МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ

КЛИНИКА ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ И БОЛЕСТИ НА ОБМЯНАТА, УМБАЛ „АЛЕКСАНДРОВСКА“

Д-р Александра Николаева Маркова

РОЛЯ НА БИОХИМИЧНИТЕ МАРКЕРИ И КАЛКУЛАТОРИ ЗА СЪРДЕЧНО-СЪДОВ РИСК ПРИ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП 2

ДИСЕРТАЦИЯ

За присъждане на образователна и научна степен „доктор“

По научна специалност: „Ендокринология“

Научен ръководител: Проф. д-р Михаил Ангелов Боянов, д.м.н.

София

2021

Съдържание

Въведение 5

Литературен обзор 7

1. Сърдечно-съдов риск при захарен диабет тип 2 7

2. Определяне на сърдечно-съдовия риск при пациенти със ЗД2 11

3. Биохимични маркери за сърдечно-съдов риск 23

4. Ехографски методи за обективизиране на морфологични сурогати на сърдечно-съдовия риск 43

Цел и задачи 61

Материали и методи 63

Част I Срезово проучване 65

Част II Проспективно проучване 71

Резултати 75

Част I Срезово проучване 75

Част II Проследяващо рамо 122

Обсъждане 134

Заключение 156

Изводи: 158

Книгопис 159

Приноси 196

Публикации по темата на дисертацията 197

Често използвани съкращения

ЗД2 – Захарен диабет тип 2

ИБС – исхемична болест на сърцето

КСБ – коронарна съдова болест

ЛК – лява камера на сърцето

ЛКДД – левокамерна диастолна дисфункция

СН – сърдечна недостатъчност

ФИ – фракция на изтласкване

ХБЗ – хронично бъбречно заболяване

ACC/AHA – American College of Cardiology/American Heart Association (Американски колеж по кардиология/Американска сърдечна асоциация)

ACR – отношение албумин/креатинин

ADA – American Diabetes Association (Американска Диабетна Асоциация)

ADMA – асиметричен диметиларгинин

ADVANCE - Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation

AUC – Area under receiver operating characteristic (ROC) curve (Площ под ROC кривата)

BMI – индекс на телесна маса

CARI – резистивен индекс на каротидните артерии

CI – доверителен интервал

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay (Ензимно-свързан имуносорбентен анализ)

ESC – European Society of Cardiology (Европейско дружество по кардиология)

ET-1 – Ендотелин-1

FRS – Framingham Risk Score

HbA1c – гликиран хемоглобин

HR – коефициент на риска

cIMT – Интима-медия индекс на каротидните артерии

LVMI – Мускулен индекс на лявата камера

NRI – Net Reclassification Improvement (Подобряване на нетната рекласификация)

NT-proBNP – N-терминален про-мозъчен натриуретичен пептид

OR – относителен риск

P – статистическа значимост при $p<0,05$;

PlGF – плазентарен растежен фактор

RR – относителен риск

RRI – резистивен индекс на бъбречните артерии

SCORE - Systematic Coronary Risk Evaluation

SD – стандартно отклонение

TDI – Tissue Doppler Imaging (Тъканен Доплер)

UKPDS – United Kingdom Prospective Diabetes Study

WHR – съотношение талия към ханш

WtHR – съотношение талия към ръст

n – брой пациенти;

$\overline{X}$ - средна стойност;

Въведение

Захарният диабет е метаболитно заболяване, за което започва да се говори още от древен Египет, но до откриването на инсулина през 1920 година, на практика се е считало за смъртна присъда. Инсулинолечението успява да запази и удължи живота на диабетика с години, но цената се заплаща с хроничните усложнения на захарния диабет. Първите дългосрочни обсервационни проучвания при пациенти със захарен диабет тип 1 (ЗД1) показват, че честа причина за смърт при тях са терминалната бъбречна недостатъчност или миокардният инфаркт, а голям процент развиват слепота или ампутации на крайници, поради гангрена.

За връзката на макросъдовите инциденти и диабета започва да се говори през 60-те години на 20-ти век, но пионери в тази област са Kannel и McGee. Данните от проучването Framingham, които публикуват през 1979 година, показват, че пациентите със ЗД имат по-голяма честота на коронарни и мозъчно-съдови инциденти и периферна артериална болест, спрямо контролите със същата възраст и пол (1). От тогава започва да се говори за ЗД като за рисков фактор за сърдечно-съдово заболяване.

