



PROSPERITAS VESTRA FINIS NOSTRA!

Медицински университет -Варна

„Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина”

КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ

Д-р Камелия Чавдарова Ранкова

**СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА БИОМАРКЕРИ,
ЕМПИРИЧНИ И ВАЛИДИРАНИ МОДЕЛИ ЗА
ПРЕДСКАЗВАНЕ НА ЕФЕКТА ОТ ЛЕЧЕНИЕ С РАСТЕЖЕН
ХОРМОН В ДЕТСКА ВЪЗРАСТ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ
НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН
„ДОКТОР”**

Научна специалност
„Педиатрия”

**Научен ръководител:
Проф. д-р Виолета Йотова, дм, дн**

Варна, 2022 г.



Медицински университет - Варна
„Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина”

КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ

Д-р Камелия Чавдарова Ранкова

**СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА БИОМАРКЕРИ, ЕМПИРИЧНИ И
ВАЛИДИРАНИ МОДЕЛИ ЗА ПРЕДСКАЗВАНЕ НА ЕФЕКТА ОТ
ЛЕЧЕНИЕ С РАСТЕЖЕН ХОРМОН В ДЕТСКА ВЪЗРАСТ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ
НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН
„ДОКТОР”**

Научен ръководител:

Проф. д-р Виолета Йотова, дм, дн

Научно жури:

Проф. д-р Кирил Христозов, д.м.
Проф. д-р Виолета Йотова, д.м., д.н.
Доц. Чайка Петрова, д.м.
Доц. Нарцис Калева-Ходжева, д.м.
Доц. Даниел Илиев, д.м.

Варна, 2022 г.

Дисертационният труд е представен на 151 страници и съдържа 20 таблици, 24 фигури, вкл. в 4 приложения. Цитирани са 218 литературни източници, от които 16 на кирилица и 202 на латиница.

Дисертацията е изработена в:

- Катедра по педиатрия, Медицински университет – Варна
- Клинична и имунологична лаборатории, УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД – Варна
- Лаборатория по генетика, УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД - Варна
- Катедра по образна диагностика, Медицински университет - Варна

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

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

Публичната защита ще се състои на 13.01.2023г. в Катедра по педиатрия, УМБАЛ „Св.Марина“, гр. Варна, зала 501.

СЪДЪРЖАНИЕ:

Използвани съкращения.....	5
ЧАСТ I. 1. ВЪВЕДЕНИЕ.....	6
2. Предпоставки.....	7
3. Цел	7
4. Задачи.....	7
ЧАСТ II. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ	9
1. Участници.....	9
2. Дизайн на проучването.....	9
3. Методи.....	11
ЧАСТ III. РЕЗУЛТАТИ	18
ЧАСТ IV ОБСЪЖДАНЕ.....	46
ЧАСТ V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	52
ОСНОВНИ ИЗВОДИ.....	54
ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	55
НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	56

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АФ - алкална фосфатаза
ВЕЦРЕБ - Варненски експертен център за редки ендокринни болести
ГГТ - гама-глутамил трансфераза
ДРХ - дефицит на растежен хормон
ЕЦРЕБ - Експертен център по редки ендокринни болести
ИДРХ - изолиран дефицит на растежен хормон
ИИХ - инсулин-индуцирана хипогликемия
ИТМ - индекс телесна маса
КВ - костна възраст
КГ - кръвна глюкоза
КР - краен ръст
МГВ - деца, родени малки за гестационната възраст
МТД - множествен тропен дефицит
НЗОК - Национална здравноосигурителна каса
НР - нисък ръст
ПКК – пълна кръвна картина
РС - растежната скорост
рчРХ - рекомбинантен човешки растежен хормон
РХ - растежен хормон
СЗО – Световна здравна организация
СРР - средно-родителски ръст.
СТ – Синдром на Търнър
ТР - таргетен ръст
ХВ – хронологична възраст
ХХО - хипоталамо-хипофизарна област
ЯМР - ядрено-магнитен резонанс
ALS - киселинно-лабилна субединица
ALAT - аланин аминотрансфераза
ASAT - аспартат аминотрансфераза
BMI – body mass index
CDC – Centers for Disease Control and Prevention
ESPE – Европейско дружество по детска ендокринология
FDA - Агенция за контрол на храните и лекарствата
FSH - фоликулостимулиращ хормон,
FT4 - свободен тироксин
HbA1c% - гликиран хемоглобин
IGF-1 - инсулино-подобен растежен фактор – 1
IGFALS - инсулино-подобен растежен фактор свързващ протеин на киселинно-лабилната субединица
IGFBP-3 - инсулино-подобен растежен фактор -свързващ протеин -3
IoR - индекс на отговор към терапия (index of responsiveness)
LH - лутеинизиращ хормон,
SD - стандартно отклонение
SDS – индекс на стандартно отклонение
TSH - тиреостимулиращ хормон
WHO – World Health Organization

1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

Растежът и развитието на детския организъм са обусловени от нормалното действие на растежен хормон (РХ). Когато продукцията на РХ е недостатъчна или рецепторите за него не са активни, децата остават с нисък ръст (НР). Дефицитът на растежен хормон (ДРХ) е рядко заболяване, чието диагностициране и лечение е описано в редица клинични ръководства. (*Brook's Clinical Pediatric Endocrinology, 2010*) Въпреки това ДРХ все още представлява диагностично предизвикателство, тъй като етиологията на заболяването в повечето случаи остава неясна.

Проследяването на лечението с рекомбинантен човешки РХ (рчРХ) се осъществява в специализирани ендокринни центрове, какъвто е Варненският ендокринен център по редки ендокринни болести (ВЕЦРЕБ), а част от задълженията на всеки такъв център е регулярното анализиране и представяне на данни, отнасящи се до диагностичния, терапевтичният подход и резултатите от лечението с цел подобряване на грижите за пациентите.

Изследването на биомаркерите за безопасност от терапията с рчРХ са основна част от проследяването на пациентите с ДРХ. (*Grimberg et al., 2016*) Значението на серумните нива на маркера инсулино-подобен растежен фактор -1 (IGF-1) са добре описани в литературата, а през последните години интерес представлява изследването на нови показатели като серумните концентрации на IGF-свързващ протеин-3 (IGFBP-3) и тяхното отношение IGF-1/IGFBP-3. (*Gaddes et al, 2019*) Уточняването на ролята на това отношение в диагнозата и терапевтичния подход при нашата голяма група от лонгитудинално проследявани педиатрични пациенти е от потенциално научно и практическо значение.

Проучването на нови етиологични маркери, какъвто е киселинно-лабилната субединица (ALS), в международен мащаб продължава с все по-голям интерес в последните години, но у нас няма подобни изследвания нито в чисто научен, нито в научно-приложен аспект.

Отговорът към лечение с рчРХ проявява индивидуален характер при всеки пациент. Именно затова сега се разработват нови комерсиални модели за предсказване на индивидуалния ефект от терапия с рчРХ в детска възраст.

Правилното функциониране на оста РХ-IGF-1-IGFBP-3 е ключово за нормалния растеж. Изследването на ALS и отношението IGF-1/IGFBP-3 биха допринесли за по-пълното диагностициране и оптимизиране на лечението с рчРХ сред нашите пациенти с ДРХ.

Неотслабващият научен интерес към установяване на етиологията на ниския ръст, развиването на модели за неговото лечение, изследването на нови биомаркери в диагностичния и терапевтичния процес, както и въвеждането в световен мащаб на предиктивни модели за оценка на ефекта от терапията с рчРХ, определиха избора на темата на настоящата работа, нейната цел и основни задачи, базирани на следните формулирани предпоставки:

I.2. Предпоставки:

1. Липса на съвременни обобщени данни за крайните резултати от прилагания терапевтичен подход при деца с ДРХ в нашата страна.
2. Сравнително малко международни и липса на национални данни относно използването на IGF-1, IGFBP-3 и отношението IGF-1/IGFBP-3 като рутинни биомаркери при проследяването на терапията с рчРХ.
3. Усъвършенстване на клиничната лаборатория през последните години, което позволява изследването на нови биомаркери за изясняване на етиологичните причини за хипосоматотропизъм и проследяване на ефекта от лечението.
4. Липса на данни за разпространението на дефицит на ALS у нас.
5. Огромен интерес към прилагането на нови предиктивни модели за ефекта от лечение с рчРХ в света, които да допълнят терапевтичния подход и да позволят индивидуализиране на дозирането на рчРХ.
6. Наличие на подходяща добре фенотипирана и проследена група за изследване – децата с различни форми на ДРХ, лекувани в Клиниката по Педиатрия към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна след 2011 г.

I.3. Цел:

Да се оцени ролята на някои биомаркери и терапевтични подходи в диагностично-лечебния процес при деца с дефицит и на лечение с растежен хормон, както и да се оцени тяхната ефективност за подобряване на резултатите от лечението с рчРХ.

I.4. Задачи:

1. Да се създаде регистър на лекуваните с рчРХ деца към Първа детска клиника с ДООИЛ, УМБАЛ „Св. Марина“, гр.Варна, пациенти на Варненския експертен център за редки ендокринни болести (ВЕЦРЕБ).
2. Да се проучат практиките за започване и осъществяване на лечение с рчРХ във ВЕЦРЕБ за 10 годишен период (2011 – 2020 г.).
 - 2.1. Да се анализират ретроспективно данните на пациентите при започване и по време на лечение с рчРХ за периода 2011-2016 г.
 - 2.2. Да се проследят проспективно същите данни за периода от 2017-2020 г. и да се сравнят със собствените ретроспективни данни и с международни проучвания.
 - 2.3. Да се анализират терапевтичните модалности за периода 2011 – 2020 г., включващи проследяване на рутинно изследвани лабораторни параметри при започване и продължаване на лечението с рчРХ.
3. Пациентите с ДРХ да се сравнят с други лекувани с рчРХ групи от пациенти (синдром на Търнър), лекувани във ВЕЦРЕБ.

4. Да се изследват серумните нива на IGF-1, IGFBP-3 и отношението IGF-1/IGFBP-3, с цел оценка на приложимостта им при диагнозата и ролята им в мониториране на отговора на лечението с рчРХ.
5. Да се проучи разпространението на дефицит на ALS сред изследваната група пациенти.
6. Да се регистрират децата на терапия с рчРХ в платформа, която е базирана на специфични алгоритми с цел прогнозиране на растежната скорост, оценка на ефекта от лечението и достигането на таргетния ръст (iGro). Да се сравнят резултатите с постигнатите при емпирично дозиране на рчРХ.

II. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

II.1. Участници

В настоящото проучване са включени общо 120 деца - 92 деца с ДРХ (изолиран, множествен или органичен) и 28 деца с генетично доказан синдром на Търнър (СТ) или вариант на СТ, които провеждат лечение с рчРХ към ВЕЦРЕБ.

Критерии за участие (включващи критерии):

1. Доказан хипосоматотропизъм/ДРХ - изолиран или множествен;
2. Наличие на органичен ДРХ (постоперативен, пострадиологичен и др.);
3. Генетично доказан СТ или вариант на СТ;
4. Възраст от 0 до 18г;
5. Провеждане на лечение с рчРХ;

Изключващи критерии:

1. Други тежки придружаващи заболявания, компрометиращи растежа;
2. Поява на злокачествено новообразувание;
3. Затваряне на епифизарните фуги;
4. Проява на непоносимост към рчРХ;
5. Участие в клинично изпитване на нов препарат рчРХ;
6. Липса на придържане към назначената терапия;

II.2. Дизайн на проучването

Проучването за диагностичните и терапевтични подходи в Клиниката по педиатрия от 3-то ниво към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна и въвеждането на нови биомаркери, като средство за оценка на терапията с рчРХ, се извърши в рамките на няколко подпроучвания:

2.1. Ретроспективно проучване тип *одит* на лечението на деца с ДРХ за периода 2011 – 2016 г. и създаване на регистър на децата с ДРХ

В края на 2016 г. бе осъществено събиране и обобщаване на наличната медицинска документация и бе създаден регистър на децата с хипосоматотропизъм, лекувани в Първа детска клиниката с ДООИЛ към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна.

От досиетата на пациентите, лекувани с рчРХ между 2011 и 2016 г., са събрани следните данни ,:

- пол,
- възраст (год. и месец, до десетичен знак),
- тегло (kg, до десетичен знак) и ръст (cm, до десетичен знак) преди започване на терапията,
- таргетен ръст ($cm \pm 2SD$),
- стойности на растежен хормон (ng/ml) при провеждане на два стимулационни теста,
- костна възраст преди лечение (год., и в SD за сравнение с атласа на Greulich&Pyle),
- серумни нива на IGF-1 (ng/mL),

- образно изследване на хипоталамус-хипофиза (ЯМР),
- начална доза на рчРХ (mg/kg/дневно),
- възраст при начало на пубертетно развитие,
- достигнат ръст в края на първата година от лечението (cm),
- допълнителни хормонални дефицити и/или заболявания.

Всички параметри с правилно разпределение са представени като средни стойности \pm SD.

Дозата на рчРХ, ръстът, телното, костната възраст и серумните нива на IGF-1 са проследени през първата и втората година от началото на терапията. Ръстът и растежната скорост (cm/год.) са представени като разликата между ръста преди започване на лечение и измерването му след 12 ± 3 мес. лечение. Модалността на ръста и нивата на IGF-1 през първата и втората година са представени чрез SDS, пресметнато с калкулатора на CDC (<https://www.cdc.gov/growthcharts>) за съответните възраст, пол и пубертетен стадий.

Повишаването на SDS на ръста с $\leq 0,5$ е прието за слаб отговор към терапията през първата година, а с повече от 0,5 като добър отговор.

2.2. Проспективно проучване, включващо събиране на данните за лечението на децата с ДРХ при всяка визита в клиниката до края на 2020 г.

През 2016 г. бе създаден Варненски експертен център по редки ендокринни болести (ВЕЦРЕБ) към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна, който от 2017 г. е част от проекта на ЕК „Европейски мрежи за редки болести“ и по-специално част от Endo ERN (www.endo-ern.eu). През 2018 г. ВЕЦРЕБ успешно премина европейски одит по документи и на място.

За периода 2017 – 2020 г. бе извършено проспективно събиране на гореизброените данни за диагностиката и лечението на деца с ДРХ и бе обновен новосъздаденият регистър на децата с хипосоматотропизъм, които се лекуват към клиниката и са част от ВЕЦРЕБ.

Анализираха се данните за целия период на проучването 2011-2020 г. Направено бе сравнение между диагностичните и терапевтични подходи при деца с ДРХ за двата периода – 2011-2016 г. и 2017-2020 г. Данните бяха анализирани и сравнени с други лекувани с рчРХ групи от пациенти (синдром на Търнър).

2.3. Проспективно проучване, включващо изследване на серумните нива на IGFBP-3 и определяне на отношението IGF-1/IGFBP-3 за установяване на значението им при диагностиката и мониторирането на терапията с рчРХ.

В Клиниката от 2014 г. се изследва IGF-1 като биомаркер при проследяване ефекта от лечението с рчРХ и за целите на безопасността от това лечение. През 2019 г. в клиниката се въведе изследването на серумните нива на IGFBP-3 като нов биомаркер за мониториране на терапията с рчРХ, което позволи изчисляване на отношението IGF-1/IGFBP-3. Кръвните проби бяха събирани и изследвани по време на рутинните визити на пациентите в клиниката. Съгласно изискванията на НЗОК, проследяването на

пациентите с ДРХ се извършва мин. три пъти през първата година от лечението – на 3-ти, 9-ти и 12-ти месец, след което проследяването се осъществява рутинно през шест месеца, с допълнителни визити в клиниката само при клинична необходимост. Пробовземането се извърши за периода декември 2019 - декември 2021, като обхвана 92 деца с доказан ДРХ, които са започнали лечение с рчРХ. Общият брой изследвани кръвни проби бе 158, като лонгитудинално (с повече от една проба) са изследвани 45 (48,9%) от участниците. Основен допълнителен критерий за включване на пациенти в анализа бе подписване на информирано съгласие за участие в проучването от родител/настойник.

2.4. Скрининг на наличната кохорта от пациенти за наличие на дефицит на ALS

Скринирането за наличие на дефицит на ALS се извърши сред 71 от пациентите с ДРХ. Към задължителните критерии за включване в проучването бяха добавени подписано информирано съгласие от родител/настойник поради получаване на серумна проба извън рутинните при проследяване в Клиниката и лечение с рчРХ най-малко 3 месеца преди вземане на пробата. Кръвните проби бяха събрани по време на рутинните визити на пациентите в клиниката през 2020 г.

Родителите/настойниците на всички участници подписаха информирано съгласие преди започване на проспективните проучвания за изследване на серумните нива на IGFBP-3 и събиране на материал за извършване на скринингово изследване за дефицит на ALS, след обстоен разговор и подробно запознаване с целите на изследванията.

Протоколът на проучванията (№81/28.02.2019г.) бе одобрен от Комисията по етика на научните изследвания (КЕНИ) към Медицински университет – Варна.

2.5. Регистриране на децата в онлайн платформата iGRO, която е базирана на специфични алгоритми с цел прогнозиране на растежната скорост, и извършване на сравнителен анализ между емпиричното дозиране на рчРХ от Специализираната комисия за отпускане на рчРХ на деца и комерсиалния модел за индивидуализиран подход на лечението. (<https://igro-gh.bg/bg/>)

II.3. Методи

3.1. Анкетен метод

По време на първата визита е проведено интервю с пациентите, включващо подробно събиране на анамнестични данни, характеристика на бременността, данни от раждането и неонаталния период, информация за фамилна обремененост с хронични заболявания, хранителни навици, предходни и придружаващи заболявания и прием на медикаменти.

3.2. Антропометрия

Всички антропометрични изследвания са осъществени от лекар от клиниката при всяка визита на пациента, с използване на един и същ инструментариум и при еднакви условия.

Ръстът се определи със стандартен HARPENDER закрепен на стената метър и бе отчетен с точност 0,1 cm при изправен стоеж и глава, плътен допир дозадната повърхност на тил, гръб, седалище, прасци и пети. Главата бе позиционирана във хоризонтална Франкфуртска равнина с лека тракция от страна на измерващия. Пациентите са изследвани без обувки. Извършиха се две последователни измервания и се взе средноаритметичната стойност.

Родителите на децата бяха измерени по същия начин. От техния ръст се изчисли за всяко дете среден таргетен ръст (ТР) (по Tanner).

$$\text{ТР момче} = [\text{Рбаща} + (\text{Рмайка} + 13)]/2$$

$$\text{ТР момиче} = [(\text{Рбаща} - 13) + \text{Рмайка}]/2$$

Като таргетен обхват се прие $\text{ТР} \pm 9$ cm за момчета и $\text{ТР} \pm 7.5$ cm за момичета.

За оценка на ръста и теглото са използвани референтните растежни криви за съответните възраст и пол на Центъра за контрол на заболяванията към Националния здравен институт на САЩ (www.cdc.gov/growthcharts) от 2000 г.

Индексът на стандартно отклонение на ръста на участниците (SDS) е изчислен чрез приложението на Центъра за контрол на заболяванията на САЩ от 2000 г. (<https://peditools.org/growthpedi>). Модалността на ръста през първата и втората година от започване на лечение са представени чрез *ΔSDS*, пресметнато с калкулатора на CDC (<https://www.cdc.gov/growthcharts>) за съответните възраст, пол и пубертетен стадий.

Стандартното отклонение на ТР е изчислено по формулата на Hermanussen:

$$\text{SDS}_{\text{ТР}} = \text{SDS}_{\text{рмайка}} + \text{SDS}_{\text{рбаща}}/2 \times 0,72$$

Теглото се определи с точност до 0,1 kg посредством калибрирана дигитална везна SECA 861 (SECA Ltd, Hamburg, Germany), като бе спазено правилото всяко дете да е без обувки и с леко облекло.

Индексът на телесна маса (ИТМ) се изчисли по стандартната формула за всеки участник:

$$\text{ИТМ (BMI)} = \text{Тегло (kg)}/\text{ръст}^2 (\text{m}^2)$$

Като достигнат краен ръст (КР) е приеман растеж при намалена растежна скорост < 2 cm/год. и достигане на костна възраст ≥ 16 год.

