

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ
КЛИНИКА ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ, УМБАЛ „АЛЕКСАНДРОВСКА”

Доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева

**МИКРО- МАКРОВАСКУЛАРНИ УСЛОЖНЕНИЯ НА
ЗАХАРНИЯ ДИАБЕТ ПРИ ПАЦИЕНТИ С РАННИ
НАРУШЕНИЯ ВЪВ ВЪГЛЕХИДРАТНАТА ОБМЯНА**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на научна степен
“доктор на науките”

Област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт
Професионално направление 7.1 Медицина
Научна специалност – „Ендокринология“ (шифър 03.01.16)

София
2022

Дисертационния труд е представен на 257 стандартни печатни страници, онагледен е с 25 фигури и 29 таблици. В библиографията са включени 1018 заглавия. Във връзка с дисертационния труд са реализирани общо 15 публикации, 9 от които са с импакт фактор, 3 участия в научни форуми и 9 участия в научни проекти.

Процедурата за предварително обсъждане е проведена на заседание на Катедрен съвет на катедра по вътрешни болести на Медицински факултет, Медицински университет – София (извлечение от протокол 2/01.03.2022 г.) и е насочен за защита пред научно жури в състав:

Членове:

1. Проф. Русанка Димитрова Ковачева-Георгиева – Медицински университет – София (вътрешен член)
2. Проф. Анна-Мария Борисова Иванова - Университетска многопрофилна болница за активно лечение "Софиямед" ООД (външен член)
3. Проф. Ивона Кирилова Даскалова - Военномедицинска академия (външен член)
4. Доц. Атанаска Петрова Еленкова – Медицински университет – София (вътрешен член)
5. Доц. Катя Николова Тодорова – Ананиева - Медицински университет – Плевен (външен член)
6. Доц. Живка Бонева Асьова - Научно-учебен съвет при Медицински институт – МВР (външен член)
7. Доц. Мила Богданова Бояджиева – Медицински университет "Проф. д-р Параскев Стоянов" – Варна (външен член)

Резервни членове:

1. Проф. Михаил Ангелов Боянов – Медицински университет – София (вътрешен член)
2. Митко Димитров Митков - Доцент - Медицински университет – Пловдив (външен член)

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на открито заседание пред научно жури, назначено от Ректора на Медицински Университет – София на 29.09.2022 в Аудитория „Чилев“ от 14:00 часа

С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е

ВЪВЕДЕНИЕ	7
ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ	9
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	10
РЕЗУЛТАТИ	17
Класически сърдечно-съдови рискови фактори.....	17
Макроваскуларни усложнения.....	23
Микроваскуларни усложнения	29
Други свързани коморбидности	34
Нови маркери за съдов риск.....	38
Проспективно проучване.....	48
ОБСЪЖДАНЕ	52
ОБОБЩЕНИЕ	82
ИЗВОДИ	84
СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ	86
ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИЯТА	88
С ИМПАКТ ФАКТОР	88
БЕЗ ИМПАКТ ФАКТОР	89
УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ	89
УЧАСТИЯ В ПРОЕКТИ	90

Списък с използваните съкращения

ДН – диабетна невропатия
ЗД1 – захарен диабет тип 1
ЗД2 – захарен диабет тип 2
ИР – инсулинова резистентност
ИРИ – имунореактивен инсулин
ИТМ - индекс на телесна маса
КАН – кардиална автономна невропатия
КЗГ – кръвна захар на гладно
МС – метаболитен синдром
НАСБ - неалкохолната стеатозна болест
НГГ - нарушена гликемия на гладно
НГТ – нарушен глюкозен толеранс
ОГТТ – орален глюкозо-толерансен тест
ОПГ - Остеопротегерин
ОСА – обструктивна сънна апнея
ССЗ – сърдечно-съдово заболяване
ХБЗ – хронично бъбречно заболяване
ABI – Ankle-Brachial Index (индекс глезен/мишница)
ABSI - body shape index
ACR – отношение албумин/креатинин
AGEs - крайни продукти на неензимното гликиране
AIP - Atherogenic index of plasma
BRI - body roundness index
CIMT - дебелина на интима медиа на а. каротис комунис
eGFR – изчислена стойност на гломерулна филтрация
ESC - електрохимична кожна проводимост
FGF23- Fibroblast growth factor 23
FLI - Fatty liver index
HbA1c – гликиран хемоглобин
HOMA-IR - Homeostasis model assessment
HRV - heart rate variability (вариабилност на сърдечната честота)

HRVi - Интеграл на плътността на хистограмата на RR интервалите, разделен на нейната височина

LAP - Lipid accumulation product

MCP-1 – моноцит хемоатрактантен протеин

METS-IR - Metabolic score for insulin resistance

NAFLD-LFS - NAFLD liver fat score

NDS - Скор за диабетна невропатия

ODI - Oxygen Desaturation Index (индекс на кислородна десатурация)

PNN50 - Процент на последователни RR интервали с разлика > 50ms

PON-1 Пароксоназа-1

QSART - quantitative sudomotor axon reflex test

QUICKI - Quantitative Insulin Sensitivity Check Index

RAGE –рецептор за крайни продукти на неензимното гликиране

RBP4 - Ретинол-свързващ протеин 4

RHI -Reactive Hyperemia Index

RMSSD - Средната разлика между последователни RR интервали

RR50 - Брой RR интервали за определен период, където разликата между последователните RR интервали надхвърля 50 ms

sCD40L – разтворима форма на CD40 ligand

SDRR/SDNN - Стандартно отклонение на RR интервалите

SeP - селенопротеин P

sRAGE – разтворима форма на рецептора за крайни продукти на неензимното гликиране

TXNIP - Thioredoxin-interacting protein

VAI - visceral adiposity index

VEGF-A - Vascular endothelial growth factor A

VEGF-R1- Vascular endothelial growth factor receptor 1

VEGF-R2 - Vascular endothelial growth factor receptor 2

VEGF-R3- Vascular endothelial growth factor receptor 3

VPT - VibrationPerceptionThreshold

WC - обиколка на талията

WHR – отношение талия/ханш

WHtR – отношение талия/ръст

WWI - weight-adjusted-waist index

ВЪВЕДЕНИЕ

Предиабетът представлява метаболитно състояние, което заема междинно място между нормалната глюкозна хомеостаза и захарния диабет и е свързано с повишен риск от развитието на захарен диабет. Критериите, които поставят границите между нормалните стойности, нарушената гликемия на гладно, нарушения глюкозен толеранс и захарния диабет, се базират на изчисления на прага, над който се изявяват усложненията на диабета. Напоследък става ясно обаче, че диабетните усложнения вероятно започват развитието си в по-ранни фази от нарушената глюкозна хомеостаза, тъй като микроваскуларните увреждания в много случаи са налице при поставянето на диагнозата диабет. Идентифицирането на субклинични промени в макро- и микросъдовата функция при пациенти без изявен захарен диабет представлява интерес с оглед на възможностите за по-ранно терапевтично повлияване. Новите маркери за микро- и макроваскуларен риск могат да подпомогнат оценката на риска при пациенти с предиабет.

Всички етапи от нарушената глюкозна хомеостаза са свързани с повишен риск от развитие на ЗД2 и сърдечно-съдови усложнения. Трябва да се има предвид, че диабетът и предиабетът са еднакви в контекста на дисгликемията и хипергликемичната токсичност. Механизмите, по които пациентите с диабет и предиабет развиват съдови усложнения са разнообразни и са свързани с различни фактори. Тези фактори включват хипергликемичната токсичност, диабетната дислипидемия, метаболитния синдром и др., но патофизиологичните механизми са сходни, независимо дали се касае за захарен диабет или предиабет. От друга страна обаче, при пациенти с предиабет и захарен диабет повишеният сърдечно-съдов риск може би до голяма степен е свързан и с допълнителното наличие на множество метаболитни рискови фактори, различни от хипергликемията пер се. Инсулиновата резистентност сама по себе си също повишава риска за сърдечно-съдови заболявания, дори при отсъствието на хипергликемия.

Диабетната ангиопатия се характеризира с функционална и структурна органна увреда като резултат от промени в съдовата система, свързани със захарния диабет. Тя се дели на **микроангиопатия**, която засяга капилярите и артериолите в ретината (*ретинопатия*), бъбрека (*нефропатия*) и нервите (*невропатия*) и **макроангиопатия**, която засяга артериите на мозъка (*мозъчно-съдова болест*), сърцето (*исхемична болест на сърцето и застойна сърдечна недостатъчност*) и долните крайници (*периферна артериална болест*). Последниците от диабетната ангиопатия са късните диабетни усложнения, които имат значителен негативен ефект върху прогнозата, очакваната продължителност на живота и качеството на живот на хората с диабет. Микроваскуларните усложнения (ретинопатия, нефропатия и ретинопатия) са водеща причина за инвалидизация, докато макроваскуларните (исхемична болест на сърцето и мозъчно-съдова болест) – за смъртност при пациентите със ЗД. По тази причина е изключително важно да се предотврати прогресията на сърдечно-съдовите заболявания чрез ранна диагноза и агресивни терапевтични интервенции с цел подобряване преживяемостта и подобряване качеството на живот. Важно е да се има предвид, че голяма част от пациентите със захарен диабет тип 2 и немалко от тези с предиабет имат поне едно хронично усложнение при поставяне на диагнозата.

Макар микроваскуларните усложнения, настъпващи в хода на предиабетните състояния често да са леки, те са клинично значими и в някои случаи могат да ни дадат информация относно механизмите и патогенезата на диабетната ангиопатия. До сега се смяташе, че микроваскуларните усложнения, наблюдавани при предиабет, се дължат изцяло на хипергликемията. Нови проучвания, обаче, доказаха, че голям принос за тях имат и други метаболитни фактори като метаболитен синдром, затлъстяване, дислипидемия и артериална хипертония. В този смисъл интерес представляват различните механизми за развитие на диабетни усложнения при пациенти с предиабет и ролята на други метаболитни фактор извън гликемията

ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящето изследване е да се оцени наличието и тежестта на макро- и микроваскуларни усложнения при пациенти с ранни нарушения във въглехидратната обмяна (предиабет и новооткрит захарен диабет) с помощта на комбинация от клинично-лабораторни и инструментални методи и да се проучи връзката им с някои класически метаболитни показатели и нови маркери за съдов риск

ЗАДАЧИ:

1. Да се оцени наличието и тежестта на микро- и микроваскуларни усложнения на ЗД при пациенти с предиабет и новооткрит захарен диабет с помощта на инструментални методи (изследване на дебелина на интима медиа на а. каротис, изследване на ендотелната функция, изследване за наличие на периферна невропатия, изследване на автономната нервна система, изследване на очните дъна и микроалбуминурия)
2. Да се проследи връзката между нивата на някои класически метаболитни показатели (антропометрични измервания и индекси, инсулинова резистентност, липиден профил, артериално налягане) и данните за микро- и микроваскуларни усложнения
3. Да се проследи връзката между някои нови маркери за микро- и микроваскуларен риск (Pentosidine, soluble RAGE (advanced glycosylation end-products receptor), CD36, serum paraoxonase-1, soluble CD40L (CD40 ligand), osteoprotegerin, irisin, VCAM-1, VEGF-A, MCP-1, VEGF-R2, VEGF-R1, VEGF-R3/FLT-4, ICAM-1, Peroxiredoxin 4, Selenoprotein P, Kallistatin, TXNIP, сиалова киселина, Copeptin, FGF23, Klotho, IL-18, лептин, адипонектин, резистин, висфатин, оментин, хемерин, васпин, ретинол-свързващ протеин 4), въглехидратния статус, класическите метаболитни рискови фактори и данните за микро- и микроваскуларни усложнения

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В проучването бяха включвани пациенти, хоспитализирани в Клиниката по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ «Александровска», отговарящи на съответните включващи и изключващи критерии:

Включващи критерии

- Възраст 30 -75 години
- Затлъстяване (ИТМ \geq 30 кг/м²)
- Нормални нива на кръвната захар (<6,0 ммол/л на гладно и <7,8 ммол/л на 120 мин от ОГТТ) ИЛИ
- Нарушен въглехидратен толеранс (кръвна захар на 120 мин от ОГТТ 7,8-11,0 ммол/л) и/или нарушена гликемия на гладно (кр. захар на гладно 6,1-6,9 ммол/л) ИЛИ
- Новооткрит захарен диабет тип 2 (през последния 1 месец)

Изключващи критерии

- Прием на метформин или друг антидиабетен медикамент последните 3 месеца преди включване в проучването
- Доказано сърдечно-съдово заболяване (исхемична болест на сърцето, ОМИ и/или реваскуларизация, исхемичен мозъчен инсулт или периферна артериална болест)
- Умерено и тежко бъбречно (GFR <60 ml/min/1.73m²) или чернодробно заболяване, сърдечна недостатъчност (NYHA клас III или IV)
- Злокачествено заболяване

Всички пациенти, включени в проучването подписаха информирано съгласие за участието си в проекта.

Бяха използвани следните методи на изследване:

1. Антропометрични изследвания

- ръст
- тегло
- пресмятане на ИТМ (теглото в кг, разделено на ръста в м на квадрат)
- обиколка на талията (WC) - измерването се прави по средата на разстоянието между ребрената дъга и илиачния гребен
- обиколка на ханша - измерването се прави на нивото на големия трохантер
- пресмятане на отношението талия/ханш (WHR)
- пресмятане на отношението талия/ръст (WSR)
- импедансно измерване на % мастна тъкан (апарат Tanita TBF-215)
- изчисляване на следните индекси:

Чисто антропометрични индекси	Комбиниранни антропометрични индекси
<p>Body shape index [ABSI]</p> $ABSI = \frac{WC}{BMI^{2/3} \cdot Height^{1/2}}$	<p>VAI (visceral adiposity index)</p> <p>Males : $VAI = \left(\frac{WC}{39.69 + (1.58 \times BMI)} \right) \times \left(\frac{TC}{0.05} \right) \times \left(\frac{1.31}{HDL} \right)$</p> <p>Females : $VAI = \left(\frac{WC}{36.58 + (1.89 \times BMI)} \right) \times \left(\frac{TC}{0.81} \right) \times \left(\frac{1.82}{HDL} \right)$</p>
<p>Body roundness index [BRI]</p> $BRI = 364.2 - 365.5 \times \left\{ 1 - \left[\frac{WC(m)}{2\pi} / (0.5 \times height(m)) \right]^2 \right\}^{1/2}$	<p>Atherogenic index of plasma (AIP)</p> $AIP = \log(TG/HDL-C)$
<p>Hip index</p> $HI = HC \left(\frac{H}{\langle H \rangle} \right)^{0.310} \left(\frac{W}{\langle W \rangle} \right)^{-0.482}$ <p>$\langle H \rangle = 166 \text{ cm}; \langle W \rangle = 73 \text{ kg}$</p>	<p>Lipid accumulation product (LAP)</p> <p>Males: $[WC (cm) - 65] \times [TG (mmol/l)]$</p> <p>Females: $[WC (cm) - 58] \times [TG (mmol/l)]$</p>
<p>Weight-adjusted-waist index (WWI)</p> $WWI = \frac{WC}{\sqrt{weight}}$	<p>Metabolic score for insulin resistance (METS-IR)</p> $\ln((2 \cdot GO) + TG) \cdot BMI / (\ln(HDL-c))$

2. Изследване на въглехидратната обмяна

– Орален глюкозотолерансен тест (ОГТТ) с изследване на кр. захар и имунореактивен инсулин (ИРИ) на 0 мин, 60 мин и 120 мин. Инсулинова резистентност се приемаше при ИРИ 0 мин >17 mU/l, ИРИ 60 мин >130 mU/l, ИРИ 120 мин >80 mU/l, НОМА-индекс > 2,6

3. **Лабораторни изследвания** – ПКК, СУЕ, АСАТ, АЛАТ, GGT, Tchol, TG, HDL, LDL, VLDL, креатинин, пикочна киселина

4. **Класически сърдечно-съдови рискови фактори**

- Артериална хипертония се приемаше при установено артериално налягане $\geq 140/90$ и/или провеждано антихипертензивно лечение.
- Дислипидемия се приемаше при установени общ холестерол $> 5,2$ ммол/л, и/или HDL $< 1,3$ ммол/л за жените и $< 1,0$ ммол/л за мъжете и/или триглицериди $> 1,7$ ммол/л и/или провеждано лечение.
- Метаболитен синдром се приемаше според критериите на IDF и АНА/NHLBI от 2009 г при наличие на поне 3 от общо 5 рискови фактора: повишена обиколка на талията (> 80 см за жени > 94 см за мъже), повишени нива на триглицериди ($\geq 1,7$ ммол/л), понижен HDL-холестерол ($< 1,3$ ммол/л за жените и $< 1,0$ ммол/л за мъжете), повишено артериално налягане ($\geq 130/85$ mmHg) и повишена плазмена глюкоза на гладно ($\geq 5,6$ ммол/л). Регистрираха се и броя на наличните критерии при всеки пациент.

5. **Оценка на сърдечно-съдовия риск**

- Рискът от развитие на коронарна болест на сърцето(10-годишен) беше оценен с помощта на **FRAMINGHAM risk score**. Рискът беше категоризиран както следва: $< 10\%$ - нисък, $10-20\%$ - умерен и $> 20\%$ - висок.
- Рискът от сърдечно-съдова смърт беше оценен с помощта на **Systematic COronary Risk Evaluation – SCORE** (таблици за висок риск). Рискът беше категоризиран както следва - $0.0-0.9\%$ - нисък, $1.0-4.9\%$ - умерен и $> 5\%$ - висок

6. Маркери за чернодробна стеатоза

FIB-4 $(Age \times AST) / (Plts \times (sqr(ALT)))$	Hepatic sterosis index (HSI) $8 \times (ALT/AST \text{ ratio}) + BMI (+2, \text{ if female}; +2, \text{ if diabetes mellitus})$
Fatty liver index (FLI) $(e^{0.953 \times \text{loge}(\text{triglycerides}) + 0.139 \times BMI + 0.718 \times \text{loge}(\text{aat}) + 0.053 \times \text{waist circumference} - 15.745}) / (1 + e^{0.953 \times \text{loge}(\text{triglycerides}) + 0.139 \times BMI + 0.718 \times \text{loge}(\text{aat}) + 0.053 \times \text{waist circumference} - 15.745}) \times 100$	NAFLD liver fat score (NAFLD-LFS) $NAFLD-LFS = -2.89 + 1.18 \times MS(\text{yes} = 1/\text{no} = 0) + 0.45 \times T2DM(\text{yes} = 2/\text{no} = 0) + 0.15 \times I_0 + 0.04 \times AST - 0.94 \times AST/ALT;$
TyG Index $Ln[\text{Fasting triglyceride (mg/dl)} \times \text{Fasting glucose (mg/dl)}] / 2$	

7. Нови маркери за съдов риск

Бяха изследвани следните нови маркери за съдов риск:

<u>Инфламаторни и антиинфламаторни маркери</u>	IL-18, MCP-1, serum paroxonase-1
<u>Маркери за оксидативен стрес</u>	Thioredoxin-interacting protein, Peroxiredoxin 4
<u>Маркери за неензимно гликиране</u>	soluble RAGE, Pentosidine
<u>Адипоцитокини и миокини</u>	лептин, адипонектин, резистин, висфатин, оментин, хемерин, васпин, ретинол-свързващ протеин 4, иризин
<u>Клетъчни адхезионни молекули и вазоактивни растежни фактори</u>	VCAM-1, VEGF-A, VEGF-R2, VEGF-R1, VEGF-R3/FLT-4, ICAM-1
<u>Показатели на Са-Р обмяна</u>	FGF23, Klotho, osteoprotegerin, ПТХ, 25(ОН)Д
<u>Други маркери</u>	soluble CD40L (CD40 ligand), Selenoprotein P, Kallistatin, сиалова киселина, Copeptin

Кръвта за изследване на изброените маркери беше центрофугирана за 15 минути на 4000 оборота/мин веднага след вземането и отделеният серум беше съхраняван при (-80°C) до момента на изследването му.

8. Инструментални изследвания

- **Измерване на дебелина на интима медиа** на а. каротис комунис (СІМТ)-Измерването на ІМТ е неинвазивен ултразвуков биомаркер за ранна атеросклероза. Основното предимство на апарата Cardio Health Station е свързано с автоматизираното измерване на дебелината на интима медиа, което позволява по-голяма точност и повторяемост на резултатите.

- **Изчисляване на индекса глезен/мишница (Ankle-Brachial Index – ABI).** ABI представлява отношението между систолното налягане в глезена и брахиалното систолно налягане и дава информация за наличието на периферна артериална болест

- **Изследване на ендотелната функция с апарат EndoPat-EndoPAT**(Itamar Medical, Israel) е неинвазивен метод за оценка на съдовата реактивност без недостатъците на конвенционалното ултразвуково измерване. EndoPAT отчита плетизмографски промените в налягането на пръстите, причинено от артериалния пулс и го трансформира в периферен артериален тон (PAT – Peripheral Arterial Tone). Ендотел-медираните промени в съдовия тонус след оклузия на брахиалната артерия рефлексират в хиперемичен отговор, който е мерило за артериалната ендотелна дисфункция (LnRHI).

- **Изследване на автономната нервна система с апарат SudoScan – SUDOSCAN** (Impeto Medical, Paris, France) е нов метод за бърза, неинвазивна оценка и количествено измерване на судомоторната функция. За извършване на оценката на судомоторната функция се поставят нисковолтажни електроди на ръцете и краката на пациента с цел екстракция на хлорните йони от потта. Това води до протичане на електрохимична реакция между потта и електродите. Електрохимичната потна проводимост е директно зависима от способността на потните жлези да транспортират хлорни йони и рефлексират пряко състоянието на С-влакната, оценено чрез кожна биопсия.

- **Изследване за наличие на периферна невропатия** – оценка на тактилен (с помощта на 10g монофиламент), температурен (с помощта на термален дискриминатор) и вибрационен усет (с помощта на 128Hz камертони биотезиометър) и сухожилно-надкостни рефлексии (с помощта на неврологично чукче) и изчисляване на риска за периферна невропатия (Neuropathy disability score).

- **Изследване на автономната нервна система с апарат CARDIOSYS EXTRA (MDE GmbH, Heidelberg)** - дава възможност за мониторинг и запис на 12-канално ЕКГ с последващ спектрален анализ (вариабилност на сърдечната честота, вариабилност на QT-интервала, QT-дисперсия), както и за провеждане на тестовете на Ewing, изследващи сърдечно-съдовата автономна нервна функция. За определяне честотата на КАН, тя беше дефинирана като наличие на два или повече абнормни теста според критериите на Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group.

- **Скрининг за сънна апнея с помощта на пулсоксиметър SleepCare, BMC.** Апаратът дава възможност за записване на въздушен поток от носа и устата, хъркане, сърдечен ритъм, кислородната сатурация и оро-назалния въздушен поток по време на сън, оценка на тежестта и броя на десатурациите, изчисляване на Oxygen Desaturation Index (среден брой десатурации, дефинирани като поне 4% намаление на сатурация в сравнение със средната сатурация за предходните 120 секунди за поне 10 секунди).

Статистическа обработка на данните

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 25, IBM. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p < 0.05$.

Бяха приложени следните методи:

1. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.

2. **Вариационен анализ** – изчисляване оценките на централната тенденция и разсейване.

3. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.

4. **Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк** – за проверка вида на разпределението. При правилно разпределение бяха използвани параметрични методи, а при неправилно разпределение или хомогенност променливите биваха включвани в анализа след логаритмична трансформация. В случаите, когато и след логаритмичната трансформация не беше постигнато нормално разпределение, бяха използвани непараметрични методи.

5. **Еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA** – за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.

6. **T-тест на Стюдънт** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

7. **Непараметричен тест на Крускал-Уолис** – за проверка на хипотези за различие между няколко независими извадки.

8. **Непараметричен тест на Ман-Уитни** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

9. **Chi – квадрат критерий**

10. **Корелационен анализ** – за проверка наличието на линейна зависимост между количествени признаци.