Едва след 1990 година, след като излизат резултатите от основополагащите проучвания DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) (2) и UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) (3), се установява, че интензивният контрол на хипергликемията значително намалява честотата на микро- и макросъдовите усложнения на ЗД. Това е началото на ерата на глюкоцентричния подход в лечението на диабета.

Въпреки това, пациентите със ЗД2 продължават да имат по-висока заболеваемост и смъртност от съдови инциденти. През 1998 година се заражда концепцията за ЗД като еквивалент на сърдечно-съдово заболяване. Това показва, че връзката на ЗД2 с макросъдовите усложнения е много по-сложна и излиза отвъд границите на гликемичния контрол. И така през 2008 година с проучването STENO-2 (4) се установява, че освен лечението на хипергликемията, значение за намаляване на смъртността при пациентите със ЗД2 има и терапията на придружаващите сърдечно-съдови рискови фактори, като дислипидемията и хипертонията. От тогава до сега се възприема именно мултифакторното лечение на ЗД.

С напредването на медицинската наука и навлизането на нови методи в лечението на ЗД2, рисковият профил на тези пациенти се е променил значително. Отчита се съществен спад в заболеваемостта и смъртността от макросъдови усложнения в тази популация. И все пак рискът от сърдечно-съдови заболявания при диабетиците остава по-висок от този на общата популация. Популярен подход в ежедневната практика е полуколичественото определяне на сърдечно-съдовия риск на пациента по броя на придружаващите рискови фактори, или посредством изчисляване на абсолютния риск с математически модели.

Напредък отбелязват и методите за скрининг на субклинична съдова увреда при пациентите с диабет, които все още са една от надеждите за по-ефективна превенция на макросъдовите усложнения. Така преди появата на сърдечните ензими в клиничната практика, хипергликемията е била биохимичен маркер за инфаркт при пациентите с диабет и гръдна болка. За щастие вече се знае много повече за патогенезата на сърдечно-съдовата увреда и има голям брой биохимични и образни маркери, които са се утвърдили в клиничната практика или са таргет на научните изследвания.

Литературен обзор

Захарен диабет тип 2 (ЗД2) е една от основните заплахи за съвременното човечество, от една страна поради силната си връзка със сърдечно-съдовите заболявания, а от друга – заради нарастващите разходи за лечението на неговите усложнения.

Исхемичната болест на сърцето и инсултът стоят на първо място в световната статистика на смъртността (5), а ЗД2 е основен рисков фактор за тези инциденти. Той е едно от най-честите социално-значими заболявания, което се разраства до размерите на пандемия. Към 2019 година честотата на ЗД възлиза на 9.3% (463 милиона души), с прогнозирано увеличение до 10.2% (578 милиона) през 2030 година и 10.9% (700 милиона) през 2045 година. Около 90% от случаите се дължат на ЗД2, а 50.1% от хората дори не знаят, че са диабетици (6).

Разпространението на сърдечно-съдовите заболявания сред пациентите със ЗД2 е 32.2%, като най-честа е коронарната съдова болест (21.2%). Приблизително половината от смъртните случаи при ЗД2 се дължат на съдови заболявания (50.3%), като най-смъртоносни са коронарните инциденти, следвани от инсулта (7). Ето защо непрекъснато расте интересът за оценка на сърдечно-съдовия риск в тази популация.

1. Сърдечно-съдов риск при захарен диабет тип 2

В прочуването Framingham Heart Study (FHS) за първи път се доказва по-висока честота на сърдечно-съдовите заболявания във всички възрастови групи за индивиди със ЗД, в сравнение с тези без диабет (1). Това се отнася не само за коронарните инциденти, но и за сърдечната недостатъчност (СН), инсулта и периферната съдова болест (8). Метаанализ на 102 проучвания, проведен от Emerging Risk Factor Collaboration показва, че пациентите с диабет имат коефициент на риска (HR) 2.00 за коронарна съдова болест /95% доверителен интервал (CI) 1.83-2.19/; 2.27 за исхемичен мозъчен инсулт /95% CI 1.95-2.65/; 1.56 за хеморагичен инсулт /95% CI 1.19-2.05/; 1.84 за некласифициран инсулт /95% CI 1.59 – 2.13/; и 1.73 за комбинация от други съдови причини за смърт /95% CI 1.51-1.98/ (9).