3.3. Клиничен преглед

По време на всяка визита се осъществи обстоен физикален преглед за определяне на обективното състояние на пациентите, като бе обърнато особено внимание на растежната скорост, белезите за начеващо пубертетно развитие, наличие на дисморфични белези, пропорциите на тялото, интактност на местата на поставяне на рчРХ и възникнали странични ефекти и усложнения от лечението.

Стадият на пубертетно развитие бе определен въз основа на вторичните полови характеристики по скалата на Tanner. Като започнал пубертет при момичетата е

отчитано наличието на гърдна пъпка и/или пубархе II ст., а при момчетата – наличието на тестикуларен обем ≥ 4 ml, определен с орхидометър на Prader.

3.4. Лабораторни методи

Всички биохимични и хормонални изследвания се правеха сутрин, на гладно, след 12-часов нощен период на гладуване, в Клинична и имунологична лаборатория към УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна след центрофугиране на еднократно взета, при максимално щадене на пациента, венозна кръв и отделяне на серум. На всяка визита се правеха рутинните изследвания, изисквани за започване и продължаване на лечение с рЧРХ през 3-6 месечни интервали.

➤ Биохимични методи

Изследването на хематологичните показатели (ПКК), биохимичните показатели (кръвна глюкоза, урея, креатинин, АСАТ, АЛАТ, ГГТ, АФ) и гликиран хемоглобин (HbA1c%) е рутинно и резултатите са сравнени с референтните стойности на горепосочената лаборатория за мониторинг на терапията с рЧРХ и отчитане на коморбидност. Лабораторните методи, използвани за изследване на биохимичните параметри, са:

- Хемоглобин (g/L) – автоматична колориметрия;
- Еритроцити ($10^{12}/L$), левкоцити ($10^9/L$), лимфоцити (%), моноцити (%), гранулоцити (%), тромбоцити ($10^9/L$) – автоматично апаратно преброяване;
- Кръвна глюкоза (КГ) (mmol/l) – хексокиназен метод на апарат Olympus AU400; референтни граници – 3,3 – 5,6 mmol/l;
- Аспартат аминотрансфераза (АСАТ) (U/l)– IFCC методика, при температура 37°C, референтни граници – 0 – 34 U/l;
- Аланин аминотрансфераза – (АЛАТ) (U/l)- IFCC методика, при температура 37°C, референтни граници – 10 – 49 U/l;
- Гама-глутамил трансфераза (ГГТ) (U/l) - IFCC методика, при температура 37°C;
- Алкална фосфатаза (АФ) (U/l) - IFCC методика, при температура 37°C, референтни граници – 42 - 406 U/l;
- Урея (mmol/l) – уреазен метод, референтни граници – 3,2 – 8,2 mmol/l;
- Креатинин (mmol/l) – кинетичен метод Jaffe, апарат Olympus AU400, референтни граници – 18 – 62 mmol/l;
- Гликиран хемоглобин (HbA1c%) (%) – имунотурбидиметричен анализ, апарат Olympus AU400, референтни граници – 4,00 – 6,00 %.

Съгласно препоръките на НЗОК стойности на HbA1c% над 6,5% са изключващ критерий за започване на лечение с рЧРХ, а стойности над 7,5% са изключващ фактор за продължаване на терапията.

➤ Хормонални методи

Изследването на базалните нива на хормоните се извърши от взетата кръв в Клинична и имунологична лаборатория към УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна. Рутинно се проследиха при всяка визита свободен тироксин (FT4), тиреостимулиращ хормон (TSH), гонадотропини (лутеинизиращ хормон, LH и фоликулостимулиращ хормон, FSH) и полови стероиди според пола на участника (естрадиол, тестостерон) при възраст над 10 години. Еднократно се изследваха и стойностите на пролактин.

От обичайно взетата кръв са изследвани нивата на IGF-1, IGFBP-3, PХ и антитела срещу цъолиакия.

Хормоналните изследвания се извършиха по следните аналитични методики:

- TSH (uIU/ml) – хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison; аналитичен обхват на метода от <0,1 до > 25 uIU/ml.
- FT4 (pmol/L) - хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison; аналитичен обхват на метода 0-80 pmol/L
- LH (mIU/ml) - хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison;
- FSH (mIU/ml) - хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison;
- Estradiol (pmol/L) - хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison;
- Testosteron (nmol/L) - електрохемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison; аналитичен обхват на метода 0,3-50 nmol/L
- Prolactin (uIU/ml) – хемилуминесцентен имуноанализ, апарат Liaison;
- Свободен кортизол в 24-часова урина ($\mu\text{g}/24\text{h}$) – конкурентен хетерогенен хемилуминесцентен имуноанализ, измерен е на имунологичен анализатор – Adiva Centaur CP, аналитичен обхват на метода – 0,20 – 75 $\mu\text{g}/\text{dL}$;
- Антитела за цъолиакия (IU/ml) – ELISA метод, аналитичен обхват 0 – 200 IU/ml;
- Растежен хормон (ng/ml) - конкурентен хетерогенен хемилуминесцентен имуноанализ на материал от серум, измерен е на имунологичен анализатор Immulite 2000. Аналитичен обхват на метода – 0,05 – 40 ng/ml, чувствителност – 0,01 ng/ml.
- IGF-1 (ng/ml) - конкурентен хетерогенен хемилуминесцентен имуноанализ на материал от серум, измерен на имунологичен анализатор Immulite 2000, съгласно инструкциите на производителя. Аналитичният обхват на метода е 15-1000 ng/ml , чувствителност – **20 ng/ml**.
- IGFBP-3 (ng/ml) - конкурентен хетерогенен хемилуминесцентен имуноанализ на материал от серум, измерен е на имунологичен анализатор Immulite 2000, съгласно инструкциите на производителя. Реактивът за IGFBP-3 е IML/ 2000 IGFBP-3 200T. Аналитичната чувствителност на метода е **100 ng/ml**.
- ALS (mg/L и ng/ml) – ELISA метод. Използваният реактив за ALS е Human ALS / Insulin Like Growth Factor Binding Protein ELISA (Reagent ELISA Genie). Аналитичният обхват на метода е 1,563 – 100 ng/ml. Чувствителността на теста е 0,938 ng/ml, а интра- и интер – коефициентите на вариация на теста са < 8% и < 10% съотв. Събраните кръвни проби от визитите на пациентите се центрофугираха за отделяне на серум, Отделеният серум е съхраняван във фризер при съответните условия (-80°C) за едновременно извършване на лабораторните анализи. Вечерта преди изследването серумните проби бяха извадени от фризера на стайна температура за постепенно размразяване. На следващата сутрин се направи разреждане със стандартен разтвор, съгласно инструкциите на производителя. Резултатите са представени в ng/ml и mg/L.

Стандартното отклонение на ALS (SDS_{ALS}) е представено съгласно референтните стойности за пол и възраст.

Стандартното отклонение на IGFBP-3 ($SDS_{IGFBP-3}$) е представено съгласно референтните стойности за пол и възраст.

Отношението IGF-1/IGFBP-3 бе изразено като директно отношение между стойностите на IGF-1 и IGFBP-3, представени в ng/ml. Използването на китове за изследване на двата биомаркера на един и същ производител и прилагането на еднакъв валидиран лабораторен метод позволи интерпретирането на отношението IGF-1/IGFBP-3 без допълнителни изчисления. С цел сравнение на данните с резултатите от проучвания в литературата, стойностите на IGF-1/IGFBP-3 бяха представени като стандартно отклонение ($SDS_{IGF-1/IGFBP-3}$), съгласно референтните стойности за пол и възраст и бяха изчислени по гореописаната специфична формула.

➤ Тестове за стимулирана секреция на РХ

Венозните проби на пациентите бяха оставяни на стайна температура за 30 min с последващо центрофугиране с центрофуга модел Ilettich, D-78532 Tuttlingen. Всички проби бяха съхранявани според инструкциите на производителя. Анализът бе осъществен в Клинична и имунологична лаборатория на УМБАЛ „Св. Марина“ - гр. Варна.

Тестовите за стимулирана секреция на РХ са проведени по метода на Ranke от 2011 г. като са използвани спонтанна и инсулин-индуцирана хипогликемия, глюкагон, аргинин и клонидин. При всеки пациент са проведени мин. 2 стимулационни теста, съгласно с изискванията на НЗОК за диагностика на дефицит на РХ. Стойностите на РХ са отчетени при тест с инсулин на 0, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минута. При тестовите с глюкагон, клонидин и аргинин стойностите на РХ са отчетени на 0, 60, 120, 150 и 180 минута. За потвърждение на диагнозата дефицит на РХ се приема максимален отговор на РХ в хода на провокиращи тестове < 10 ng/ml във всички точки на пробонабирането и при всички тестове.

Таблица 1. Време на пробовземане за изследване на максималната секреция на РХ по време на стимулационни тестове с различни фармакологични стимули (по Ranke 2011)

Фармакологичен стимул	0'	15'	30'	45'	60'	90'	120'	150'	180'
инсулин	+	+	+	+	+	+	+	-	-
глюкагон	+	-	-	-	+	-	+	+	+
клонидин	+	-	-	-	+	-	+	+	-
аргинин	+	-	+	-	+	+	+	-	-

3.5. Образни методи

Определянето на костната възраст (КВ) се осъществи чрез рентгенова снимка на лява китка, длан и пръсти, направена в Клиниката по образна диагностика към УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна от лекар рентгенолог. Всяка снимка е преразгледана от специалист детски ендокринолог за определяне на костното съзряване по атласа на Greulich-Pyle, съгласно практиките във водещите световни центрове. Контролна

рентгенография за оценка на промяната в КВ е правена на всеки 12 месеца. Стандартното отклонение на КВ (SDS_{KB}) е пресметнато по стандартите за хронологична възраст и пол.

При повечето пациенти е проведено образно изследване на главен мозък за изследване на селарната и супраселарната област (компютърна томография – КТ или ядрено-магнитен резонанс - ЯМР) от екип рентгенолози и анестезиолог в Клиниката по образна диагностика към УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна.

Ехографско изследване и ехокардиографско изследване са провеждани при пациентите със синдром на Търнър според изискванията на международното ръководство за диагностика и лечение.

3.6. Молекулярно-генетични методи

Цитогенетичен метод е използван при всички деца с НР за отхвърляне или доказване на синдром на Търнър. Анализът се извършва рутинно в Лабораторията по медицинска генетика към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна.

При някои от децата е извършен скрининг за мутации в гените PROP1 и HESX1. Приложен е молекулярно-генетичен анализ за търсене на патогенни варианти.

3.7. Фундоскопия

Оглед на очни дъна (фундоскопия) е извършвана веднъж годишно от лекар невроофтальмолог към Клиниката по неврология към УМБАЛ „Св. Марина“ – гр. Варна, след прилагане на мидриатични капки за очи 20 минути преди изследването. Всички деца, започнали лечение с рЧРХ, се проследяват през интервал от 12 месеца.

3.8. Статистически методи

При обработка на данните бяха 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. Дескриптивни методи
 - Честотен анализ на качествени променливи - за изчисляване на абсолютни и относителни честоти
 - Вариационен анализ на количествени променливи – за изчисляване на средна величина (средна аритметична стойност, медиана), стандартно отклонение (SD), 95 % доверителен интервал (CI), доверителна вероятност – p.
3. Метод на стандартизацията – при анализа на антропометричните резултати е използвана стандартизацията чрез изчисляване на индекс на стандартно отклонение – SDS, по формулата:
$$SDS = \frac{X - X_{cp}}{SD}$$
където X_{cp} е средната аритметична на даден признак в популацията, а SD е стандартното отклонение на признака в еталонна популация.

4. Графичен метод – за онагледяване на резултатите са използвани линейни и плоскостни графични изображения, кръгови диаграми и др. диаграми
5. Параметрични методи - използван е t-test на Student – за сравняване на средни аритметични стойности
6. Непараметрични методи – за анализ на категорийни променливи величини е използван хи-квадрат (χ^2) критерий на Pearson (r) и непараметричен корелационен коефициент на Spearman (R).
7. Корелационен анализ – за определяне на еднопроменливи коефициенти на линейна корелация по Pearson (r)

При оценка на някои признаци е използван и парциален множествен корелационен анализ, където при оценка на връзката между две променливи е отчетено влиянието и на други фактори, напр. пол, възраст и др. Корелационният коефициент r може да приема стойности между 0 и -1 при обратно пропорционална връзка и между 0 и +1 при права. Оценка на силата на взаимовръзката между два признака чрез коефициента на корелация r е:

- Ако r е под 0,30 – слаба корелация
- Ако r е между 0,30 и 0,50 – умерена корелация
- Ако r е между 0,50 и 0,70 – значителна корелация
- Ако r е между 0,70 и 0,90 – силна корелация
- Ако r е над 0,90 – много силна корелация

Сравняването на отделните параметри се осъществи чрез прилагане на няколко статистически модела, а в глава „Резултати“ са представени по-значимите резултати.

8. Линеен регресионен анализ – приложен е за установяване на зависимост между проучваните зависими и независими променливи. Получените регресионни модели представят зависимата променлива като резултат от различни комбинации от независими или предикторни признаци

Обобщението на данните е представено като проценти (%), стандартно отклонение (SD), а някои променливи като средни (\pm) или срединни стойности. Анализите са изготвени чрез софтуера IBM SPSS for Windows (ver. 21,0). За статистически значими са приети резултати с $p < 0,05$.

III. РЕЗУЛТАТИ

III.1. Ретроспективно проучване тип одит на лечението на деца с ДРХ за периода 2011 – 2016 г. и създаване на регистър на децата с хипосоматотропизъм

В края на 2016 г. бе направено ретроспективно проучване тип *одит* относно практиките при започване и осъществяване на лечение с рчРХ в Първа детска клиника с ДООИЛ към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна, за 5 годишен период (2011-2016 г.). Цялата информация бе събрана от досиетата на пациентите, анонимизирана и анализирана със статистически софтуер.

Проучването послужи за създаване на регистър на децата с хипосоматотропизъм. Всички налични данни за пациента, растежа и физическото му съзряване, фамилна обремененост, резултати от лабораторни, образни и генетични изследвания, както и лечението до момента на създаване на регистъра бяха въведени в табличен вид. (Фиг.2)

Фигура 2. Регистър на децата с хипосоматотропизъм.

За всеки пациент се създаде индивидуално досие, в което бяха поставени наличните данни от епикризи, резултати от изследвания, растежна графика с индивидуална растежна крива, копия от решенията и експертните становища на Специализираната комисия за лечение с рчРХ.

Към момента на извършване на настоящия анализ (декември 2020 г.) в регистъра са вписани общо 133 деца на терапия с рчРХ, от които 79 деца с изолиран ДРХ и МТД, 28 деца със синдром на Търнър, 19 деца със синдром на Прадер-Вили и 7 с генетично доказан синдром на Силвър-Ръсел.

В анализа за диагностичните и терапевтични модели в Клиниката за периода 2011 - 2016 г. бяха включени **46 деца** (32 момчета, 69,6%), които са диагностицирани с изолиран ДРХ или МТД и имат поне една пълна година лечение с рчРХ до извършване на анализа. Децата със синдром на Прадер-Вили бяха изключени от настоящия анализ за постигане на максимална обективност на резултатите. Участниците са проследени в рамките на общо **3 167** пациенто-месеца. Пет от децата (10,8%) са започнали лечение в друго лечебно заведение и по-късно са се прехвърлили към Клиниката, но също имат мин 1 год. период на проследяване на лечението. Основните характеристики на

участниците, разделени по пол, преди започване на лечение с рчРХ са представени в табл. 2. Видно е значителното изоставане в теглото ($-1,9 \pm 1,5$ и $-2,9 \pm 1,3$) и съответно ВМІ ($-0,2 \pm 0,8$ и $-1,0 \pm 0,9$) при момчетата, в сравнение с момчетата. Останалите параметри не показват статистически значима разлика.

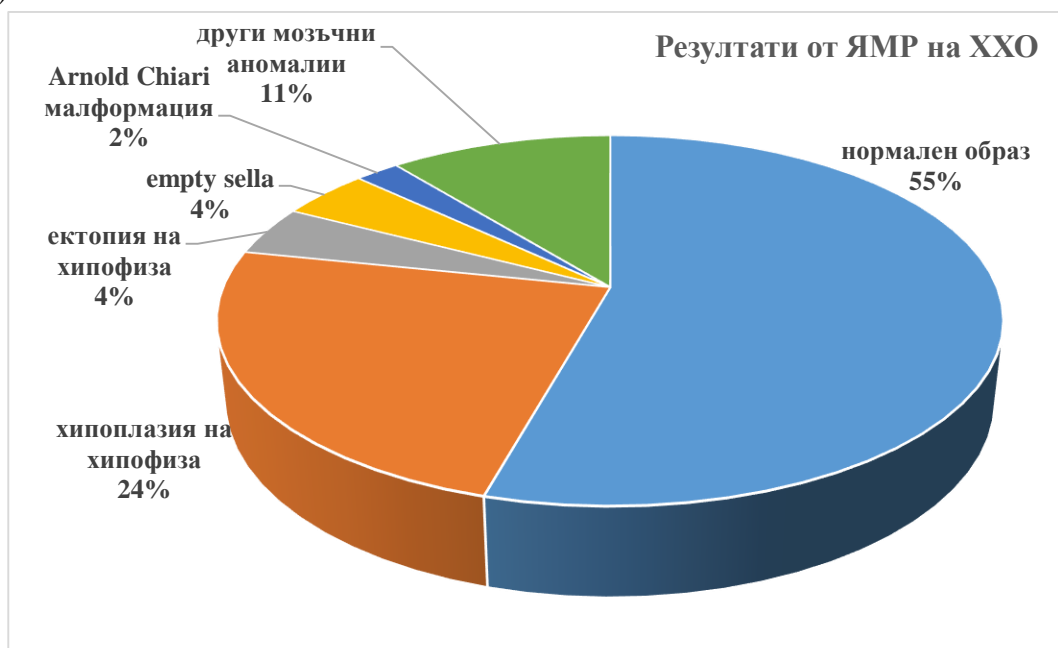
Таблица 2. Основни показатели на участниците преди започване на терапия с рчРХ за периода 2011-2016 г. Резултатите са представени в средни стойности $\pm SD$. * $p < 0,001$, # $p < 0,05$

ПОКАЗАТЕЛ	МОМЧЕТА	МОМИЧЕТА
Възраст при начало на терапия (год.)	$7,3 \pm 3,4$	$8,4 \pm 3,1$
SDS _{ТР}	$-0,3 \pm 0,6$	$-0,6 \pm 0,5$
SDS _{ръст}	$-2,9 \pm 1,1$	$-3,3 \pm 1,3$
SDS _{тегло}	$-1,9 \pm 1,5$	$-2,9 \pm 1,3^*$
SDS _{ВМІ}	$-0,2 \pm 0,8$	$-1,0 \pm 0,9^{\#}$
SDS _{IGF-1}	$-1,4 \pm 1,2$	$-1,8 \pm 1,3$
SDS _{КВ}	$-3,3 \pm 1,3$	$-3,1 \pm 1,4$

От всички пациенти 9 (19,5%) са с МТД (6 момчета, 3 момичета). Девет участници (19,5%) са проявили допълнително вторичен хипотиреоидизъм по време на проследяването.

При всички деца е проведено изследване с ЯМР преди лечение, а резултатите са обобщени на фиг. 3.

Фигура 3. Резултати от ЯМР на ХХО преди започване на лечение с рчРХ. (2011-2016г.)



Стимулационните тестове за секреция на РХ са рутинна част от диагностичния процес в Клиниката, тъй като за поставяне на диагнозата дефицит на РХ (=хипосоматотропизъм) се изискват поне 2 положителни теста. Тест с глюкагон е

извършен при 69,5% от децата, при 52,1% е приложен тест с инсулин. При останалите пациенти са проведени тестове с аргинин (7,2%), с клонидин (2,9%) или спонтанна хипогликемия (14,5%).

Средните достигнати пикови стойности на РХ по време на тест с глюкагон са $2,3 \pm 2,5$ ng/ml, при тест с инсулин $4,7 \pm 2,8$ ng/ml, с аргинин $2,8 \pm 1,5$ ng/ml, а при спонтанна хипогликемия $2,0 \pm 3,5$ ng/ml.