11. **Бинарна логистична регресия и множествена регресия** – за количествена оценка влиянието на изследваните фактори.

12. **ROC крива** – за определяне прагови стойности на количествени признаци с цел класификация на определени състояния.

РЕЗУЛТАТИ

Класически сърдечно-съдови рискови фактори

Изследваният клиничен контингент обхваща 461 пациенти на средна възраст $53,2 \pm 10,7$ години, разделени в три групи - *група 1* затлъстяване без въглехидратни нарушения ($n=182$), *група 2* с предиабет ($n=193$) и *група 3* с новооткрит захарен диабет ($n=86$). Трите групи бяха сходни по възраст, телесно тегло, ИТМ и процент мастна тъкан (таблица 1).

Таблица 1. Характеристики на разглежданите групи			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Възраст (г)	$51,9 \pm 10,8$	$53,6 \pm 10,3$	$54,9 \pm 11,2$
Тегло (кг)	$98,6 \pm 20,9$	$97,2 \pm 20,1$	$101,3 \pm 23,2$
ИТМ ($\text{кг}/\text{м}^2$)	$36,7 \pm 6,5$	$35,6 \pm 5,9$	$35,8 \pm 7,2$
% мастна тъкан	$45,3 \pm 4,9$	$44,9 \pm 6,3$	$41,8 \pm 7,83$

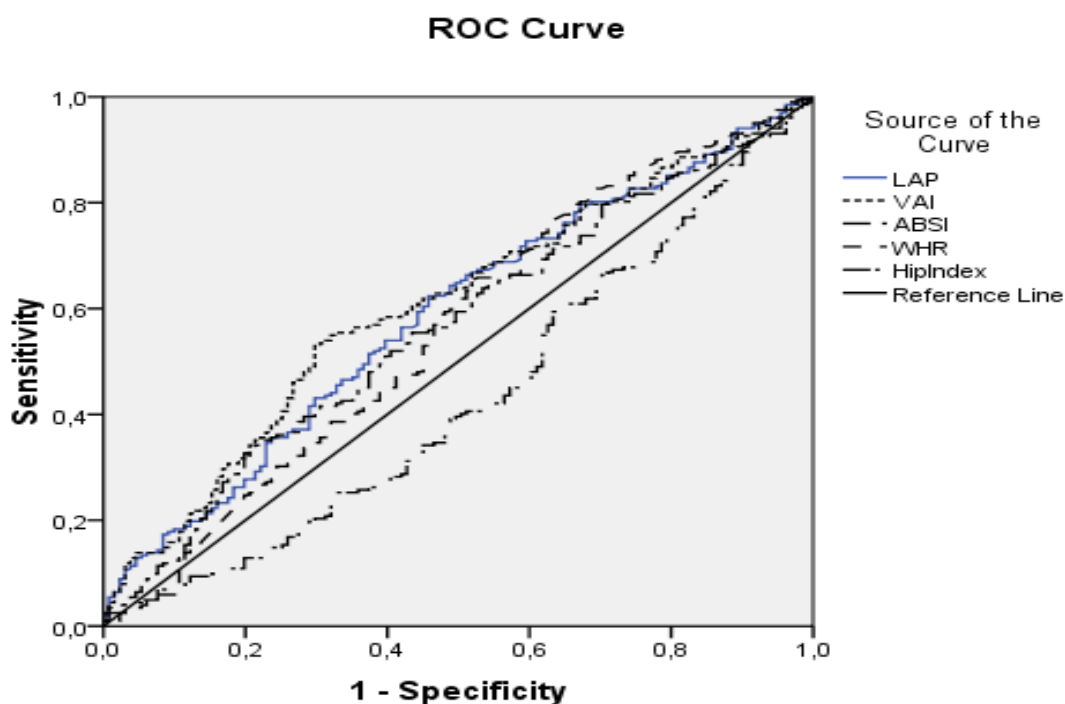
Антропометрични индекси

Независимо от сходните % мастна тъкан и ИТМ трите групи се различаваха по останалите антропометрични индекси с изключение на WSR и WWI, като стойностите им бяха най-неблагоприятни в групата на пациентите с новооткрит захарен диабет. Пациентите с артериална хипертония и метаболитен синдром имаха значимо по високи VAI, ABSI, BRI, WSR, ИТМ и обиколка на талията в сравнение с тези без. Антропометричните показатели показаха значима положителна корелация с кръвните захари и ИРИ в хода на ОГТТ и нивата на пикочната киселина.

Таблица 2. Антропометрични индекси на разглежданите групи			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
WHR	0,91±0,1^{#^}	0,92±0,09	0,96±0,08
WSR	0,65±0,09	0,65±0,08	0,67±0,08
ABSI	0,77±0,05	0,78±0,05	0,79±0,06[#]
BRI	66,1±25,3	65,5±25,8	75,5±29,4[*]
Hip index	103,5±6,75	102,4±7,02	100,8±5,57[#]
WWI	11,0±0,81	10,9±0,78	11,2±0,84
VAI	2,45±2,32	2,88±1,81	5,21±6,51^{**}
LAP	76,9±62,3	84,5±52,5	143,9±133,36^{**}
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и 3 ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Когато разделихме пациентите на такива без (група 1) и със (група 2 и 3, предиабет и новооткрит диабет) въглехидратни нарушения, установихме, че най-висока предиктивна стойност за наличие на въглехидратни нарушения имат VAI (AUC=0,623, p<0,001) и LAP (AUC=0,606, p<0,001). Трябва да се вземе предвид обаче, че тези два индекса не са чисто антропометрични, тъй като в изчисляването им участват и някои липидни показатели – общ холестерол и HDL при VAI и триглицериди при LAP. От чисто антропометричните индекси най-висока предиктивна стойност имаха WHR (AUC=0,570, p=0,025), ABSI (AUC=0,562, p=0,041) и Hip Index (AUC=0,423, p=0,016).

Установихме, че стойност на VAI>2 е свързана с OR=1,975 (95%CI=1,25;3.01) за наличие на въглехидратни нарушения.



Diagonal segments are produced by ties.

Фигура 1. Предиктивна стойност на VAI, LAP, ABSI, WHR и Hip Index за наличие на въглехидратни нарушения

Показатели на въглехидратната обмяна

Пациентите с предиабет и новооткрит захарен диабет очаквано имаха по-високи нива на кръвната захар на гладно и в хода на ОГТТ, по-високи нива на серумния инсулин на гладно и на 120 минута от ОГТТ и по-ниски индекси на Matsuda и Belfiore от тези без въглехидратни нарушения. Показателите за инсулинова резистентност (ИРИ 0, 60 и 120 мин, HOMA индекса) корелираха значимо с индекса на телесната маса и показателите за висцерален адипозитет (обиколка на талията, WHR, WSR, VAI, ABSI, LAP, BRI), но не и с общия процент мазнини, като най-силна корелация се установява с BRI.

Пациентите с **комбиниран въглехидратен интолеранс (НГГ+НГТ)** бяха на значимо по висока възраст в сравнение с групите с НГГ или НГТ – $59,17 \pm 7,22$ години спрямо $53,16 \pm 9,22$ години и $49,68 \pm 11,09$ години съответно ($p < 0,05$). Трите

групи не се различаваха обаче по отношение на антропометричните си показатели и индекси.

Независимо от въглехидратния си статус, **пациентите с кръвна захар на 60-та минута от ОГТТ >8,5 ммол/л** бяха на значимо по-висока възраст ($53,8 \pm 10,3$ vs. $50,7 \pm 10,9$ години, $p=0,005$) и имаха значимо по-високи индекси за висцерален адипозитет – WHR ($p<0,001$), WSR ($p=0,033$), VAI ($p=0,014$) и ABSI ($p=0,001$) и инсулинова резистентност – ИРИ 0 мин ($p=0,001$), ИРИ 60 мин ($p<0,001$), ИРИ 120 мин ($p<0,001$) и НОМА-индекс ($p<0,001$). Подобни резултати се наблюдаваха и когато разгледахме само пациентите без въглехидратни нарушения – възраст ($p=0,032$), WHR ($p=0,001$), LAP ($p=0,023$), НОМА-index ($p<0,001$). Освен с по-висока възраст и по-изразен висцерален адипозитет, пациентите с кръвна захар на 60-та минута от ОГТТ >8,5 ммол/л имаха значимо по-висока IMT ($p=0,016$; $p<0,001$ само за затлъстяване), скор за автономна невропатия ($p=0,044$) и честота на автономна невропатия (38,1% срещу 18,8%, $p=0,044$ и 40,9% срещу 14,3%, $p=0,035$ само за затлъстяване).

При анализа на **динамиката на серумния инсулин в хода на ОГТТ** се оформиха два основни модела – с намаляване нивата на ИРИ между 60 и 120 мин (72,6% от пациентите) и с повишаване нивата на ИРИ между 60 и 120 мин (27,4% от пациентите), като втората група (с пикови нива на серумния инсулин на 120 мин) се характеризираше с по-високи обиколка на талията ($112,16 \pm 14,30$ vs. $109,05 \pm 14,33$ см, $p=0,045$), WSR ($0,69 \pm 0,09$ vs. $0,66 \pm 0,09$, $p=0,039$), ABSI ($0,79 \pm 0,05$ vs. $0,77 \pm 0,06$, $p=0,037$) и LAP ($94,55$ vs. $81,13 \pm 59,45$, $p=0,042$) в сравнение с тези, при които пикът на серумния инсулин беше на 60 мин. Пациентите с повишаващи се нива на ИРИ в хода на ОГТТ също така имаха значимо по-високи кръвна захар на 120 мин от ОГТТ ($8,5 \pm 2,2$ vs. $6,4 \pm 2,9$ ммол/л, $p<0,001$) и ИРИ на гладно ($24,6 \pm 18,6$ vs. $16,9 \pm 10,9$ mU/l, $p<0,001$), на 120 мин от ОГТТ ($148,8 \pm 133,6$ vs. $60,10 \pm 50,08$ mU/l, $p<0,001$) и НОМА индекс ($6,50 \pm 5,16$ vs. $4,49 \pm 4,36$, $p=0,004$) и много по-висока честота на въглехидратни нарушения (предиабет или новооткрит захарен диабет) – 73,3% спрямо 33,8%, $p<0,001$, но не и по-високи показатели за микро- и макроваскуларни усложнения.

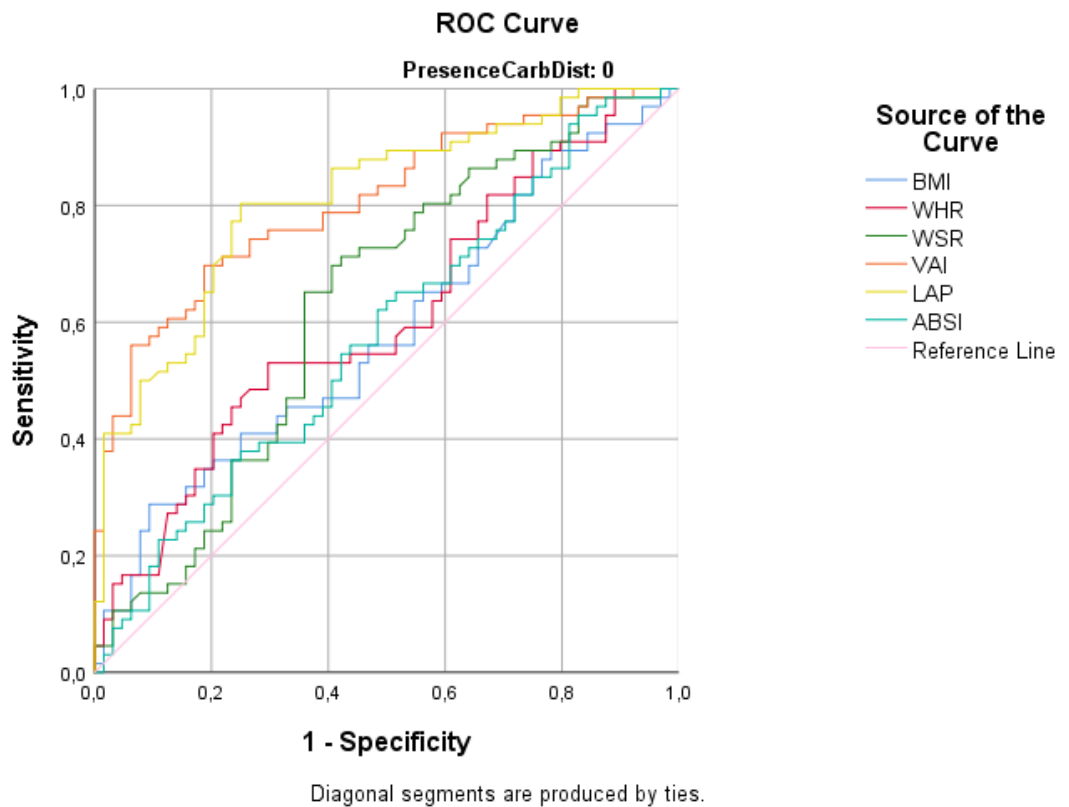
Сърдечно-съдови рискови фактори

Честотата на отделните сърдечно-съдови рискови фактори по групи е представена на таблица 3. Пациентите със захарен диабет имаха значимо по-висока честота на артериална хипертония, дислипидемия и метаболитен синдром, по-високи нива на триглицериди и AIP и по-ниски на HDL-холестерол и по-голям брой компоненти на метаболитен синдром в сравнение с останалите две групи.

Таблица 3. Сърдечно-съдови рискови фактори			
	Група 1	Група 2	Група 3
	Затлъстяване	Предиабет	Захарен диабет
Систолно АН mmHg	132,6±16,9	133,0±17,7	135,4±23,5
Диастолно АН mmHg	83,1±10,3	84,6±9,2	84,8±11,1
Артериална хипертония %	63,4	71,6*	86,0#
Общ холестерол mmol/l	5,34±1,09	5,17±1,1	5,71±1,4
LDL холестерол mmol/l	3,4±1,0	3,3±1,1	3,3±1,0
HDL холестерол mmol/l	1,29±0,34	1,15±0,29*	1,07±0,29#
Триглицериди mmol/l	1,47±0,94	1,79±0,85*	3,09±3,99#
AIP	0,021±0,28 [^]	0,12±0,26*	0,34±0,38#
Дислипидемия %	42,8 [^]	56,6*	74,1#
Тютюнопушене %	37,8	23,1	33,7
Метаболитен синдром %	48,3 [^]	83,8*	90,7#
Брой компоненти на MC	2,54±1,12 [^]	3,42±1,15*	4,13±0,98#
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Най-голяма корелация между броя компоненти на метаболитния синдром и антропометричните характеристики се установи с индекса на висцерален адипозитет (VAI) – $r=0,445$, $p<0,001$ и LAP – $r=0,482$, $p<0,001$. Те се оказаха и най-добри предиктори за риска от MC (AUC=0,807, $p<0,001$ и AUC=0,813, $p<0,001$, съответно). От чисто антропометричните показатели WHR и WSR имаха сходна

диагностична стойност ($AUC=0,609$, $p=0,01$, $AUC=0,630$, $p=0,033$), докато индексът на телесната маса имаше по-слаба предиктивна стойност (фигура 2). Установихме, че стойност на $VAI>2$ има 74% чувствителност и 73% специфичност за разграничаване на пациентите с метаболитен синдром.



Area Under the Curve^a

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error ^b	Asymptotic Sig. ^c	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
BMI	,581	,050	,111	,483	,679
WHR	,609	,049	,033	,512	,705
WSR	,630	,049	,010	,533	,727
VAI	,807	,038	,000	,733	,881
LAP	,813	,037	,000	,739	,886
ABSI	,578	,050	,125	,480	,676

The test result variable(s): BMI , WHR, WSR, LAP has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

Фигура 2. Предиктивна стойност на различните антропометрични индекси за висцерален адипозитет за наличието на метаболитен синдром

Макроваскуларни усложнения

Дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия (СІМТ) и индексът глезен-мишница бяха измерени при всички участници, а ендотелната функция беше оценена при 58 участника – 17 със затлъстяване, 34 с предиабет и 7 с новооткрит захарен диабет. Разпределението на показателите за макроваскуларни усложнения в трите групи е показано на таблица 4.

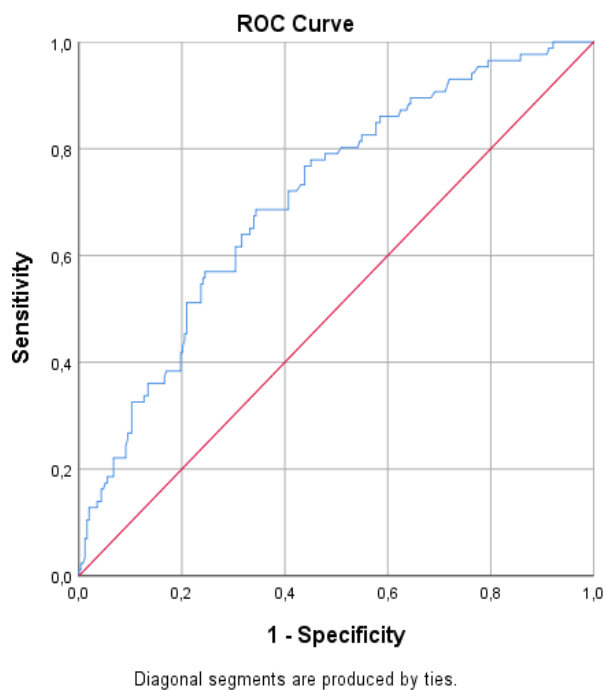
Таблица 4. Маркери за макроваскуларни усложнения			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Средна дебелина на интима медиа (СІМТ) мм	0,63±0,10	0,63±0,11	0,69±0,14#*
СІМТ >0,7 mm (%)	23,9	21,0	39,4#*
Индекс на ендотелна функция (LnRHI)	0,63±0,26	0,60±0,24	0,63±0,28
AI – augmentation Index	4,94±13,24	4,0±7,83	-4,43±25,63
Ендотелна дисфункция (%) (LnRHI<0,51)	41,2	50,0	48,6
Индекс глезен/мишница (ABI)	1,09±0,13	1,08±0,14	1,07±0,14
% пациенти с ABI<0,9	7,5	3,6	9,0
% пациенти с ABI>1,3	2,9	2,7	3,0
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Пациентите с новооткрит захарен диабет имаха значимо по-високи средни стойности на СІМТ в сравнение с тези с предиабет или без въглехидратни нарушения и по-висока честота на абнормно високи стойности на ІМТ >0,7 mm. Не се установиха разлики по отношение на LnRHI, честотата на ендотелна дисфункция, ABI и пропорцията пациенти с по-висок или по-нисък от нормата ABI. Прави впечатление обаче много високата честота на ендотелна дисфункция в трите групи.

Мъжете имаха значимо по-висока CIMT в сравнение с жените ($0,68 \pm 0,15$ vs. $0,63 \pm 0,10$, $p < 0,001$). CIMT корелираше сигнификантно с възрастта ($r = 0,503$, $p < 0,001$), систолното АН ($r = 0,231$, $p < 0,001$), диастолното АН ($r = 0,106$, $p = 0,037$) и кръвната захар на гладно ($r = 0,285$, $p < 0,001$). Проведохме множествена регресия и установихме, че моделът, включващ възрастта, кръвната захар на гладно и систолното АН обяснява 33% от вариациите на IMT ($R \text{ square} = 0.334$, $p < 0,001$), като най-голямо значение има възрастта (Beta coeff.=0.453), следвана от кръвната захар на гладно (Beta coeff.=0.238). Добавянето на кръвната захар на 60 и 120 мин. към модела не повиши предиктивната му стойност.

Поради малкия брой пациенти с категорично патологични стойности на CIMT (≥ 1.0 мм) в по-нататъшните анализи те бяха обединени с тези с гранични стойности (0.7-0.99 мм). Участниците с гранични и високи стойности (≥ 0.7 мм) бяха на значимо по-висока възраст ($60,5 \pm 9,2$ спрямо $50,6 \pm 9,9$ години, $p < 0,001$), с по-високо систолно артериално налягане ($138,0 \pm 22,4$ спрямо $132,0 \pm 17,2$ mmHg, $p = 0,006$), по-високо отношение талия/ханш ($0,94 \pm 0,08$ спрямо $0,91 \pm 0,09$, $p = 0,021$), по-ниска гломерулна филтрация ($80,8 \pm 15,5$ спрямо $87,0 \pm 17,7$ ml/min, $p = 0,002$), по-висок сърдечно-съдов риск по SCORE ($p < 0,001$), по-висок NDS ($3,0 \pm 2,17$ спрямо $1,7 \pm 2,0$, $p < 0,001$) и по-висок риск за автономна невропатия ($43,4 \pm 14,5$ спрямо $33,8 \pm 13,5$, $p < 0,001$). Пациентите с абнормни стойности на CIMT също така имаха по-висока честота на артериална хипертония (75,0% спрямо 63,4%, $p = 0,001$), дислипидемия (64,5% спрямо 50,2, $p = 0,009$), метаболитен синдром (75,0% спрямо 64,8%, $p = 0,039$), периферна невропатия (42,0% спрямо 19,5%, $p < 0,001$), и судомоторна дисфункция (34,0% спрямо 12,2%, $p < 0,001$).

CIMT показва висока предиктивна стойност за наличие на диабетна невропатия (AUC=0,708, $p < 0,001$) и судомоторна дисфункция (AUC=0,699, $p < 0,001$). Праговата стойност от 0,7 мм показва ниска чувствителност за сметка на висока специфичност (43% и 79% съответно за диабетна невропатия и 48% и 77% за судомоторна дисфункция).



Area Under the Curve

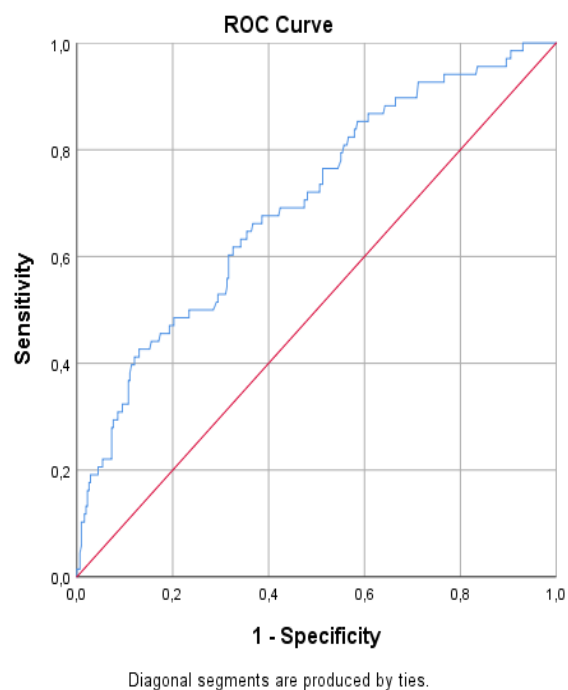
Test Result Variable(s): IMTmean

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,708	,031	,000	,647	,769

The test result variable(s): IMTmean has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

- a. Under the nonparametric assumption
- b. Null hypothesis: true area = 0.5

Фигура 3. Предиктивна стойност на CIMT за наличието на диабетна невропатия.