В голямо проучване, Cavender et al проследяват 45 227 пациенти за период от 4 години. Цялостният риск, както и съотношението на риска за сърдечно-съдова смърт, нефатален миокарден инфаркт или инсулт, са много по-високи сред диабетиците, в

сравнение с общата популация (16.5% спрямо 13.1%, HR, 1.27; 95% CI 1.19-1.35). Пациентите със ЗД имат и 33% по-висока честота на хоспитализации за СН (10). McAllister et al правят още по-мащабно проучване, като проследяват 3.25 милиона души над 30-годишна възраст за период от 10 години и установяват, че честотата на хоспитализации за СН е приблизително два пъти по-висока при пациенти със ЗД, независимо от неговия тип, отколкото при тези без диабет (11). В кохортно проучване, включващо 1.9 милиона души, за периода на наблюдение от 5.5 години, се установява, че най-често първа изява на сърдечно-съдовите заболявания при ЗД2 са периферната съдова болест (16.2%) и сърдечната недостатъчност (14.4% от случаите) (12).

Връзката между ЗД и съдовите усложнения е толкова силна, че **през 1998 година ЗД2 беше определен като еквивалент на сърдечно-съдово заболяване** (13). Тази концепция произлиза от проучването на Haffner et al., базирано на Финландска популация от 1373 участници без диабет и 1059 диабетици, проследени за период от 7 години. Честота на миокарден инфаркт при пациентите със ЗД2 достига 45% в случаите на наличен предхождащ коронарен инцидент и 20.2% при липса на подлежащо съдово събитие. За сравнение, участниците без диабет и предхождащ миокарден инфаркт имат 18.8% честота на повторен коронарен инцидент. Така изчисленият HR за смърт от коронарни съдови събития при пациенти със ЗД2 без предхождащ инфаркт в сравнение с участниците с предходен миокарден инфаркт и без ЗД2 е приблизително равен на 1.0 (HR 1.2; 95% CI 0.6-2.4) (13).

Редица последващи проучвания потвърждават тази концепция (14–21). Malmberg et al. наблюдават сходна честота на обща смъртност, сърдечно-съдова смъртност, нов миокарден инфаркт, инсулт и СН при 569 пациенти със ЗД, които нямат подлежащи сърдечно-съдови заболявания и 3503 пациенти без диабет и предишни сърдечно-съдови заболявания (14). Ho et al. успяват да докажат, че пациентите със ЗД без съдови заболявания имат същия риск от инсулт, както пациентите с предходен инсулт (HR, 1.29; P=0.43) (22).

През 2005 година се получават резултатите от 18-годишното проследяване на същата популация от проучването на Haffner et al, където авторите донякъде преосмислят своето твърдение. ЗД2 е еквивалент на сърдечно-съдово заболяване, но само по отношение на вече прекаран миокарден инфаркт. Рискът от сърдечно-съдова смърт при диабетици без миокарден инфаркт и не-диабетици с миокарден инфаркт е сходен

с HR 0.9 (95% CI 0.6-1.5). Но диабетици без никакви признаци на сърдечно-съдово заболяване, в сравнение с пациенти без диабет и данни за предхождащо съдово събитие, имат HR 1.9 (1.4-2.6) за сърдечно-съдова смъртност (мъже 1.5 [1.0-2.2], жени 3.5 [1.8-6.8]). И така, по отношение на смъртността от сърдечно-съдови инциденти, ЗД2 носи много по-голям риск от предишно сърдечно-съдово заболяване, особено за жени (18). През същата година излизат резултатите от 25-годишното проспективно проучване на Whiteley et al., което проследява общо 15 406 души. Сред мъжете честотата на съдови инциденти за 1000 пациенто-години при участниците само със ЗД2 е 23.4% спрямо 21.3% при пациентите само с коронарна съдова болест; 34.2% спрямо 32.2% за сърдечно-съдова смъртност и 54% спрямо 50.5% за обща смъртност. При жените, кореспондиращите честоти са съответно 16.9% спрямо 9.8%; 29.8% спрямо 16.6% и 46.7% спрямо 29.2%. Тоест **ЗД е еквивалент на сърдечно-съдово заболяване при мъжете, докато при жените рискът от съдови инциденти е дори по-висок** (17).