Средната възраст на участниците преди започване на терапия с рчРХ е $7,3 \pm 3,7$ г. (между 0,5 и 16,5 г.). Всички пациенти са започнали лечение с един от двата разрешени за употреба препарати в България за периода на проучването, с ежедневно подкожно поставяне на рчРХ. Родителите и настойниците са предварително обучени от екип в Клиниката (1 лекар и 2 сестри) как да съхраняват и прилагат рчРХ. По правило първото поставяне се извършва в Клиниката от родителя/настойника под наблюдението на екипа. Решенията за начална доза са вземани изцяло след индивидуална преценка на случая от Специализираната комисия за отпускане на рчРХ.

Средната начална доза на лечение с рчРХ е $0,028 \pm 0,004$ mg/kg/дневно, а средната доза за първата година от лечението е $0,030 \pm 0,009$ mg/kg/дневно. През този период **26 (60,5%)** пациенти започват лечение с доза $< 0,030$ mg/kg/дневно, а при **17 (39,5%)** дозата е $\geq 0,030$ mg/kg/дневно.

Проследяването на растежната скорост, промяната в ръста, стойностите на IGF-1 и КВ като маркери за ефикасност и безопасност на терапията с рчРХ, и средната доза на рчРХ за първите две години лечение са обобщени в табл. 3.

Таблица 3. Проследяване на параметрите за ефикасност и безопасност от терапията с рчРХ за първите две години лечение.(2011-2016г.) Резултатите са представени в средни стойности \pm SD. * $p < 0,001$

	ПРИ ЗАПОЧВАНЕ НА ЛЕЧЕНИЕ	I-ВА ГОДИНА ЛЕЧЕНИЕ	II-РА ГОДИНА ЛЕЧЕНИЕ
Ръст (SDS)	$-3,0 \pm 1,2^*$	$-2,1 \pm 1,2^*$	$-1,5 \pm 1,2$
Доза на рчРХ (mg/kg/дн)	$0,028 \pm 0,004$ (медиана 0,027)	$0,030 \pm 0,009$ (медиана 0,030)	$0,029 \pm 0,004$ (медиана 0,031)
Растежна скорост (cm/год)	-	$9,1 \pm 2,3$	$7,3 \pm 2,6$
Δ SDS	-	$0,8 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,3$
SDS _{IGF-1}	$-1,5 \pm 0,8^*$	$0,8 \pm 1,8^*$	$1,4 \pm 1,3$
SDS _{КВ}	$-3,2 \pm 1,4^*$	$-2,4 \pm 1,5^*$	$-1,8 \pm 1,7$

Растежна скорост за първата година ≥ 10 cm е установена при **21 (48,8%)** от пациентите. Отговор към терапия с рчРХ с Δ SDS_{ръст} $\geq 0,5$ през първата година лечение е наблюдаван при **36 (83,7%)** от участниците. По-голяма промяна на Δ SDS_{ръст} през втората година лечение, в сравнение с първата, е установена при **4 (8,7%)** от децата, а по-добра РС през втората година са постигнали **11 (23,9%)** от тях.

При 6 (13%) от участниците с МТД е извършено генетично изследване, което открива при 1 (2,1%) от децата мутация в гена HESX1.

Пубертетно развитие е настъпило при 31 (67,4%) от пациентите на средна възраст $10,9 \pm 1,6$ г. Средната възраст на начало на пубертета при момчетата ($n=21$) е $10,8 \pm 1,3$ г., а при момичетата ($n=10$) е $11,2 \pm 1,7$ г. Пет от децата (10,8%) са започнали лечение с рчРХ в пубертетна възраст.

През изследвания период 11 (23,9%) от проследяваните деца достигат краен ръст, който е средно $-0,7 \pm 1,0$ SDS ($165,1 \pm 13,4$ cm), а средното постигнатото Δ SDS за целия период на тяхното лечение е $1,72 \pm 1,1$. (табл. 4)

*Таблица 4. Сравнение между достигналите краен ръст момчета и момичета за периода (2011-2016г.) Резултатите са представени в средни стойности \pm SD. * $p < 0,001$.*

	момчета	момичета
Краен ръст (cm)	$175,1 \pm 8,3$	$153,2 \pm 5,8$
SDS _{КР}	$-0,2 \pm 0,8$	$-1,4 \pm 0,9^*$
Δ SDS	$2,2 \pm 1,0$	$1,3 \pm 1,2^*$
SDS _{тегло}	$0,9 \pm 1,1$	$-1,3 \pm 1,0^*$
SDS _{ВМІ}	$0,2 \pm 0,7$	$-0,6 \pm 0,9$

III.2. Проспективно проучване, включващо събиране на данните за лечението на децата с ДРХ при всяка визита в Клиниката от 2017г. до края на 2020 г.

2.1. Анализ на терапевтичния подход за периода 2017–2020 г.

През януари 2017 г. със създаването на ВЕЦРЕБ се въведе нов подход при започване на лечение с рчРХ при деца с ДРХ с фиксирана начална доза от $0,030$ mg/kg/дневно. Проспективно се допълваха данните на пациентите в новосъздадения регистър до края на 2020г. и се вписваха новите пациенти, които започват лечение.

От лекуваните в периода 2017-2020 г., в настоящия анализ са включени 36 деца (26 момчета, 78,8%), които са диагностицирани с изолиран ДРХ или с МТД, започнали са лечение с рчРХ след януари 2017 г. и имат поне една пълна година проследяване в Центъра до края на 2020г. Всички деца започнаха терапия с рчРХ във ВЕЦРЕБ, а 5 (15,1%) от тях след година бяха пренасочени за лечение и наблюдение към Клиниката по педиатрия, УМБАЛ „Г.Странски“, гр. Плевен като част от партньорската програма “Partners4Growth”. Проследяването на децата за периода 2017-2020г. обхваща 593 *пациенто-месеца*.

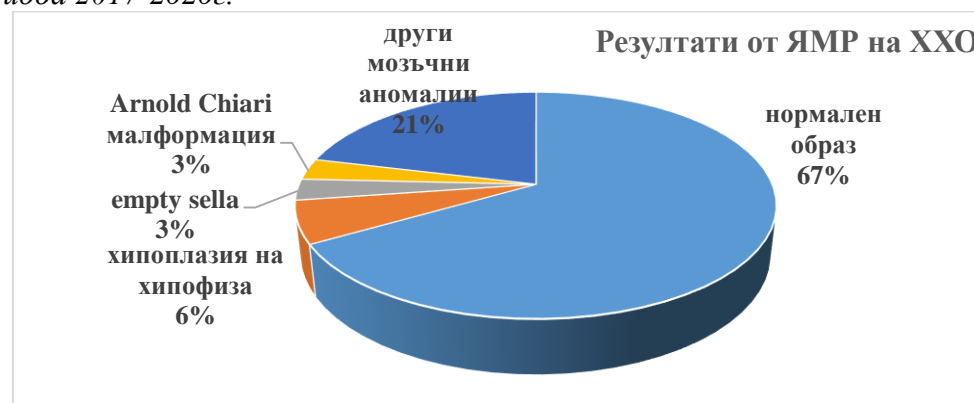
Основните изходни характеристики на участниците, разделени по пол, са представени на табл.5.

Таблица 5. Изходни характеристики на участниците, разделени по пол, за периода 2017-2020г. Резултатите са представени в средни стойности \pm SD. * $p < 0,001$

ПОКАЗАТЕЛ	МОМЧЕТА	МОМИЧЕТА
Възраст при начало на терапия (год.)	9,5 \pm 3,8	7,7 \pm 2,7*
SDS _{TP}	-0,3 \pm 0,5	-0,3 \pm 0,4
SDS _{рръст}	-2,3 \pm 1,1	-3,3 \pm 1,3*
SDS _{тегло}	-1,2 \pm 0,9	-1,8 \pm 1,2
SDS _{BMI}	-0,4 \pm 1,0	0,0 \pm 1,1
SDS _{IGF-1}	-1,4 \pm 1,2	-1,8 \pm 1,3
SDS _{KB}	-3,1 \pm 1,6	-2,6 \pm 1,5

Четири от децата (12,1%) са с МТД (2 момчета и 2 момичета), като при 2 от тях МТД е постоперативен (следпроцедурен). Вторичен хипотиреоидизъм се прояви при 2 от децата (6%), а при 1 момиче (3%) се диагностицира аутоимунен тиреоидит. Резултатите от ЯМР, проведен при всички участници, разкриват нормален образ на ХХО при 22 (66,6%), а останалите резултати са обобщени на фиг.4.

Фигура 4. Резултати от ЯМР на ХХО преди започване на лечение с рчРХ за периода 2017-2020г.



Диагностичният подход е същият, както в предходния период, а резултатите от стимулационните тестове за секреция на РХ при поставяне на диагнозата са обобщени в табл. 6.

Таблица 6. Пикови стойности на РХ по време на стимулационните тестове за поставяне на диагноза за периода 2017-2020г.

	СТИМУЛАЦИОНЕН ТЕСТ ЗА СЕКРЕЦИЯ НА РХ				
	ГЛЮКАГОН	ИНСУЛИН	АРГИНИН	КЛОНИДИН	СПОНТАННА ХИПОГЛИКЕМИЯ
n	27	24	1	1	5
Пикова стойност на РХ (ng/ml) \pm SD	4,5 \pm 2,9 (от 0,2 до 9,4)	4,6 \pm 2,7 (от 0,2 до 9)	2,48	0,26	1,3 \pm 2,1 (от 0,05 до 2,53)

Средната възраст при започване на лечение с рчРХ на децата, включени в периода на проучването, е **9,2±3,6г**. Пациентите започваха терапия с един от двата разрешени за употреба у нас и реимбурсирани от НЗОК препарати соматотропин, след обучение на родителите и по-големите деца във ВЕЦРЕБ.

Всички участници започваха своето лечение с по-висока начална доза от **0,030±0,005 mg/kg/дневно** и средна доза за първата година лечение **0,030±0,002 mg/kg/дневно**. Начална доза $\geq 0,030$ mg/kg/дневно е въведена при **23 (69,7%)** от децата, а прираст с ≥ 10 cm за първата година е наблюдаван при **15 (45,5%)** от пациентите. Добър отговор към терапия и промяна на $\Delta SDS_{ръст} \geq 0,5$ за първата година от започване на лечението се отчете при **25 (75,8%)** от децата. По-голяма промяна на $\Delta SDS_{ръст}$ през втората година лечение, в сравнение с първата, се установи при **2 (6%)** от тях, а **5 (15%)** показаха по-добра РС през втората година.

Средната доза на рчРХ и стойностите на маркерите за ефикасност и безопасност на терапията с рчРХ през първата и втората година проследяване са представени в табл.7.

Таблица 7. Основни параметри за ефикасност и безопасност на терапията и дозирането на рчРХ за 1-ва и 2-ра год. (2017-2020г.), средни стойности $\pm SD$. * $p < 0,001$.

	ПРИ ЗАПОЧВАНЕ НА ЛЕЧЕНИЕ (n=33)	I-ВА ГОДИНА ЛЕЧЕНИЕ (n=33)	II-РА ГОДИНА ЛЕЧЕНИЕ (n=10)
Ръст (SDS)	-2,3 \pm 1,2*	-1,5 \pm 1,1*	-1,4 \pm 1,0
Доза на рчРХ (mg/kg/дн)	0,030 \pm 0,005 (медиана 0,030)	0,030 \pm 0,002 (медиана 0,030)	0,032 \pm 0,001 (медиана 0,033)
Растежна скорост (cm/год)	-	9,5 \pm 2,9	8,1 \pm 1,5
ΔSDS	-	0,8 \pm 0,6	0,4 \pm 0,1
SDS_{IGF-1}	-1,3 \pm 0,9*	0,3 \pm 0,9*	0,5 \pm 0,7
SDS_{KB}	-3,0 \pm 1,4	-2,6 \pm 1,3*	-1,0 \pm 1,3*

Пубертетно развитие настъпи при **13 (42,4%)** от децата на средна възраст **11,3±1,9г**. Средната възраст при момчетата е по-висока, отколкото при момичетата (**11,8±1,7г** и **10,0±1,9г** съотв.). Преди лечение с рчРХ в пубертетна възраст са навлезли **6** от децата (**5** момчета, **15%**). Все още няма дете от тази група, което да е достигнало краен ръст.

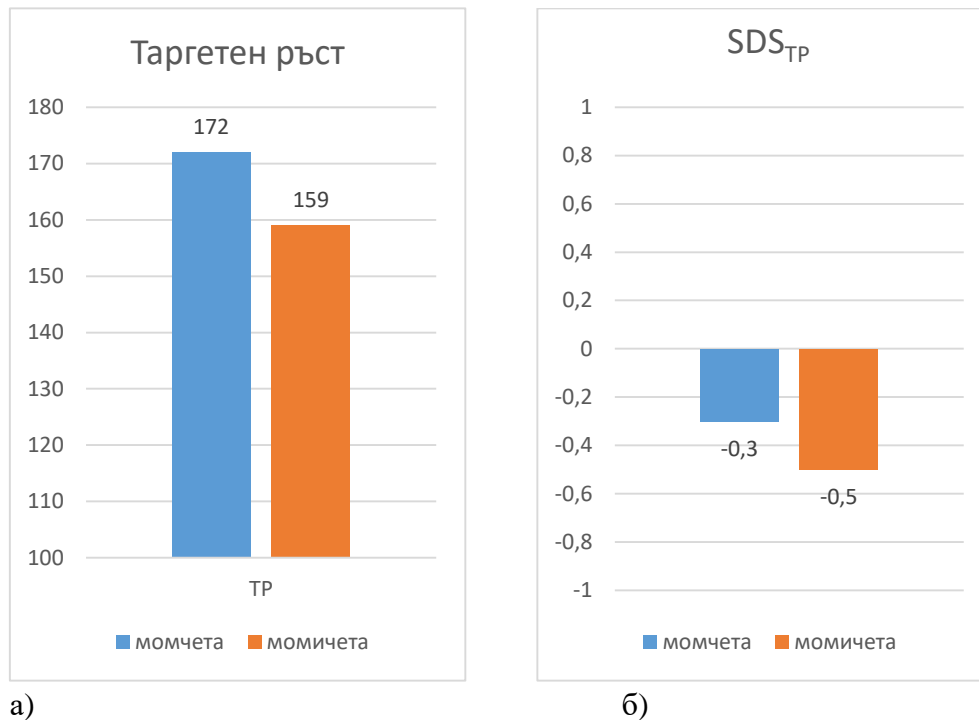
2.2. Обобщен анализ на терапевтичния модел за периода 2011-2020г.

За периода 2011-2020г. се анализираха данните на общо **79 деца** с изолиран ДРХ или МТД, които са системно проследявани в Клиниката и ВЕЦРЕБ за общо **3760 пациенто-месеци**.

Разпределението по пол сред участниците показва, че момчетата са **73,4%** (n=58), а момичетата са **26,6%** (n=21) в съотношение момчета:момичета **2,7:1**. Средната възраст на децата преди започване на лечение с рчРХ е **8,1±3,8г**. (между 0,5 и 16,5 г.), а средната възраст към момента на анализа е **12,6±3,6г**. (между 2,5 и 18 г.). Стандартното

отклонение на TP SDS_{TP} на участниците е $-0,3 \pm 0,6$, а средните стойности на TP са $168,7 \pm 8,1$ cm. (Фиг. 5 а, 5б)

Фигура 5. Средни стойности на таргетен ръст (а) и SDS_{TP} (б) на участниците, представени по пол. (2011-2020г.)



С изолиран ДРХ са 66 (83,5%), а с МТД са 13 (16,5%) от пациентите. Постоперативен МТД има при 4 (5%) от децата, като при 3 от тях (3,8% от всички; 23,1% от децата с МТД) причината е **краниофарингеом**. Вторичен хипотиреоидизъм се прояви общо при 11 (13,9%) от пациентите (момчета:момичета = 10:1) и се започна заместителна терапия с левотироксин на средна възраст $8,4 \pm 1,9$ г.

По време на физикалния преглед, лабораторните и образни изследвания на децата преди започване на терапия с рЧРХ се установиха отклонения от нормата при **12 (15,2%)** от тях:

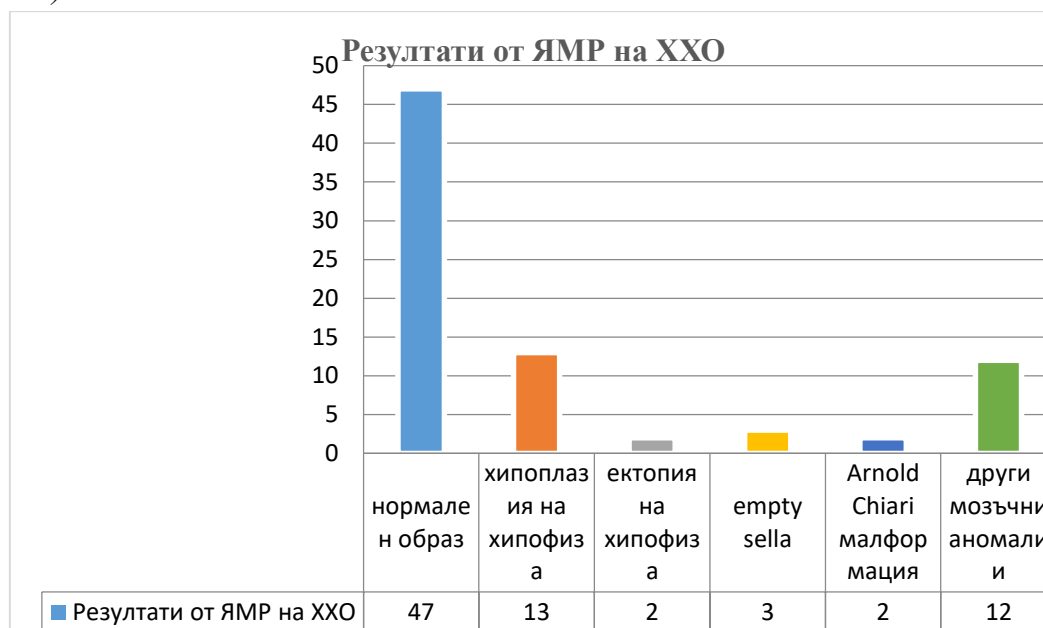
- клинодактилия на V-ти пръст на двете ръце при 4 (5%),
- сколиотични промени при 2 (2,5%),
- остеопороза при 1 (1,25%),
- деформация тип rectus carinatus при 1 (1,25%),
- бъчвовиден гръден кош при 1 (1,25%),
- двустранен крипторхизъм при 1 (1,25%),
- глутенова ентеропатия при 1 (1,25%),
- агенезия на десен бъбрек при 1 (1,25%).

По време на престоя в клиниката се извърши консулт с тесен специалист за оценка на тежестта на отклоненията и необходимостта от продължаване или започване на терапия.

Резултатите от проведения ЯМР на всички участници преди лечение с рЧРХ са

обобщени на фиг. 6.

Фигура 6. Резултати от ЯМР на ХХО преди започване на лечение с рчРХ (2011 – 2020 г.).



Както посочихме по-горе, диагнозата и през двата периода е основана на ауксологични параметри и максимален отговор на РХ при два стимулационни теста <10 ng/ml, подкрепени от биохимични и образни изследвания. Най-често използваният стимулационен тест в клиниката за периода 2011-2020г. е този с **глюкагон** и той е направен при 59 (74,6%) от децата. При 48 (60,7%) от децата е приложен тест с инсулин. При останалите пациенти са проведени тестове с аргинин - 7 (8,8%), с клонидин - 2 (2,5%) или спонтанна хипогликемия - 11 (13,9%).

Сред децата с МТД тест за стимулиране на секрецията на РХ е проведен при 6 (7,6%) със средни пикови стойности на РХ с физиологичен стимул:

- глюкагон (n=5) - $1,6 \pm 1,1$ ng/ml,
- инсулин (n=3) - $2,3 \pm 1,5$ ng/ml,
- аргинин (n=2) - $1,3 \pm 1,0$ ng/ml
- при спонтанна хипогликемия (n=2) - $0,7 \pm 0,5$ ng/ml.

Основните показатели преди започване на лечение с рчРХ за двата периода, разделени по пол, са обобщени в таблица 8. Анализът показва по-голямо изоставане в ръста и теглото, както и при ВМІ, при момчетата. Средните стойности на IGF-1 са пониски при момчетата, въпреки по-голямата средна възраст изходно.