Area Under the Curve

Test Result Variable(s): IMTmean

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,699	,035	,000	,630	,768

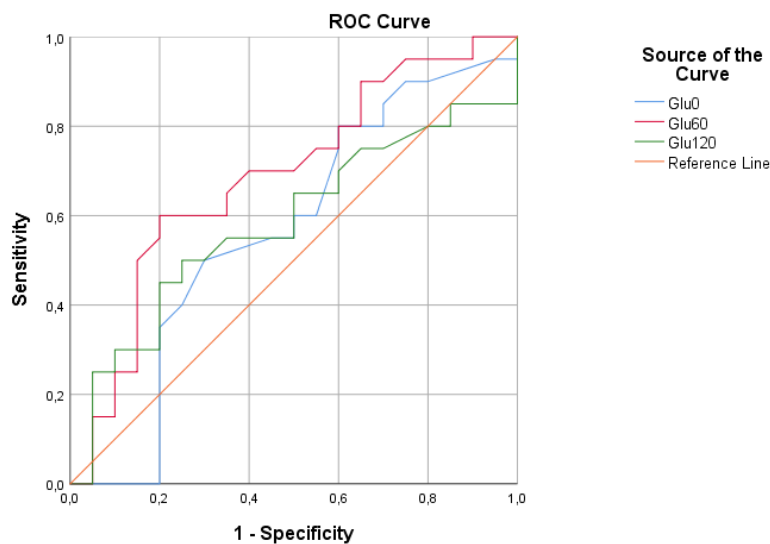
The test result variable(s): IMTmean has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

- a. Under the nonparametric assumption
- b. Null hypothesis: true area = 0.5

Фигура 4. Предиктивна стойност на CIMT за наличието на судомоторна дисфункция.

Не установихме връзка между наличието на ендотелна дисфункция и антропометричните и метаболитните показатели на пациентите, както и връзка с останалите микро- и макроваскуларни усложнения. От новите маркери за съдов риск се установи единствено значима негативна корелация между LnRHI и нивата на IL18 ($r=-0,410$, $p=0.038$).

От показателите на въглехидратната обмяна най-добра предиктивна стойност ($AUC=0,684$, $p=0,042$) за наличие на ендотелна дисфункция показва кръвната захар на 60 мин от ОГТТ (фигура 5), като праговата стойност $>8,5$ ммол имаше 90% чувствителност и 45% специфичност, докато показателите за инсулинова чувствителност не показаха сигнификантна предиктивна стойност.



Area Under the Curve

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Glu0	,566	,094	,473	,382	,750
Glu60	,687	,086	,042	,520	,855
Glu120	,583	,093	,372	,400	,765

The test result variable(s): Glu0, Glu60, Glu120 has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

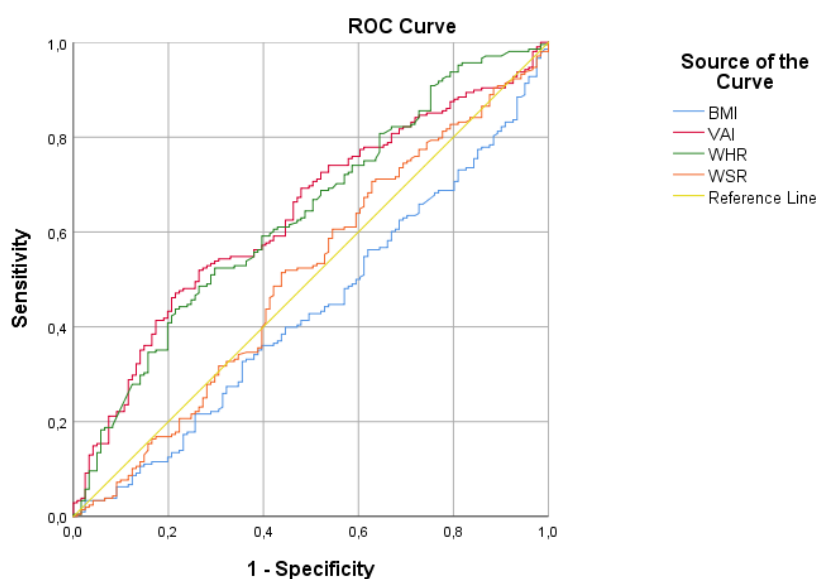
Фигура 5. Предиктивна стойност на гликемията в хода на ОГТТ за наличието на ендотелна дисфункция.

Таблица 5. Скорове за сърдечно-съдов риск			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Framingham risk score (10-годишен риск от ССЗ) (%)	13,8±10,4	15,1±10,4	29,5±14,3#*
Риск от коронарна болест (%)	8,4±6,7	9,7±6,8	19,07±10,1#*
Риск от ОМИ (%)	4,7±5,3	5,4±5,5	12,7±8,3#*
Риск от инсулт (%)	2,3±2,7	2,4±2,4	5,7±5,5#*
Риск от смърт от КБС (%)	1,4±2,2	1,7±2,3	5,7±5,0#*
Риск от смърт от ССЗ (%)	2,1±2,9	2,4±2,9	7,1±6,8#*
SCORE (10-годишен риск от СС смърт) (%)	2,06±2,7	2,5±2,3	3,4±2,9#*
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Сърдечно-съдовият риск се повишаваше от затлъстяване през предиабет до захарен диабет, като сигнификантна разлика се установи между пациентите със захарен диабет и останалите две групи, но не и между участниците със затлъстяване и предиабет.

От антропометричните показатели най-силна корелация с Framingham и SCORE показва VAI ($r=0,236$, $p<0,001$ и $r=0,185$, $p=0,002$ съответно). Установи се също така сигнификантна корелация с кръвната захар на гладно и в хода на ОГТТ, но не и с нивата на инсулина и показателите за инсулинова резистентност. Още по-добра корелация се установи с FIB4 ($r=0,369$, $p<0,001$; $r=0,385$, $p<0,001$, съответно), TyG ($r=0,369$, $p<0,001$; $r=0,303$, $p<0,001$, съответно) и средната дебелина на интима медиа ($r=0,440$, $p<0,001$; $r=0,397$, $p<0,001$). От показателите за микроваскуларен риск Framingham и SCORE корелираха сигнификантно с NDS ($r=0,351$, $p<0,001$; $r=0,353$, $p<0,001$), прага на вибрационна чувствителност ($r=0,321$; $p<0,001$; $r=0,248$, $p<0,001$), риска за автономна невропатия, оценена чрез Sudoscan ($r=0,319$, $p<0,001$; $r=0,217$, $p<0,001$) и негативно с индекса за вариабилност на сърдечната честота ($r=-0,285$, $p=0,003$; $r=-0,219$; $p=0,048$).

Когато пациентите бяха разделени на групи в зависимост от риска за ССЗ (Framingham) съответно на такива с нисък (<10%), умерен (10-20) и висок риск (>20%) установихме, че тези с умерен и висок риск имаха значимо по-висок VAI ($p<0,001$), WHR ($p<0,001$), ABSI ($p<0,001$), дебелина на интима медиа ($p<0,001$) и риск от автономна невропатия ($p<0,001$) в сравнение с тези с нисък риск. Най-висока предиктивна стойност за риска от повишен сърдечно-съдов риск (умерен и висок) имаха VAI (AUC=0,636, $p<0,001$) и отношението талия/ханш (AUC=0,635, $p<0,001$) (фигура 11)



Area Under the Curve

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
BMI	,434	,032	,047	,371	,498
VAI	,636	,031	,000	,575	,697
WHR	,635	,031	,000	,573	,696
WSR	,508	,034	,813	,442	,574

The test result variable(s): BMI , WHR, WSR has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Фигура 6. Предиктивна стойност на различните антропометрични индекси за наличието на повишен сърдечно-съдов риск

Микроваскуларни усложнения

Диабетна невропатия

Разпределението на показателите за периферната невропатия в трите групи е показано на таблица 6.

Таблица 6. Маркери за периферна диабетна невропатия			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Скор за диабетна невропатия (NDS)	1,84±2,17	1,9±2,1*	2,67±2,34#
% Периферна невропатия (NDS>3)	19,5%	23,2%	35,5%#
Праг на вибрационна чувствителност, измерена с биотезиометър (VPT)	11,9±4,9	12,2±6,5*	15,26±7,26#
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Пациентите с новооткрит захарен диабет имаха значимо по-високи скор за диабетна невропатия и праг на вибрационна чувствителност, както и по-висока честота на периферна невропатия, в сравнение с тези с предиабет или без въглехидратни нарушения. NDS показва значима корелация само с възрастта ($r=0,473$, $p<0,001$), а прагът на вибрационна чувствителност с възрастта ($r=0,411$, $p<0,001$), теглото ($r=0,246$, $p<0,001$), ИТМ ($r=0,119$, $p=0,025$), обиколката на талията ($r=0,239$, $p<0,001$), WSR ($r=0,168$, $p=0,004$), BRI ($r=0,315$, $p<0,001$), LAP ($r=0,117$, $p<0,044$), кръвната захар на гладно ($r=0,233$, $p<0,001$), ИРИ на гладно ($r=0,199$, $p<0,001$) и НОМА индекса ($r=0,216$, $p<0,001$).

Пациентите с данни за периферна невропатия бяха по-възрастни ($59,52\pm 9,56$ vs. $49,98\pm 10,34$ години, $p<0,001$), с по-висока кръвна захар на гладно ($7,8\pm 5,16$ vs. $6,37\pm 2,9$ ммол/л, $p=0,001$) и по-голяма дебелина на CIMT ($0,70\pm 0,12$ vs. $0,62\pm 0,11$ мм, $p<0,001$) в сравнение с тези без.

Судомоторната функция беше изследвана при всички участници, а кардиалната автономна невропатия при 127 от тях – 51 със затлъстяване, 48 с предиабет и 25 с новооткрит захарен диабет. Разпределението на показателите за автономната невропатия в трите групи е показано на таблица 7.

Таблица 7. Маркери за автономна невропатия			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Sudoscans – судомоторна функция			
Средна електрохимична кожна проводимост (ESC) на дланите, mS	69,33±12,48	67,98±15,59	64,61±17,29
Асиметрия длани %	5,37±4,75	5,21±5,62	6,93±5,94
Средна електрохимична кожна проводимост (ESC) на стъпалата, mS	76,78±9,07	78,46±9,24	72,69±15,29*#
Асиметрия стъпала %	2,95±3,16	2,52±3,369	4,63±6,78*#
Риск за автономна невропатия %	35,9±14,4	35,72±13,35	39,9±15,76
Судомоторна дисфункция (риск >50%) %	14,5	15,7	29,2*#
Cardiosys Extra – кардиална автономна невропатия			
Скор за автономна невропатия	2,65±1,82	3,17±1,48	3,52±1,71
Кардиална автономна невропатия (%)	19,6	34,1	42,0#
Индекс за вариабилност на сърдечната честота (HRVi)	19,59±6,92	19,84±7,77	19,68±6,81
LF/HF отношение	1,98±1,92	2,16±3,01	1,81±2,04
SDNN	35,68±29,53	49,11±47,34	54,35±51,11
PNN50	9,12±14,9	9,15±15,78	10,04±13,71
rMSSD	33,14±44,27	43,99±50,33	55,69±68,69
QT-дисперсия (ms)	131,00±54,86	127,08±41,73	127,88±44,90
STVrr	23,85±35,74	20,79±28,89	26,82±32,98
STVqt	23,04±16,36	21,34±15,95	24,50±15,90
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Пациентите със захарен диабет имаха значимо по-ниска ESC на стъпалата с по-висока асиметрия между ляво и дясно стъпало и по-висока честота на судомоторна дисфункция в сравнение с тези с предиабет и без въглехидратни нарушения.

Независимо от сходните параметри на вариабилност на сърдечната честота, честотата на кардиална автономна невропатия прогресивно се увеличава от пациентите без въглехидратни нарушения през тези с предиабет и е значимо по-висока при пациентите с новодиагностициран захарен диабет. Освен това пациентите с кр. захар на 60-та мин. > 8,5 ммол/л от ОГТТ имаха значимо по-висока честота на кардиална автономна невропатия (15,6 vs. 30,2%, p=0,044) независимо от наличието на въглехидратни нарушения. Пациентите с метаболитен синдром също имаха по-висока честота на КАН в сравнение с тези без с гранична статистическа значимост (32,2% спрямо 14,3%, p=0.05).

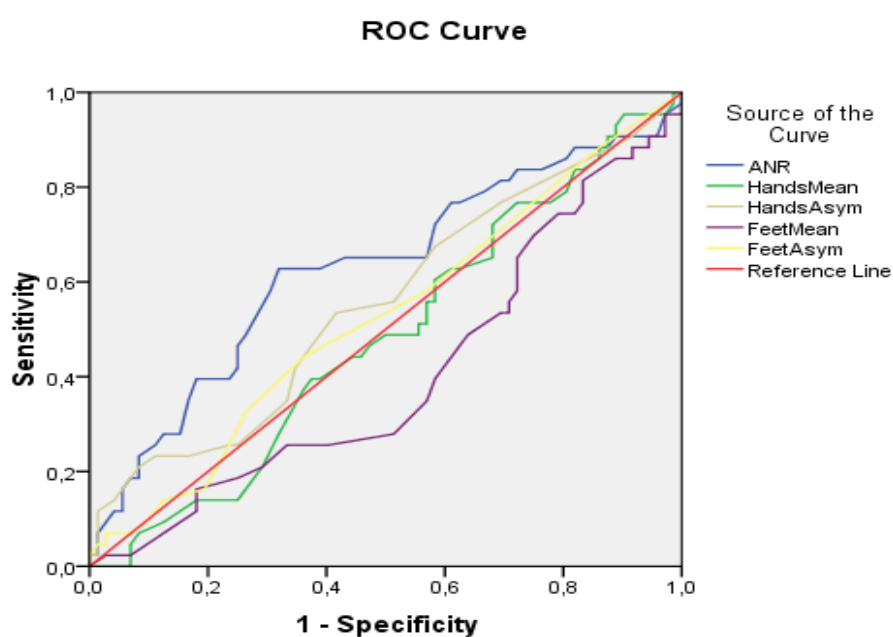
Когато разделихме пациентите в зависимост от степента на сърдечно-съдов риск (Framingham risk score) установихме прогресивно влошаване на индексите за судомоторна дисфункция (ANR) и вариабилност на сърдечната честота от нисък през умерен към висок сърдечно-съдов риск, като пациентите с умерен и висок риск имаха сигнификантно по-неблагоприятни показатели.

Таблица 8. Показатели на автономната функция в зависимост от СС риск			
	Нисък риск FRS<10%	Умерен риск FRS 10%-20%	Висок риск FRS>20%
ANR (%)	32,3±14,4	37,5±13,0[^]	40,5±13,1[#]
PNN50	16,3±17,5	8,1±13,8[^]	4,6±9,8[#]
rMSSD	54,7±64,8	44,8±56,7	27,1±27,2[#]
HRVi	24,1±7,5	18,7±6,7[^]	17,3±5,8[#]
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

От пациентите с кардиална автономна невропатия 100% имаха абнормни резултати на теста с дълбоко дишане (11,6% - 1 точка; 88,4% - 2 точки) в сравнение със само 46,5% (37,2% - 1 точка, 9,3% - 2 точки) на теста за ортостатична хипотония и 16,7% (14,3 – 1 точка, 2,4% - 2 точки) на пробата на Валсалва. От друга страна от пациентите без кардиална автономна невропатия 68,9% имат нормални резултати на теста с дълбоко дишане, 97,3% на пробата на Валсалва и 81,1% на ортостатичната проба. **Тези резултати идентифицират пробата с дълбоко дишане като най-чувствителна и със сравнително добра специфичност за установяване на кардиална автономна невропатия, като**

нормалните резултати на тази проба биха могли с голяма степен на сигурност да изключат наличието на КАН.

Поради много по-лесното от методическа гледна точка и по-краткото като време изследване на автономната нервна функция със Sudoscan, интерес представлява корелацията между резултатите от двете методики. ROC curve анализът показва **висока предиктивна стойност на риска от автономна невропатия (Sudoscan) за наличието на КАН** (AUC=0,628, $p=0,022$) и незначителна за отделните му компоненти – средна ESC и асиметрия на ръцете и краката (фигура 7).



Area Under the Curve

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
ANR	,628	,056	,022	,518	,737
HandsMean	,484	,055	,779	,377	,592
HandsAsym	,556	,056	,317	,445	,666
FeetMean	,404	,055	,086	,297	,512
FeetAsym	,525	,056	,652	,415	,635

The test result variable(s): ANR, HandsMean, HandsAsym, FeetMean, FeetAsym has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

Фигура 7. Предиктивна стойност на резултатите от Sudoscan за наличието на КАН

От друга страна ESC <60 mcS имаше висока чувствителност за идентифициране на пациентите с КАН – 77% на дланите и 87% на стъпалата, докато приетата прагова стойност на ANR за судомоторна дисфункция (>50%) – едва 23%, но за сметка на много висока специфичност – 92%.

Диабетна нефропатия

Отношението албумин креатинин (ACR) в урината беше изследвано при 75 пациента с предиабет и 10 с новооткрит захарен диабет. Серумният креатинин беше измерен и гломерулната филтрация беше изчислена по формулите СКD-EPI и MDRD при всички пациенти.

Таблица 9. Показатели на бъбречната функция			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
ACR мг/ммол		1,47±4,61	12,05±20,89*
ACR>2,5		9,3%	50%*
Креатинин (мкмол/л)	72,83±17,17	75,33±15,49	79,08±23,68#
eGFR (СКD-EPI) (мл/мин)	86,59±17,41	84,53±16,32	85,89±19,67
eGFR 90-60 мл/мин (%)	46,9	52,6	40,0
eGFR (MDRD) мл/мин	79,68±17,45	78,66±18,53	81,86±21,96
# p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;			

Пациентите с новооткрит захарен диабет имаха значимо по-висок ACR и по-голяма честота на микроалбуминурия в сравнение с тези с предиабет. Серумният креатинин постепенно се повишаваше от пациентите със затлъстяване без въглехидратни нарушения, през тези с предиабет до тези с новооткрит захарен диабет, където беше значимо по-висок. Установи се значима корелация между показателите на бъбречната функция (креатинин, eGFR (MDRD) и eGFR (СКD-EPI)) с възрастта (r=0,157, p=0.001; r=0,311, p<0,001 и r=0,519, p<0,001 съответно), но не и с показателите на въглехидратната обмяна и маркерите за микроваскуларни усложнения.

Диабетна ретинопатия

Фотографиране на очните дъна с немидриатична камера беше извършено при 71 пациенти с предиабет. При нито един от тях не беше установен едем на макулата. При 2 (2.8%) бяха установени данни за непролиферативна ретинопатия. Не се установиха разлики в антропометричните показатели, артериалното налягане, кръвната захар в хода на ОГТТ, липидния профил и показателите за микро- и макроваскуларни усложнения между пациентите със и без диабетна ретинопатия.

Други свързани коморбидности

Чернодробна стеатоза

Показателите за чернодробна стеатоза в трите групи са показани на таблица 10.

Таблица 10. Индекси за чернодробна стеатоза			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
АСАТ (U/l)	19,38±6,31 [^]	22,41±10,85	28,12±18,31*#
АЛАТ (U/l)	19,88±11,21 [^]	25,53±19,03	33,67±29,68*#
ГГТ (U/l)	32,72±31,23	41,88±44,67	77,66±79,71#
ГyG	4,65±0,25 [^]	4,81±0,24	5,24±0,44*#
ГyG >4.58 (стеатоза)	59,2% [^]	83,9%	96,2%*#
Fatty Liver index (FLI)	18,95±24,56	17,47±20,28	29,03±28,50*#
FLI 30-60 (вероятна стеатоза)	10.3%	15,6%	14,5%#
FLI>60 (сигурна стеатоза)	11%	4,8%	18,2#
Hepatic sterosis index	47,07±7,68	47,02±15,84	46,88±10,11
HSI >36 (NAFLD)	72,5%	72,5%	92,7%
FIB4	0,93±0,41	0,93±0,41	1,07±0,59
FIB4 <1.45 (изключва се напреднала фиброза)	87,8%	88,1%	83,8%
FIB4 >3,25 (напреднала фиброза)	0%	0%	2,7%

p<0,05 между група 1 и група 3; * p<0,05 между група 2 и група 3; ^ p<0,05 между група 1 и група 2;

Нивата на чернодробните ензими (АСАТ, АЛАТ, ГГТ), Fatty Liver index и TyG сигнификантно се повишаваха от пациентите със затлъстяване без въглехидратни нарушения през тези с предиабет до болните с новооткрит захарен диабет, като успоредно с това се повишаваше и процентът пациенти с чернодробна стеатоза в трите групи.

Всички маркери за чернодробна стеатоза корелираха сигнификантно с показателите за ИР (ИРИ в хода на ОГТТ и НОМА-индекс), докато само TyG показва корелация с кръвната захар (трябва да се има предвид обаче, че формулата за TyG включва кръвната захар на гладно). Освен това пациентите с инсулинова резистентност имаха сигнификантно по-високи стойности на HSI, FLI и TyG ($p < 0,01$). Тези данни демонстрират **по-изразената връзка на чернодробната стеатоза с инсулиновата резистентност, отколкото с нарушенията във въглехидратната обмяна**. Най-висока предиктивна стойност от показателите за инсулинова резистентност по отношение наличието на сигурна чернодробна стеатоза ($FLI > 60$) имаха ИРИ на гладно и НОМА-индекса ($AUC = 0,854$, $p < 0,001$ и $AUC = 0,832$, $p < 0,001$, съответно). От антропометричните показатели най-значима връзка се установи с VAI, като при пациенти с $VAI > 2,0$ се установиха значимо по-високи Fatty liver index и TyG ($p < 0,001$).

Интерес представлява и установената корелация между маркерите за чернодробна стеатоза и риска от автономна невропатия, оценена с помощта на Sudoscan, която беше най-изразена за Fatty liver index ($r = 0,424$, $p < 0,001$). Установи се също така слаба, но значима корелация на FIB4 и TyG със средната дебелина на интима медиа ($r = 0,273$ и $r = 0,188$ съответно, $p < 0,001$). Освен това пациентите с $СІМТ > 0,7$ mm имаха значимо по-високи стойности на FIB4 и TyG (1,09 vs. 0,92; $p = 0,004$ и 4,87 vs. 4,78 $p = 0,043$ съответно), докато тези с ендотелна дисфункция имаха по-висок Fatty liver index (20,27 vs. 10,75; $p = 0,034$). Не се установи корелация с останалите показатели за микро- и макроаскуларни усложнения, въпреки че пациентите с микроалбинурия имаха значимо по-високи стойности на Fatty liver index ($10,84 \pm 12,47$ vs. $28,53 \pm 28,78$; $p = 0,001$) и TyG ($4,85 \pm 0,28$ vs. $5,14 \pm 0,58$; $p = 0,005$) в сравнение с тези без.

Обструктивна сънна апнея

Скринингово изследване за обструктивна сънна апнея с пулс-оксиметър беше проведено при 97 пациенти – 43 със затлъстяване, 35 с предиабет и 19 с новооткрит захарен диабет. Показателите за сънна апнея при трите групи са показани на таблица 11.

Таблица 11. Показатели за обструктивна сънна апнея			
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет	Група 3 Захарен диабет
Оxygen desaturation index (ODI)	10,16±12,49	15,64±16,49	19,62±19,14
Средна кислородна сатурация (%)	91,27±9,96	93,26±3,21	92,39±2,12
Минимална кислородна сатурация (%)	76,91±13,56	74,61±12,79	77,78±8,31
Честота на ОСА (ODI>5) (%)	41,9	54,3	73,7
Честота на клинично значима ОСА (ODI>15) (%)	18,6	40,0	42,1
NS			

Индексът за кислородна десатурация (ODI) и честотата на ОСА прогресивно се покачваха от пациентите със затлъстяване, през тези с предиабет и бяха най-високи при пациентите с новооткрит захарен диабет, независимо от липсата на статистическа значимост. Когато обаче разделихме пациентите на такива без и с въглехидратни нарушения (предиабет и новооткрит захарен диабет), при втората група се установи значимо по-висок ODI (17,07±17,39 vs. 10,16±12,49; $p=0,032$) и по-висока честота на ОСА (61,1% vs 41,9%; $p=0,046$) в сравнение с тези без (само със затлъстяване). Наличието на въглехидратни нарушения е свързано с двукратно повишен риск от ОСА (ODI>5) (OR=2,183; 95%CI(0,965; 4,937)) и трикратно от клинично значима ОСА, показана за неинвазивна вентилация (ODI>15) (OR=3,008; 95%CI (1,174; 7,704)).

