничната практика и включва клинични насоки за ранно разпознаване на алармиращи симптоми на МВ и своевременно насочване към специализиран център за последваща диагноза, проследяване и лечение. Важно е да се обърне внимание на това, че все пак МВ спада към групата на редките заболявания и всеки симптом може да бъде предизвикан от друго по-често заболяване (Фигура 32).



Фигура 32. Алгоритъм на база алармиращи симптоми за ранно насочване към експертен център с цел диагностициране на МВ и последващо лечение.

ОСНОВНИ ИЗВОДИ

1. Включването на пациентите с МВ от Североизточна България в ЕРПМ дава възможност за проследяване процесите на диагностика, грижа и лечение, както и сравнение на въведените данни спрямо тези за Европа и останалите участващи страни.
2. Най-честата мутация при пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ, е F508del, следвана от G542X, Q220X, 574delA и N13103K. Най-честият генотип при близо 2/5 от пациентите е F508del/F508del, а следващите по честота са значително по-редки. Поне една мутация F508del се открива при 1/3 от пациентите с МВ. Сред българския етнос превалира хомозиготното носителство на F508del, а сред турския - хетерозиготното носителство на F508del и друга мутация.
3. Средната възраст при потвърждаване на диагнозата МВ при пациентите от Североизточна България е приблизително 2 години, а най-честите клинични прояви са невиреене и хронична диария, следвани от невиреене, хипопропротеинемия и анемия, невиреене и БОС, МИ и рецидивиращи пневмонии.

4. При пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ, се откриват генотип - фенотип корелации по отношение на засягането на дихателната система, ГИТ и други прояви (стойности на потен тест, CFRD).
 - 4.1 При пациенти с генотип, включващ мутации от клас I или клас II, има по-тежки фенотипни прояви от страна на дихателната система, отколкото при пациенти с генотип, включващ мутации от III – VI или VUS. Мутацията G542X от клас I има по-леки фенотипни прояви по отношение на пулмонален фенотип, спрямо останалите изследвани мутации от същия клас и спрямо F508del.
 - 4.2 При пациенти с генотип, включващ мутации от клас I или клас II, има по-тежки фенотипни прояви от ГИТ, отколкото при пациенти с генотип, включващ мутации от III – VI или VUS. Пациентите с генотип F508del/F508del са със средно недохранване. Мутацията G542X от клас I има по-тежки фенотипни прояви по отношение BMI и CFLD, спрямо останалите изследвани мутации от същия клас и спрямо F508del.
 - 4.3 При пациенти с генотип, включващ мутации от клас I или клас II, стойностите на потния тест са по-високи, отколкото при пациенти с генотип, включващ мутации от III – VI клас или VUS. Мутацията G542X от клас I се характеризира с по-ниски стойности на потния тест, спрямо останалите изследвани мутации от същия клас и спрямо F508del. CFRD е докладван само при пациенти с генотип F508del/F508del.
5. Алгоритъмът с алармиращи симптоми за ранна диагностика на МВ, в условията на липсващ масов НС, е приложим в българската амбулаторна и болнична практика.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Включване на пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ, в ЕРПМ.
2. За първи път у нас е анализирано разпределението на мутациите в CFTR при пациентите с МВ от Североизточна България, проследяващи се във ВЕЦ.
3. Потвърждаване на по-тежкото протичане на МВ при пациентите с генотип, включващ мутации от клас I и/или клас II, спрямо пациентите с генотип, включващ мутации от класовете III – VI или VUS.
4. Откриване на генотип - фенотип корелации при пациентите с МВ от Североизточна България по отношение на проявите от страна на дихателната система, ГИТ и други – потен тест, CFRD.
5. Създаване на приложим алгоритъм на база алармиращи симптоми за МВ, с цел ранно насочване към референтен център и последващи диагноза, лечение и проследяване.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генотип – фенотип корелациите при пациентите с МВ представляват интерес от края на 20 век, но настоящият дисертационен труд е първата разработка по темата, включваща болните от МВ от Североизточна България.

Освен потвърдителния характер на проучването, а именно, че мутациите от клас I и клас II се асоциират с по-тежки фенотипни прояви от страна дихателната система, ГИТ и други – потен тест, CFRD, съответно по-лоша прогноза, се наблегна и на диагностицирането на МВ на база алармиращи симптоми. Разпознаването им е от особено значение за България поради липсата на масов НС и въпреки, че е заложен в програмата за Майчино и детско здравеопазване, в следващите години все още ще се разчита на тези алармиращи симптоми за нескринираните пациенти.

Проблемът в диагностиката се определя от фактът, че МВ е рядко заболяване и опит с него има само в няколко от областните градове на България. Ето защо нарастването на информираността сред амбулаторната и болничната практика и познаването на алармиращите симптоми могат да предотвратят допълнително забавяне при потвърждаването на диагнозата.

Ролята на ранното разпознаване на МВ нараства непрекъснато, особено с терапевтичните възможности, с които разполагат развитите страни, а от 2019 година и България. Доказаните ползи от CFTR – модулиращата терапия са още една причина за стремеж към потвърждаване на диагнозата преди развитието на тежки и необратими промени, най-вече в белия дроб на пациентите с МВ.

В заключение, познаването на генотип - фенотип корелациите при МВ е от полза както за предвиждане хода на заболяването и превенция на усложненията, така и за диагностициране чрез търсене на подлежащ генотип на база алармиращи фенотипни прояви.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Николова М, Дянкова Й, Христов И, Георгиева М. Белодробна колонизация с *Pseudomonas Aeruginosa* при пациенти с муковисцидоза. *Известия на Съюза на учените – Варна. Серия медицина и екология*. 2019; 24 - 1: 54 - 60
2. Николова М, Колева К, Рашева Н, Гълъбова М, Стоянова М, Иванов Г, Добруджанска Н, Георгиева М. Фенотип на мутацията L997F – рецидивиращ панкреатит при момче с Муковисцидоза. *Списание Педиатрия*. 2020; 4: 49 - 52
3. Nikolova M, Galabova M, Dobrudjanska N, Rasheva N, Koleva K, Georgieva M. CFTR modulator therapy for cystic fibrosis. *Book of Proceedings – Symposium “Alumni Club and Friends” - Medical University – Varna*. 2020; 83-86
4. Николова М, Георгиева М, Петрова Г. SARS-COV-2 и муковисцидоза. *Списание Педиатрия*. 2021; 4: 42 - 47
5. Николова М, Гълъбова М, Колева Кр, Рашева Н, Добруджанска Н, Георгиева М. Управление на придържането към терапията при муковисцидоза. Сравнение между двама пациенти. *Списание Педиатрия Плюс*. Септември, брой 6/2022; 54-63

БЛАГОДАРНОСТИ

Във връзка с разработването на настоящия дисертационен труд, изказвам сърдечни благодарности:

- на научните си ръководители проф. д-р Миглена Георгиева и проф. д-р Гертана Петрова - за разбирането, търпението и подкрепата;
- на всички колеги от Клиниката по педиатрия при УМБАЛ „Света Марина“ – за отдадеността в грижата за пациентите с МВ;
- на пациентите с МВ и техните семейства – за участието и съдействието;
- на семейството ми – за търпението и подкрепата.