За целия период на проучването средната начална доза на лечение с рчРХ е $0,6 \pm 0,3$ mg/дневно или **$0,028 \pm 0,005$ mg/kg/дневно**. При момчетата е $0,028 \pm 0,005$ mg/kg/дневно, докато при момчетата е $0,029 \pm 0,003$ mg/kg/дневно. При децата с МТД средната начална доза (n=10) е $0,6 \pm 0,3$ mg/дневно или $0,027 \pm 0,004$ mg/kg/дневно, а още през първата година лечение се изравнява със средната ($0,030 \pm 0,004$ mg/kg/дневно). Средната доза през 1-вата година от терапията с рчРХ е $0,7 \pm 0,4$ mg/дневно или **$0,030 \pm 0,007$ mg/kg/дневно**, като се запазва без промяна до момента на анализа (Табл. 9).

Таблица 8. Основни параметри преди начало на лечение с рчРХ за периода 2011-2020г., разделени по пол. Данните са представени в средни стойности $\pm SD$, а в скоби са посочени минималните и максималните стойности на показателите.

	2011 - 2020 г.		
	момчета	момичета	общо
п (брой)	58	21	79
Средна възраст при начало на лечение (год)	8,1 \pm 3,6 (1,5 - 16)	8,2 \pm 4,3 (0,5 - 16,5)	8,1 \pm 3,8 (0,5 - 16,5)
Ръст (cm)	114,0 \pm 20,7 (74 - 160)	108,3 \pm 26,6 (50 - 151,8)	112,4 \pm 22,4 (50 - 160)
SDSръст	-2,5 \pm 1,0 (-6,1 - -0,3)	-3,1 \pm 1,5 (-6,5 - -1,1)	-2,7 \pm 1,2 (-6,5 - -0,3)
Пикови стойности на РХ при тест с глюкагон (ng/ml)	3,4 \pm 2,9 (0,05 - 9,4)	2,8 \pm 3,0 (0,08 - 9,2)	3,3 \pm 2,9 (0,05 - 9,4)
Пикови стойности на РХ при тест с инсулин (ng/ml)	4,6 \pm 2,8 (0,3 - 9,1)	4,8 \pm 2,6 (0,2 - 8,4)	4,7 \pm 2,8 (0,2 - 9,1)
Тегло (kg)	22,8 \pm 15,7 (7,8 - 69,3)	20,6 \pm 11,2 (3,0 - 40,3)	22,4 \pm 12,2 (3,0 - 69,3)
SDSтегло	-1,6 \pm 1,3 (-3,8 - 1,2)	-2,7 \pm 1,7 (-5,8 - -0,7)	-1,9 \pm 1,3 (-5,8 - 1,2)
SDSВМІ	2,8 \pm 2,7 (-3,6 - 3,0)	-0,7 \pm 1,0 (-2,4 - 1,4)	1,9 \pm 2,3 (-3,6 - 3,0)
SDS _{КВ} преди лечение	-3,2 \pm 1,4 (-7,4 - 0,2)	-3,0 \pm 1,6 (-6,6 - 0,6)	-3,2 \pm 1,4 (-7,4 - 0,6)
SDS _{IGF-1} преди лечение	-1,3 \pm 0,8 (-2,6 - 0,9)	-1,6 \pm 1,0 (-3,1 - 0,0)	-1,4 \pm 0,9 (-3,1 - 0,0)

Таблица 9. Средните стойности на дозата на рчРХ преди, през първата и втората година лечение и дозата, към момента на анализа. (2011-2020г.)

	Начална доза рчРХ	Средна доза рчРХ за I-ва година	Средна доза рчРХ за II-ра година	Настояща доза рчРХ
средна стойност $\pm SD$ (mg/дн)	0,6 \pm 0,3	0,7 \pm 0,4	0,7 \pm 0,3	1,0 \pm 0,5
медиана	0,6	0,6	0,7	1,0
диапазон	0,1 - 2,0	0,2 - 2,0	0,2 - 2,0	0,2 - 2,9
средна стойност $\pm SD$ (mg/kg/дн)	0,028 \pm 0,005	0,030 \pm 0,007	0,030 \pm 0,004	0,030 \pm 0,004
медиана	0,030	0,030	0,032	0,031
диапазон	0,020 - 0,035	0,020 - 0,035	0,019 - 0,038	0,020 - 0,035

Ауксологичните маркери за ефикасност на терапията се проследиха при всички пациенти по време на рутинните приеми в клиниката на всеки 3 или 6 месеца. Динамиката на ръста и РС през целия период на лечение са представени в табл. 10 и табл.11. И при двата пола най-голям прираст е отбелязан през първата година ($\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$ $0,8\pm 0,5$), последван от намаляване наполовина през втората година ($\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$ $0,4\pm 0,3$). Теглото показва по-малка динамика и при двата пола, като средните изходни стойности за целия период са $22,4\pm 12,2$ kg ($\text{SDS}_{\text{тегло}}$ $-1,9\pm 1,3$), а стойностите към момента на анализа са $40,3\pm 19,1$ kg ($\text{SDS}_{\text{тегло}}$ $-0,2\pm 1,3$).

Средната стойност на РС през първата година от терапията е несигнификантно по-голяма при момчетата, отколкото при момчетата ($9,4$ и $9,2$ cm/год. съотв.), докато през втората година намалява и при двата пола, но по-значително при момчетата ($8,0$ и $6,1$ cm/год. съотв.). Анализът на динамиката на РС по визити през първата година, разкрива, че най-висока РС се постига между 3-ти и 9-ти месец, след началото на терапията ($4,5 \pm 2,3$ cm) на фона на средна доза на рчРХ от $0,030\pm 0,001$ mg/kg/дневно.

Таблица 10. Промяна в ръста през първата и втората година лечение с рчРХ и за периода 2011-2020г. Данните са представени в средни стойности $\pm\text{SD}$, а в скоби са посочени броя обхванати деца през всеки период. * $p<0,05$

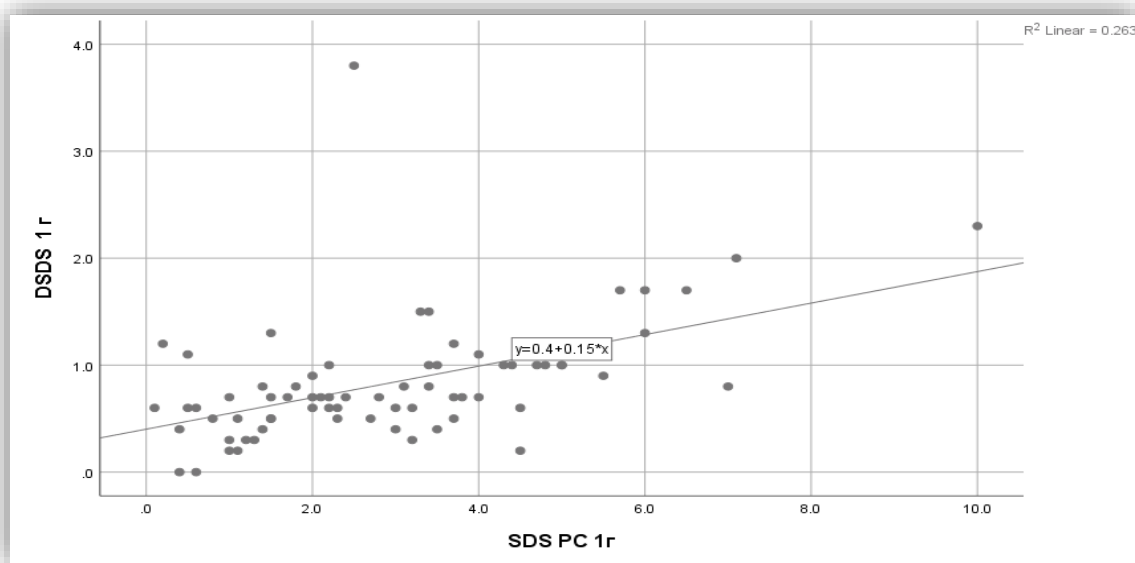
	момчета	момичета	общо
SDS _{ръст} 1-ва год.	$-1,7 \pm 1,0$ (n=55)	$-2,4 \pm 1,4$ (n=21)	$-1,9 \pm 1,1$ (n=76)
SDS _{ръст} 2-ра год.	$-1,3 \pm 0,8$ (n=38)	$-2,0 \pm 1,2$ (n=15)	$-1,5 \pm 1,0$ (n=53)
SDS _{ръст} настоящ	$-0,4 \pm 0,8^*$ (n=52)	$-1,4 \pm 1,1^*$ (n=18)	$-0,8 \pm 1,0$ (n=70)
$\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$ 1-ва год.	$0,8 \pm 0,5$ (n=55)	$0,8 \pm 0,5$ (n=21)	$0,8 \pm 0,5$ (n=76)
$\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$ 2-ра год.	$0,4 \pm 0,3$ (n=38)	$0,3 \pm 0,2$ (n=18)	$0,4 \pm 0,3$ (n=53)
$\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$ целия период	$1,9 \pm 0,9$ (n=52)	$1,6 \pm 1,0$ (n=18)	$1,7 \pm 1,1$ (n=70)

Таблица 11. Промяна в растежната скорост (РС) през първата и втората година лечение с рчРХ (2011-2020г.). Данните са представени в средни стойности $\pm\text{SD}$, а в скоби са посочени броя обхванати деца през всеки период. * $p<0,05$

	момчета	момичета	общо
РС 1-ва год. (cm/год)	$9,2 \pm 1,7$ (n=55)	$9,4 \pm 4,1$ (n=21)	$9,3 \pm 2,6$ (n=76)
$\Delta\text{SDS}_{\text{PC}}$ 1-ва год.	$3,0 \pm 1,7$ (n=55)	$3,1 \pm 2,6$ (n=21)	$3,0 \pm 2,0$ (n=76)
РС 2-ра год. (cm/год)	$8,0 \pm 2,3^*$ (n=38)	$6,1 \pm 2,3^*$ (n=15)	$7,5 \pm 2,4$ (n=53)
$\Delta\text{SDS}_{\text{PC}}$ 2-ра год.	$2,5 \pm 1,8$ (n=38)	$1,8 \pm 2,0$ (n=15)	$2,3 \pm 1,9$ (n=53)

Растежната скорост през първата година от лечението с рчРХ показва положителна зависимост от началната доза на рчРХ ($R=0,2$, $p=0,67$) и от пола ($R=0,04$, $p=0,86$). Промяната на ръста ($\Delta\text{SDS}_{\text{ръст}}$) за първата година лечение корелира най-значимо с РС през първата година ($R=0,6$, $p=0,035$) и началната доза рчРХ ($r=0,1$, $p=0,39$). (фиг. 7)

Фигура 7. Корелационна зависимост на промяната в ръста от РС през първата година от лечението.



При всяка визита на пациентите в клиниката се изследваха биохимичните маркери за безопасност на лечението с рчРХ (Табл.12). Сред цялата кохорта се регистрираха единични стойности извън референтните граници по време на проследяването.

Понижени стойности на кръвна глюкоза ($<3,5\text{mmol/l}$) се установиха при 7 (88,6%) от децата, предимно в първите месеци на лечението. Серумни нива на $\text{HbA1c} >6,5\%$ се регистрираха веднъж при 1 (1,25%) от момчетата. Еднократно повишаване на серумните стойности на чернодробните показатели (ASAT, ALAT) по време на лечение се установи при 4 (5%) от пациентите, всички от тях с проявен МТД. Серумни нива на алкална фосфатаза над референтните граници се регистрираха при 3 (3,8%) от децата, а леко повишаване на нивата на креатинин при 2 (2,5%). При 1 (1,25%) от участниците с МТД се установиха повишени нива на ГГТ преди лечение, които се нормализираха след започването на терапия с рчРХ.

Проследяването на креатинина като маркер за увеличаващата се мускулна маса в хода на лечението, не показва големи вариации през първата и втората година (съотв. $40,2 \pm 11,2$ и $42,9 \pm 11,4 \mu\text{mol/l}$).

Таблица 12. Средни стойности на биохимичните маркери преди лечение и към момента на анализа. (2011-2020г.) Данните са представени в средни стойности $\pm SD$

ПОКАЗАТЕЛ	СЕРУМНИ НИВА ПРЕДИ ЛЕЧЕНИЕ	НАСТОЯЩИ СЕРУМНИ НИВА
КРЪВНА ГЛЮКОЗА (mmol/l)	4,4 \pm 0,6	4,7 \pm 0,5
HbA1c (%)	5,3 \pm 0,3	5,3 \pm 0,4
ASAT (U/l)	31,9 \pm 9,4	24,5 \pm 6,2
ALAT (U/l)	17,7 \pm 6,9	15,7 \pm 5,9
ГГТ (U/l)	15,0 \pm 5,0	12,9 \pm 5,9
УРЕЯ (mmol/l)	4,9 \pm 1,0	4,5 \pm 1,2
КРЕАТИНИН (μ mol/l)	39,8 \pm 11,5	46,3 \pm 11,2
АФ (U/l)	230,3 \pm 109,0	266,6 \pm 246,3

Рутинно се проследиха нивата на хормоналните показатели. Отклонения от нормалните стойности на щитовидните хормони се регистрираха при децата, които проявиха вторичен хипотиреоидизъм, а след инициране на заместително лечение с левотироксин се постигна нормализиране. Средните стойности на TSH преди лечение за цялата кохорта са $2,3 \pm 1,6$ mIU/mL, а на FT4 са $14,2 \pm 3,3$ pmol/l. При 21,5% от децата нивата на FT4 след една година лечение са над стойностите на медианата (медиана на референтните граници на FT4 е 15,9 pmol/l), а след втората година лечение намаляват до 15,2%. Към момента на анализа средните нива на TSH са $2,2 \pm 1,6$ mIU/mL, а на FT4 $15,7 \pm 2,3$ pmol/l.

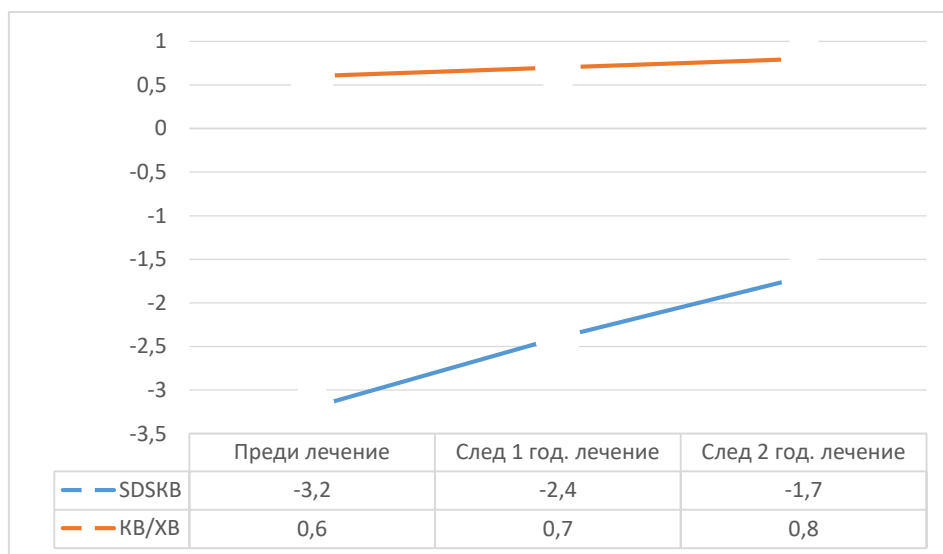
Изследване на половите хормони се извърши при всяка визита на перипубертетните деца.

Най-малко еднократно се изследваха нивата на Пролактин, а много висока стойност (1107 uIU/ml) се регистрира при 1 (1,25%) от децата, при което се откри аденом на хипофизата.

Очаквано, костната възраст показва положителна динамика след започване на лечение с рчРХ. (Фиг. 8) Най-висока степен на промяна в SDS_{КВ} се наблюдава през първата година от терапията (Δ SDS_{КВ} 1-ва год.=0,8). След втората година се отбеляза забавяне в наваксването в КВ спрямо хронологичната, като към момента на проучването средните стойности на SDS_{КВ} са по-ниски от достигнатите през първите две години терапия ($-1,9 \pm 1,6$ и $-1,7 \pm 1,6$ съотв.). Между момчетата и момичетата не се наблюдава статистически значима разлика в наваксването на КВ спрямо хронологичната през първите две години лечение с рчРХ (Δ SDS_{КВ} момчета = 1,6 vs. Δ SDS_{КВ} момичета = 1,2). За целия проследен период се постигна Δ SDS_{КВ} от 1,2.

Отражение на наваксването на КВ спрямо хронологичната възраст, е отношението КВ/ХВ, което се повишава, след започване на лечение.

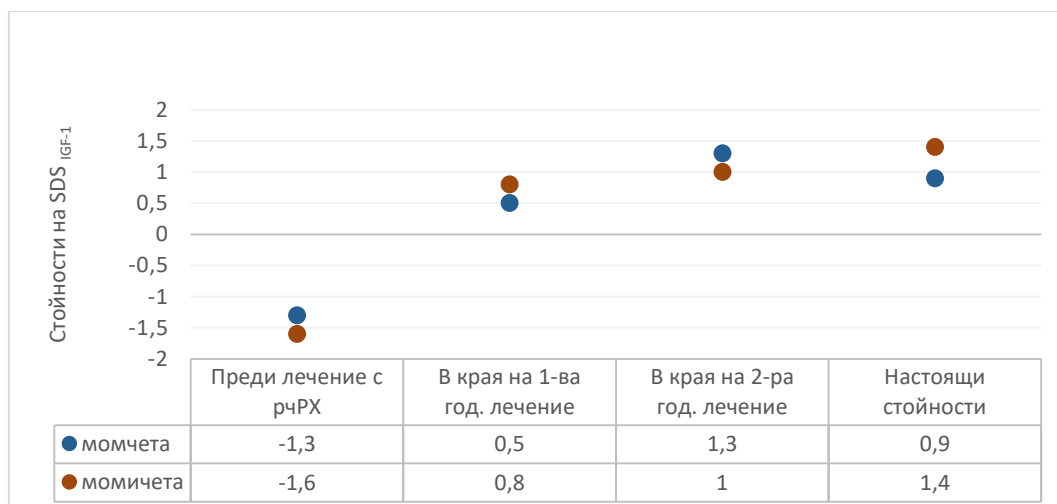
Фигура 8. Динамика на KB и отношението KB/XB през първата и втората година от лечението с рчРХ (2011-2020г.).



Основен маркер за безопасност, проследен през целия период на проучването, е нивото на IGF-1 в серума. Най-голяма промяна в стойностите на IGF-1 се установи през първата година от лечението с рчРХ ($\Delta SDS_{IGF-1} = 2,0$), като тя е по-значителна при момчетата, отколкото при момчетата ($\Delta SDS_{IGF-1 \text{ момчета}} = 2,4$ и $\Delta SDS_{IGF-1 \text{ момчета}} = 1,8$, $p = 0,5$). Стойности на IGF-1 $> +2SD$ след първата година лечение се регистрираха при 10 (12,6%) от децата (6 момчета), а до края на втората година при 8 от тях нивата на IGF-1 се понижиха до референтните граници, както при временно намаляване на дозата на чрРХ според правилата за титрирането и, така и спонтанно в случаите, когато дозата не е намалявана.

Промяната на стойностите на SDS_{IGF-1} по време на периода на проследяване е представена на Фиг. 9.

Фигура 9. Промяна на средните стойности на SDS_{IGF-1} през първата и втората година от лечение с рчРХ и средните стойности на SDS_{IGF-1} към момента на анализа, разделени по пол. (2011-2020г.)



За периода 2011-2020г. средната възраст на започване на пубертетно развитие е $11,0 \pm 1,8$ г. При момчетата средната възраст на начало на пубертета е $11,3 \pm 1,9$ г., докато при момичетата е по-ниска – $10,6 \pm 1,6$ г. При 1 (1,25%) от момичетата се установи преждевременен пубертет и се въведе лечение с LHRH-агонист.

Прием на антипсихотични средства се установи при 2 (2,5%) от децата, а 1 (1,25%) от участниците приема антиепилептично лекарство. При нито едно от децата и в нито една точка от проследяването не се установиха сериозни странични явления от приложението на рчПХ.