Прави впечатление високата честота на клинично значима ОСА (ODI>15), която е показана за лечение с неинвазивна вентилация в двете групи на нарушена въглехидратна обмяна (предиабет и диабет) – около 40%.

ODI показва умерена корелация с почти всички антропометрични индекси, но не и с възрастта и показателите на въглехидратната обмяна. От антропометричните индекси най-добра предиктивна стойност за наличието на сънна апнея показва WSR (AUC=0,662, p=0,015).

Установи се също така **силна негативна корелация между минималната кислородна сатурация и риска от автономна дисфункция**, оценена чрез Sudoscan ($r=-0,405$, $p<0,001$). Пациентите с ОСА имаха значимо по-ниска електрохимична кожна проводимост на дланите ($82,2\pm 18,1$ mcS vs. $72,5\pm 12,9$ mcS; $p=0,003$) и стъпалата ($70,9\pm 14,9$ mcS vs. $77,1\pm 9,6$ mcS; $p=0,023$) и по-висок риск от автономна дисфункция ($44,2\pm 12,4$ % vs. $34,8\pm 15,2$ %; $p=0,001$) в сравнение с тези без. Не се установи обаче значима връзка с вариабилността на сърдечната честота и резултатите от пробите на Юинг (въпреки тенденцията към по-високо отношение LF/HF по-голям общ скор за автономна невропатия при пациентите с ОСА). Освен това пациентите с ОСА имаха значимо по-висок NDS ($2,78\pm 2,28$ vs. $1,84\pm 2,17$; $p=0,047$) и по-висока честота на периферна невропатия ($38,8$ vs. $18,2\%$, $p=0,024$). Не се установи връзка с останалите показатели за микро- и макроваскуларни нарушения. Пациентите с ОСА имаха по-ниски нива на параоксоназа 1 (ПОН-1) с гранична статистическа значимост ($84,1\pm 62,3$ vs. $246,5\pm 83,3$ mU/L, $p=0,051$) и тенденция към по-високи на пероксиредоксин 4 и FGF23 и по-ниски на sRAGE и 25(OH)Д. Нивата на пероксиредоксина корелираха значимо с ODI ($r=0,735$, $p=0,001$), докато тези на 25(OH)Д негативно със средната кислородна сатурация по време на сън ($r=-0,545$; $p=0,029$).

Пациентите със сънна апнея имаха значимо повишен 10-годишен риск от сърдечно-съдово заболяване (Framingham) – $19,8\pm 13,7\%$ vs. $13,8\pm 11,6\%$, $p=0,028$ и граничен за сърдечно-съдова смъртност (SCORE)- $2,72\pm 2,73$ vs. $1,65\pm 1,60$, $p=0,058$.

Нови маркери за съдов риск

Новите маркери за съдов риск (с изключение на IL-18) бяха изследвани при 80 пациенти на средна възраст $50,4 \pm 10,6$ години, разделени в две групи - *група 1* (контролна група) със затлъстяване без въглехидратни нарушения ($n=41$) и *група 2* с предиабет ($n=39$). Двете групи бяха сходни по възраст, телесно тегло, процент мастна тъкан, ИТМ, WHR и WSR, и VAI. Нивата на IL-18 бяха изследвани при 131 пациента на средна възраст, разделени в две групи – затлъстяване без въглехидратни нарушения ($n=66$) и предиабет ($n=65$), отново сходни по възраст и антропометрични показатели.

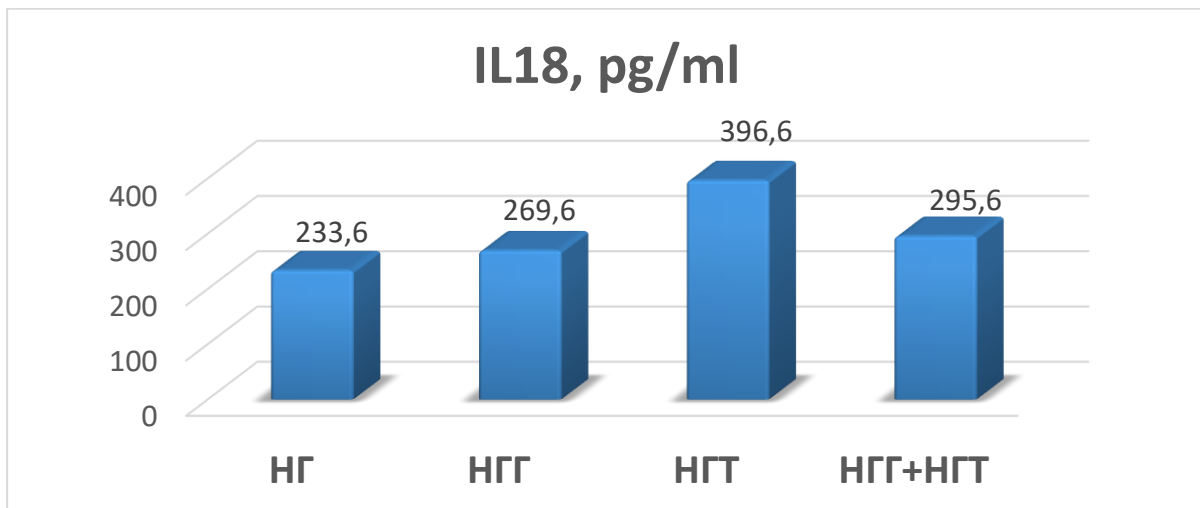
Инфламаторни и антиинфламаторни маркери

Установихме значимо по-високи нива на **IL-18** при пациентите с предиабет ($304,0 \pm 220,4$ vs. $233,6 \pm 103,6$ pg/ml, $p=0,029$), като разликата остана сигнификантна и след корекция за ИТМ ($p=0,049$). Когато разделихме пациентите с предиабет на такива с изолирана НГГ, изолиран НГТ или НГГ+НГТ най-високи нива на IL-18 установихме при тези с изолиран НГТ (фигура 8). Освен това пациентите, които имаха кръвна захар на 60-та мин от ОГТТ $> 8,5$ ммол/л също имаха по-високи нива на IL-18 ($p=0,017$).

Таблица 12. *Инфламаторни и антиинфламаторни маркери*

	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
IL-18 (pg/ml)	$233,6 \pm 103,6$	$304,0 \pm 220,4^*$
МСР-1, pg/ml	$448,9 \pm 123,6$	$470,4 \pm 145,1$
Параоксоназа (IU/l)	$194,8 \pm 97,3$	$176,6 \pm 94,3$
* $p < 0,05^*$		

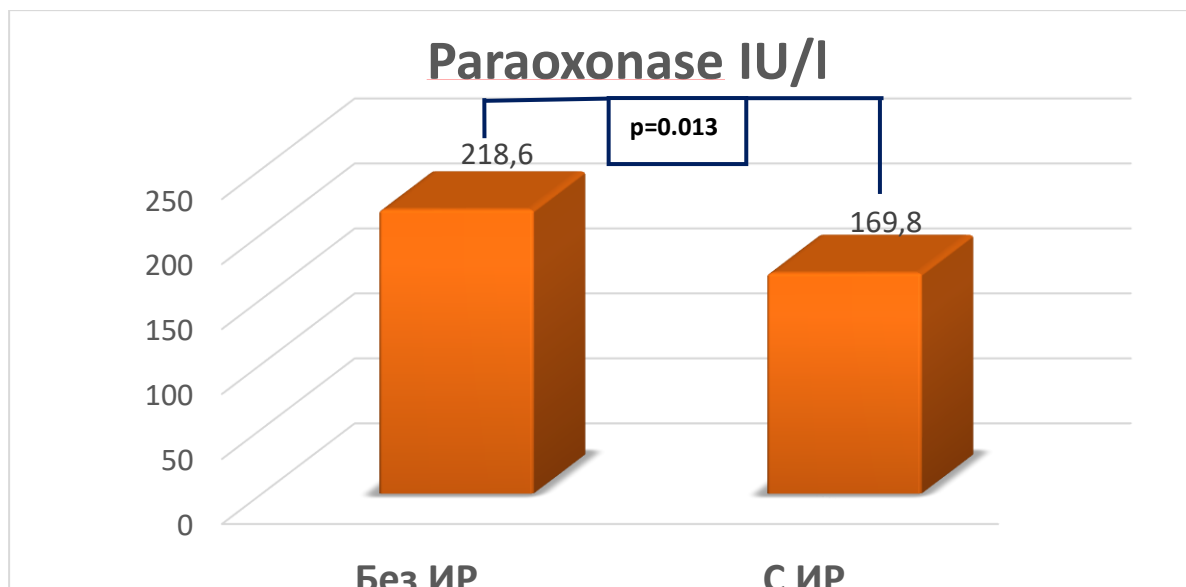
Установи се също така сигнификантна негативна корелация между IL-18 и LnRHI ($r=-0,420$, $p=0,038$) и тенденция към по-високи нива на IL-18 при пациенти с ендотелна дисфункция в сравнение с тези без ($290,1\pm 116,7$ vs. $227,3\pm 82,6$ pg/ml, $p=0,121$). Слаба позитивна корелация имаше и с риска за автономна невропатия, оценен чрез Sudoscan ($r=0,233$, $p=0,008$). Не се установи връзка с останалите маркери за микро- и макроаскулярни усложнения.



Фигура 8. Нива на IL-18 при пациенти с различни нарушения във въглехидратната обмяна.

Наблюдавахме също така по-високи нива на **МСР-1** при пациентите с предиабет в сравнение с контроли, като нивата му се повишаваха от нормогликемия ($448,9\pm 123,6$ pg/ml), през НГГ ($537,7\pm 140,5$ pg/ml) до НГГ+НГТ ($562,8\pm 193,2$ pg/ml) с гранична статистическа значимост ($p=0,058$). Пациентите с $ABI < 0,9$ имаха значимо по-високи стойности на МСР-1 в сравнение с тези с нормален ABI или $ABI > 1,3$ ($620,3\pm 198,2$ vs. $448,7\pm 124,7$ vs. $374,0\pm 49,5$ pg/ml, $p=0,013$). Установи се също така значима корелация с ИТМ и НОМА индекса.

Нивата на **параоксоназа 1 (ПОН 1)** показаха тенденция към понижаване при пациенти с предиабет в сравнение с тези със затлъстяване без въглехидратни нарушения, макар разликите да не достигат статистическа значимост ($176,6\pm 94,3$ vs. $194,8\pm 97,3$ IU/l, $p=0,205$). Когато обаче разделихме пациентите на такива със и без инсулинова резистентност, установихме значимо понижени нива на ПОН при пациентите с инсулинова резистентност ($169,8\pm 92,7$ vs. $218,6\pm 74,4$ IU/l, $p=0,013$), фигура 9.



Фигура 9. Нива на ПОН 1 при пациенти със и без инсулинова резистентност

Когато разделихме пациентите на тертили в зависимост от нивата на пароксоназата се установиха по-ниски ИТМ ($p=0,004$), ИРИ ($p=0,012$) и НОМА индекс ($r=0,018$) в по-високите тертили. Не се установи обаче връзка между ПОН и маркерите за микро- и макроваскуларни усложнения.

Маркери за оксидативен стрес

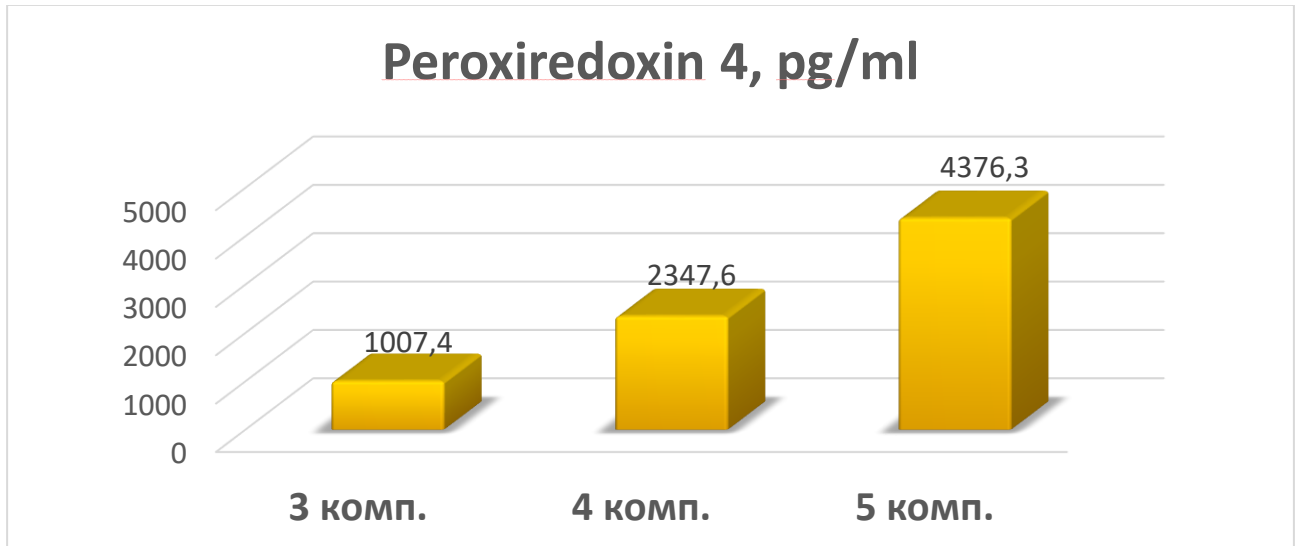
Нивата на **пероксиредоксин 4** бяха значимо по-високи при пациентите с предиабет в сравнение с участниците със затлъстяване без въглехидратни нарушения ($2851,2 \pm 4576,6$ pg/ml vs. $1088,0 \pm 753,3$ pg/ml; $p = 0,022$).

Таблица 13. Маркери за оксидативен стрес

	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
Peroxiredoxin 4, pg/ml	$1088,0 \pm 753,3$	$2851,2 \pm 4576,6^*$
Thioredoxin-interacting protein, pg/ml	$27,1 \pm 50,3$	$54,2 \pm 69,9$

* $p < 0,05$

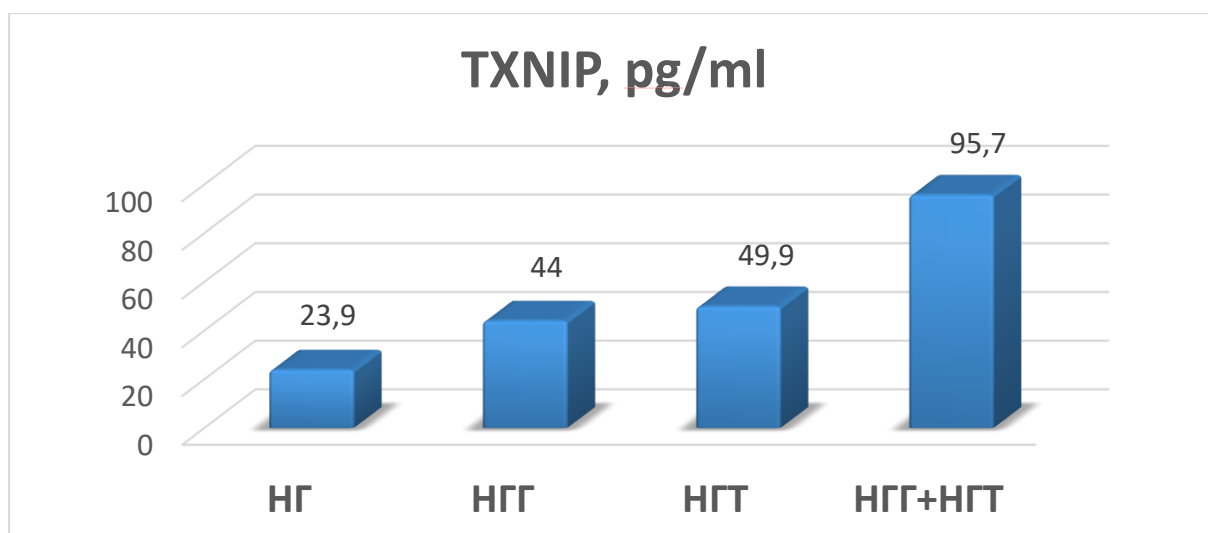
Не се установи разлика между пациенти със и без инсулинова резистентност и със и без метаболитен синдром. При пациентите с метаболитен синдром, обаче, нивата на пероксиредоксин 4 се повишаваха с увеличаване броя на наличните компоненти на метаболитен синдром – три ($1007,4 \pm 624,8$ pg/ml), четири ($2347,6 \pm 3903,0$ pg/ml) или всичките пет ($4376,3 \pm 6979,3$ pg/ml).



Фигура 10. Нива на пероксиредоксин 4 при пациенти с различен брой компоненти на метаболитен синдром

Не се установи връзка между нивата на пероксиредоксин 4 и показателите за микро- и макроваскуларни усложнения, но прави впечатление много силната корелация с ODI ($r=0,735$, $p=0,001$) и по-високите нива при пациентите с OSA в сравнение тези без ($4816,7 \pm 7085,0$ vs. $1498,67 \pm 1041,5$).

Установихме също така по-високи нива на **TXNIP** при пациенти с предиабет в сравнение с нормогликемичните контроли със затлъстяване (54.2 ± 69.9 vs. 23.9 ± 47.1 pg/ml; $p=0.03$). Когато разделихме пациентите с предиабет на такива само с НГГ ($n=6$), НГТ ($n=26$) и НГГ+НГТ ($n=7$) нивата на TXNIP се повишаваха от нормогликемия, през НГГ/НГТ до НГГ+НГТ ($p=0,025$ между нормогликемия и НГГ+НГТ), фигура 11.



Фигура 11. Нива на TXNIP (pg/ml) при пациенти с нормогликемия, НГГ, НГТ и НГГ+НГТ

Нивата на TXNIP корелираха слабо само с кръвната захар на гладно ($r= 0.235$; $p= 0.04$), но не и с кръвната захар в хода на ОГТТ или маркерите за инсулинова резистентност. Не се установи разлика в нивата на TXNIP между пациенти със и без метаболитен синдром.

Маркери за неензимно гликиране

Таблица 14. Маркери за неензимно гликиране		
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
Pentosidine (pmol/ml)	1229,7±350,3	1195,9±324.5
sRAGE (pg/ml)	462,6±161,5	480,5±186,8
NS		

Ние не установихме значима разлика в нивата на **пентозидин** и **sRAGE** между двете групи (1229.7±350.3 vs 1195.9±324.5 pmol/ml и 462.6±161.5 vs. 480.5±186.8pg/ml , съответно). Не се установи и разлика между пациенти със и без инсулинова резистентност или метаболитен синдром. Показа се обаче, че пациентите, които имаха кръвна захар >8,5 ммол/л на 60-та мин. от ОГТТ имаха

значимо по-ниски нива на sRAGE ($440,4 \pm 157,5$ vs $569,4 \pm 192,7$ pmol/ml; $p=0,007$). Пациентите с артериална хипертония също имаха по-ниски нива на sRAGE в сравнение с тези без (436.1 ± 154.0 vs 528.1 ± 189.8 pg/ml, $p=0.032$). sRAGE показва слаба негативна корелация с кръвната захар на 60та минута от ОГТТ ($r=-0.254$, $p=0.036$) и HOMA-индекса ($r=-0.269$, $p=0.029$). Не установихме корелация между нивата на sRAGE и пентозидина и показателите за микро- и макроаскулярни усложнения в двете групи, както и разлики в нивата им между пациенти със и без ендотелна дисфункция.

Показатели на калциево-фосфорната обмяна

Резултатите от изследването на показателите на калциево-фосфорната обмяна са показани на таблица 15.

Таблица 15. Показатели на калциево-фосфорната обмяна		
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
Паратхормон, pmol/l	5,1±2,3	5,1±2,0
25(ОН)Д, pmol/l	35,3±19,3	28,0 ±13,5
Витамин Д дефицит (%)	87,5	94,7
FGF-23, pg/ml	5.8±7.3	10.4±10.7*
Klotho, pg/ml	935.8±338.5	845.1±309.2
Остеопротегерин (pg/ml)	91,3±113,2	62,3±33,1
* $p < 0,05$		

Установихме значимо по-високи нива на FGF23 при пациенти с предиабет в сравнение с контроли с нормален глюкозен толеранс (10.4 ± 10.7 vs 5.8 ± 7.3 pg/ml; $p = 0.03$). Пациентите с инсулинова резистентност също имаха по-високи нива на FGF23 в сравнение с контроли (9.5 ± 10.1 vs 5.2 ± 7.3 pg/ml) с гранична статистическа значимост ($p = 0.05$). FGF23 и отношението FGF23 / Klotho показаха слаба позитивна корелация с кръвната захар на гладно ($r = 0.224$; $p =$

0.048 и $r = 0.240$; $p = 0.033$), но не и с гликемията в хода на ОГТТ. Не се установи и корелация с показателите за инсулинова резистентност и маркерите за макро- и мкроеваскуларен риск.

Адипоцитокени и миокини

Данните за изследваните **адипоцитокени и миокини** при двете групи са представени на таблица 16.

Таблица 16. Нива на адипоцитокени и миокини в серума		
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
Адипонектин (мкг/мл)	10.6±4.1	8.8±3.5*
Лептин (нг/мл)	36.0±14.2	35.6±14.5
Васпин (нг/мл)	0.35±0.52	0.29±0.27
Резистин (нг/мл)	6.4±2.3	7.1±4.1
Хемерин (нг/мл)	318.4±83.4	338.4±89.3
Оментин (нг/мл)	10.4±16.4	7.2±8.9
Ирисин (нг/мл)	239,4±113,5	270,9±102,7

Серумният адипонектин бе статистически значимо по-висок в групата с нормогликемия в сравнение с лицата с предиабет. Не се установиха статистически значими разлики по отношение на нивата на останалите адипоцитокени.

Серумният адипонектин корелираше негативно с ИТМ ($p < 0,05$), обиколката на талията ($p < 0,01$), отношението талия-ханш ($p < 0,01$), серумните триглицериди ($p < 0,05$), серумния имунореактивен инсулин на гладно ($p < 0,01$), НОМА-IR индекса ($p < 0,01$), гликирания хемоглобин ($p < 0,05$) и пикочната киселина ($p < 0,05$) и позитивно единствено с HDL-холестерола ($p < 0,01$). Серумният лептин корелираше негативно с възрастта ($p < 0,05$), серумните триглицериди ($p < 0,05$), серумния GGT ($p < 0,05$) и позитивно с ИТМ ($p < 0,01$), процентът мастна маса,

оценен с апарат Tanita ($p < 0,01$), и индексът LhRHI за ендотелна дисфункция ($p < 0,05$). Серумният оментин корелира позитивно със систилното артериално налягане ($p < 0,05$), общия холестерол ($p < 0,05$), LDL-холестерола ($p < 0,05$) и HDL-холестерола ($p < 0,05$), и със серумната GGT ($p < 0,01$) и негативно с гликирания хемоглобин ($p < 0,05$). Серумните васпин и хемерин корелираха позитивно единствено с гликирания хемоглобин ($p < 0,05$). Серумният резистин корелираше позитивно с гликирания хемоглобин ($p < 0,05$) и с индекса на усилване (AI) ($p < 0,05$). Не установихме статистически значими корелации между изследваните адипоцитокени и системите за оценка на степента на невропатия NDSi вибрационния праг, оценен с биотезиометър.

По отношение на наличието на критерия метаболитен синдром, установихме, че лицата с МС имат статистически значимо по-ниски серумни нива на лептин – $33,03 \pm 14,94$ срещу $40,24 \pm 12,23$ ng/ml като тази асоциация се запази след корекция за фактора ИТМ и телесно тегло.

Серумният адипонектин бе статистически значимо по-нисък при лицата, отговарящи на критериите за инсулинова резистентност – $8,80 \pm 3,26$ ng/ml срещу $11,96 \pm 4,59$ ng/ml ($p = 0,001$). В контраст на това, серумният оментин бе статистически значимо по-висок при лицата с инсулинова резистентност $10,18 \pm 15,05$ срещу $5,33 \pm 6,03$ ng/ml ($p = 0,047$). Останалите адипоцитокени не се различаваха значимо по отношение на критерия инсулинова резистентност.