Още много проучвания се правят на тази тема, като някои от тях обаче отхвърлят концепцията за диабета като „сърдечно-съдов еквивалент“ (23–29). Evans et al провеждат кохортно проучване с 3477 пациенти с новодиагностициран ЗД2 и 7414 пациенти с наскоро прекаран миокарден инфаркт. Пациентите с инфаркт имат много по-висок риск от смърт от всякаква причина (коригирано съотношение на риска 1.35, 95% CI 1.25-1.44), сърдечно-съдова смърт (2.93, 95% CI 2.54-3.41), и хоспитализации за коронарни инциденти (3.10, 95% CI 2.57-3.73) (25). Lee et al проследяват 13 790 пациенти, които участват в проучването ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities). Пациентите с анамнеза за миокарден инфаркт и без ЗД имат 1.9 пъти по-висок риск от фатален съдов инцидент или нефатален инфаркт (95% CI, 1.35 - 2.56; P<0.001) и 1.8 пъти по-висок риск за сърдечно-съдова смърт в сравнение с диабетици без миокарден инфаркт (95% CI, 1.22 - 2.72; P=0.003) (27). В проучването на Cano et al се проследяват 4410 пациента от Средиземноморския регион, като 2260 са със ЗД2 без коронарна съдова болест и 2150 са с първи преживян миокарден инфаркт, но без диабет. Коефициентите на риска за честотата на коронарните инциденти и сърдечно-съдовата смъртност са сигнификантно по-ниски при пациентите със ЗД2 спрямо пациентите с инфаркт, съответно HR 0.54 (95% CI 0.45–0.66) за мъже и 0.28 (0.21–0.37) за жени, и 0.26 (0.19–0.36) за мъже и 0.16 (0.10–0.26) за жени (30).

От друга страна, редица проучвания дават по-диференциран отговор на становището за ЗД като сърдечно-съдово заболяване (31–38). Някои от тях успяват да докажат значителни *полови различия по отношение на риска*, като за мъже с диабет той е по-нисък спрямо пациенти с вече преживян инфаркт, докато при жени рискът е еднакъв при пациентките със ЗД и тези без диабет и предходен съдов инцидент (31,32,38,39). Други показват, че ЗД е еквивалент на сърдечно-съдово заболяване *само при пациентите с по-голяма продължителност на диабета* (33,36,37). Например, Cho et al. установяват, че сърдечно-съдовата смъртност е значително по-ниска при пациенти със ЗД2 спрямо тези без диабет, но с миокарден инфаркт. От друга страна пациентите с давност на диабета над 26 години имат същия риск от настъпване на съдови събития, както групата с миокарден инфаркт (36). Популационно проучване, включващо над 1.5 милиона души, наблюдава 80 012 нови коронарно-съдови събития за период на проследяване от 10 години. Отношенията на риска за настъпване на съдово събитие са както следва: в групата само с коронарна-съдова болест HR е 2.8 (95 % CI, 2.7–2.85); в групата само със ЗД - 1.7 (95 % CI, 1.66–1.74); за групата ЗД и коронарна-съдова болест - 3.9 (95 % CI, 3.8–4.0). Индивидите само със ЗД имат значително по-нисък риск от пациентите с коронарна-съдова болест във всички възрастови и полови групи (12.5 спрямо 22.5 за 1000 пациенто-години). *Рискът за бъдещо коронарно-съдово събитие за пациенти с анамнеза за ЗД или коронарна-съдова болест е сходен само сред тези с над 10 годишна давност на диабета* (40).