През целия анализиран период краен ръст достигнаха 11 (13,9%) от участниците (6 момчета), със средно $SDS_{кр} = -0,7 \pm 1,0$ ($165,1 \pm 13,4$ cm). Между достигнатия ръст и TP съществува сигнификантна корелация ($r=0,52$, $p<0,001$). Разликата между средния достигнат краен ръст и средния TP е **-0,44 SDS**, сигнификантно по-голяма при момчетата, в сравнение с момчетата ($-0,9$ и $-0,02$ SDS съотв., $p=0,033$). Средният достигнат $SDS_{кр}$ при момчетата е $-0,2 \pm 0,8$ ($175,1 \pm 8,3$ cm), докато при момичетата е значително по-нисък $-1,4 \pm 0,9$ ($153,2 \pm 5,8$ cm), $p=0,039$.

Линейният регресионен анализ показва най-силно изразена зависимост на SDS за достигнатия ръст от PC през първата година лечение с рчПХ ($r=0,49$, $p<0,001$). По-слаба е корелацията на SDS за достигнатия ръст от $\Delta SDS_{ръст}$ за първата година лечение ($r=0,36$, $p=0,011$), от SDS_{IGF-1} за първата година ($r=0,20$, $p=0,084$) и от началната доза на рчПХ ($r=0,11$, $p=0,45$).

2.3. Сравнителен анализ на терапевтичните практики между периодите 2011-2016г. и 2017-2020г.

Настоящият анализ сравнява два периода с различен подход в началното дозиране на пациентите на лечение с рчПХ във ВЕЦРЕБ (2011-2016 г. и 2017-2020 г.). Относително по-малко пациенти са лекувани през първия период (7 пациента/год), отколкото през втория период (8 пациента/год).

Основните характеристики и резултати са обобщени в табл.13, а проследяването на маркерите за ефикасност и безопасност е представено в табл. 14.

Таблица 13. Сравнение на основните характеристики и резултати за двата периода, разделени по пол. Данните са представени в средни стойности $\pm SD$. ¹ $p < 0,001$, ² $p < 0,05$, ³ $p < 0,5$. 2011-2016г. vs. 2017-2020г.

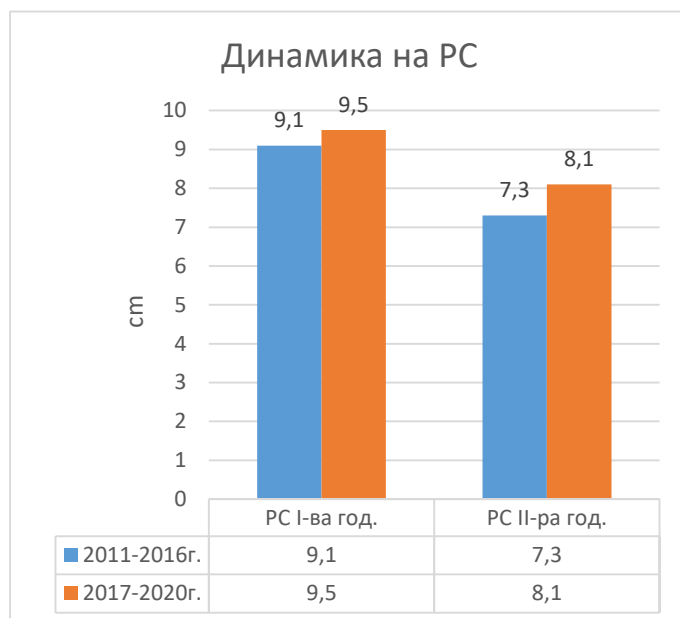
	2011 - 2016 г.			2017 - 2020 г.		
	момчета	момичета	общо	момчета	момичета	общо
n (брой)	32	14	46	26	7	33
Средна възраст при начало на лечение(год)	7,3 \pm 3,4 (2-14,5)	8,4 \pm 3,1 (0,5-16,5)	7,3\pm3,7²	9,5 \pm 3,8 (1,5-16)	7,7 \pm 2,7 (4,5- 12,8)	9,2\pm3,6²
SDSръст преди лечение	-2,9 \pm 1,1 (-6,1 - -1,3)	-3,3 \pm 1,3 (-5,3 - -1,6)	-3,0\pm1,2²	-2,3 \pm 1,1 (-3,8- -0,3)	-3,3 \pm 1,3 (-6,5- -1,1)	-2,3\pm1,2²
SDSтегло преди лечение	-1,9 \pm 1,5 (-3,8-0)	-2,9 \pm 1,3 (-5,8- -1,4)	-2,3\pm1,3²	-1,2 \pm 0,9 (-3,5- 1,2)	-1,8 \pm 1,2 (-5,0- -0,7)	-1,7\pm1,4²
Пикови стойности на РХ при тест с глюкагон (ng/ml)	2,4 \pm 2,6 (0,05 - 9,2)	2,2 \pm 3,2 (0,08 - 9,1)	2,3\pm 2,5¹	4,4 \pm 3,0 (0,29-9,4)	4,4 \pm 2,9 (2,72-9,2)	4,4\pm2,9¹
Пикови стойности на РХ при тест с инсулин (ng/ml)	4,7 \pm 2,9 (0,3- 9,1)	4,7 \pm 2,5 (1,4 - 8,4)	4,7\pm2,8	4,5 \pm 2,3 (0,3-9)	4,8 \pm 2,9 (0,2-8,0)	4,6\pm2,7
Начална доза с рчРХ (mg/дн)	0,5 \pm 0,3 (0,2-1,2)	0,5 \pm 0,2 (0,2-1,1)	0,5\pm0,2¹	0,8 \pm 0,3 (0,4-1,9)	0,6 \pm 0,4 (0,1-1,2)	0,7\pm0,4¹
Начална доза с рчРХ (mg/kg/дн)	0,028 \pm 0,003 (0,020-0,035)	0,028 \pm 0,004 (0,024-0,035)	0,028 \pm 0,004³	0,030 \pm 0,005 (0,026-0,035)	0,030 \pm 0,005 (0,026 - 0,033)	0,030\pm 0,005³
РС през 1-вата год. (cm/год)	9,6 \pm 2,2 (4-15)	8,2 \pm 2,6 (3-14)	9,1\pm2,3³	8,9 \pm 2,7 (6,5-11)	11,7 \pm 3,0 (6-13,4)	9,5\pm2,9³
РС през 2-рата год. (cm/год)	7,9 \pm 2,8 (2-13)	6,0 \pm 2,6 (2-9,5)	7,3\pm2,6²	8,4 \pm 1,2 (6,6-10,3)	6,7 \pm 1,6 (5,5-8)	8,1\pm1,5²
SDSръст в края на 1-ва год.	-1,9 \pm 1,0 (-5,8 - -0,7)	-2,4 \pm 1,3 (-4,4 - -0,5)	-2,1 \pm1,1²	-1,4 \pm 1,0 (-2,7- 0)	-1,8 \pm 1,1 (-4,5- -0,3)	-1,5\pm1,1²
SDSръст в края на 2-ра год.	-1,3 \pm 1,2 (-3 - 0)	-1,9 \pm 0,9 (-3,9- -1,0)	-1,5\pm1,0	-1,1 \pm 1,0 (-2,7- -0,5)	-2,3 \pm 1,2 (-3,4-1,3)	-1,4\pm1,0
Δ SDSръст за 1-ва год.	0,95 \pm 0,4	0,7 \pm 0,6	0,8\pm0,4	0,7 \pm 0,6	1,0 \pm 0,7	0,75\pm 0,6
Δ SDS за 2-ра год.	0,4 \pm 0,3	0,3 \pm 0,3	0,4\pm0,3	0,4 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,4\pm0,1
Δ SDSръст \geq 0,5 за 1-вата год. (бр.)	26 (81%)	10 (71%)	36 (83,7%)	20 (77%)	6 (85,7%)	26 (78,7%)

Таблица 14. Сравнение на маркерите за безопасност и ефикасност за двата периода, разделени по пол. Данните са представени в средни стойности $\pm SD$. ¹ $p < 0,001$, ² $p < 0,05$, ³ $p < 0,5$. 2011-2016г. vs. 2017-2020г.

	2011 - 2016 г.			2017 - 2020 г.		
	момчета	момичета	общо	момчета	момичета	общо
n (брой)	32	14	46	26	7	33
SDS _{IGF-1} преди лечение	-1,4 \pm 1,2 (-2,6-0,9)	-1,8 \pm 1,3 (-2,6-0,3)	-1,5\pm0,8	-1,4 \pm 1,2 (-2,6- -0,5)	-1,8 \pm 1,3 (-3,1-0)	-1,3\pm0,9
SDS _{IGF-1} след 1-ва год.	0,7 \pm 1,2 (-2,4-4,0)	1,1 \pm 1,9 (-1,4-2,8)	0,8\pm1,8²	0,4 \pm 0,9 (-1,7-1,8)	0,1 \pm 1,0 (-1,8-1,6)	0,3\pm0,9²
SDS _{IGF-1} след 2-ра год.	1,5 \pm 1,2 (-1,7-4,0)	1,1 \pm 1,3 (-0,7-3,0)	1,4\pm1,3¹	0,6 \pm 0,6 (-0,5-1,7)	0,4 \pm 0,9 (-0,2-1,4)	0,5\pm0,7¹
SDS _{КВ} преди лечение	-3,3 \pm 1,3 (-7,4-0,5)	-3,1 \pm 1,4 (-6,4-0,6)	-3,2\pm1,4	-3,1 \pm 1,6 (-4,7-0,2)	-2,6 \pm 1,5 (-6,6-0)	-3,0\pm1,4
КВ/ХВ преди лечение	0,62 \pm 0,14 (0,31-0,96)	0,64 \pm 0,15 (0,32-0,94)	0,63\pm0,15³	0,70 \pm 0,18 (0,47-0,98)	0,71 \pm 0,20 (0,37-1)	0,70\pm0,19³
SDS _{КВ} след 1-ва год.	-2,4 \pm 1,7 (-6,2-0)	-2,4 \pm 1,4 (-5,6-0)	-2,4\pm1,5	-2,7 \pm 1,5 (-5,4- -0,2)	-1,9 \pm 1,2 (-5,5-0,2)	-2,6\pm1,3
КВ/ХВ след 1-ва год.	0,74 \pm 0,17 (0,43-1,1)	0,73 \pm 0,14 (0,44-1)	0,74\pm0,16	0,75 \pm 0,14 (0,57-0,98)	0,76 \pm 0,14 (0,47-0,97)	0,76\pm0,14
SDS _{КВ} след 2-ра год.	-1,7 \pm 1,5 (-6,2-0)	-2,1 \pm 1,7 (-5,6- -1,1)	-1,8\pm1,7³	-1,3 \pm 1,2 (-3,7-0,9)	0,0 \pm 1,3 (-0,7-0,5)	-1,0\pm1,3³
КВ/ХВ след 2-ра год.	0,83 \pm 0,13 (0,5-1,1)	0,80 \pm 0,12 (0,44-0,91)	0,82\pm0,13²	0,89 \pm 0,15 (0,76-1,1)	0,99 \pm 0,16 (0,94-1,1)	0,91\pm0,15²

Независимо от по-голямата възраст преди започване на терапия, по-високия отговор при тестовете за стимулиране на секрецията на РХ и относително по-малкия растежен дефицит изходно, вторият период се характеризира с по-добра РС през първата година от лечението (Фиг.10), която се запазва по-висока и през втората година лечение (9,5 и 8,1 cm съотв.).

Фигура 10. Динамика на РС (см/год.) през първата и втората година лечение за двата периода. 2011-2016г. vs. 2017-2020г.



Положителната корелация между началната доза на рчРХ и РС ($R=0,2$, $p=0,047$) позволява необходимия начален catch-up за подобряване на настоящия ръст, който от своя страна корелира най-значимо с РС през първата година лечение ($r=0,49$, $p<0,001$). (Фиг.11)

Фигура 11. Динамика на SDSръст през първата и втората година лечение за двата периода. 2011-2016г. vs. 2017-2020г.

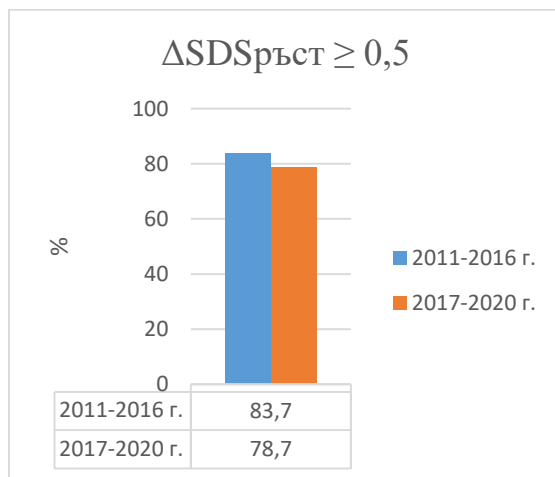


За периода 2017-2020г. при 69,7% от децата се започна лечение с начална доза на рчРХ $\geq 0,030$ mg/kg/дневно, в сравнение с 39,5% за периода 2011-2016г. Въпреки по-голямата начална доза на рчРХ, през втория период се установява статистически

значимо по-ниско SDS_{IGF-1} в края на първата година от лечението ($-1,5\pm 0,8$ и $1,3\pm 0,9$ съотв.). От останалите биохимични и хормонални маркери не е отбелязан нито един показател, насочващ към възможни странични явления. Промяната в КВ показва умерен характер и разликата между двата периода е по-голяма след втората година лечение, а през втория период отношението КВ/ХВ показва най-значимо подобрение в края на втората година. Отчита се еднаква възраст при начало на пубертетното развитие и близки изходни стойности на ВМІ.

На този фон и двете лекувани групи деца постигат еднакъв и висок относителен дял на пациенти, отговарящи добре на терапията - около 80%, но при статистически по-висок среден прираст в см през периода 2017-2020 г. (Фиг. 12).

Фигура 12. Разпределение на добре отговарящите към терапия с рчРХ за двата периода. 2011-2016г. vs. 2017-2020г.



Отстраняването на децата с МТД от анализа не променя значимо получените резултати и в двата изследвани периода, както и при тяхното обобщаване.

III.3. Сравнение на резултатите с други групи пациенти, лекувани в Центъра

Наблюдаваната връзка между параметрите на растежа и дозата на рчРХ ни накара да проверим хипотезата и при други деца, лекувани в Центъра. За целта бе избрана най-многобройната група деца, след тези с изолиран ДРХ и МТД, а именно пациентите със синдром на Търнър – състояние без дефицит на РХ, при които началната доза рчРХ е по-висока от тази при ДРХ. В анализа бяха включени 22 деца (20 момичета, 90,9 %), диагностицирани със СТ или кариотипен вариант на СТ (32,1% с 45,X). Диагнозата е поставена въз основа на проявените фенотипни белези и е потвърдена с генетично изследване.

Пациентите със СТ са проследени общо 1071 пациенто-месеца в Центъра. При всички от тях има характерни за синдрома фенотипни прояви, както следва:

- скъсяване на 4-та метакарпална кост на ръката при 16 (72,7%),
- *rectus excavatum* при 3 (13,6%),

- нарушения на слуха при 2 (9 %)
- ризомелично скъсяване на крайниците при 3 (13,6%).

Автоимунен тиреоидит е диагностициран при 5 (22,7%) от пациентите и при всички от тях е въведена хормон-заместителна терапия с левотироксин в средна начална доза от 50 μg /дневно.

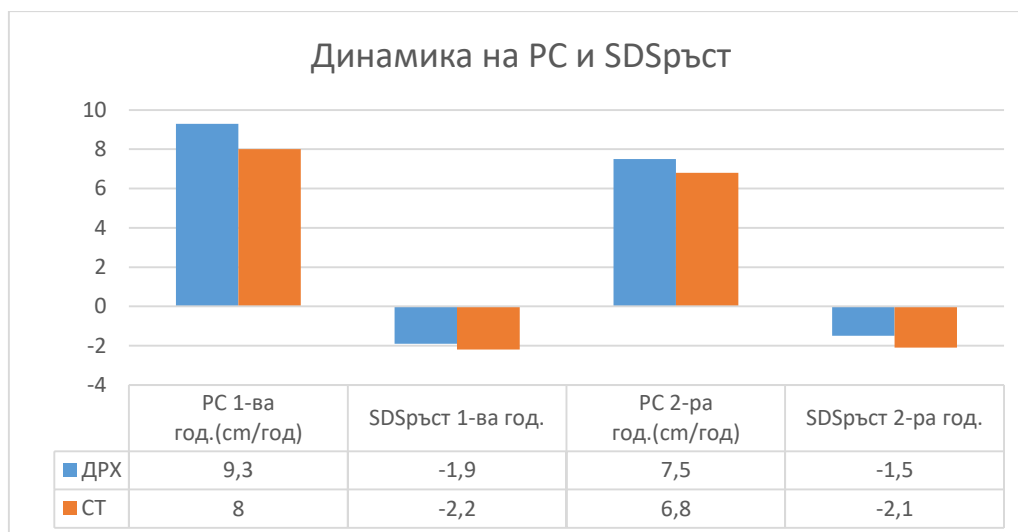
Средната възраст при започване на терапия с рчРХ е $9,2 \pm 3,4$ г. (между 2,3 и 18 г.) със средна начална доза от $0,9 \pm 0,5$ mg/дневно или $0,035 \pm 0,006$ mg/kg/дневно (между 0,022 и 0,045 mg/kg/дневно). Сравнение между изходните параметри и проследяването им през първата година от лечението с рчРХ при деца със СТ и ДРХ е представено в табл. 15.

Таблица 15. Сравнение между изходните параметри и проследяването им през първата година лечение с рчРХ при деца със СТ и ДРХ. * $p < 0,05$

параметър	ДРХ	СТ
n (брой)	79	22
Средна възраст при начало на лечение (год)	$8,1 \pm 3,8$	$9,2 \pm 3,4^*$
SDSръст при начало на лечение	$-2,7 \pm 1,2$	$-2,7 \pm 1,1$
SDSтегло	$-1,9 \pm 1,3$	$-1,6 \pm 1,4$
SDS _{IGF-1} преди лечение	$-1,4 \pm 0,9$	$-0,7 \pm 1,1^*$
Начална доза на рчРХ (mg/kg/дневно)	$0,028 \pm 0,005$	$0,035 \pm 0,006^*$
Средна доза за първата година (mg/kg/дневно)	$0,030 \pm 0,007$	$0,035 \pm 0,007$
PC за 1-ва год. (cm/год.)	$9,3 \pm 2,6$	$8,0 \pm 1,3^*$
SDSръст след 1 год. лечение	$-1,9 \pm 1,1$	$-2,2 \pm 1,2$
Δ SDSръст за 1-ва год.	$0,8 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,7$
SDS _{IGF-1} след 1 год. лечение	$0,6 \pm 1,5$	$1,5 \pm 1,4^*$

През втората година лечение средната доза на рчРХ при децата със СТ остава по-висока от тази при пациентите с ДРХ ($0,033 \pm 0,007$ mg/kg/дневно и $0,030 \pm 0,004$ mg/kg/дневно). Растежната скорост през втората година намалява на $6,8 \pm 1,1$ cm, а достигнатият SDSръст след 2 год. лечение е $-2,1 \pm 1,2$. (фиг.13)

Фигура 13. Динамика на РС и SDSръст през първата и втората година лечение с рчРХ при деца с ДРХ и СТ.



При 5 (22,7%) от децата е достигнат краен ръст с $SDS_{кр}$ от $-1,32 \pm 1,5$ SD. При всички пациенти със СТ не са наблюдавани стойности на рутинните биохимични показатели извън референтните граници или нежелани странични реакции от прилагането на рчРХ.

III.4. Проспективно проучване, включващо изследване на серумните нива на IGFBP-3 и определяне на отношението IGF-1/IGFBP-3 за установяване на значението им при мониторирането на терапията с рчРХ.

В периода декември 2019 - декември 2021г. се изследваха серумните нива на IGFBP-3 при 92 деца с ДРХ, 78 от тях с изолиран ДРХ (84,8%) и 14 с МТД (15,2%), които се наблюдават в Клиниката и за периода на проучването са започнали лечение с рчРХ. Пациентите са на възраст между 1 и 18 год., 67 (72,8%) от тях момчета. Общо бяха събрани и изследвани **158 проби**. При 45 (48,9%) от участниците, 33 (73,3%) от които момчета, се изследва повече от една проба. Преди започване на лечение с рчРХ бяха обхванати 27 (29,3%) деца, а 56 (60,8%) от пациентите имат проследяване на терапията към момента на анализа за повече от 2 години.