Установихме прогресивно намаление на нивата на серумния **иризин** с влошаване на въглехидратния толеранс. Нивата на иризина бяха сигнификантно по-високи при жени в сравнение с мъже. При мъжете той беше позитивно свързан с ИТМ ($r = 0,475$, $p < 0,001$), ИРИ на гладно ($r = 0,270$, $p < 0,05$), НОМА-IR ($r = 0,288$, $p < 0,05$) и негативно с кръвната захар на гладно ($r = -0,547$, $p < 0,001$), серумния креатинин ($r = -0,294$, $p < 0,05$), и нивата на чернодробните ензими: ALT ($r = -0,281$, $p < 0,05$), GGT ($r = -0,293$, $p < 0,05$). При жените се установи позитивна връзка с ИТМ $r = 0,385$, $p < 0,001$) и негативна с обиколката на шията ($r = -0,249$, $p < 0,05$), кръвната захар на гладно ($r = -0,384$, $p < 0,001$) и серумния креатинин ($r = -0,313$, $p < 0,01$).

При мъжете серумният иризин показва добра предиктивна стойност за риска от захарен диабет тип 2 (AUC=0,779, $p < 0,001$), както и за риска от каквато и да е дисгликемия (AUC=0,838, $p < 0,001$), като праговата стойност от ≤ 380 ng/ml имаше

83% чувствителност и 70% специфичност. Подобни резултати се наблюдаваха и при жени - AUC=0,656, p=0,022 за риск от захарен диабет (прагова стойност ≤ 658 ng/ml с 83% чувствителност и 57% специфичност). При мъжете нива на серумния иризин ≤ 289 ng/ml бяха свързани с OR 6,59 (95% CI – 1,96-22,06; p=0,002) за наличие на захарен диабет, а при жени нива ≤ 658 ng/ml с OR 3,31 (95% CI – 1,09-9,96; p=0,03).

Клетъчни адхезионни молекули и вазоактивни растежни фактори

Нашите данни демонстрират сходни нива на sICAM, sVCAM, VEGF-A, VEGF-R1 и VEGF-R2 между контроли с нормогликемия и пациенти с предиабет (таб.17)

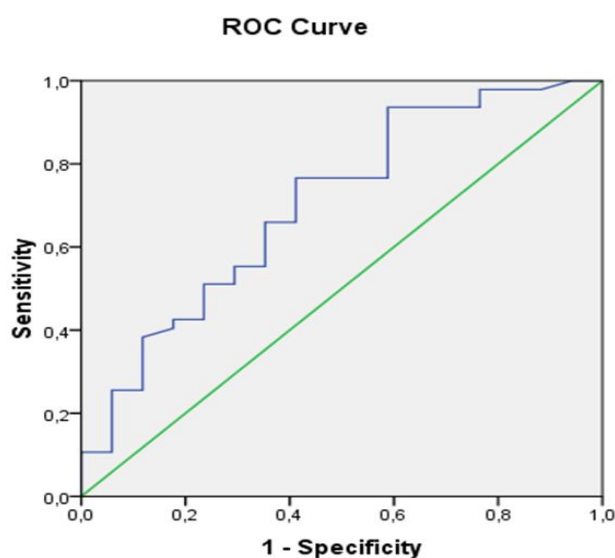
Таблица 17. Нива на sICAM, sVCAM, VEGF-A, VEGF-R1 и VEGF-R2		
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
sICAM, ng/ml	406,7 \pm 254,2	437,4 \pm 202,9
sVCAM, ng/ml	1236,1 \pm 433,4	1250,8 \pm 328,4
VEGF-A, ng/ml	0,76 \pm 0,38	0,68 \pm 0,41
VEGF-R1, ng/ml	0,16 \pm 0,17	0,33 \pm 0,53
VEGF-R2, ng/ml	13,4 \pm 4,7	12,8 \pm 3,9
* p<0,05*		

Не се установи връзка между нивата на sICAM, sVCAM, VEGF-A, VEGF-R1 и VEGF-R2, антропометричните показатели, класическите сърдечно-съдови фактори и показателите за микро- и макроваскуларни усложнения.

Други маркери за съдов риск

Таблица 18. Други маркери за съдов риск		
	Група 1 Затлъстяване	Група 2 Предиабет
sCD40L (ng/ml)	5,3±3,4	5,9±3,6
Селен (mcmol/l)	817,9±156,9	877,3±129,2
Sialic Acid, ng/ml	0,17±0,20	0,12±0,16
Сореptin, pg/ml	0,17±0,7	1,2±3,3
Selenoprotein P, ng/ml	6,3±1,4	5,9±2,7
Kallistatin, ng/ml	5,8±0,9	6,3±1,6*
* p<0,05*		

Установихме тенденция към по-високи нива на **sCD40L** при пациенти с предиабет в сравнение с контроли (5,9±3,6 vs. 5,3±3,4 ng/ml), макар и без статистическа значимост. Подобно на PON1 и в този случай нивата на sCD40L бяха сигнификантно по-високи при пациенти с инсулинова резистентност в сравнение с тези без (6,4±3,7 vs. 4,1±2,4 ng/ml, p=0,025), като нивата на sCD40L показаха много висока предиктивна стойност за риска от инсулинова резистентност (AUC=0,703; p=0.014) (фигура 12).



Фигура 12. ROC-крива за sCD40L като предиктор за инсулинова резистентност

Установихме също така по-високи нива на **калистатин** при пациенти с предиабет с сравнение с нормогликемични контроли (6.3 ± 1.6 vs. 5.8 ± 0.9 ng/ml; $p=0.022$) и при пациенти с метаболитен синдром в сравнение с такива без ($6,2 \pm 1,4$ vs. $5,7 \pm 1,1$ ng/ml; $p=0.006$), като нямаше разлика между пациенти със и без инсулинова резистентност. Не намерихме и корелация с възрастта, ИТМ, антропометричните показатели, систолното и диастолното артериално налягане.

Не установихме значими разлики в нивата на селен, селенопротеин Р, копептин и сиалова киселина между пациенти с и без въглехидратни нарушения, с и без инсулинова резистентност, както и връзка между нивата им и маркерите за микро- и макроваскуларни усложнения.

Проспективно проучване

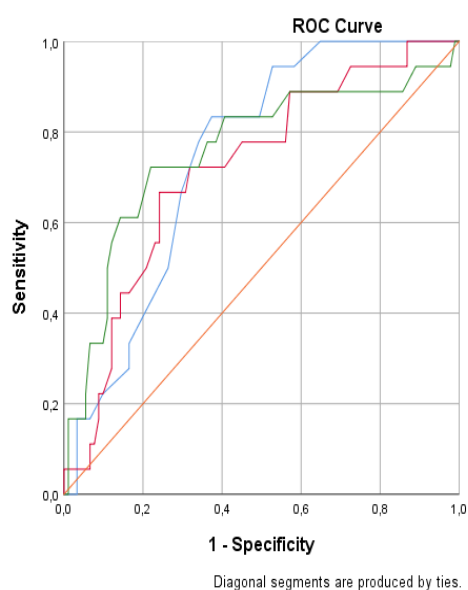
111 от пациентите без диабет изходно (53 с нормогликемия и 58 с предиабет) бяха проследени след средно $25,9 \pm 12,6$ месеца. При 18 (16,4%) от тях беше установен захарен диабет тип 2 (от тях трима изходно са имали нормогликемия, а 15 – предиабет), при 28 души (25,5%) беше установено влошаване на въглехидратния толеранс, а при 22 (20,0%) – регресия на въглехидратния толеранс (преминаване от предиабет към нормогликемия).

Таблица 19. Характеристики на пациентите с различна прогресия на въглехидратните нарушения			
	Регресия	Без промяна	Прогресия
Възраст (г)	$55,5 \pm 10,4$	$52,3 \pm 10,5$	$56,9 \pm 10,9$
Тегло (кг)	$91,2 \pm 20,3$	$98,7 \pm 20,8$	$93,5 \pm 15,6$
ИТМ (kg/m^2)	$33,5 \pm 4,5$	$36,5 \pm 7,2$	$35,1 \pm 5,1$
% мастна тъкан	$39,6 \pm 8,6^*$	$45,9 \pm 3,9$	$44,2 \pm 5,7$
* $p < 0,05$			

По отношение на антропометричните характеристики, сигнификантна разлика между групите имаше само % мастна тъкан, който беше значимо по-нисък в групата с регресия на въглехидратните нарушения.

Пациентите, при които беше установена прогресия на въглехидратните нарушения, както и при тези, при които впоследствие беше установен захарен диабет, имаха значимо по-високи нива на кръвната захар в хода на ОГТТ в сравнение с тези, при които не беше регистрирана прогресия.

С помощта на ROC крива установихме, че кръвната захар на гладно има $AUC=0,745$, $p=0,001$ за риска от бъдещ захарен диабет, като кръвна захар 5,5 ммол/л има 94% чувствителност и 46% специфичност за разлика от кръвна захар на гладно 6,1 ммол/л, която има едва 50% чувствителност на фона обаче на много по-висока специфичност 73%. Кръвната захар на 60 мин от ОГТТ над 8,5 ммол/л имаше 89% чувствителност и 45% специфичност за риска от бъдещ диабет.



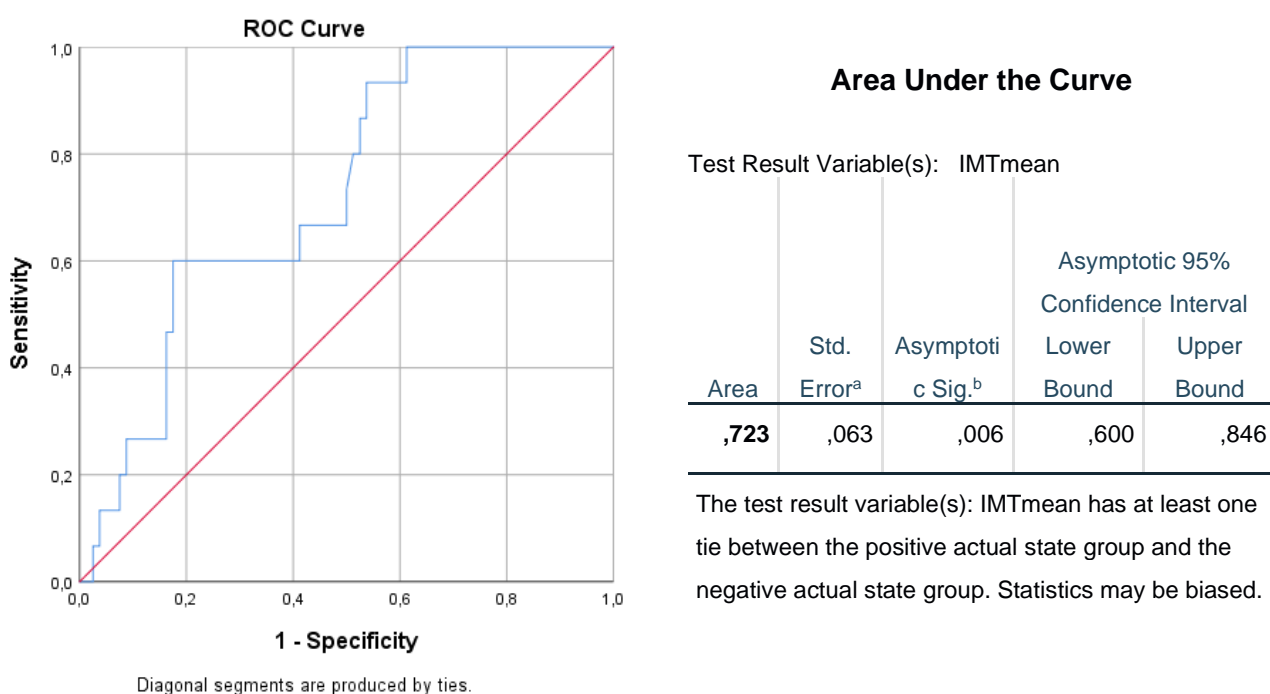
Area Under the Curve

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Glu0	,745	,051	,001	,644	,845
Glu60	,718	,064	,004	,593	,843
Glu120	,759	,070	,001	,621	,897

The test result variable(s): Glu0, Glu60, Glu120 has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

Фигура 13. Предиктивна стойност на кръвните захари в хода на ОГТТ за развитие на захарен диабет

Пациентите, които в хода на проследяването развиха захарен диабет тип 2, имаха значимо по-висока изходна средна CIMT ($0,70 \pm 0,1$ mm vs. $0,62 \pm 0,1$ mm, $p=0,007$), по-високи изходни нива на MCP-1 ($597,9 \pm 206,3$ vs. $429,7 \pm 118,9$; $p=0,0014$) и TXNIP ($99,4 \pm 94,7$ vs. $24,33 \pm 45,9$; $p=0,008$), но не се различаваха по възраст, антропометрични показатели и маркери за микро- и макроваскуларни усложнения изходно. От тези показатели, най-висока предиктивна стойност за риска от новопоявил се диабет имаше CIMT (AUC=0,723; $p=0,006$), като $CIMT \geq 0,7$ mm имаше 53% чувствителност и 83% специфичност за риска от прогресия към захарен диабет.



Фигура 14. Предиктивна стойност на IMT за развитие на захарен диабет

За да оценим ефектите на кръвната захар на 0 и 120 минута от ОГТТ и CIMT върху риска от прогресия към захарен диабет използвахме бинарна логистична регресия. Така създаденият модел обяснява 39,1% (Nagelkerke R²) от вариациите и правилно класифицира 87% от случаите (96% негативна предиктивна стойност и 40% позитивна предиктивна стойност), като стойност на $CIMT \geq 0,7$ mm е свързана с 5 пъти по-висок риск от прогресия. Добавянето на

MCP-1 и TXNIP към модела повиши предиктивната му стойност на 57,4% (Nagelkerke R2), като този модел класифицира правилно 90% от случаите и то за сметка на позитивната предиктивна стойност (96% негативна предиктивна стойност и 60% позитивна предиктивна стойност).

В хода на проследяването едва 3 от пациентите имаха сърдечно-съдов инцидент – 2 – исхемичен мозъчен инсулт и 1 – остър миокарден инфаркт, поради което по този показател не беше възможна по-нататъшна статистическа обработка.

ОБСЪЖДАНЕ

Предиабетът представлява безспорен рисков фактор за развитие на захарен диабет тип 2. Пациентите, които имат повишена плазмена глюкоза, но все още не са застрашени от специфичните за диабет хронични усложнения не се считат за диабетици, а влизат в групата на нарушен глюкозен толеранс или нарушена гликемия на гладно.

Редица проучвания демонстрират данни, че съдовите заболявания, свързани със ЗД2, започват развитието си още през предиабетната фаза, тъй като микроваскуларните увреждания в много случаи са налице при поставянето на диагнозата диабет. Има данни за това, че при индивиди с предиабет може да се наблюдава повишен риск за развитие на ССЗ дълго преди те да са диагностицирани със захарен диабет.

Няколко са патогенетичните механизми за развитие на макросъдовите усложнения при предиабет. Сред тях са инсулиновата резистентност, ендотелната дисфункция, проинфламаторното състояние, оксидативният стрес, атерогенната дислипидемия, протромбогенното състояние, самата хипергликемия – неензимно гликиране, полиолов път и др. Инсулиновата резистентност е типична черта на предиабетното състояние (особено НГТ) и оформя т.нар. синдром на инсулинова резистентност, който е ССЗ рисков фактор. Инсулиновата резистентност (ИР) е определяна като сърдечно-съдов рисков фактор в литературата и няколко различни клинични проучвания показват, че фармакологичното подобряване на инсулиновата чувствителност може да намали честотата на сърдечно-съдови събития. ИР се разглежда като самостоятелен рисков фактор за ендотелна дисфункция с последователно активиране на атерогенните механизми. Лицата с диабет тип 2 и ИР са с по-голям процент атерогенни рискови фактори, отколкото инсулин-сензитивните болни с диабет тип 2, което само отчасти може да се обясни с наличието на затлъстяване.

Независимо, че **затлъстяването** е добре известен сърдечно-съдов рисков фактор, класическият индикатор, който се използва и за класифициране на затлъстяването – индекс на телесна маса (ИТМ) не винаги отразява адекватно степента на риска от усложнения за конкретния пациент. ИТМ е лесен за

изчисление, има висока възпроизводимост и ниска цена, но има редица недостатъци. Въпреки че е удобен за популационен скрининг за затлъстяване, ИТМ не взема предвид количеството и разпределението на мастната тъкан и половите и етническите различия в телесния състав. Основният фактор, който води до недобра корелация между кардио-метаболитния риск и ИТМ, е невъзможността му да отрази правилно големите вариации в общото количество мастна тъкан и най-вече на висцералната мастна маса между отделните индивиди. Рискът, наличието и тежестта на свързаните със затлъстяването усложнения варират значително при пациенти с един и същ ИТМ и независимо, че честотата на тези усложнения се повишава с повишаването на телесното тегло, често е налице слаба корелация между ИТМ и развитието на усложнения.

Има все повече данни, че **висцералната мастна тъкан** е основният фактор, който свързва затлъстяването със съответните здравни рискове. Висцералният адипозитет обикновено е следствие от невъзможността на подкожната мастна тъкан адекватно да отговори на позитивния калориен баланс чрез хиперплазия на адипоцитите при предразположени индивиди, което директно и индиректно може да доведе до сърдечно-съдови и метаболитни усложнения. Висцералното затлъстяване се характеризира с повишено отлагане на висцерална и ектопична мастна тъкан, дисфункция на адипоцитите, дисрегулация на възпалителните маркери и адипокините и инсулинова резистентност.

Известно е, че висцералната и подкожната мастна тъкан имат различни метаболитни характеристики, като висцералната мастна тъкан е свързана със стимулация на нискостепенното хронично възпаление, а от друга страна е надежден индикатор за ектопично отлагане на мастна тъкан изобщо.

Данните от различни епидемиологични проучвания показват, че висцералната мастна тъкан представлява независим предиктор за заболяемост и смъртност, докато абдоминалното натрупване на подкожна мастна тъкан, е много по-слаб индикатор на сърдечно-съдовия риск. Установено е също така, че ектопичното отлагане на мастна тъкан, вкл. в черния дроб и епикардиално, може да допринесе за атеросклеротичния и кардио-метаболитния риск. По тези причини **централното затлъстяване** е по-добър предиктор за инсулинова резистентност и сърдечно-съдов риск отколкото затлъстяването *per se*. Това се потвърждава и в нашето проучване, където показателите за инсулинова резистентност (ИРИ 0

мин, HOMA индекс и индекс на Stumvoll) корелират значимо с индекса на телесната маса и показателите за висцерален адипозитет (обиколка на талията, WHR, WHtR).

Тъй като оценката на висцералната мастна тъкан с КТ или МРТ в широката практика е неприложима, са въведени прости антропометрични индекси като обиколка на талията, отношение талия/ханш (WHR) и отношение талия/ръст (WHtR), които да бъдат използвани като сурогати за оценка на висцералното затлъстяване и идентифициране на метаболитния риск. Обиколката на талията е лесен за измерване антропометричен параметър, който корелира с висцералния адипозитет по-добре, отколкото индекса на телесна маса. Тя е независимо свързана с повишения сърдечно-съдов риск, като комбинацията от ИТМ и WHR идентифицира високо-рисковите пациенти по-добре, отколкото двата показателя поотделно, особено при такива с по-нисък ИТМ. При пациенти с много висок ИТМ (>35 кг/м²), обаче, нейната предиктивна стойност значително намалява. Освен това тези класически антропометрични индекси, подобно на ИТМ, имат някои недостатъци, свързани най-вече с невъзможността адекватно да отразят придружаващите метаболитни нарушения и съответно могат неправилно да оценят индивидуалния сърдечно-съдов риск.

Като се има предвид честото съчетание между повишеното количество висцерална мастна тъкан и чернодробната стеатоза, повишената обиколка на талията в комбинация с повишени нива на триглицеридите има висока предиктивна стойност (около 80%) за наличие на повишено количество висцерална мастна тъкан. Тези наблюдения се потвърждават и в други проучвания, фокусирани върху т.нар. „хиперлипидемична талия“ като прост метод за оценка на ексцесивната висцерална и ектопична мастна тъкан, а чрез това и на повишени сърдечно-съдов риск. Това дава възможност за разработване на нови, комбинирани индекси за висцерален адипозитет, включващи освен антропометрични измервания (ръст, тегло, обиколка на талията, ИТМ) и някои липидни показатели (общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол, триглицериди), които по-добре да отразят индивидуалния кардио-метаболитен риск.

VAI е добре познат маркер за дисфункция на мастната тъкан, който корелира с показателите за инсулинова резистентност и е независимо свързан с риска от сърдечно-съдови и мозъчно-съдови инциденти. Той е добре проучен като

скринингов инструмент за метаболитен синдром, докато данните за ролята му за оценка на риска от въглехидратни нарушения са ограничени. В нашето проучване VAI също така показва и най-добра корелация със скоровете за сърдечно-съдов риск (Framingham и SCORE). Това от практическа гледна точка го прави полезен и удобен показател за оценка на риска от въглехидратни нарушения и сърдечно-съдови усложнения. LAP също се използва основно за оценка на риска от метаболитен синдром, но за разлика от VAI не корелира с Framingham и SCORE. Предимствата на тези два комбинирани индекса са висцерален адипозитет са свързани с факта, че те не само отразяват повишеното количество висцерална мастна тъкан, но и дават реална оценка на свързаните с нея метаболитни нарушения.

От различните индекси за затлъстяване, в нашето проучване най-висока предиктивна стойност за наличие на въглехидратни нарушения имаха VAI и LAP, а за повишен сърдечно-съдов риск – VAI и отношението талия/ханш, което прави VAI най-подходящия маркер за оценка на кардио-метаболитния риск при изследваната от нас популация при пациенти със затлъстяване. Смята се, че нормалните стойности на VAI <1 показват много нисък риск, докато праговата стойност >2 е свързана с повишен риск от въглехидратни нарушения, метаболитен синдром и сърдечно-съдови заболявания, включително и при изследваните от нас пациенти. **От практическа гледна точка, въвеждането на този индекс в рутинната клинична практика, вкл. и доболничната помощ, може да подпомогне селектирането на рисковите индивиди, които следва да бъдат насочени за по-задълбочена оценка на въглехидратната обмяна и сърдечно-съдовия риск.**

Независимо че не се приема за диагностичен критерий за въглехидратни нарушения, **повишената кръвна захар (>8,5 ммол/л) на 60 мин от ОГТТ** е свързана с по-висок риск от развитие на захарен диабет тип 2 в сравнение с по-ниските стойности при пациенти с нормален глюкозен толеранс, като в някои случаи този критерий дори може да превъзхожда кръвната захар на 120 мин. Що се отнася до възрастовия и антропометричен профил на пациентите с повишени нива на кръвната захар на 60 мин. от ОГТТ, в някои проучвания не се наблюдават разлики по отношение на възрастта или телесното тегло при пациенти с кръвна захар $\leq 8,5$ ммол/л и $> 8,5$ ммол/л. Ние също не установихме разлики в теглото и

ИТМ, но пациентите с кр. захар > 8,5 ммол/л имаха значимо по-високи индекси на висцерален адипозитет, което отново свързва глюкозната дисрегулация не толкова с общото тегло, колкото с количеството висцерална мастна тъкан.

Ролята на този показател като независим предиктор за захарен диабет тип 2 е потвърдена в редица проучвания. Повишението на кр. захар >8,5 ммол/л на 1 час от ОГТТ при индивиди с нормогликемия и предиабет е свързано също така с нискостепенно хронично възпаление, повишени нива на липидите и инсулинова резистентност и по тази причина се смята, че може да служи като нов маркер за повишен сърдечно съдов риск. Този факт се потвърждава и от установения повишен риск от метаболитен синдром и каротидна атеросклероза при такива пациенти. Освен това наличието на повишена кр. захар на 60 мин. от ОГТТ се асоциира с по-висока честота на полиневропатия и по-висок риск от хронично бъбречно заболяване дори при липса на изявени въглехидратни нарушения. От изследваните в нашето проучване маркери за микро- и макроваскуларен риск установихме значително повишена честота на автономна невропатия и повишена дебелина на интима медиа на общата каротидна артерия при кр. захар на 60 мин от ОГТТ >8,5 ммол/л, дори и при тези от тях без въглехидратни нарушения. Всички тези данни предполагат, че стойността на кр. захар на 60 мин. от ОГТТ представлява независим рисков фактор не само за риск от прогресия към захарен диабет тип 2, но и за повишена вероятност от наличие на ранни хронични диабетни усложнения, което го прави не по-малко значим от НГГ и НГТ. Независимо от това в клиничната практика рядко се обръща необходимото внимание на този показател, а в много случаи измерванията при ОГТТ се правят само на 0 и 120 мин. Ние считаме, че **изследването на кр. захар на 60 мин. от ОГТТ следва да бъде рутинно включено и интерпретирано в оценката на въглехидратната обмяна с цел по-добра стратификация на риска както по отношение на въглехидратните нарушения, така и по отношение на сърдечно-съдовите заболявания и диабетните усложнения.**

Инсулиновата резистентност и свързаната с нея хиперинсулинемия са свързани с множество състояния като артериална хипертония, затлъстяване, метаболитен синдром, атеросклероза, микроваскуларни усложнения, невродегенеративни заболявания и някои видове рак. Отдавна е известно, че късният пик на инсулина

в хода на ОГТТ (на 120 мин. или по-късно), е свързан с по-висок риск от развитие на захарен диабет тип 2 в сравнение с такива, при които пикът е на 30 мин или на 60 мин. При пациенти с предиабет (НГТ) също се наблюдава закъсняващ пик на инсулина и повишение в инсулиновите нива между 60 и 120 мин. от ОГТТ. Тъй като това се наблюдава както при пациенти с предиабет, така и при такива с нормален глюкозен толеранс, като и в двата случая е свързано с повишен риск от захарен диабет, кривата на инсулина в хода на ОГТТ има допълнителна предиктивна стойност. Тези данни се потвърждават и при изследваните от нас пациенти със затлъстяване, при които пикът на инсулина на 120 мин. се свързва с по-висока честота на въглехидратни нарушения. Тези пациенти са също така с по-изразен висцерален обезитет, оценен чрез различни индекси. От друга страна обаче, **за разлика от повишената кръвна захар на 60 мин. от ОГТТ, не установихме връзка между късния инсулинов пик и индексите за микро- и макроваскуларни усложнения.**

Счита се, че атеросклерозата има сходна прогресия в коронарните, церебралните и каротидните артерии. През 1986 г. за пръв път се докладва **ултразвуково измерване на дебелината на интима медиа в каротидните артерии (СІМТ)**. Освен за дебелината на интима медиа, ултразвуковото изследване дава информация за наличието и вида на плаки, калцификати и диаметъра на съда. Това дава възможност за ранна идентификация на пресимптоматичните лезии и атеросклеротичния товар, чрез което се подобрява стратификацията на сърдечно-съдовия риск.

При пациенти с метаболитен синдром се установява по-голяма СІМТ, докато по-ниските и стойности се свързват с по-бавна прогресия на атеросклерозата. Някои проучвания установяват по-голяма дебелина на интима медиа на общата каротидна артерия при пациенти с предиабет в сравнение със здрави контроли, докато други не установяват връзка между НГГ/НГТ и дебелината на интима медиа, като по-силна асоциация е наблюдавана със захарния диабет и то предимно по отношение на феморалната и не толкова на каротидната артерия. Нашите данни също не демонстрираха значима разлика между пациентите със затлъстяване без въглехидратни нарушения и тези с предиабет. Недостатък на нашето проучване е липсата на контролна група без затлъстяване, което до някъде обяснява сходната СІМТ с контролите със затлъстяване, но от друга

страна за разлика от повечето подобни проучвания ние не включвахме пациенти с известни сърдечно-съдови заболявания. Подобно на други проучвания установихме значима връзка между CIMT, възрастта на пациентите и артериалното налягане, но не и с липидния профил и обиколката на талията.

В големи лонгитудинални проучвания и метаанализи при пациенти със захарен диабет тип 2 CIMT се оказва предиктор за големи сърдечно-съдови събития. От друга страна някои срезови проучвания установяват връзка между каротидната атеросклероза и честотата на микроваскуларни усложнения при пациенти с диабет. Студиите, които оценяват връзката между ултразвуковите каротидни параметри и развитието и прогресията на микроваскуларни усложнения обаче са малко и са лимитирани предимно до промените в бъбречната функция, като заключенията са противоречиви. В популационни проучвания CIMT е свързана с прогресията на албуминурията и изявата на хронично бъбречно заболяване. В едно скорошно проспективно проучване се установява, че IMT има предиктивна стойност по отношение на риска от сърдечно-съдови инциденти и нежелани бъбречни събития (поява на микроалбуминурия или влошаване на бъбречната функция), но не и по отношение на останалите микроваскуларни усложнения при пациенти със захарен диабет тип 2. Демонстрирана е и връзката между диабетната ретинопатия и дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия при пациенти със ЗД2. При пациенти със захарен диабет тип 2 също така се установява, че наличието на кардиална автономна невропатия значимо повишава вероятността за задебеляване на интима медиа на каротидните артерии и наличие на каротидни плаки. Данните при пациенти с предиабет в тази насока са обаче ограничени. **Нашите резултати показват ясна връзка между повишената IMT и наличието на диабетна невропатия и судомоторна дисфункция, като установихме и висока предиктивна стойност по отношение на тези усложнения. Независимо от множеството данни за връзката на между CIMT, въглехидратните нарушения и риска от прогресията на сърдечно-съдовите заболявания, ние за пръв път демонстрираме предиктивната и роля за прогресия към захарен диабет при пациенти с обезитет.**

Един от ранните признаци за прогресия на атеросклерозата е **ендотелната дисфункция**. Съдовият ендотел има съществена регулаторна роля като

секретира множество субстанции с вазодилаторни и вазоконстрикторни свойства, като по този начин модулира съдовия тонус, повлиява тромбоцитната адхезия и агрегация, участва в клетъчната пролиферация и развитието и прогресията на атеросклерозата. Ендотелната дисфункция включва редица функционални нарушения на съдовия ендотел, като нарушения на вазодилатацията и вазоконстрикцията, нарушена или ексцесивна ангиогенеза, намалена бариерна функция, активация на възпалението, всички от които са свързани със сърдечно-съдовите заболявания. Ендотелната дисфункция е свързана с наличието на традиционни сърдечно-съдови рискови фактори като артериална хипертония, хиперхолестеролемия, тютюнопушене, затлъстяване и др. Връзката между захарния диабет тип 2 и ендотелната дисфункция е сложна, още повече че ендотелната дисфункция често е налице още преди изявата на захарния диабет. Счита се, че ендотелната дисфункция и хипергликемията при захарния диабет споделят общи патогенетични механизми, свързани с фактори като дислипидемия и възпаление. Освен с хипергликемията, ендотелната дисфункция показва и тясна връзка с наличието на инсулинова резистентност, като се установява позитивна корелация между продукцията на азотен окис в съдовия ендотел и инсулиновата чувствителност при здрави индивиди.

При пациенти с предиабет (НГТ) се установяват нарушения в ендотел-зависимата (реактивна хиперемия след отпускане на маншета), но не и в ендотел-независимата (след сублингвално приложение на нитроглицерин) вазодилатация на брахиалната артерия. Това се потвърждава и от други автори, които също установяват нарушения в поток-медираната вазодилатация при пациенти с НГГ и НГТ. При пациенти с HbA1C 5.7%-6.4% и НГГ се установява увеличена скорост на пулсовата вълна в сравнение с индивиди с нормогликемия. Тези резултати предполагат, че ранните съдови промени са налице преди изявата на захарния диабет. Малкото проучвания, които проследяват ендотелната функция, оценена чрез EndoPat при предиабетици, установяват нарушения при пациенти със затлъстяване и предиабет в сравнение с индивиди с нормално или наднормено тегло, нормогликемия и запазена инсулинова чувствителност. В нашето проучване се установиха сходни стойности на LnRHI при пациентите със и без въглехидратни нарушения на фона на много висока честота на ендотелна дисфункция в трите групи. Установихме също така, че **най-висока предиктивна стойност за наличието на ендотелна дисфункция**

имаше кръвната захар на 60 мин от ОГТТ. Това допълнително подкрепя ролята на кръвната захар на 60 мин от ОГТТ като независим сърдечно-съдов рисков фактор, независимо от наличието на други въглехидратни нарушения.

Подобно на други проучвания, ние не установихме значима разлика в индекса глезен/мишница между пациентите с предиабет и нормален глюкозен толеранс. Ниската честота на абнормни резултати е в резултат на изключването на участници с изявени сърдечно-съдови заболявания и на факта, че периферната артериална болест обичайно е по-късно усложнение на захарния диабет, като показва ясна връзка с давността на диабета. При пациенти без изявен захарен диабет е трудно да се отграничат промените в ABI свързани с хипергликемията от тези, дължащи се на класическите сърдечно-съдови рискови фактори като артериална хипертония, дислипидемия и тютюнопушене.

Периферната невропатия и по-специално **дисталната периферна невропатия** е едно от най-честите хронични усложнения на захарния диабет. Въпреки че обикновено се смята, че невропатията е усложнение, възникващо след определена давност на захарния диабет, има все повече данни, че микроваскуларните усложнения, вкл. и невропатията са налице много по-рано, нерядко още с поставянето на диагнозата захарен диабет. В множество срезови и проспективни проучвания в различни популации се установява ясна връзка между метаболитния синдром и изявата на невропатия. Отделните компоненти на метаболитния синдром, и по-специално затлъстяването, предиабета и дислипидемията също се свързват с повишен риск от периферна невропатия. Интересно е да се отбележи, че докато гликираният хемоглобин корелира със скоростта на проводимост в моторните неврони, то затлъстяването и повишените триглицериди са свързани по-скоро с интраепидермалната плътност на нервните влакна, което предполага, че хипергликемията засяга предимно големите нервни влакна, докато затлъстяването и дислипидемията оказват влияние предимно на малките немиелинизирани аксони. Това се потвърждава в едно скорошно проучване, в което се установява, че затлъстяването, повишените нива на триглицеридите и ниският HDL, но не и предиабетът са свързани с намалена IENFD.

Подобно на повечето други проучвания в тази насока ние установихме прогресивно повишаваща се честота на периферна невропатия от затлъстяване през предиабет до захарен диабет, като установената от нас честота е малко по-висока от докладваната от повечето автори, отново най-вероятно поради това, че включените от нас пациенти са само със затлъстяване и съответно имат по-висок среден ИТМ от тези в популационните проучвания. **Връзката между периферната невропатия и метаболитните нарушения се подкрепя от факта, че освен с гликемията прагът за вибрационна чувствителност показва ясна корелация както със серумния инсулин и НОМА индекса, така и с индексите за висцерален адипозитет, независимо от гликемичния статус на пациентите.**

Множество проучвания докладват за връзка между диабетните микро- и макроваскуларни усложнения, предимно при пациенти със захарен диабет и най-вече по отношение на диабетната нефропатия и ретинопатия и ССЗ. Сравнително по-малко се знае за асоциацията между периферната невропатия и макроваскуларния риск, а за кардиалната автономна невропатия има единични съобщения за асоциация с повишена дебелина на интима медиа и каротидна атеросклероза. Някои автори установяват по-голяма дебелина на интима медиа в общата каротидна артерия и по-висока скорост на пулсовата вълна при пациенти със захарен диабет тип 2 и периферна диабетна невропатия в сравнение с тези без невропатия, докато други докладват за разлики само в артериалната ригидност, оценена чрез CAVI, но не и в дебелината на CIMT. Нашите данни потвърждават връзката между каротидната атеросклероза, оценена чрез CIMT, и наличието на невропатия и при пациенти без захарен диабет. Тази асоциация не е изненадваща, като се имат предвид сходните патогенетични характеристики, които споделят двете нарушения и тяхната връзка с метаболитния синдром и отделните му компоненти.

Кардиалната автономна невропатия (КАН) е сериозно, но често подценявано и недиагностицирано усложнение на захарния диабет, което е свързано с повишена смъртност. КАН е резултат от засягане на парасимпатиковите и симпатиковите нерви, инервиращи сърцето и кръвоносните съдове.

Нарушенията на кардиалната автономна инервация възникват рано в хода на диабетната метаболитна дисфункция и прогресивно се влошават с напредване на времето. Засягането на автономната функция с нарушения в симпатико-вагалния баланс могат да са налице едновременно или дори да предхождат микроваскуларните усложнения, вкл. диабетната невропатия.

Високата честота на сърдечно-съдови заболявания дори при хора с нормален глюкозен толеранс често се свързва с наличие на метаболитен синдром и автономна дисфункция. Налице е също така значима корелация между повишения ИТМ и особено отношението талия/ханш и повишения риск от КАН. Това предполага, че при пациенти със затлъстяване и висцерален адипозитет повишеният сърдечно-съдов риск поне до някъде се медира от КАН.

Редица проучвания демонстрират връзката между автономната дисфункция и наличието на предиабет и метаболитен синдром, като установяват повишена честота на КАН в сравнение със здрави контроли. При пациенти с НГГ/НГТ се установява по-ниска вариабилност на сърдечната честота и нарушения в парасимпатикусовата активност и адренергичната инервация на сърцето в сравнение с нормогликемични контроли. Тези резултати обаче не се потвърждават в други проучвания, където кардиалната автономна невропатия не се асоциира с предиабет. Нарушена вариабилност на сърдечната честота се наблюдава и при пациенти с наднормено тегло и затлъстяване, както и с метаболитен синдром, независимо от гликемичния статус. От друга страна, наличието на два или повече компонента на метаболитен синдром при пациенти с НГГ се свързва с нарушения във вагусовата инервация (намалена вариабилност на сърдечната честота) в сравнение с такива само с един компонент на метаболитен синдром .

Един съвсем скорошен мета-анализ посочва голяма вариация в установената честота на КАН при предиабет между различните проучвания (0-57%), като разликите в честотата на КАН до голяма степен е свързана с използваните критерии за дефиниция. **Установената от нас честота на КАН е сходна или малко по-висока от докладваната в повечето проучвания, подобно на тази на периферната сензорна невропатия. Връзката със сърдечно-съдовия риск се подкрепя от значителното влошаване на параметрите на вариабилността на сърдечната честота с повишаване на сърдечно-съдовия риск, независимо от гликемичния статус на пациентите.**

Някои автори считат, че асоциацията между автономната дисфункция и предиабета е медирана от хипертонията и затлъстяването, а не толкова от повишената кръвна захар на гладно, докато други подчертават ролята на постпрандиалната хипергликемия, като демонстрират корелация между симпатиковата активност и кръвната захар на 120 мин. Други проучвания установяват разлики в честотата на КАН между НГГ, НГТ и НГГ+НГТ (iIFG 8.1%, iIGT 5.9%, IFG+ IGT 11.4%) с най-висок риск при комбинирания въглехидратен интолеранс, като се смята че различните компоненти на дисгликемията имат независима роля за възникването на КАН. **Нашите данни подчертават ролята на кръвната захар на 60 минута от ОГТТ и метаболитния синдром за наличието на КАН.**

Потните жлези са инервирани от тънки немиелинизирани симпатикови С-влакна, които могат да бъдат засегнати рано в хода на гликемичните нарушения. Това се потвърждава от факта, че **нарушенията в судомоторната функция** са чести при пациенти с предиабет, като корелират с хистологичните данни за невропатия на малките нервни влакна. В някои проучвания при пациенти с НГТ се установява значително влошена судомоторна функция в сравнение с тези с нормогликемия, дори след ажустирание за пол, възраст и ниво на физическа активност, като честотата на судомоторна дисфункция с предиабет достига до 30%, а други демонстрират, че индивиди с високи стойности на риска за автономна невропатия, оценена чрез SUDOSCAN, имат повишен риск от дисгликемия. Ние установихме сходни показатели на судомоторната функция при пациенти с предиабет и контроли със сходно телесно тегло, като значимо влошени показатели се наблюдаваха само при пациентите с новооткрит диабет. Отново считаме, че липсата на значими разлики се дължи на факта, че използваните за контроли пациенти са такива със затлъстяване. Подобно на КАН, судомоторната функция показва ясна връзка с телесното тегло, висцералното затлъстяване и индексите за инсулинова резистентност и по-малко с гликемията. Връзката между судомоторната функция и марковаскуларния риск се подкрепя от значимата корелация с CIMT.

Подобно на други проучвания ние установихме висока чувствителност и специфичност на SUDOSCAN за оценка наличието на кардиална автономна невропатия, което предвид лесната му употреба и краткото време,

необходимо за изследването за разлика от стандартните проби на Юинг го правят много полезен скринингов тест при пациенти с ранни въглехидратни нарушения.

Честотата на **хронично бъбречно заболяване (ХБЗ)** непрекъснато се повишава в световен мащаб, като често се съпътства от сърдечно-съдови заболявания и терминална бъбречна недостатъчност. За развитието на ХБЗ са идентифицирани няколко основни рискови фактора, сред които е захарния диабет, който е водеща причина за ХБЗ в повечето страни (30-40% от случаите). По-малко е изяснено значението на т.нар. недиабетна хипергликемия, към която принадлежат НГГ и НГТ. Множество проучвания демонстрират, че до една трета от пациентите с новодиагностициран захрен диабет вече имат бъбречна увреда, което предполага, че развитието на ХБЗ вероятно започва в ранните етапи на дисгликемията, подобно на останалите микроваскуларни усложнения. За разлика от диабетната периферна и автономна невропатия асоциацията между предиабета и хроничното бъбречно заболяване не е толкова силна. Вероятно това е свързано с факта, че прогресията на хроничното бъбречно увреждане е до голяма степен зависимо и от други често-срещани рискови фактори, особено от наличието и контрола на артериалната хипертония. Освен това пациенти с предиабет, които имат трайно повишено нива на АН или при които то прогресивно се покачва се времето, се наблюдава по изразено влошаване на бъбречната функция (по-висок АСР и по-ниска еGFR) в сравнение с такива със стабилно ниско АН. Голяма част от данните за ролята на предиабетното състояние за развитие на нефропатия е за сметка на проспективни проучвания, които идентифицират предиабетните състояния и то най-вече нарушената гликемия на гладно като рисков фактор за бъдещо развитие на хронично бъбречно заболяване.

От друга страна, редица проучвания установяват и значима връзка между ХБЗ и инсулиновата резистентност, затлъстяването и метаболитния. Инсулиновата резистентност може да бъде един от патофизиологичните механизми на развитие на ХБЗ при пациенти с въглехидратни нарушения, извън хипергликемията, тъй като хиперинсулинемията се свързва с повишаване на

GFR, хиперфилтрация и последваща протеинурия и бъбречно увреждане. Това се потвърждава от факта, че в ранните етапи на ХБЗ появата на протеинурията и намалението на бъбречната функция обикновено се предшества от период на хиперфилтрация, вкл. и при пациенти с предиабет. От друга страна инсулиновата резистентност е свързана с повишаване на артериалното налягане, което също допринася за прогресията на ХБЗ.

Нашите резултати подкрепят ролята на въглехидратните нарушения и особено на захарния диабет тип 2 и артериалната хипертония в прогресията на бъбречното увреждане при пациенти със затлъстяване. Не установихме връзка обаче с инсулиновата чувствителност и останалите микро- и макроваскуларни усложнения. Трябва да се има предвид, че в изследването не бяха включени пациенти с умерено и тежко бъбречно увреждане (eGFR<60 ml/min) поради възможността бъбречната недостатъчност с друга генеза да има независим от гликемията и инсулиновата резистентност ефект върху маркерите за диабетни усложнения (особено макроваскуларни) и изследваните от нас маркери за съдов риск.

Неалкохолната стеатозна болест (НАСБ) е най-честото чернодробно заболяване в световен мащаб, като честотата и непрекъснато продължава да се повишава в резултат на епидемията от затлъстяване. НАСБ се характеризира с ексцесивно натрупване на мазнини в черния дроб и се дефинира като наличие на стеатоза в > 5% от хепатоцитите. Чернодробната стеатоза повишава риска от други заболявания като захарен диабет тип 2 и сърдечно-съдови заболявания.

Множество проучвания оценяват честотата на чернодробна стеатоза при пациенти със захарен диабет тип 2, като тя може да достигне до 50-87% в зависимост от използваните диагностични критерии, докато при пациенти с предиабет има значително по-малко данни. Скорошни проучвания демонстрират честота на НАСБ около 48% при пациенти с предиабет, което е значимо повече от тази в общата популация (около 26%), като факторите повишаващи риска от НАСБ при пациентите с предиабет включват повишена обиколка на талията, артериално налягане, инсулинова резистентност, плазмен инсулин на гладно и постпрандиално, понижени нива на HDL-холестерол. Пациентите с предиабет и

неалкохолна чернодробна стеатоза имат по-висок риск от прогресия към захарен диабет .

При изследваните от нас пациенти установихме, че както нивата на чернодробните ензими, така и стойностите на различните скорове за чернодробна стеатоза/фиброза се повишават от пациентите със затлъстяване без въглехидратни нарушения през тези с предиабет до болните с новооткрит захарен диабет, като успоредно с това се повишава и процентът пациенти с чернодробна стеатоза в трите групи, като честотата ѝ варираше значително от използвания скор. Значителен недостатък на нашето проучване е липсата на ехографска или хистологична верификация на чернодробната стеатоза. Независимо от това, **нашите данни демонстрират по-изразената връзка на чернодробната стеатоза с инсулиновата резистентност (ИРИ на гладно и НОМА индекс), отколкото с нарушенията във въглехидратната обмяна. Резултатите отново потвърждават ролята на VAI за скрининг за различни метаболитните нарушения, вкл. и НАСБ.**

Редица проучвания и мета анализи, както при възрастни, така и при деца, показват връзка на НАСБ с маркерите за субклинична атеросклероза (дебелина на интима-медия на каротидните артерии и коронарен артериален калциев скор), ендотелната дисфункция и артериалната ригидност. Тези данни отново потвърждават факта, че при НАСБ сърдечно-съдовият риск нараства с прогресията на чернодробното увреждане. В подкрепа на асоциацията между чернодробната стеатоза и макроваскуларните усложнения ние също установихме връзка между CIMT и ендотелната дисфункция и скоровете за чернодробна стеатоза, което не е изненадващо предвид изразената корелация с артериалната хипертония и метаболитния синдром. От друга страна скоровете за чернодробна стеатоза се оказват по-тясно свързани с показателите за инсулинова резистентност, отколкото с гликемията, въпреки че най-високи бяха те при пациентите с новодиагностициран захарен диабет.

Терминът „**нарушения в дишането по време на сън**” обхваща няколко различни клинични състояния. Те са резултат на разнообразни патофизиологични механизми и са представени от широк спектър степени на тежест, които оказват своето въздействие върху всички функции на организма.