Гореописаните диагностични методи (стр. 3) се спазиха при всички участници от проучването. Средната възраст при започване на лечение на децата е $8,3 \pm 3,8$ г., а средната начална доза е $0,030 \pm 0,001$ mg/kg/дневно ($0,031 \pm 0,001$ mg/kg/дневно при изолиран ДРХ и $0,028 \pm 0,001$ mg/kg/дневно при МТД). Средната доза на рчРХ се запази без големи вариации през първата и следващите години от лечението.

Всички кръвни проби се изследваха по гореописаната лабораторна методика, като се спазиха изискванията на производителя на реактива. За всеки пациент се пресметна и директното отношение IGF-1/IGFBP-3. Резултатите на серумните нива на IGF-1 и IGFBP-3, както и тяхното отношение IGF-1/IGFBP-3, в зависимост от момента

на проследяване, в което се е намирал пациента при извършване на изследването, са детайлно представени в табл. 16.

Таблица 16. Резултати от изследването на серумните стойности на IGF-1, IGFBP-3, директното отношение IGF-1/IGFBP-3, представянето му като стандартно отклонение за пол и възраст (Friedrich и съав.) и пресметнато по формула (Gaddas и съав.). Данните са представени в средни стойности \pm SD.

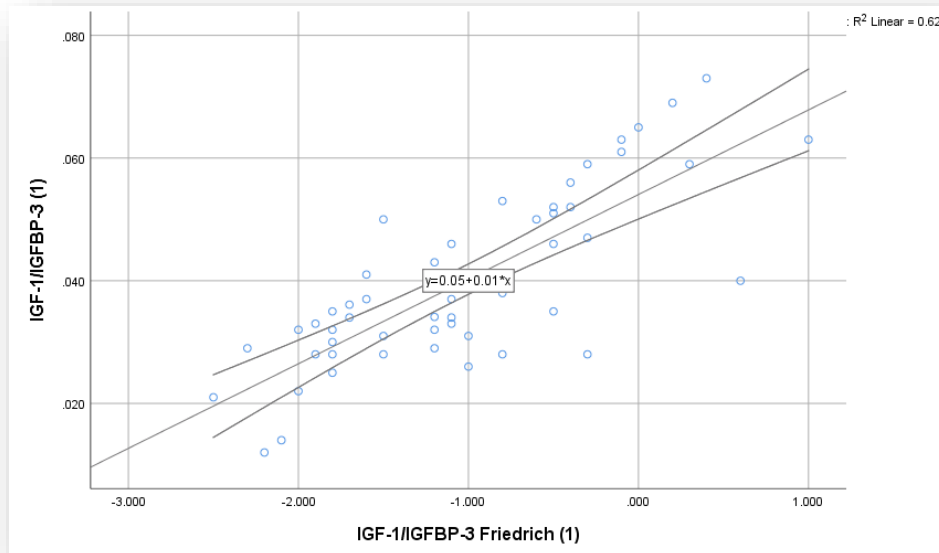
	Преди лечение с рЧРХ	През 1-ва год. лечение	През 2-ра год. лечение	Повече от 2 год. лечение	Общо
n (бр. проби)	27	52	23	56	158
IGF-1 (ng/ml)	125,1 \pm 89,9	235,3 \pm 143,2	246,1 \pm 128,4	245,5 \pm 102,8	236,9\pm137,2
SDS _{IGF-1}	-1,3 \pm 1,0	0,3 \pm 1,2	0,6 \pm 0,8	0,6 \pm 1,2	0,3\pm1,4
IGFBP-3 (ng/ml)	4200 \pm 1400	5500 \pm 1700	5410 \pm 1410	5300 \pm 1150	5440\pm1600
SDS _{IGFBP-3}	0,2 \pm 1,4	1,6 \pm 1,1	1,4 \pm 1,0	1,4 \pm 1,0	1,4\pm1,2
Отношение IGF-1/IGFBP-3	0,027 \pm 0,012 (0,014-0,078) медиана 0,024	0,039 \pm 0,014 (0,012-0,073) медиана 0,035	0,043 \pm 0,015 (0,022-0,076) медиана 0,043	0,044 \pm 0,023 (0,019-0,084) медиана 0,043	0,040\pm0,015 (0,012-0,084) медиана 0,038
Отношение IGF-1/IGFBP-3 SDS _{IGF-1} /IGFBP-3	-2,2 \pm 0,9	-0,9 \pm 0,8	-0,7 \pm 0,8	-0,5 \pm 0,6	-0,9\pm1,0
Отношение IGF-1/IGFBP3 по формула	0,10 \pm 0,04	0,14 \pm 0,05	0,16 \pm 0,05	0,15 \pm 0,03	0,14\pm0,05

Очаквано, серумните нива на IGF-1, IGFBP-3 и директното отношение IGF-1/IGFBP-3 са ниски преди започване на лечение с рЧРХ. Стойностите на директното отношение показват положителна корелация със стойностите, представени като SDS ($r=0,62$, $p<0,001$), и особено с резултатите, изчислени по формулата за моларно отношение ($r=0,99$, $p<0,001$).

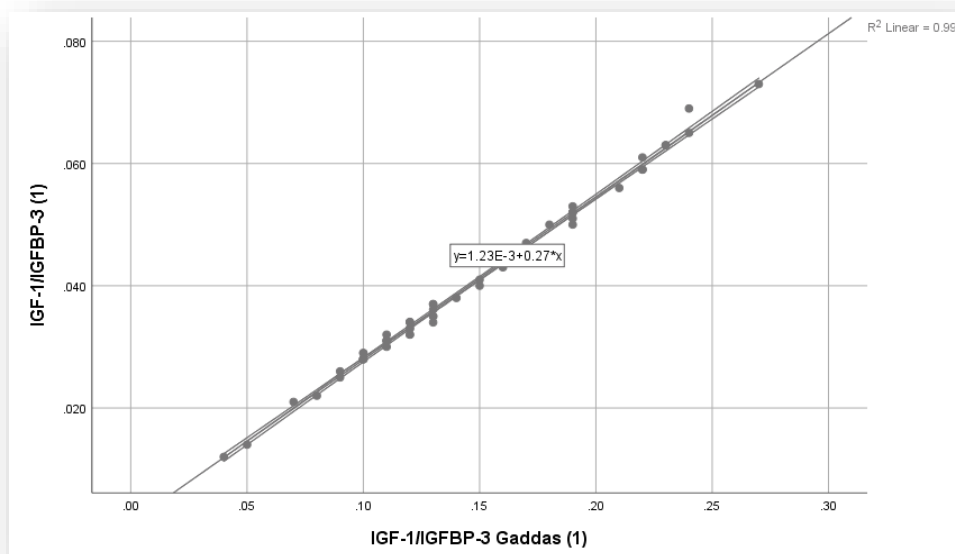
След започване на лечение с рЧРХ се отчита значително повишаване на стойностите на всички показатели, с Δ SDS_{IGF-1} от 1,6 и Δ SDS_{IGFBP-3} от 1,3 за първата година лечение. Наблюдава се по-силно изразена корелация между стойностите на директното отношение IGF-1/IGFBP-3 с резултатите, представени като SDS и пресметнати чрез горепосочената формула ($r=0,82$, $p<0,001$ и $r=0,99$, $p<0,001$, съотв.),

Фиг. 14 а, б.

Фигура 14. Линеен регресионен модел между директното отношение IGF-1/IGFBP-3 и а) стойностите като SDS (Friedrich и съав.), б) резултатите, изчислени по формула (Gaddas и съав.) след една година лечение.



а)

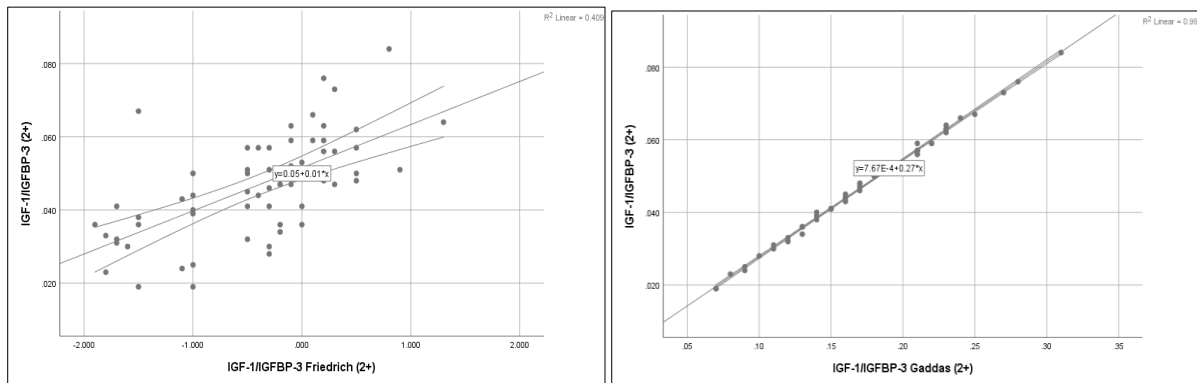


б)

През втората година лечение с рчРХ динамиката в серумните нива на всички параметри е по-слабо изразена (ΔSDS_{IGF-1} е 0,3 и $\Delta SDS_{IGFBP-3}$ е -0,2). Отново се наблюдава силна корелация между резултатите от различните методи за представяне на отношението IGF-1/IGFBP-3 ($r=0,78$, $p<0,05$ и $r=0,99$, $p<0,001$ съотв.). След втората година лечение с рчРХ стойностите на IGF-1, IGFBP-3 и директното отношение IGF-1/IGFBP-3 остават стабилни, а корелационните зависимости с другите презентации на

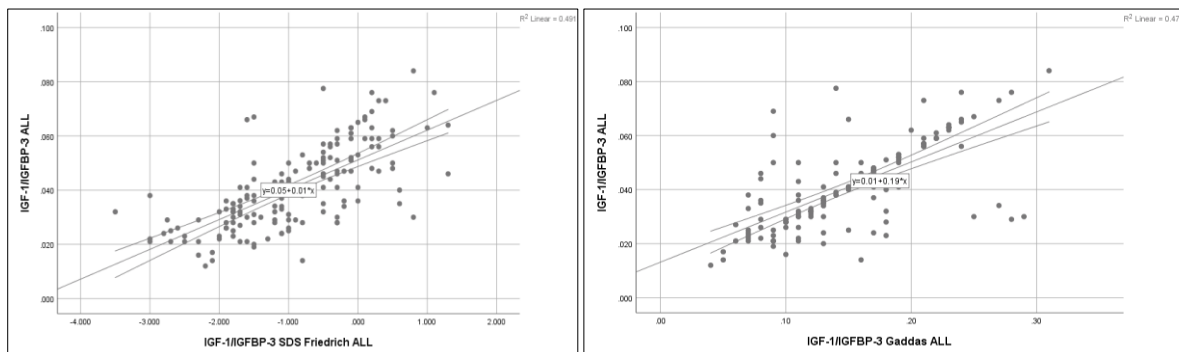
моларното отношение са представени на фиг. 15 (а и б).

Фигура 15. Линеен регресионен модел между директното отношение IGF-1/IGFBP-3 и а) стойностите като SDS (Friedrich и съав.) ($r=0,55$, $p=0,05$); б) резултатите, изчислени по формула (Gaddas и съав.) ($r=0,99$, $p<0,001$); след повече от две години лечение.



При анализ на всичките 158 проби, независимо от момента на лечение, в който се намира пациента, средните стойности на SDS_{IGF-1} са $0,3 \pm 1,4$, а на $SDS_{IGFBP-3}$ са $1,4 \pm 1,2$. Средните нива на директното отношение IGF-1/IGFBP-3 са $0,040 \pm 0,015$, на SDS IGF-1/IGFBP-3 са $-0,9 \pm 1,0$, а по формулата за моларно отношение са $0,14 \pm 0,05$. Линеиният регресионен модел показва положителна корелация между вариантите за представяне на отношението IGF-1/IGFBP-3 (Фиг. 16, а и б).

Фигура 16. Линеен регресионен модел между директното отношение IGF-1/IGFBP-3 и а) стойностите като SDS (Friedrich и съав.) ($r=0,70$, $p<0,001$); б) резултатите, изчислени по формула (Gaddas и съав.) ($r=0,70$, $p<0,001$); за всички изследвани проби.



а)

б)

Проследени лонгитудинално преди и през първата година от лечението с рчРХ са **21 (22,8%)** от пациентите. При тях се наблюдава значително повишаване в стойностите на директното отношение IGF-1/IGFBP-3 (изходно $0,025 \pm 0,006$) в края на първата година терапия ($0,038 \pm 0,012$), а IGF-1/IGFBP-3 показва добра корелация. с останалите

методи за калкулиране.

Промяната в стойностите на IGF-1, IGFBP-3 и отношението IGF-1/IGFBP-3, проследени преди и по време на лечение с рчРХ, разделени по пол са представени в табл. 17. Изходните серумни нива на IGF-1/IGFBP-3 са по-ниски при момчетата, отколкото при момичетата, но се наблюдава изравняване в стойностите след година лечение. Директното отношение IGF-1/IGFBP-3 показва положителна корелация с останалите варианти за представяне и при двата пола.

Таблица 17. Промяна на стойностите на IGF-1, IGFBP-3 и IGF-1/IGFBP-3 при двата пола преди и по време на лечение. М-момчета, F-момчета. Данните са представени в средни стойности \pm SD. * $p < 0,001$, # $p < 0,05$.

	Преди лечение с рчРХ		През 1-ва год. лечение		През 2-ра год. лечение		Повече от 2 год. лечение	
	М (n=20)	F (n=7)	М (n=40)	F (n=12)	М (n=19)	F (n=4)	М (n=40)	F (n=16)
SDS _{IGF-1}	-1,4 \pm 1,0	-0,9 \pm 1,1	0,1 \pm 1,2	0,9 \pm 1,0	0,5 \pm 0,7	1,0 \pm 1,2	1,0 \pm 1,1	0,1 \pm 1,0
SDS _{IGFBP-3}	0,0 \pm 0,5	0,9 \pm 0,6	1,5 \pm 1,2	2,0 \pm 0,8	1,5 \pm 1,0	0,8 \pm 0,5	1,7 \pm 0,8	1,2 \pm 1,7
Директно отношение IGF-1/IGFBP-3	0,025 \pm 0,007	0,033 \pm 0,02	0,039 \pm 0,013	0,039 \pm 0,014	0,040 \pm 0,013	0,055 \pm 0,018	0,044 \pm 0,013	0,043 \pm 0,011
SDS _{IGF-1/IGFBP-3}	-2,3 \pm 0,7 [#]	-1,6 \pm 0,9 [#]	-1,1 \pm 0,7 [*]	-0,6 \pm 0,7 [*]	-0,9 \pm 0,6 [#]	0,3 \pm 1,3 [#]	-0,5 \pm 0,8 [#]	-0,5 \pm 0,6 [#]
IGF-1/IGFBP-3 по формула	0,09 \pm 0,02 [*]	0,12 \pm 0,07 [*]	0,14 \pm 0,05 [*]	0,14 \pm 0,06 [*]	0,15 \pm 0,05 [*]	0,21 \pm 0,06 [*]	0,15 \pm 0,04 [*]	0,16 \pm 0,03 [*]

По време на целия период на проучването не се установиха отклонения от нормалните стойности на биохимичните маркери за безопасност сред изследваната кохорта.

III.5. Скрининг за разпространението на дефицит на ALS сред децата, лекувани с рчРХ към ВЕЦРЕБ

5.1. Характеристики на изследваната извадка

След внимателен подбор на участниците, съгласно гореизложените критерии, в скрининга бяха включени **71 от децата**, диагностицирани с ДРХ, и проследявани към ВЕЦРЕБ. От тях 54 (76%) са момчета, с отношение момчета към момичета **3,1:1**. Всички участници провеждат лечение с рчРХ от поне 3 месеца и към момента на скрининга имат проследяване от **2400 пациенто-месеци** в центъра.

Повече от две години терапия с рчРХ в клиниката имат 41 (57,7%) от децата. Възрастта им е между 2 и 18 год. При 55 (77,5%) от участниците, пиковите стойности на РХ по време на стимулационните тестове за секреция на РХ са $\leq 7,0$ ng/ml и при двата проведени теста, докато стойности на РХ $>7,0$ ng/ml на поне един от тестовете има при 16 (22,5%) от тях. Всички хематологични и биохимични показатели, които са част от рутинното проследяване на пациентите в Центъра, са в референтните граници.

Анализът на основните клинични, ауксологични и биохимични данни от досиетата на пациентите е представен в табл.18.

Таблица 18. Основни характеристики на децата, включени в скрининга за ALS. Резултатите са представени в средни стойности $\pm SD$.

ПОКАЗАТЕЛ	СТОЙНОСТ
Възраст преди лечение (год)	7,4 \pm 3,6
SDSрръст преди лечение (n=71)	-2,8 \pm 1,2 (от -6,0 до -0,10)
SDSрръст след 1 ^{ва} год. лечение с рчРХ (n=60)	-1,7 \pm 1,1
Δ SDSрръст за 1 ^{ва} год. лечение	1,1
Начална доза на рчРХ (mg/kg/дн)	0,029 \pm 0,003
Средна доза на рчРХ за 1 ^{ва} год. лечение (mg/kg/дн)	0,030 \pm 0,001
SDS _{IGF1} преди лечение	-1,4 \pm 1,0
SDS _{IGF1} след 1 ^{ва} год. лечение с рчРХ	0,5 \pm 1,1
Δ SDS _{IGF-1} за 1 ^{ва} год. лечение	1,9
Възраст при начало на пубертета (год)	8,1 \pm 2,2
Пикови стойности на РХ по време на стимулационни тестове (ng/ml)	4,3 \pm 3,0

Средната възраст по време на пробовземането е 11,6 \pm 3,3 год. Серумните нива на IGF-1 и IGFBP-3, изследвани по време на събирането на кръвните проби за ALS, са представени в табл. 19.

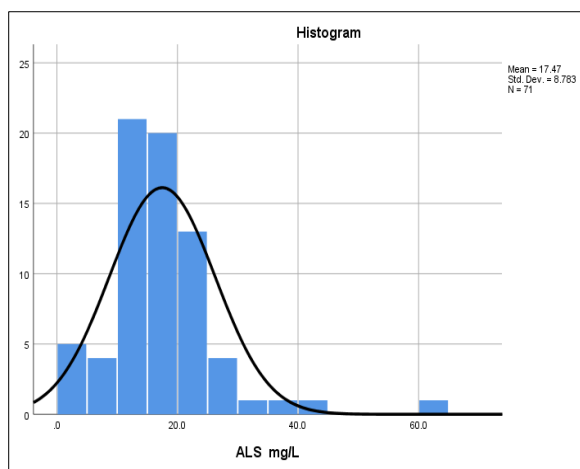
Таблица 19. Серумни нива на IGF-1и IGFBP-3 по време на събиране на пробите за ALS. Резултатите са представени в средни стойности $\pm SD$.

ПОКАЗАТЕЛ	СТОЙНОСТ
IGF-1 ng/ml	224,3 \pm 111,9
IGFBP-3 ng/ml	5479 \pm 1362
SDS _{IGF-1}	0,3 \pm 1,0
SDS _{IGFBP-3}	1,4 \pm 0,9

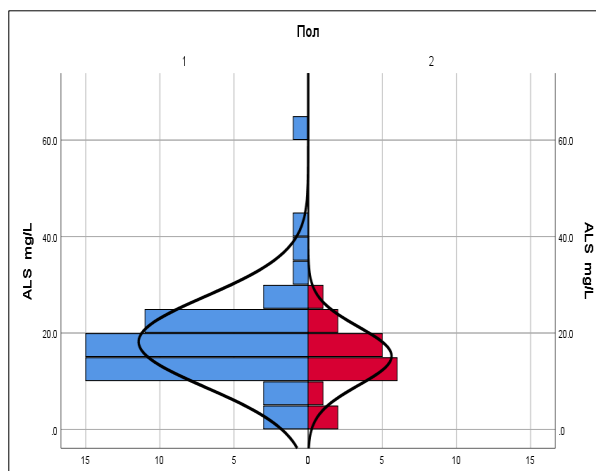
5.2. Резултати от скрининга за ALS дефицит

Изследването за дефицит на ALS установи серумни нива на ALS между 2,2 и 60 mg/L. Средните стойности на ALS са 17,4 \pm 8,7 mg/L (с медиана 16,6 mg/L). (Фиг.17, а)

Фигура 17. Разпределение на резултатите от скрининга за дефицит на ALS сред цялата изследвана кохорта (а) и по пол (б).