Честотата на сънната апнея е около 17% в общата популация (до 24% при мъжете и 5-9% от жените), като може да достигне до 40-70% при пациенти със затлъстяване и 58-86% при такива със захарен диабет тип 2. От друга страна въглеродни нарушения се установяват при около 30% от пациентите с лека ОСА, 50% от тези с умерена и при над 60% от тези с тежка сънна апнея, като се установява значима връзка между апнея-хипопнея индекса (индикатор за наличието и тежестта на ОСА) и риска от развитие на захарен диабет тип 2 и инсулинова резистентност. Нашите данни също демонстрират **по-висока честота на ОСА и по-висок oxygen desaturation index (ODI) при пациенти с въглеродни нарушения в сравнение с такива само със затлъстяване.**

Дихателните паузи, които се наблюдават при ОСА имат редица неблагоприятни ефекти върху целия организъм, включително намалена сатурация на оксигемоглобина, флукуации в артериалното налягане и сърдечната честота, повишена симпатикусова активност, повишена активност на мозъчната кора и фрагментиране на съня. Освен с повишен риск от инсулинова резистентност и въглеродни нарушения ОСА е свързана с повишена честота сърдечно-съдова заболяемост и смъртност. В потвърждение на това са и нашите данни, които демонстрират повишен риск от сърдечно-съдови заболявания и смъртност при пациентите с ОСА, независимо от диабетния статус. Смята се, че основният механизъм, свързващ ОСА с повишения сърдечно-съдов риск е автономната дисрегулация със симпатиковата свръхактивация. Множество проучвания демонстрират, че при пациенти с ОСА повтарящата се обструкция на горните дихателни пътища и свързаната с това интермитентна хипоксия води до повишаване на симпатиковия тонус както остро по време на апнеичните паузи, така и хронично в хода на цялото денонощие. Промените в активността на автономната нервна система при ОСА са свързани с последващи промени в сърдечната честота и артериалното налягане (кардиална автономна невропатия), докато ефектите върху другите функции на автономната нервна система не са толкова ясно изразени и съответно проучени. **Нашето проучване е първото, което оценява судомоторната дисфункция с помощта на Sudoscan при пациенти с ОСА и затлъстяване със или без въглеродни нарушения, като установихме значителни промени в електрохимичната кожна проводимост на дланите и стъпалата със съответно по-висок риск от КАН и на фона на по-висок скор за периферна диабетна невропатия**

(NDS), независимо от несигнификантните разлики във вариабилността на сърдечната честота и останалите тестове за автономна дисфункция.

Затлъстяването отдавна е известно като състояние, свързано с **хронично нискостепенно системно възпаление**. Възпалителните промени в мастната тъкан често са свързани с последващото развитие на инсулинова резистентност и свързаните със затлъстяването метаболитни нарушения. Множество клинични проучвания потвърждават ролята на системното субклинично възпаление в патогенезата на затлъстяването и въглехидратните нарушения.

Възпалителните цитокини, които се синтезират от натрупаната висцерална мастна тъкан имат негативен ефект върху сигналната каскада на инсулина, както и върху β -клетъчната функция. Няколко инфламаторни молекули имат роля в тези процеси, вкл. Interleukin-1 (IL-1), Tumor Necrosis Factor Алфа (TNF-alfa), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-18 (IL-18), C-реактивен протеин (CRP). Проучванията, сравняващи нивата на инфламаторните цитокини при пациенти от целия спектър на глюкозния толеранс, са недостатъчни за оценката на причинно-следствената връзка между инсулиновата резистентност и субклиничното възпаление.

IL-18 е цитокин, секретиран от различни клетки, вкл. Купферови клетки, кератиноцити, макрофаги, дендритни клетки, мастната тъкан и активирани Т-лимфоцити, който стимулира Th-1 имунния отговор, матурацията на Т-клетките и НК-клетките и продукцията на други инфламаторни хемокини, цитокини и адхезионни молекули. IL-18 играе роля в развитието на различни заболявания като ревматоиден артрит, възпалителни чревни заболявания, алергии и др., но също и за атеросклерозата, затлъстяването, метаболитния синдром и захарния диабет. Повишените нива на IL-18 са свързани с инсулинова резистентност и с повишен риск от развитие на захарен диабет тип 2 при жени, дори след корекция за множество други рискови фактори. Проведеното от нас проучване е едно от малкото, които оценяват нивата на IL-18 при пациенти с предиабет и връзката му с въглехидратните нарушения и показателите за микро- и макроваскуларни усложнения. Независимо, че срезовият характер на изследването не позволява идентификация на причинно-следствена връзка ние демонстрираме, че **повишеният възпалителен отговор, свързан с нивата на IL-18 има отношение както към прогресията на въглехидратните нарушения още в**

ранните им етапи независимо от затлъстяването, така и към ендотелната дисфункция и автономната невропатия. Това предполага наличие на двупосочна връзка между възпалението и въглехидратните нарушения, в която от една страна свързаното със затлъстяването системно възпаление има роля в прогресията на въглехидратните нарушения, а от друга последващата хипергликемия задълбочава възпалението, като по този начин се формира порочен кръг на прогресиращи нарушения.

Моноцит хемоатрактантния протеин 1 (MCP-1) играе важна роля за привличането на моноцитите на местата на тъканна увреда и възпаление. MCP-1 има хемотактична активност и води до диапедеза на моноцити от съдовия лумен към субендотелното пространство, където те се превръщат в пенести клетки и допринасят за прогресията на атеросклеротичната плака. През последните две десетилетия се натрупаха много доказателства за ключовата роля на MCP-1 за развитието на атеросклероза. Демонстрирана е и ролята му за свързаните със затлъстяването инсулинова резистентност и захарен диабет. Няма обаче достатъчно данни за връзката му с ранните етапи от нарушената глюкозна регулация. Някои проучвания не установяват връзка между нивата на MCP-1 и наличието на нарушен глюкозен толеранс, захарен диабет и затлъстяване, докато нашите данни демонстрират тенденция към по-високи нива на MCP-1 при пациентите с предиабет в сравнение с тези с нормогликемия, като се установи значима корелация с ИТМ и НОМА индекса. Прави впечатление и значимо по-високите му нива при пациенти с макроваскуларни усложнения (периферна артериална болест). Вероятно това е един от механизмите, който свързва затлъстяването предиабетните състояния и инсулиновата резистентност с прогресията на атеросклерозата, въпреки че проучванията в тази насока не установяват връзка между нивата на MCP-1 и нарушенията в ендотелната функция при пациенти с предиабет и че в предходни наши проучвания не установихме връзка между нивата на MCP-1 и наличието на инсулинова резистентност при пациентки със синдром на поликистозните яйчници (СПЯ), нито промяна в нивата му след лечение с метформин.

Параоксоназа-1 (PON1) представлява свързана с HDL екстрацелуларна естераза, която се синтезира предимно в черния дроб. Смята се, че PON1

допринася за анти-атерогенните и анти-инфламаторните свойства на HDL като намалява липидната пероксидация, податливостта на HDL към гликиране и повишава ефлукса на холестерол от макрофагите. PON1 се оказва независим рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания. Различни проучвания установяват, че нивата на PON1 са понижени при пациенти със затлъстяване, захарен диабет, сърдечно-съдови заболявания, хиперхолестеролемия и бъбречни заболявания.

В няколко проучвания при пациенти с предиабет и метаболитен синдром и изявен захарен диабет се установяват понижени нива на PON1, като те са свързани с диабетните микро- и макроваскуларни усложнения. В други проучвания обаче, активността на PON1 не е сигнификатно променена при пациенти с нарушен глюкозен толеранс и захарен диабет в сравнение с нормогликемични пациенти. В проведеното от нас проучване за контролна група бяха използвани пациенти със затлъстяване без въглехидратни нарушения с цел да се оцени ефекта на гликемичните нарушения върху нивата на PON1, които са независими от наличието на затлъстяване, тъй като затлъстяването е добре известен сърдечно-съдов рисков фактор. От друга страна фокусирахме вниманието си и върху инсулиновата резистентност, оценена с помощта на различни критерии за да определим кой е по-важният фактор за понижените нива на PON1 – въглехидратните нарушения или инсулиновата резистентност, като установихме само тенденция към понижени нива при пациенти с предиабет. Липсата на сигнификантна разлика между двете групи вероятно се дължи на факта, че теглото им е сходно и че и в двете е налице повишен сърдечно-съдов риск, независимо че бяха изключвани пациенти с доказано сърдечно-съдово заболяване за да можем да оценим ранните фази на развитието на атеросклерозата. Установихме обаче много силна връзка с инсулиновата резистентност и маркерите за висцерален адипозитет. Това предполага, че **основният определящ фактор за нивата на PON1 е инсулиновата резистентност, а не толкова наличието на въглехидратни нарушения.** Инсулиновата резистентност често е налице при пациенти с предиабет и е свързана с повишен сърдечно-съдов риск. Други автори също демонстрират ролята на инсулиновата резистентност и хиперинсулинемията за вариациите в параоксоназната активност (при индивиди без явни въглехидратни нарушения). Нашето проучване обаче е първото, което изследва нивата на PON1 при

пациенти със затлъстяване със и без предиабет, като демонстрираме независимата роля на инсулиновата резистентност в тази популация.

Значителни данни се натрупаха по отношение влиянието на **оксидативния стрес** като централен механизъм за повишен СС риск в асоциация с остра, епизодична хипергликемия. Налице са множество данни за връзката между повишените нива на свободните радикали и оксидативния стрес и патогенезата на ЗД2 и неговите усложнения. Индуцираният от хипергликемията оксидативен стрес стимулира възпалението чрез засилена ендотелна увреда, увеличен съдов пермеабилитет и освобождаване на проинфламаторни цитокини, което в крайна сметка ускорява развитието на съдовите усложнения. В организма са налице различни протективни антиоксидантни системи, които противодействат на оксидативния стрес. Една такава антиоксидантна система са пероксиредоксините. Те функционират като мощен защитен механизъм, поддържащ баланса между оксиданти и антиоксиданти при нормални условия и в условия на оксидативен стрес. При повишени нива на оксидативен стрес в отговор се наблюдава свръхекспресия на тези ензими. При бозайници са установени шест изоформи на пероксиредоксините, като пероксиредоксин 4 е единствената изоформа, която се установява в серума. Едно проучване демонстрира, че повишените серумни нива на пероксиредоксин 4 са свързани с по-висок риск от сърдечно-съдови заболявания и повишена сърдечно-съдова смъртност в общата популация и при пациенти с микроалбуминурия. Няма обаче данни за връзката му с предиабетните състояния и свързаните с тях микро- и макроваскуларни усложнения. **Ние за пръв път установихме значимо по-високи нива пероксиредоксин 4 при пациентите с предиабет в сравнение с тези нормални нива на кръвната захар.** Не се наблюдава разлика обаче между пациенти със и без инсулинова резистентност, което вероятно означава, че основен фактор за повишения оксидативен стрес в тази популация е хипергликемията, а не степента на инсулинова чувствителност. Не се установи също така връзка с показателите за микро- и макроваскуларен риск, но прави впечатление за пръв път установената от нас силна връзка с обструктивната сънна апнея.

Нарушенията в бета-клетъчната функция и намалената бета-клетъчна маса допринасят за намалената инсулинова секреция при пациенти със захарен диабет тип 2. Глюкотоксичността играе ключова роля за апоптозата на бета-клетките в панкреаса, развитието на диабетните усложнения и прогресията на захарния диабет. Възможните механизми за бета-клетъчната глюкотоксичност включват бета-клетъчна свръхстимулация, оксидативен стрес, образуване на крайни продукти на неензимното гликиране, активация на хексозаминовия път, активация на протеинкиназа С, възпаление и хипоксия. **Тиоредоксин-взаимодействащият протеин (Thioredoxin-interacting protein - TXNIP)** е един от медиаторите на индуцираната от оксидативния стрес бета-клетъчна глюкотоксичност. TXNIP индуцира бета-клетъчна апоптоза, докато дефицитът му е протективен по отношение развитието на тип 1 и тип 2 захарен диабет. Има все повече данни, че TXNIP играе ключова роля за прогресията на захарния диабет и хроничните му усложнения. При пациенти със захарен диабет нивата му са повишени в редица тъкани, включително и в ретината, където играе ключова роля за оксидативния стрес и възпалението. При изследваните от нас пациенти подобно на други проучвания установихме по-високи нива на TXNIP при пациентите с предиабет в сравнение с контролите без въглехидратни нарушения и сигнификантна корелация на този показател с НОМА индекса, което отразява ролята на инсулиновата резистентност и граничната хипергликемия за прогресията към захарен диабет. Впоследствие други автори посочват, че нивата на TXNIP имат сигнификантна предиктивна стойност за наличие на предиабет, с което потвърждават резултатите от нашето проучване. Подобно на останалите показатели за оксидативен стрес отново не открихме значима връзка с показателите за микро- и макроваскуларни усложнения, независимо че в експериментални проучвания при опитни животни се установява че TXNIP е свързан с предиабетната невропатия и че инхибирането му води до нейното подобрене. **За пръв път в световен мащаб демонстрирахме, че изходните нива на TXNIP имат отношение към риска от прогресия към захарен диабет при пациенти със затлъстяване, което не е изненадващо като се има предвид установената му патогенетична роля за прогресията на захарния диабет и неговите усложнения.**

Докато хипергликемията представлява ключов фактор в развитието на микроваскуларните диабетни усложнения, тя е само един от множеството фактори, свързани с развитието на макроваскуларни усложнения. Хипергликемията индуцира съдова увреда чрез повишения интрацелуларен оксидативен стрес, който обхваща четири основни механизма – полиолов път, формиране на **крайни продукти на неензимното гликиране (AGEs)**, пътищата на протеинкиназа С - диацилглицерол и хексозаминовия път. AGEs се образуват в резултат на продължителна хипергликемия чрез неензимна реакция между глюкозни остатъци и аминови групи на протеини, липиди или нуклеинови киселини, което води до необратими структурни промени в тях. Едни от най-добре проучените AGEs при пациенти с диабет са карбоксиметиллизин, карбоксиетиллизин и пентозидин, които служат като маркери за формирането и акумулирането на AGEs.

AGEs повлияват микроваскуларната хомеостаза чрез взаимодействието си с *рецептора за крайни продукти на неензимното гликиране (RAGE)*. Има множество данни, които поддържат теорията, че това взаимодействие участва в развитието на микроваскуларни усложнения на захарния диабет. *Разтворимата форма на RAGE (sRAGE)* е лишена от трансмембрания си домейн и наскоро е идентифицирана като инхибитор на медираните от AGE-RAGE патологични реакции. Биологичната роля на sRAGE не е достатъчно добре изяснена, но се смята, че той оперира като конкурентен инхибитор на взаимодействието лиганд-RAGE. Освен това sRAGE може да служи като scavenger-рецептор за циркулиращи AGEs и други лиганди за RAGE. sRAGE се оказва протективен фактор по отношение на микросъдовата увреда при пациенти със ЗД2.

До момента има сравнително малко проучвания, които изследват ролята на sRAGE за развитието на атеросклеротичния процес при хора. При пациенти на средна възраст без диабет плазмените нива на sRAGE са по-ниски при наличие на коронарна болест на сърцето. Оказва се също така, че sRAGE има подчертана връзка с някои от компонентите на метаболитния синдром, вкл. индекса на телесната маса и инсулиновата резистентност. **Подобно на други проучвания ние не установихме значима разлика в нивата на sRAGE между пациентите със и без предиабет, нито корелация с маркерите за инсулинова резистентност, въпреки данните за значима негативна корелация с**

индексите за висцерален адипозитет. Други обаче демонстрират по-ниски нива на sRAGE при пациенти с предиабет и новооткрит захарен диабет в сравнение с контроли. Възможните причини за тези различия могат да бъдат свързани с това, че ролята на хипергликемията и формирането на RAGE в тези ранни етапи на въглехидратните нарушения са вариабилни и са налице множество други допълнителни фактори като метаболитен синдром, хронично възпаление, инсулинова резистентност и др. Интересна находка беше значимата разлика в нивата на sRAGE между пациенти с и без артериална хипертония. В анализа на нашите резултати умишлено не бяха включени пациенти с новооткрит захарен диабет, тъй като диабетът нерядко се диагностицира след дълъг период на нелекувана хипергликемия, което може значимо да повлияе нивата на RAGE и свързаното с тях развитие на диабетни усложнения.

Първоначално се е смятало, че единствените регулатори на фосфорната хомеостаза са вит. D и паратироидния хормон (PTH). След откриването на FGF23 и Klotho вече се знае, че те участват в тази хомеостаза, формирайки единна **костно-бъбречно-ендокринна ос**. Ролята на витамин D, FGF23 и Klotho в костния метаболизъм и патогенезата на остеопорозата е добре известна. Скорошни данни показват обаче, че те могат да бъдат свързани и с някои съдови и метаболитни нарушения, особено при пациенти с хронични бъбречни заболявания.

Данните за връзката между нивата на витамин D и предиабета не са еднозначни. Някои проучвания установяват сходни нива на 25(OH)D при пациенти с предиабет и контроли и че само дефицитът на витамин D в комбинация с повишени нива на паратхормон са свързани с дисгликемия при възрастни пациенти, докато други демонстрират по-ниски нива на 25(OH)D при пациенти с предиабет в сравнение с контроли. Все пак витамин D дефицитът изглежда свързан с инсулиновата резистентност при пациенти с предиабет, но не и при нормогликемични пациенти. **В нашето проучване ние установихме само тенденция към по-ниски нива на 25(OH)D при пациенти с предиабет, но не и връзка с инсулиновата резистентност.** Точният механизъм, по който витамин D влияе на глюкозната хомеостаза и инсулиновата резистентност не е напълно изяснен, но се смята, че той е свързан с бета-клетъчната функция и инсулиновата секреция, интрацелуларните нива на калция и пострецепторната

инсулинова сигнализация или автокринната/паракринната роля на витамин Д в таргетните тъкани .

Доказано е, че хиперфосфатемията е централен компонент в напредването на хроничните бъбречни заболявания, а епидемиологични данни категорично я свързват със сърдечно-съдовата болестност. При хората е установено, че FGF23 е повишен при хронична бъбречна недостатъчност, където независимо се асоциира с повишена болестност и смъртност. Данните за връзката между FGF23 и нарушенията в глюкозната обмяна са малко. Повечето проучвания показват повишени нива на FGF23 при пациенти със захарен диабет тип 2, както и при родственици от първа линия на пациенти с диабет. Няма много данни обаче за нивата на FGF23 в ранните етапи на глюкозната дисрегулация (инсулинова резистентност и предиабет). **Нашите данни за пръв път демонстрират значимо по-високи нива на FGF23 при пациенти с предиабет в сравнение с нормогликемични контроли със сходни възраст, ИТМ и сърдечно-съдови рискови фактори. Нивата му бяха по-високи и при пациенти с инсулинова резистентност в сравнение с тези без, но корелираха само с кръвната захар на гладно, но не и с показателите за инсулинова резистентност. Това предполага, че основният фактор, свързан с повишението на FGF23 е повишената кръвна захар.** Едно скорошно експериментално проучване обаче показва, че инсулиновата сигнализация и активността на симпатиковата нервна система имат отношение към продукцията на FGF23. Възможно е ранните нарушения в глюкозната хомеостаза да имат сходен със захарен диабет тип 2 механизъм на повишение на FGF23. Това се поддържа донякъде и от факта, че повишени нива се установяват и при роднини на пациенти с диабет.

„*Klotho*” е първоначално е идентифициран като супресорен на стареенето ген. Експресирани е предимно в бъбреците, паращитовидните жлези и някои региони на мозъка. Съвременни изпитвания при животни показват, че *Klotho* действа като ренопротективен фактор. Някои клинични проучвания установяват даун-регулация на *Klotho* при пациенти с нарушена гликемия на гладно, абдоминален обезитет или захарен диабет тип 2. Серумните нива на *Klotho* се оказват също така позитивно свързани с гломерулната филтрация и негативно с отношението албумин/креатинин в урината, серумния креатинин и кръвната захар. В изследваната от нас популация обаче ние не установихме връзка между нивата

на Klotho и кръвната захар, инсулиновата чувствителност, гликемичния статус и бъбречната функция, въпреки тенденцията към малко по-ниски серумни нива при пациентите с предиабет, докато отношението FGF-23/Klotho показва сигнификантна корелация с кръвната захар на гладно. Промените в оста FGF-23/Klotho/FGFR1 се оказват силен предиктор на бъбречната фиброза независимо от глюкозната хомеостаза и липидния профил при пациенти със захарен диабет, свързани са с риска от сърдечно-съдови усложнения, диабетно стъпало и ендотелна дисфункция при пациенти с предиабет и захарен диабет. Поради факта, че включените от нас пациенти са с много ранни нарушения във въглехидратната обмяна и с нормална бъбречна функция, ние не установихме връзка между FGF-23/Klotho и показателите за микро- и макроваскуларни усложнения.

Остеопротегеринът (ОПГ) е разтворим гликопротеин, участващ в костния метаболизъм. ОПГ, също така, е открит в други тъкани, като няколко проучвания показват, че се експресира и в съдовата гладка мускулатура. Активиране на RANKL системата не се наблюдава при нормални условия, но може да се наблюдава в зони на вкалцяване (например на атеросклеротични плаки). ОПГ и RANKL са важни регулатори на минералния метаболизъм както в костите, така и в съдовата стена. Поради тези причини, остеопротегеринът е определен като маркер за субклинична атеросклероза и ендотелна дисфункция при пациенти със захарен диабет тип 2. Освен това ОПГ се явява независим рисков фактор за микроалбуминурия. Ние обаче не установихме връзка между нивата на остеопротегерина, нарушенията във въглехидратната обмяна и наличието на микро- и макроваскуларни усложнения.

В последното десетилетие има повишен интерес към **мастната тъкан като ендокринен орган, който секретира голям брой цитокини и биоактивни медиатори**, които играят важна роля в инсулиновата чувствителност, възпалението, коагулацията и в крайна сметка – атеросклерозата. Освен класическите лептин, адипонектин и резистин, напоследък са идентифицирани някои нови адипокини, освобождавани от мастната тъкан, които могат да имат отношение към инсулиновата резистентност и повишения риск при пациенти с въглехидратни нарушения.

Хемерин представлява сравнително скоро идентифициран адипокин, който регулира матурацията и метаболитните функции на адипоцитите, както и глюкозния метаболизъм в черния дроб и скелетните мускули. Освен това той участва в регулацията на имунната система и възпалението. Това предполага, че хемеринът може да има отношение към връзката между хроничното възпаление, затлъстяването и свързаните с него нарушения като захарния диабет тип 2 и сърдечно-съдовите заболявания. При пациенти с предиабет и захарен диабет хемеринът не се оказва добър предиктивен маркер за атеросклероза, но корелира добре с компонентите на метаболния синдром, особено при болните с диабет. В нашата студия установихме единствено слаба корелация на серумния хемерин с гликирания хемоглобин. Същевременно, серумния хемерин се оказва добър предиктор за дислипидемия в изследваната от нас популация пациенти.

Оментин -1 е 38 kDa адипокин, който се секретира предимно от висцералната мастна тъкан и в по-малка степен от подкожната. Нивата на оментин-1 и генната му експресия във висцералната мастна тъкан са понижени при затлъстяване и синдром на поликистозните яйчници. В нашата студия установихме, че серумният оментин е статистически значимо по-висок при лицата с инсулинова резистентност. Това потвърждава потенциалната му връзка с патогенезата на това състояние. Според някои проучвания при пациенти с нарушен глюкозен толеранс и новооткрит захарен диабет нивата на оментин-1 са по-ниски в сравнение с контроли, докато при други не се установява такава зависимост. Ние установихме негативна корелация на серумният оментин с гликирания хемоглобин в изследваната популация пациенти.

Васпин е адипокин, който се секретира от висцералната мастна тъкан и представлява серин-протеазен инхибитор с инсулин-очувстваващи свойства. Връзката на васпина с нарушенията във въглехидратната обмяна е доста противоречива. Докато едни автори установяват по-ниски нива на васпин при захарен диабет, други демонстрират повишени нива или липса на зависимост между васпина и наличието на диабет. При индивиди с нормален глюкозен толеранс циркулиращите нива на васпина показват значима корелация с индекса на телесната маса и инсулиновата чувствителност. В нашата студия установихме единствено позитивна асоциация на серумния васпин с гликирания хемоглобин на пациентите.

Висфатин, познат още като пре-В колония стимулиращ фактор 1(PBEF1), представлява адипокн, секретиран от висцералната и подкожната мастна тъкан, костния мозък мускулите. Напоследък става ясно, че висфатин участва в развитието на свързаната със затлъстяването инсулинова резистентност и захарния диабет тип 2 както в експериментални модели, така и при хора. Нивата му са повишени при затлъстяване и захарен диабет. В други проучвания обаче, нивата му не се различават между пациенти с въглехидратни нарушения (НГГ, НГТ и ЗД2) и такива без. При пациенти с коронарна болест на сърцето и остър миокарден инфаркт се установява позитивна корелация между нивата на висфатина и нестабилните атеросклеротични плаки, като той се оказва независим прогностичен фактор за неблагоприятен изход при пациенти с ОМИ.

Ретинол-свързващият протеин 4 (RBP4) е идентифициран като адипокин в животински модели преди доста години. Експресията на RBP4 е повишена при експериментални животни и пациенти с инсулинова резистентност и ЗД2. При пациенти с нарушен глюкозен толеранс е установен повишен RBP4 в сравнение с контроли, като нивата му са свързани с риска от захарен диабет. В други проучвания обаче не се установяват разлики в нивата му между пациенти с въглехидратни нарушения и контроли.

Иризинът е миокин, който вероятно медира положителните ефекти на двигателната активност върху метаболизма, индуцирайки превръщането на кафява мастна тъкан от бяла такава и промотирайки термогенезата. Малко са данните в литературата по отношение на нивата на иризина при предиабетици, а също така и потенциалната връзка на тези нива с риска от развитие на микро и макроваскуларни усложнения при тази популация от индивиди.

Адхезията на левкоцити към съдовата стена се счита за важна стъпка в образуването на атеросклеротичните плаки. Адхезионните молекули като вътреклетъчната адхезионна молекула-1 (ICAM-1), съдовата клетъчна адхезионна молекула-1 (VCAM-1) и ендотел-левкоцитната адхезионна молекула-1 (ELAM-1) играят важна роля за тази стъпка. Установено е, че пациентите със захарен диабет тип 2 имат повишени нива на разтворими клетъчни адхезионни молекули (sICAM-1, sVCAM-1, sELAM-1). Освен това, пациентите с диабет, които демонстрират микро- и макросъдови усложнения имат по-високи нива на oxLDL, MCP-1, ICAM-1 и VCAM-1 от тези без усложнения.

Има сравнително малко данни в тази насока при пациенти с предиабетни състояния, като при юноши със затлъстяване и предиабет не се установяват повишени нива на ICAM-1 в сравнение с контроли. Ние също не установихме значима разлика в нивата на sICAM и sVCAM между двете групи, но подобно на други проучвания наблюдавахме лека тенденция към повишаване при пациентите с предиабет, независимо от липсата на корелация с нивата на кръвната захар на гладно и след обременяване.

Съдовият ендотелен растежен фактор (VEGF) е мощен ангиогенен цитокин, който стимулира пролиферацията, миграцията и оцеляването на ендотелните клетки. Освен това повишената експресия на VEGF допринася за туморната прогресия и патогенезата на някои заболявания, които се характеризират с абнормна неоваскуларизация като ревматоидния артрит, псориазиса, диабетната микроангиопатия и сърдечно-съдовите заболявания. При пациенти със захарен диабет е установено значимо повишение на нивата на VEGF в сравнение с контроли, като нивата са още по-високи при пациенти с микро- и макросъдови усложнения в сравнение с тези без усложнения. Нивата на VEGF са по-високи при диабетици с пролиферативна ретинопатия в сравнение с пациенти с непролиферативна ретинопатия.

CD40L (CD40 ligand) представлява трансмембранен протеин, структурно свързан с TNF- α (tumournecrosisfactor- α), който се експресира на повърхността на активираните тромбоцити, откъдето може да се освободи разтворимата му форма **sCD40L (solubleCD40L)**. Като мембранно-свързаният, така и разтворимият CD40L се свързват с CD40, експресиран от съдовите клетки, което води до възпалителни и протромботични реакции. Освен това sCD40L може да функционира като лиганд на тромбоцитния фибриноген рецепторен гликопротеин IIb/IIIa, като по този начин участва в стабилизацията на тромба и тромбоцитната активация. По тази причина sCD40L вероятно е ключова молекула, която свързва възпалението с протромботичните състояния. Повишените плазмени нива на sCD40L имат предиктивна стойност по отношение на тромботични инциденти и идентифицират привидно здрави индивиди, които са с най-висок риск от сърдечно-съдови инциденти. Нивата на sCD40L са повишени при пациенти с есенциална хипертония и микроалбуминурия в сравнение с пациенти с хипертония, но без микроалбуминурия и здрави

контроли. Установено е, че нивата му се повишават с възрастта и са по-високи при НГТ в сравнение с контроли с нормогликемия и при пациенти с предиабет и метаболитен синдром в сравнение с такива с предиабет без метаболитен синдром. Пациентите със захарен диабет също демонстрират по-високи нива на sCD40L в сравнение с недиабетици. **Подобно на PON1 при изследваните от нас пациенти установихме само тенденция за по-високи нива при наличие на предиабет и много по-силна връзка с инсулиновата резистентност.**

Калистатинът е член на фамилията на серин протеазните инхибитори (SERPIN). Той е идентифициран за първи път като специфичен инхибитор на тъканния каликреин. Впоследствие се установяват и други негови функции като инхибиращ ефект върху ангиогенезата и туморния растеж. Циркулиращите нива на калистатин са повишени при пациенти със захарен диабет тип 1 и 2 с диабетни съдови усложнения. Ние установихме значимо по-високи нива на калистатин при пациенти с предиабет в сравнение с такива с нормален глюкозен толеранс. Нямаше разлика обаче при пациенти с и без инсулинова резистентност. Това предполага, че основният фактор за повишените нива на калистатин в тази популация е свързан с хипергликемията, а не със степента на инсулинова чувствителност. Има данни, че калистатин играе протективна роля срещу оксидативния стрес, съдова увреда и развитите на съдови усложнения, докато други автори предполагат, че повишените циркулиращи нива на антиангиогенни серпини при пациентите с диабет могат да допринасят за затрудненото заздравяване на раните чрез инхибиция на Wnt/ β -catenin сигнализацията. Можем да предполагаме, че повишените нива на калистатин, които установяваме при пациентите с предиабет са свързани с неблагоприятния ефект на повишените нива на кръвната захар върху съдовата система. **Нашето проучване в тази насока е първото, което демонстрира повишени нива на калисиатин при пациенти с предиабет, като демонстрира независимата роля на хипергликемията в тази популация.**

Копептин представлява С-терминалната част от прекурсора на вазопресина (AVP), която се секретира в еквимоларни количества заедно с AVP. Той е надежден сурогатен маркер за нивата на вазопресина. Нивата на копептин са

свързани с наличие на с метаболитен синдром и повишен риск от развитие на захарен диабет тип 2, особено при жени. Нивата му са повишени при пациенти със сърдечна недостатъчност и остър коронарен синдром както при пациенти със, така и без захарен диабет. При пациенти с остър коронарен синдром и новодиагностицирани въглехидратни нарушения нивата му са по-високи в сравнение с тези с нормогликемия и контроли и имат предиктивна стойност за риска от бъдещи сърдечно-съдови инциденти, общата и сърдечно-съдова смъртност. В други проучвания е копептинът показва обратна връзка с дебелината на интима медиа на общата каротидна артерия (IMT) при мъже и при пациенти с предиабет, докато при жени и пациенти със ЗД2 такава връзка не се установява. Ние не установихме връзка между нивата на копептина, въглехидратния статус и маркерите за микро- и макроваскуларен риск.

ОБОБЩЕНИЕ

Прогресията на въглехидратните нарушения обхваща дълъг период от време, включващ началната инсулинова резистентност с компенсаторна хиперинсулинемия, последвана от гранична хипергликемия (предиабет) до изявен захарен диабет, който може да остане недиагностициран и съответно нелекуван различно дълго време. Успоредно с влошаване на инсулиновата чувствителност и въглехидратния толеранс стартира и развитието на хроничните диабетни усложнения. В ранните етапи на дисгликемията те често нямат клинична изява, поради което е необходимо насочено изследване с помощта на високо-чувствителни методи, които да позволят своевременното им диагностициране. Нашите данни демонстрират наличие на значим микро- и макроваскуларен риск при пациентите с новооткрит захарен диабет, като от показателите за макроваскуларни усложнения единствено дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия показва връзка с въглехидратния статус на пациентите за разлика от индекса глезен/мишница и ендотелната дисфункция, докато микроваскуларните усложнения показват много по-ясна връзка с наличието на въглехидратни нарушения.

При изследваните от нас пациенти с предиабет установихме по-скоро с гранични нарушения и тенденция към повишени инструментални показатели за микро- и макроваскуларен риск. От друга страна обаче, при тях се наблюдаваха значимо повишени стойности на някои нови маркери за съдов риск (предимно свързани с възпалението и оксидативния стрес), показали в други проучвания предимно при захарен диабет връзка с микро- и макроваскуларните усложнения. Това предполага, че при пациентите с предиабет вече са започнали някои от патогенетичните процеси, които впоследствие водят до прогресия до клинично значими усложнения. Някои от тези маркери показаха ясна връзка с хипергликемията, докато други предимно с инсулиновата резистентност, което подчертава значението на двете нарушения за изявата на диабетни усложнения. Независимо че не е част от общоприетите критерии за въглехидратни нарушения, кръвната захар на 60 мин. от ОГТТ $>8,5$ ммол/л се оказва свързана с по-неблагоприятен кардиометаболитен рисков профил, по-голяма дебелина на интима медиа, ендотелна дисфункция и скорове за периферна и автономна

невропатия независимо от гликемичния статус. Подобни резултати наблюдавахме и по отношение на наличието на късен пик на инсулина в хода на ОГТТ (на 120 мин), който се оказва свързан с повишени маркери за висцерален адипозитет и по-значима хипергликемия, но не и с показателите за хронични диабетни усложнения.

Интерес от практическа гледна точка представлява идентификацията на два от комбинираните антропометрични маркери (VAI и LAP) като най-добри показатели за метаболитния и съдов риск при пациенти със затлъстяване. Допълнителната оценка на някои други коморбидности като неалкохолната стеатозна болест и обструктивната сънна апнея, които макар и много често, рядко се включват в рутинната клинична оценка при такива пациенти, даде възможност да бъде изяснена връзката им както с въглехидратните нарушения, така и със свързаните с тях съдови усложнения (най-вече автономна невропатия).

Проспективната част на проучването идентифицира гликемията в хода на ОГТТ, вкл. и кр. захар на 60 минута, в комбинация с дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия и нивата на TXNIP и MCP-1 като най-силни предиктори за риска от прогресия към захарен диабет тип 2.

Основното предимство на нашето изследване е свързано със съчетанието на инструментални и лабораторни методи за изследване на много широка гама от изявиите на микро- и макроваскуларните усложнения при едни и същи пациенти от целия континуум на ранните въглехидратни нарушения (затлъстяване, предиабет и захарен диабет) и съпоставянето им с някои нови маркери за съдов риск, което дава от една страна възможност за оценка на честотата на различните усложнения и връзката помежду им, както и за допълнително изясняване на ролята на хипергликемията и инсулиновата резистентност в механизмите на развитие и прогресия на диабетните усложнения.

ИЗВОДИ

1. От всички антропометрични показатели и индекси за висцерален адипозит **VAI** показва **най-силна връзка с наличието на въглехидратни нарушения, чернодробна стеатоза, метаболитен синдром и степента на сърдечно-съдов риск**. От практическа гледна точка, въвеждането на този индекс в рутинната клинична практика, вкл. и доболничната помощ, може да подпомогне селектирането на рисковите индивиди, които следва да бъдат насочени за по-задълбочена оценка на въглехидратната обмяна и сърдечно-съдовия риск.
2. Независимо че не е част от общоприетите критерии за въглехидратни нарушения, **кръвната захар на 60 мин. от ОГТТ >8,5 ммол/л е свързана с по-неблагоприятен кардиометаболитен рисков профил, по-голяма дебелина на интима медиа, ендотелна дисфункция и скорове за периферна и автономна невропатия независимо от гликемичния статус**. По тази причина е уместно изследването на кр. захар на 60 мин. от ОГТТ да бъде рутинно включено и интерпретирано в оценката на въглехидратната обмяна с цел по-добра стратификация на риска както по отношение на въглехидратните нарушения, така и по отношение на сърдечно-съдовите заболявания и диабетните усложнения.
3. **Късният пик на серумния инсулин в хода на ОГТТ (на 120 минута) е свързан с по-висок риск от въглехидратни нарушения на фона на по-изразен висцерален адипозит, но не и с по-висок риск от микро- и макроваскуларни усложнения**
4. От показателите за макроваскуларни усложнения **единствено IMT има връзка с въглехидратния статус на пациентите за разлика от ABI и ендотелната дисфункция, докато макроваскуларните усложнения показват много по-ясна връзка с наличието на въглехидратни нарушения и по-специално на захарен диабет**
5. Честотата на периферна и кардиална автономна невропатия се повишава прогресивно с влошаване на въглехидратните нарушения и корелира със степента на сърдечно-съдов риск, като **пробата с дълбоко дишане се оказва най-чувствителна и със сравнително добра специфичност за установяване на кардиална автономна невропатия** и нормалните резултати на тази проба биха могли с голяма степен на сигурност да изключат наличието на КАН. От друга страна **изследването на судомоторната функция, което е значително по-бързо и по-малко трудоемко също има висока предиктивна стойност за наличието на КАН**.

6. Чернодробната стеатоза има **по-силна връзка с инсулиновата резистентност, отколкото с наличието на въглехидратни нарушения**; установихме и връзка с автономната невропатия, ИМТ, ендотелната дисфункция и микроалбуминурията.
7. Пациентите с въглехидратни нарушения имат значимо по-висока честота на сънна апнея и по-висок индекс на десатурация по време на сън, като **наличието на въглехидратни нарушения е свързано с двукратно повишен риск от ОСА (ODI>5) и трикратно от клинично значима ОСА, показана за неинвазивна вентилация (ODI>15)**. От друга страна пациентите с ОСА имат **по-висок риск от периферна и автономна невропатия и по-висок сърдечно съдов риск, независимо от гликемичния статус**.
8. Пациентите с предиабет имаха **повишени възпалителни маркери (IL-18 и MCP-1), маркери за оксидативен стрес (Peroxiredoxin 4 и TXNIP) и др. (FGF23, sCD40L и Kallistatin)**, но не и маркери за неензимно гликиране, клетъчни адхезионни молекули и вазоактивни растежни фактори, като **по-силна връзка с инсулиновата резистентност, отколкото с гликемията показаха PON-1 и sCD40L**. Независимо от това, **повечето от изследваните маркери не показаха връзка или значима предиктивна стойност за наличието на микро- или макроваскуларни усложнения с изключение на позитивната корелация между IL-18 и наличието на ендотелна дисфункция**.
9. Проспективната част на проучването идентифицира **гликемията в хода на ОГТТ, вкл. и кр. захар на 60 минута в комбинация с дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия и нивата на TXNIP и MCP-1 като най-силни предиктори за риска от прогресия към захарен диабет тип 2**.

СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ

Научно-теоретични

1. Установиха се повишени нива на някои нови маркери за съдов риск, свързани предимно с възпалението и оксидативния стрес при пациенти с предиабет в сравнение с нормогликемични контроли със затлъстяване
2. Установи се, че повишението на някои от маркерите за съдов риск (IL-18, MCP-1, Peroxiredoxin 4, TXNIP, Kallistatin) е свързано най-вече с гликемичния статус, докато на други (PON-1, CD40L) – по-скоро с наличието на инсулиновата резистентност, което допринася за изясняване патогенезата на ранните етапи от развитието на диабетните усложнения и ролята на хипергликемията и инсулиновата резистентност
3. Демонстрирана беше връзка между неалкохолната стетозна болест от една страна и обструктивната сънна апнея от друга и наличието на автономна невропатия

Научно-практически

1. Идентифициране на VAI като най-силен предиктор на риска от въглехидратни нарушения, чернодробна стеатоза, метаболитен синдром и степента на сърдечно-съдов риск в сравнение с останалите антропометрични индекси за висцерален адипозитет
2. Идентифициране на кръвната захар на 60 мин от ОГТТ >8,5 ммол/л като значим рисков фактор за метаболитни нарушения, микро- и макроваскуларни усложнения, независимо от гликемичния статус
3. Идентифициране на късния пик на инсулина на 120 мин от ОГТТ като значим рисков фактор за въглехидратни нарушения

4. Идентифициране на пробата с дълбоко дишане като най-чувствителна и със сравнително добра специфичност за установяване на кардиална автономна невропатия, като нормалните резултати на тази проба биха могли с голяма степен на сигурност да изключат наличието на КАН
5. Демонстриране на висока предиктивна стойност на резултатите от изследването на судомоторната функция с помощта на SUDOSCAN за наличието на кардиална автономна невропатия, верифицирана с пробите на Юинг и вариабилност на сърдечната честота
6. Идентифициране на допълнителна предиктивна стойност дебелината на интима медиа в общата каротидна артерия и нивата на TXNIP и MCP-1 в комбинация с гликемията в хода на ОГТТ, вкл. и кр. захар на 60 минута от ОГТТ за риска от прогресия към захарен диабет тип 2

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

С ИМПАКТ ФАКТОР

1. **Gateva A**, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Soluble CD40L is associated with insulin resistance, but not with glucose tolerance in obese nondiabetic patients. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2016 Jul;122(3):161-5. IF=1,22
2. **Gateva A**, Assyov Y, Velikova Ts, Kamenov Z. Increased kallistatin levels in patients with obesity and prediabetes compared to normal glucose tolerance. *Endocrine Research* 2017 May;42(2):163-168. IF=1.518
3. Assyov Y, **Gateva A**, Tsakova A, Kamenov Z. Irisin in the glucose continuum. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016 Jan;124(1):22-7 IF=1.685
4. **Gateva A**, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Serum paraoxonase-1 levels are significantly decreased in the presence of insulin resistance. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 2016 Jul;124(7):444-7. IF=1.685
5. **Gateva A**, Assyov Y, Velikova Ts, Kamenov Z. Increased peroxiredoxin 4 levels in patients with prediabetes compared to normal glucose tolerance subjects. *Clinical endocrinology* 2016 Oct;85(4):551-5.. IF = 3.327
6. **Gateva A**, Assyov Y, Gatev Ts, Kamenov Z. Endothelial dysfunction and Intima media thickness are selectively related to the different carbohydrate disturbances across the glucose continuum. *Arch Physiol Biochem*. 2018 Jun 8:1-5. IF=2.11
7. **Gateva A**, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Prediabetes is characterized by higher FGF23 levels and higher prevalence of vitamin D deficiency compared to normal glucose tolerance subjects. *Hormone and metabolic research*. 2019 Feb;51(2):106-111, IF = 2.423
8. **Gateva A**, Kamenov Z, Karamfilova V, Assyov Y, Velikova T, El-Darawish Y, Okamura H. Higher levels of IL-18 in patients with prediabetes compared to obese normoglycemic controls. *Archives of physiology and biochemistry*. *Arch Physiol Biochem*. 2020 Dec;126(5):449-452., IF=2.11
9. **Gateva A**, Y. Assyov, Z. Kamenov. Usefulness of different adiposity indexes for identification of metabolic disturbances in patients with obesity. *Archives of physiology and biochemistry*. IF=2.575

БЕЗ ИМПАКТ ФАКТОР

1. **Gateva A**, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Classical (adiponectin, leptin, resistin) and new (chemerin, vaspin, omentin) adipocytokines in patients with prediabetes. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2018 Jan 15;34(1).
2. **Gateva A**, Assyov Y, Velikova T, Kamenov Z. Higher levels of thioredoxin interacting protein (TXNIP) in patients with prediabetes compared to obese normoglycemic subjects. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews.* 2019 Jan - Feb;13(1):734-737
3. **Gateva A**, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Serum AGEs and sRAGE levels are not related to vascular complications in patients with prediabetes. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews.* 2019;13(2):1005-1010.
4. Иванова Р, З. Кунева, **А. Гатева**, З. Каменов, Д. Василев Ехокардиографска оценка на субклиничната левокамерна диастолна дисфункция при пациенти с диабет и предиабет –клинично приложение. *Съвременна медицина.* 2017; 61(2):55-62
5. **Гатева А**, Каменов З. Макроваскуларни усложнения при пациенти с предиабет. *Наука ендокринология.* 2019; 1(60):4-9
6. **Гатева А**, Каменов З. Микроваскуларни усложнения при пациенти с предиабет. *Наука ендокринология.* 2019; 1(60):11-15

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. **Гатева А**, Асьов Я, Каменов З. Дебелина на интима медиа на каротидната артерия при пациенти с нарушения във въглехидатната обмяна. Юбилеен национален конгрес “50 години Българско дружество по ендокринология”. Пловдив 8-10 октомври 2015 г.
2. **Гатева А**, Великова Ц, Каменов З. Пероксиредоксин 4 при пациенти с поликистозен овариален синдром и/или затлъстяване. Седма работна среща „Репродуктивна медицина – противоречия и консенсус“, 28-30 април 2017, Плевен
3. **Гатева А**, Асьов А, Цакова А, Каменов З. Повишени нива на thioredoxin interacting protein (TXNIP) при пациенти с предиабет в сравнение с нормогликемични контроли. ХІти национален конгрес по ендокринология, Пловдив 11-13 октомври, 2018

УЧАСТИЯ В ПРОЕКТИ

1. Грант 2013, МУ - София – проект №58 /Договор №6/. **Денонощен ритъм на гликемията при пациенти с предиабени състояния и дихателни нарушения по време на сън – ефект от лечението с неинвазивна вентилация.** с Ръководител Проф. Огнян Борисов Георгиев и базова организация УМБАЛ Александровска ЕАД
2. Конкурс „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи постижения“ – договор 1-С/10.12.2013. **Микро- и макроваскуларни усложнения при пациенти с предиабетни състояния.** Водещ изследвател – проф. Здравко Асенов Каменов, базова организация – УМБАЛ „Александровска“ ЕАД
3. Конкурс „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи постижения“ – договор 2-С/01.12.2014. **Нови маркери за съдов риск при пациенти с предиабет.** Водещ изследвател – проф. Здравко Асенов Каменов, базова организация – УМБАЛ „Александровска“ ЕАД
4. Конкурс „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи постижения“ **„Адипоцитокени и сърдечно-съдов риск при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна.“** договор 3-С/01.12.2015. Водещ изследовател – проф. Здравко Асенов Каменов, базова организация – УМБАЛ „Александровска“ ЕАД
5. Грант 2017 г, МУ-София –проект вх.№ 8516/12.12.2016 г **„Микро- и макросъдови промени при неалкохолната стеатозна болест с или без нарушения във въглехидратната обмяна“.** Водещ изследовател – проф. Здравко Асенов Каменов
6. Конкурс „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи постижения“ **„Нови биохимични, генетични и клинични маркери за оптимизиране на диагностиката и мониторирането на неалкохолната стеатозна болест при пациенти със затлъстяване и предиабет.“** Договор Д-233/18.12.2017. Водещ изследовател – проф. Здравко Асенов Каменов, базова организация – УМБАЛ „Александровска“ ЕАД
7. Конкурс за финансиране на фундаментални научни изследвания – 2018 г. ДОГОВОР № КП-06-Н23-11. **Нови маркери за микро- и макроваскуларни усложнения при пациенти с ранни нарушения във въглехидратната обмяна**
8. Конкурс „Стимулиране на научните изследвания в области с постигнати високи постижения.“ Договор Д-218/12.12.2018. **„Нови биомаркери за ендотелна дисфункция при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна“.** Водещ изследовател – проф. Здравко Асенов Каменов
9. **Early Prevention of Diabetes Complications in People with Hyperglycaemia in Europe”** project (ePREDICE) (HEALTH 2011.2.4.3-1)