а)



б)

При момчетата средните нива на ALS са $18,0 \pm 9,1$ mg/L, а при момичетата са $15,3 \pm 6,3$ mg/L (Фиг. 17, б). Представени като стандартно отклонение (SDS_{ALS}), средните стойности при двата пола са $-0,6 \pm 1,3$. По-високи са стойностите при момчетата, отколкото при момичетата ($-0,4 \pm 1,1$ и $0,9 \pm 1,4$ съотв., $p=0,011$). При анализ само на децата с МТД не се открива разлика между серумните нива на ALS и средните стойности за цялата кохорта ($19,8 \pm 3,2$ mg/L, $SDS_{ALS} -0,4 \pm 1,2$).

Много ниски серумни нива на ALS ($< 4,0$ mg/L) се регистрираха при 3 (4,2%) от участниците (2 с изолиран ДРХ и 1 с МТД). Серумните нива на ALS при един от пациентите (1,4%) са много ниски (2,2 mg/L) и се доближават до стойностите при деца с мутация в гена IGFALS ($< 1,0$ mg/L).

Ш.6. Регистриране на децата в онлайн платформата iGRO, и извършване на сравнителен анализ между емпиричното дозироване на рчРХ от Специализираната комисия за отпускане на рчРХ на деца и комерсиалния модел за индивидуализиран подход на лечението.

От 2018г. във ВЕЦРЕБ се въведе прилагането на прогностичния алгоритъм iGRO (<https://igro-gh.bg/bg/>). Първо в него бяха попълнени ретроспективно данните за децата, които вече провеждат лечение с рчРХ. Проспективно се допълваха данните на лекуваните пациенти и се въвеждаха новите, които започват терапия. В платформата, съгласно минимума необходими данни, за периода 2018-2020г. се въведоха общо 114 деца, 70 от тях с изолиран ДРХ, 9 с МТД, 20 със синдром на Търнър и 15 със синдром на Прадер-Вили. (Приложение 4)

След въвеждане на данните на всички деца, алгоритъмът определи IoR и прогнозира растежната скорост за първата година лечение на 42 от пациентите - 34 с изолиран ДРХ (80,9%) и 8 с МТД (19,1%). От тях 32 (76,2%) са момчета, а 40 (95,2%) са в предпубертетна възраст. Средните стойности на IoR при тези деца са $-0,1 \pm 1,1$. При момчетата стойностите на IoR са по-ниски, отколкото при момичетата ($-0,2 \pm 1,2$ и $0,2 \pm 0,8$, съотв.).

Средната прогнозирана РС при всички участници, включени в анализа, е $9,7 \pm 1,9$ cm/год., а реално постигнатата РС при тези пациенти е $9,4 \pm 1,5$ cm/год.

Като „лоши респондери“ към терапията с рчРХ ($IoR < -1$) моделът определи 11 от децата (10 с изолиран ДРХ, **90,9%**, от които момчета), а сравнение с „добрите респондери“ е представено в табл. 20.

Таблица 20. Сравнителен анализ между „добрите“ и „лошите“ респондери преди и през първата година от лечение с рчРХ. Данните са представени като средни стойности $\pm SD$.

ПОКАЗАТЕЛ	„ЛОШИ“ РЕСПОНДЕРИ	„ДОБРИ“ РЕСПОНДЕРИ
Възраст при начало на лечение (год.)	$6,3 \pm 2,8$	$6,5 \pm 2,4$
Прогнозирана РС за 1-ва год. (cm/год)	$11,0 \pm 1,6$	$9,2 \pm 2,1$
SDSръст преди лечение	$-2,6 \pm 1,1$	$-2,9 \pm 1,3$
SDSтегло преди лечение	$-2,0 \pm 0,8$	$-2,3 \pm 1,1$
Пикови стойности на РХ по време на стимулационни тестове (ng/ml)	$3,8 \pm 2,5$	$3,9 \pm 2,6$
Начална доза на рчРХ (mg/kg/дн)	$0,028 \pm 0,003$	$0,029 \pm 0,004$
РС през 1-вата год. (cm/год)	$9,0 \pm 2,0$	$9,5 \pm 2,9$
SDS _{РС} през 1-ва год.	$2,7 \pm 1,9$	$3,7 \pm 2,2$
SDSръст след 1 ^{ва} год. лечение с рчРХ	$-1,8 \pm 0,8$	$-2,0 \pm 1,2$
Δ SDSръст за 1 ^{ва} год. лечение	$0,7 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,4$
SDS _{IGF1} преди лечение	$-1,4 \pm 0,6$	$-1,2 \pm 0,7$
SDS _{IGF1} след 1 ^{ва} год. лечение с рчРХ	$1,1 \pm 1,3$	$0,7 \pm 1,9$
IoR за 1-ва год.	$-1,4 \pm 1,2$	$0,4 \pm 1,1$

Резултатите от анализа разкриват, че по-добър отговор към терапия с рчРХ показват пациентите с по-голямо изходно изоставане в ръста на фона на по-висока начална доза. Промяната на ръста (Δ SDSръст) през първата година лечение показва силна корелация с IoR ($r=0,45$, $p=0,003$). Положителна, макар и несигнификантна, е също така корелацията между достигнатия ръст и IoR ($r=0,12$, $p=0,45$).

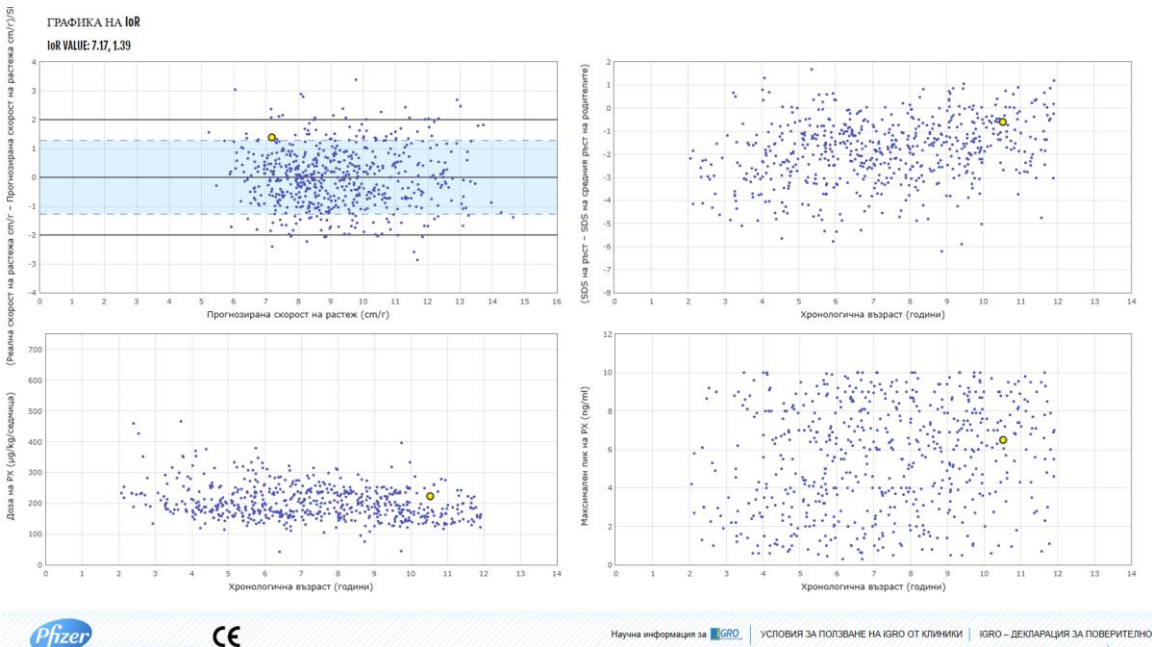
Пример за „добър“ и „лош“ респондер с графики от програмата iGRO са представени на фиг. 18 и фиг. 19.

Фигура 18. Пример за пациент, с недостатъчен отговор към лечение с rчРХ с

$IoR < -1$.



Фигура 19. Пример за пациент, с добър отговор към лечение с rчРХ с $IoR > 1$.



IV. ОБСЪЖДАНЕ

През последните години терминът „прецизна медицина“ започна да се прилага все по-широко в ежедневната работа на лекарите. (*Bidlingmaier et al., 2022*) В основата на принципа е заложено персонализиране на медицинските грижи с цел оптимизиране на диагностичните и особено терапевтичните ползи за конкретен пациент на базата на неговите генетични и фенотипни характеристики, изследване на конкретни биомаркери и прилагане на предиктивни модели за очакван отговор към дадено лечение. (*Fernandez-Luque et al., 2021*) Първата стъпка към подобряване на лечебния подход е чрез групиране и детайлно представяне на лекуваните пациенти, възможно чрез съставяне на регистър. Във ВЕЦРЕБ това се постигна със създаване на регистър на децата с хипосоматотропизъм. Групирането на пациентите по диагноза позволява лесна оценка на дадената кохорта, както и бързо сравнение на новодиагностицираните пациенти с останалите. Регулярното допълване на данни улеснява проследяването на основните биомаркери на растежа и предоставя информация за отговора към провежданото лечение с рчРХ.

От 2011 г. Клиниката по педиатрия към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна е втората в страната, която получава разрешение за съставяне на Специализирана комисия за лечение с рчРХ, а през 2019 г. са добавени още 3 клиници със Специализирани комисии в София, Пловдив и Плевен. От 2016 г. страната ни обозначи официално Експертни центрове за редки болести, които да осъществяват грижа за заболелите през целия им живот. В задълженията на всеки ЕЦРЕБ, специализиран в лечението на деца и възрастни с вроден и придобит ДРХ, попада регулярното анализиране и представяне на данни, отнасящи се до диагностичния, терапевтичния подход и резултатите от лечението с цел подобряване на грижите за пациентите.

Настоящото проучване е първото за страната, което представя в детайли изходните ауксологични и лабораторни параметри и постигнатите резултати при голяма група деца, лекувани с рчРХ, за дългогодишен период от време (2011-2020 г.).

Превесът на момчетата, лекувани в Центъра, не е изненада, а закономерност, която се наблюдава в световен мащаб. (*Polak et al., 2018*) Неглижирането на НР у момчетата може да доведе до пропускане на подлежащи патологични състояния и забавяне на тяхното лечение и представлява вид дискриминация по пол. (*Grimberg et al., 2015*) Тези резултати разкриват нуждата от по-добро мониториране на растежа при всички деца, особено при момчетата. (*Йотова, 2004*)

Известно е значението на лечението с рчРХ в предпубертетна възраст, както и ролята на по-ранното започване на терапия за достигане на ТР. (*Polak et al., 2017*) Същата тенденция се наблюдава и в нашия център при момчетата, като тези, започнали терапия в по-ранна възраст през периода 2017-2020 г., показват по-добър отговор към лечението за първата година ($\Delta\text{SDSp}_{\text{рст}(2011-2016)} = 0,7 \pm 0,6$ и $\Delta\text{SDSp}_{\text{рст}(2017-2020)} = 1,0 \pm 0,7$).

При поставяне на диагнозата сме се придържали към приетите в момента критерии, представени в глава „Материали и методи“. Прилагането на тестове за стимулиране на секретията на РХ остава основен диагностичен маркер за диагнозата ДРХ, след стриктна оценка на ауксологичните и клинични показания за извършването им. У нас за

поставяне на диагноза ДРХ се приемат стойности на РХ <10 ng/ml. В нашия Център е задължително изчакване на резултата от кариограма преди извършване на стимулационни тестове в унисон с изискването на международно приетите консенсуси. Така пациенти с диагноза напр. Синдром на Търнър и дискретни клинични дисморфични белези няма да бъдат излишно подлагани на тестове. Във ВЕЦРЕБ, съгласно международните препоръки (*Grimberg et al, 2016*), резултатите от стимулационните тестове за секреция на РХ се приемат като допълнителен, но не и единствен критерий при диагностицирането на деца с ДРХ.

При всички деца в нашето проучване е извършено образно изследване на ХХО, което се представя в настоящата работа за предоставяне на възможност за сравнение с други национални изследвания. В настоящото проучване резултатите са близки до описаните от Ranke и съав. (2011) с патологична находка при ЯМР на ХХО в 40,5% от участниците. Най-често срещана, сред нашата група изследвани деца, е хипоплазията на хипофизата (16,5%), по подобие на цитираното по-горе проучване.

Генетично изследване все още не се извършва при всички деца с НР, но се препоръчва при диагностицирането на пациенти, които имат характерни белези за генетично заболяване. (*Collett-Solberg et al., 2019*)

От създаването на Специализирана комисия за лечение с рчРХ в Клиниката през 2011 г. се прилагат международните ръководства за лечение на ДРХ. С цел да се подобри доказано важният за крайния резултат **растеж през първата година от лечението**, в края на 2016 г. бе направен одит на постигнатите резултати, който доведе до промяна в модела на лечение с повишаване на началната доза на рчРХ. Подобни са препоръките, поместени в последното ръководство за лечение с рчРХ от Grimberg и сътр. от 2016 г. В допълнение, повишаването на дозата на рчРХ след първата година терапия не повлиява значително наблюдаваното намаление в растежния потенциал с времето и не може да компенсира прираста за първата година. (*Polak et al., 2018*) Нашите резултати потвърждават тази зависимост.

От 2011 г. до 2016 г. средната начална доза на РХ в Клиниката е $0,5 \pm 0,2$ mg/дневно или $0,028 \pm 0,004$ mg/kg/дневно и е еднаква при двата пола. Тези стойности са близки до минималната препоръчителна доза според НЗОК от 0,025 mg/kg/дневно. Промяната в терапевтичния модел след 2017 г. води до започване на терапия с доза $\geq 0,030$ mg/kg/дневно при 2/3 от децата, докато преди това едва 1/3 от пациентите са започвали лечение с такава доза.

Въпреки наблюдаваните вариации в отговора към лечение с рчРХ, ефективността на терапията с рчРХ през първата година се оценява най-точно чрез растежната скорост в cm/год. и промяната в индекса на стандартно отклонение за ръста (SDSръст). (*Straetemans et al., 2018*) В настоящото проучване се отбелязва значително подобрение в РС през първата година лечение след повишаване на началната доза – средно с 0,4 cm/год ($p < 0,05$). Наблюдава се по-добър отговор към терапията с рчРХ при момчетата, при които средната РС за първата година нараства с 3,5 cm/год., докато при момчетата по-висока РС се наблюдава през втората година от лечението. Резултатите отново разкриват, че най-висок е растежният прираст през първата година лечение. Въпреки запазването на еднаква средна доза на рчРХ през първата и втората година лечение ($0,030$ mg/kg/дневно) се наблюдава намаляване на РС с времето – средно с около 1,6

cm/год. Въвеждането на по-висока начална доза на рчРХ позволява постигане на оптимален прираст през първата година от лечението, който е най-важният фактор за подобряване на достигнатия ръст ($r=0,49$, $p<0,001$).

В настоящото проучване след въвеждането на по-високата начална доза се наблюдава по-добра РС през първата година от лечението, близък процент на деца, постигнали прираст с над 10 cm/год (около 45%), с по-добър SDSръст в края на първата година от лечението ($p<0,05$), независимо от по-неблагоприятните изходни ауксологични характеристики на проспективно проследената група. Тези резултати са постигнати единствено с повишаване на началната доза на рчРХ при запазване на средната доза на рчРХ през първата година терапия, която за двата анализирани периода остава почти непроменена (около 0,030 mg/kg/дневно). Значително подобрене в Δ SDSръст се наблюдава при момичетата след въвеждане на по-висока начална доза ($p<0,001$). Средните стойности на Δ SDSръст при всички пациенти остават еднакви за двата сравнявани периода през втората година лечение.

Критериите за добър и недостатъчен отговор към терапия с рчРХ в литературата са разнообразни. (Straetemans et al., 2018) В настоящия анализ като добре отговарящи на терапията (респондери) са определени децата, които са постигнали Δ SDSръст за първата година лечение $\geq 0,5$, а като лоши – с Δ SDSръст $< 0,5$, съгласно проучванията на Ranke и Straetemans. С повишаването на началната доза на рчРХ се наблюдава леко, макар и несигнификантно увеличение на момичетата, които са постигнали по-добър отговор през втория период.

Ако растежният прираст е незадоволителен, се препоръчва преоценка на прилаганата доза рчРХ, оценка на придържането към терапевтичния режим и търсене на друга етиологична причина за ДРХ. Ако всичко това не подобри отговора към лечение, обсъжда се прекратяване на терапията. (Wit et al., 2019)

Постигнатите резултати при емпирично дозиране на рчРХ и през двата периода се доближават до тези, описани в литературата. Straetemans и съав. съобщават за лош отговор към терапия с Δ SDSръст $< 0,5$ в 26% от пациентите с ДРХ в Белгия при средна начална доза от 0,027 mg/kg/дневно. Възможно обяснение за близката промяна в SDSръст и през двата периода и сравнително големия брой добри респондери за периода 2011-2016 г., е по-големият растежен дефицит изходно сред пациентите в първия период. Karłowitz и съав. в хода на проучването NCGS сред 1899 деца с ДРХ, установяват по-добър отговор към терапия с рчРХ сред децата с по-голямо изходно изоставане в ръста.

Костната възраст е биомаркер, който се използва за оценка на ефективността на прилаганата терапия с рчРХ. Очаквано КВ показва подобрене след започване на терапия с рчРХ. В настоящото проучване се отчита умерена динамика в промяната на SDS_{КВ}. През двата сравнявани периода средното изоставане в КВ преди лечение е от -3,0 SDS. През втория период най-голяма промяна се отчита в края на втората година от лечението. В нашето проучване динамиката на отношението КВ/ХВ следва промяната в КВ и най-високи стойности се отчитат след две години лечение. Постигнатите резултати са по-добри през периода 2017-2020 г. с прилагането на по-висока доза рчРХ.

Съгласно препоръките за лечение с рчРХ на Grimberg и сътр., серумните нива на IGF-1 могат да се използват като показател за проследяване на отговора към рчРХ при

промяна в дозата. (Grimberg et al., 2018) Възприето е при SDS_{IGF-1} с повече от 2 SD да се намалява дозата на рчРХ, макар че все още няма достатъчно проучвания, които да оценят допустимата максимална безопасна стойност на серумния IGF-1. (Collett-Solberg et al., 2019) По тази причина, ако се наблюдава добра растежна скорост с нормални нива на IGF-1, не е препоръчително да се повишава допълнително дозата на рчРХ и да се търсят супрафизиологични нива на IGF-1. В допълнение, високите дози на рчРХ крият риск от поява на нежелани лекарствени реакции. (Grimberg et al., 2016) При определянето на дозата на рчРХ е препоръчително да се подхожда индивидуално и по възможност да се прилага най-ниската доза, която е ефикасна и води до оптимален растеж. (Grimberg et al., 2016) В настоящото проучване, както и от създаването на Специализирана комисия през 2011 г. не са регистрирани отклонения, отразяващи различните видове риск при лечение с рчРХ (т. нар. safety parameters). Нещо повече, нивото на IGF-1 в края на първата година е сигнификантно по-ниско в групата, лекувана с по-висока начална доза, което потвърждава безопасността на този подход.

При сравняване на серумните нива на IGF-1 през двата периода се наблюдава по-стръмно покачване на стойностите през първия период (2011-2016 г.), като средните стойности над +1SD се наблюдават още в края на първата година лечение. За сравнение, през периода 2017-2020 г. средни стойности на IGF-1 $>+1$ SD не се достигат дори след 2 години лечение. От резултатите е видно, че по-бързо нормализиране на серумните нива на IGF-1 се постига при момчетата и през двата периода, отколкото при момчетата. Въпреки регистрирането на стойности на IGF-1 над +2SD при 10 от децата, коригирането на дозата на рчРХ намалява нивата до референтните граници, а странични реакции не са отчетени. В литературата единично измерване на стойности на IGF-1 $> +2SD$ се описва при 25% от лекуваните деца с ДРХ. (Rhie et al., 2019) В допълнение, в мащабното проучване IOS, включващо 13 843 пациенти на лечение с рчРХ, не се установява сигнификантна корелация между по-високата доза на рчРХ и регистрирането на странични реакции. (Sävendahl et al., 2016)

Измерването на серумните нива на IGF-1 на всеки 3 или 6 месеца позволява прецизно титриране на дозата, а проследяването на нивата за поне 12 месечен период дава представа за придържането към терапията. При пациентите, които показват лош отговор към терапията и серумните нива на IGF-1 не се повишават след поне една година лечение, се препоръчва преоценка на поставената диагноза и извършване на допълнителни генетични и биохимични изследвания. (Bang et al., 2012)

Към настоящия момент, изследването на серумните нива на IGF-1 остава най-широко прилаганият биомаркер за действието на рчРХ. (Bidlingmaier et al., 2022) От друга страна, зависимостта на стойностите на IGF-1 от множество фактори (възраст, пол, пубертетно развитие, телесни пропорции, недोхранване, хронични заболявания) налагат изготвянето на специфични референтни граници за маркера и стандартизиране на лабораторните методи за изследването му. (Ranke et al., 2020)

Проследяването на останалите биохимични и хормонални маркери за безопасност на лечението с рчРХ през целия период на проучването 2011-2020 г. не показва сериозни отклонения от референтните стойности. Регистрираните повишени стойности на някои от показателите бяха за кратък период от време, в повечето случаи в началото на

терапията. За целият период не се регистрираха сериозни нежелани реакции и нито едно дете не е прекратило лечение поради странични явления.

Обикновено при децата с ДРХ се наблюдава изоставане в началото на пубертета. Интересен е фактът, че през периода 2011-2016 г. пубертетно развитие се наблюдава по-рано при момчетата, отколкото при момичетата (10,8 и 11,2 г. съотв.). По-ранното настъпване на пубертета сред изследваната кохорта в Центъра, в сравнение с международните проучвания, и значението на предпубертетния растеж за достигане на ТР налага още по-активно търсене и диагностициране на децата с нарушения в растежа за започване на лечение във възможно най-ранна възраст.

Основната цел на лечението с рчРХ е да се постигне нормализиране на линейния растеж и да се достигне таргетния растежен потенциал. Обикновено ТР сред децата с ДРХ се изчислява според ръста на двамата родители. Предсказването на крайния спрямо настоящия ръст се определя като по-неточен метод, понеже е доказано, че обикновено достигнатият краен ръст след лечение с рчРХ е по-висок. Сред изследваната група деца с ДРХ в Центъра средните стойности на ТР не показват различия по пол, но са по-ниски от средните за популацията (-0,3 SDS). Средният ТР от $168 \pm 8,1$ cm съвпада с ТР, описан в литературата сред деца с ДРХ. (*Maghnie eu ъвлр 2006*)

Настоящото проучване обхваща 10 годишен период на проследяване и лечение на децата с ДРХ в Клиниката. Постигнатото Δ SDSръст за целия период е $1,7 \pm 1,1$. Към момента на анализа средният достигнат краен ръст е $165,1 \pm 13,4$ cm, което съвпада с данните от проучванията за КР сред деца с ДРХ. (*Thomas et al., 2001*) Линейният регресионен анализ сред нашите пациенти показва най-силна корелация между КР и РС през първата година от лечението ($r=0,49$, $p<0,001$), докато корелацията с Δ SDSръст, SDS_{IGF-1} през първата година и началната доза на рчРХ е по-слаба.

Синдромът на Търнър е рядко заболяване, което се проявява с изоставане в растежа, а лечението с рчРХ доказано подобрява КР при лекуваните деца със СТ. Международните ръководства за лечение на деца със СТ препоръчват начална доза на рчРХ до $0,050$ mg/kg/дневно. (*Gravholt et al., 2016*) Средната начална доза в Центъра при СТ е $0,035$ mg/kg/дневно, което е под границите на препоръките на НЗОК ($0,045 - 0,050$ mg/kg/дневно). По-високи дози на рчРХ се обсъждат единствено в случаите с лоша прогноза за КР. Въпреки, че началната доза на рчРХ е по-ниска от международните препоръки, се наблюдава добър прираст сред лекуваните пациенти през първата година от терапията (Δ SDSръст е $0,5 \pm 0,7$). Наблюдава се по-висока възраст на започване на лечение при пациентите със СТ в сравнение с тези с ДРХ (средно $9,2$ и $8,1$ съотв.) в нашия анализ.

В настоящото проучване средната доза през първата година лечение не се променя значимо спрямо началната при пациентите с ДРХ и СТ. Промяната в SDS_{IGF-1} и при двете групи пациенти за първата година е с $>1SD$, което е белег за добър отговор към терапията, но по-добра РС и Δ SDSръст за първата година се регистрират при децата с ДРХ. В нашата Клиника се регистрира най-висока РС през първата година от терапията и при двете групи, която постепенно намалява през последващите години от лечението. Резултатите от нашето проучване разкриват по-нисък достигнат КР при децата със СТ в сравнение с тези с ДРХ ($SDS_{КР} -1,3$ и $-0,7$ съотв.). Данните съответстват с резултатите, описани в литературата, а вероятни причини за по-ниския КР при СТ са късната

възраст на поставяне на диагноза, по-ниските от препоръчаните дози на РХ и по-кратката продължителност на терапията. (Gravholt et al., 2016)

В последните ръководства за лечение с рчРХ към рутинното проследяване на IGF-1 като показател за безопасност се добави и изследването на серумните нива на нов биомаркер – IGFBP-3. (Collett-Solberg et al., 2019, Grimberg et al., 2016) Въпреки че в препоръките се подчертава ползата от изследването на нивата на IGFBP-3, както и тяхното моларно отношение IGF-1/IGFBP-3, все още няма разработени и общоприети референтни граници за двата показателя.

В настоящото проучване се наблюдава **бързо покачване** на серумните стойности на IGF-1, IGFBP-3 и тяхното директно отношение след започване на лечение с рчРХ. Стойностите на директното отношение IGF-1/IGFBP-3 показват значима корелация със стойностите представени като SDS ($p < 0,05$) и изчислени по специфична формула ($p < 0,001$) преди и след начало на терапията с рчРХ. Най-голяма промяна в нивата на директното отношение се наблюдават през първите две години от лечението, след което се задържат без промяна, което е в съответствие с резултатите от международни проучвания ($p < 0,001$). (Friedrich et al., 2014, Gaddas et al., 2019) Въпреки вариациите в стойностите на IGF-1 и IGFBP-3, директното отношение остава стабилно.

Стойностите на отношението IGF-1/IGFBP-3 не показват значима разлика между двата пола и възрастта на пациентите. Единствено в края на втората година от лечението се наблюдава значително покачване на нивата на IGF-1/IGFBP-3 при момчетата, но след това стойностите се изравняват с тези при момчетата. Резултатите показват, че директното отношение IGF-1/IGFBP-3 не се повлиява от възрастта и пола на пациентите, пола и пубертетното развитие, а единствено от времето, което е изминало от започването на лечение с рчРХ и момента на провеждане на изследването.

Анализът на резултатите от настоящото проучване разкрива приложимостта на директното отношение IGF-1/IGFBP-3 при проследяване на пациентите с ДРХ, лекувани с рчРХ. Лесното калкулиране на отношението и неговата стабилност го превръщат в удобен маркер за оптимизиране и индивидуализиране на терапията с рчРХ. Отношението позволява да се намали вариабилността на серумните нива на IGF-1 и IGFBP-3 и по този начин да се намали вероятността от потенциален здравен риск. Настоящият скрининг е първият за страната, който изследва стойностите на ALS сред пациентите с хипосоматотропизъм у нас.

Дефицитът на ALS представлява особена форма на дефицит на оста хипофиза-РХ-IGF-1-IGFBP-3. (Zaidman et al., 2018) Невъзможността за сформирание на комплекса IGF-1-IGFBP-3-ALS води до понижаване на серумните концентрации на IGF-1 и IGFBP-3 поради по-краткия полуживот на показателите извън комплекса. (Isik et al., 2012)

Резултатите от проведеня скрининг показват положителна корелация между установените нива на ALS сред изследваната кохорта и съобщенията в литературата за стойностите на ALS сред пациенти с ДРХ. (Baxter et al., 1990, Khosravi et al., 1997) Наблюдават се сравнително ниски нива на ALS сред всички изследвани пациенти от ВЕЦРЕБ в сравнение със нивата при здрави деца, въпреки провеждането на терапия с рчРХ при всички. Тези резултати подкрепят тезата, че повлияването на серумните стойности на ALS при деца с ДРХ е само частично. (Barrios et al., 2001)

В скорошен анализ на Ertl и съав. се обобщава, че серумните нива на IGF-1, IGFBP-3 и ALS, в комбинация или отделно представени, не са достатъчен критерий за поставяне на диагноза ДРХ, а най-надежден метод остават стимулационните тестове за секреция на РХ. В допълнение, резултатите от нашето проучване разкриват по-ниската значимост на изследване за дефицит на ALS след започване на лечение с рчРХ.

Въпреки това, скринирането за дефицит на ALS остава полезен допълнителен биохимичен биомаркер за откриване на пациенти с мутации в гена IGFALS сред групи деца с НР преди започване на лечение с рчРХ, при които се установяват ниски серумни нива на IGF-1 и IGFBP-3, умерен растежен дефицит, високи нива на инсулин и късно начало на пубертетно развитие. (Domene et al., 2009) Възможно е хетерозиготните случаи с по-лека клинична изява да остават „скрити“ или неправилно диагностицирани. (Domene et al., 2009) Важността от правилна и навременна диагноза позволява започване на подходяща терапия и превенция на възможните здравни последици.

Емпиричните модели са неизменна част от ежедневната практика, но не винаги успяват прецизно да оценят индивидуалния отговор към терапията, който може да следва модел, различаващ се от средния за популацията. Именно затова през последните години се разработват нови комерсиални модели за предсказване на ефекта от терапия с рчРХ в детска възраст.

Приложението на предиктивни модели за оценка на ефекта от лечението с рчРХ е иновативно за нашата страна. Въвеждането на данните на пациентите, които се наблюдават в Центъра, в регистъра iGRO позволи да се направи сравнение между постигнатите резултати при емпирично дозиране на рчРХ и предиктивните модели, генерираани от програмата.

Съгласно критериите на Ranke и Straetmans за $IoR < -1$, iGRO определи като „лоши“ респондери 11 от децата. Сравнението с „добрите“ респондери разкри близка възраст при започване на лечение, близък изходен растежен дефицит и еднакви пикови стойности на РХ по време на стимулационни тестове при двете групи. Въпреки по-високата средна прогнозирана РС за първата година лечение, „лошите“ респондери не успяват да осъществят своя растежен потенциал и постигат по-ниска РС в сравнение с групата на „добрите“ респондери (9,0 и 9,5 cm/год. съотв.), на фона на еднаква средна начална доза рчРХ. Най-вероятната причина за тези резултати е нееднакво доброто придържане към терапията при добрите респондери и лошите респондери. Линеяният регресионен анализ разкрива най-значима корелация между промяната в ръста и IoR за първата година от лечението ($r=0,45$, $p=0,003$).

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Макар че на пръв поглед пациентите не са много (общо 133 към момента на изследването, декември 2020 г.), трябва да се има предвид, че включените заболявания са с характеристика на **редки болести** – т.е. с честота под 1 на 2000 души съответно население. Според ORPHANET (www.orpha.net) различните заболявания от групата с нарушение в линеарния растеж са с честота, варираща между “много редки” – с неизвестна честота и такива с честота 1-5 на 10 000 (напр. изолиран ДРХ). Анализът на настоящите данни, макар и от един център в страната, позволява да се сравнят

получените системни резултати с международни проучвания, които обхващат големи групи от пациенти, както и да се направи оценка на постигнатите резултати във ВЕЦРЕБ за два периода с обогатен диагностичен и различаващ се терапевтичен подход. Това е залог за бъдещо усъвършенстване на дейността, подобряване на терапевтичните постижения и защита на принадлежността на ВЕЦРЕБ към Европейската мрежа за редки ендокринни заболявания (www.endo-ern.eu) и по-специално, към Главната тематична група 6 (Main Thematic Group 6, MTG6) – Хипоталамус и хипофиза (Hypothalamic and Pituitary Conditions). Освен това, общият срок на редовно наблюдение на тези пациенти (над 3000 пациенто-месеци) демонстрира повишаващата се компетентност на Центъра и привличането на нови болни – а оттам – по-нататъшно усъвършенстване на грижите.

Настоящият анализ е първият за страната, който в детайли разглежда серумните стойности на IGFBP-3, а в света и първият, разглеждащ директното отношение IGF-1/IGFBP-3 като маркери за оценка на провеждането лечение с рчРХ при деца с ДРХ. Изследването на показателите сред група от здрави деца би позволило изготвяне на локални референтни стойности в бъдеще. Валидирането на предложения метод е задължително в близкото бъдеще.

Предвиждане на отговора към терапия с рчРХ позволява индивидуализиране и по този начин оптимизиране на лечебния процес. Индивидуализираният подход води до по-нисък риск от проява на нежелани лекарствени реакции и по-малко натоварва икономически здравните системи. Точното предвиждане на растежния прираст подпомага детския ендокринолог, от една страна, и родителите и пациента от друга страна, при обсъждане на терапевтичната стратегия, дава адекватна представа за вероятния КР, което би довело до подобряване на придържането (комплайънса) към лечението с рчРХ.

ОСНОВНИ ИЗВОДИ

На база на събраните данни в изпълнение на научните задачи и извършения анализ формулирахме следните основни изводи:

1. Създаденият регистър на децата с хипосоматотропизъм към ВЕЦРЕБ е с възможности за достоверни и полезни от научна и научно-приложна гледна точка оценки на резултатите от диагностиката и лечението, както и с възможности за въвеждане на данните на новооткритите пациенти с ДРХ в бъдеще.
- 2..1. От започналите лечение в периода 2011-2016 г. пациенти, всички показват значителен изходен растежен дефицит, ниски стойности на биологичните маркери и изоставане в костната възраст. Отчетен е добър отговор към прилагано лечение с рчРХ.
- 2..2. Пациентите, започнали лечение в периода 2017-2020 г., показват умерен растежен дефицит изходно при момчетата, ниски стойности на биологичните растежни маркери и изоставане в костната възраст. Отчетен е добър отговор към лечение с рчРХ през първата година от лечението.
- 2..3. Сравнителният анализ между периода 2011-2016 г. и 2017-2020 г. показва:
 - По-ниска възраст при започване на лечение с рчРХ и по-тежък растежен дефицит изходно през първия период.
 - Активно въведената по-висока начална доза на рчРХ (0,030 mg/kg/дн) води до по-добра растежна скорост и прираст през първата и втората година от лечението, като ефектът при момчетата е още по-отчетлив. Не са отчетени значими разлики във времето на настъпване на пубертетно развитие.
 - Най-значимо влияние върху крайния ръст оказва растежната скорост през първата година от лечението, последвана от степента на повишение на IGF-1 и дозата на рчРХ. Не са отчетени значими отклонения в параметрите за сигурност (IGF-1, IGFBP-3, HbA1c% и др.).
3. Изследваната група от пациенти с ДРХ демонстрира по-ранно начало на лечение с рчРХ и по-добър отговор към него при по-адекватни дози в сравнение с пациентите със синдром на Търнър.
4. Серумните концентрации на IGFBP-3 и директното отношение IGF-1/IGFBP-3 показват силна корелация с предложените публикувани модели за изчисляване на отношението, което подкрепя неговата приложимост в рутинното мониториране на ефекта и безопасността от лечението с рчРХ.
5. Нивата на ALS при изследваните пациенти кореспондират с публикуваните съобщения в литературата за стойностите на ALS сред пациенти с ДРХ на лечение.
6. Изследването на серумните концентрации на ALS сред пациентите с ДРХ не откри пациенти с дефицит и показва несигнификантна честота на това

отклонение в изследваната група, с което не подкрепя необходимост от неговото въвеждане в практиката като биомаркер.

7. Приложението на комерсиален предиктивен модел за прогнозиране на растежния потенциал и подпомагане на индивидуализиран подход в лечението с чрРХ в ежедневната клинична практика показва отлична корелация с постиганите резултати чрез емпирични модели на дозиране.
8. Приобщаването на „лошите респондери” към лечението с рчРХ зависи най-много от постигането на оптимална растежата скорост през първата година от лечението, което корелира с началната доза на рчРХ.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. За първи път в световната литература се изследва директното отношение IGF-1/IGFBP-3 като маркер за отговора към лечение с рчРХ и се предлага неговото въвеждане в рутинното мониториране на терапията с рчРХ.
2. За първи път у нас се анализират в детайли серумните стойности на IGFBP-3 в хода на лечение с рчРХ.
3. За първи път у нас се извършва дългогодишно системно проучване на проследяването и лечението с рчРХ на деца с ДРХ
4. За първи път у нас се проучва разпространението на дефицит на ALS и нивата му в лекувани с рчРХ деца.
5. Оригинален принос е сравнението между клиничната, емпирична утвърдена практика за лечение с чрРХ с нови модели за предсказване на ефекта от лечение с чхРХ, чието въвеждането в ежедневната практика може допълнително да подобри неговите резултати.

Настоящият труд може да послужи като основа за последващи проучвания и сравнения на терапевтичните практики при деца с ДРХ.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Ранкова, К., В. Йотова, С. Галчева, В. Младенов, В. Бояджиев, И. Халваджиян, Ю. Баздарска, Н. Йорданова, Я. Бочева, М. Новакова. Резултати от промяната в терапевтичния подход при пациенти с дефицит на растежен хормон през първата година от започване на лечението в един експертен център. *Педиатрия*, том LXI, 2/2021
2. Rankova K., Iotova V., Mladenov V., Karamfilova T., Bazdarska Y., Yordanova N., Halvadzhiyan I., Nachmeriyan M, Bocheva Y., Boyadzhiev V., Galcheva S. Treatment with Recombinant Growth Hormone in Children with Turner syndrome: a study from a tertiary university center. *Scripta Scientifica Medica*, 2021; Online
3. Rankova K, S. Galcheva, V. Mladenov, Y. Bocheva, N. Yordanova, Y. Bazdarska, V. Iotova. Empirical change of practice in treatment of growth hormone deficient patients in order to improve first year of height outcome, Abstracts Horm.Res Paediatr 2019: doi 10.3252/pso.eu.58ESPE.2019
4. Rankova K., V. Iotova, Y. Bocheva, S. Shefket, N. Yordanova, Y. Bazdarska, K. Tsochev, S. Galcheva, V. Boyadzhiev. Presentation of IGF-1/IGFBP-3 ratio as an effective monitoring index during treatment of growth hormone deficient patients. The 59th Annual ESPE Meeting, Online, September 2021, P2–259: Abstracts. *Horm Res Paediatr* 2021;94(suppl 1):1–445 doi: 10.1159/000518849
5. Rankova K., V. Iotova, Y. Bocheva, S. Shefket, N. Yordanova, Y. Bazdarska, K. Tsochev, S. Galcheva, V. Boyadzhiev. Incidence of ALS deficiency in patients with growth hormone deficiency at tertiary pediatric endocrinology center. The 59th Annual ESPE Meeting, Online, September 2021, P2–258: Abstracts. *Horm Res Paediatr* 2021;94(suppl 1):1–445 doi: 10.1159/000518849
6. Rankova K., S. Galcheva, V. Mladenov, V. Boyadzhiev, Y. Bocheva, N. Yordanova, Y. Bazdarska, V. Iotova. First and second year growth response to growth hormone (GH) treatment in a cohort of GH deficient patients. Vth ISPAD/VAPES Course&Conference “Diabetes and rare diseases”, Albena, Bulgaria, April 11-13, 2019 (oral)

БЛАГОДАРНОСТИ

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

- на научния си ръководител проф. д-р Виолета Йотова – за разбирането, търпението, вярата в мен и безрезервната подкрепа при написването на дисертационния труд;
- на всички колеги и медицински сестри от Първа детска клиника на УМБАЛ „Света Марина“, без чийто принос този дисертационен труд нямаше да бъде осъществен;
- на колегите от Клинична лаборатория и имунология, колегите от Лабораторията по медицинска генетика, колегите от Катедрата по образна диагностика на УМБАЛ „Света Марина“ за добрата колаборация и съдействие;
- на пациентите и техните семейства, за съдействието в диагностичната дейност;
- на компания „Пфайзер“ за безвъзмездното предоставяне на достъп до платформата iGro;
- на съпруга ми и двете ми дъщери – за търпението и подкрепата.