Други проучвания доказват, че *ЗД е еквивалент на сърдечно-съдово заболяване, но само при наличието на допълнителни рискови фактори*. Например, Howard et al., установяват, че мъжете и жените със ЗД и без подлежащо сърдечно-съдово заболяване имат честота на коронарни съдови инциденти съответно 25.9% и 19.1%, в сравнение с 57.4% и 58.4% при пациентите без диабет и предхождаща коронарна съдова болест. От друга страна, пациентите със ЗД и множество рискови фактори имат 10-годишен риск от коронарни инциденти, сходен на групата с вече прекарано събитие (35).

За да се изясни окончателно, каква е зависимостта между ЗД и сърдечно-съдовите заболявания, Bulugahapitiya et al. провеждат метаанализ през 2009 година и установяват, че пациентите със ЗД2 имат 43% по-нисък риск от сърдечно-съдов инцидент в сравнение с тези без диабет и вече прекаран миокарден инфаркт, като авторите опровергават твърдението за равенство на ЗД със сърдечно-съдово

заболяване (41). Lee et al. провеждат метаанализ, който се фокусира върху разликата в сърдечно-съдовия риск при мъже и жени. Авторите заключват, че в сравнение с пациентите с подлежащи сърдечно-съдови заболявания, при мъжете ЗД води до по-нисък риск от сърдечно-съдови заболявания и смъртност, а общата смъртност е същата. От друга страна, жените с диабет имат дори по-висока сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност (42).

Сърдечно-съдовата и мозъчно-съдовата заболеваемост и болестност са причина за високите здравни разходи в лечението на ЗД. Реално, поне 2/3 от изразходваните за ЗД2 средства се влагат за вторична и третична превенция на усложненията (43). Макросъдовите усложнения са по-опасните, защото именно те са в основата на повишената смъртност.

Основната хипотеза, която ще аргументираме, е, че стратегията за първична превенция и предотвратяване на сърдечно-съдови заболявания при пациентите със ЗД, трябва да бъде базирана на абсолютния сърдечно-съдов риск на отделния индивид, а не всички диабетици да се слагат под общ знаменател.

2. Определяне на сърдечно-съдовия риск при пациенти със ЗД2

Международните научни диабетни организации и дружества като Американската диабетна асоциация (ADA) и Европейската асоциация за изучаване на диабета (EASD) поставят сърдечно-съдовия риск в центъра на диагностичния и лечебен подход при ЗД2 като така слагат край на глюкоцентричния модел, фокусиран единствено върху гликирания хемоглобин. В препоръките на Европейското дружество по кардиология (ESC) от 2016 год. се предлага количествена оценка на сърдечно-съдовия риск с помощта на модела SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) (44). В по-новата версия от 2019 год. същото дружество въвежда полуколичествена (интуитивна) оценка на сърдечно-съдовия риск като класифицират пациентите с ЗД2 в 3 категории – умерен, висок и много (екстремно) висок риск (45).

По принцип има три подхода за определяне на глобалния сърдечно-съдов риск при пациентите със ЗД2 (46). Първият е вече известното приравняване на ЗД със сърдечно-съдово заболяване, което се изразява в сърдечно-съдов риск над 20% в следващите 10 години. Това би трябвало да означава, че всички пациенти със ЗД2 е необходимо да провеждат превантивна терапия със статин и аспирин, както пациентите с вече преживян съдов инцидент. Натрупват се обаче данни за

неблагоприятен ефект от продължителното лечение със статини върху гликемията (47), както и повишен риск от кървене при използване на аспирин (48). Също така, няма категорични данни за ползата от аспирина като първична превенция на съдови заболявания при пациентите със ЗД (49,50).

Следващ е „стъпаловидният подход“, при който се използват унифицирани модели за оценка на риска, разработени за общата популация. Според този метод, сърдечно-съдовите рискови фактори са свързани по еднакъв начин с бъдещия сърдечно-съдов риск, независимо от диабетния статус. На този принцип е разработен популярният модел Framingham risk score (FRS). При наличието на еднакви други рискови фактори, диабетикът винаги ще има по-висок сърдечно-съдов риск (46).

При третия подход, се създават модели, предназначени само за пациенти със захарен диабет. Според този метод, рисковите фактори за сърдечно-съдови заболявания имат различна тежест за настъпването на бъдещо събитие при диабетици и не-диабетици. Специфични характеристики за диабетната популация са гликираният хемоглобин (HbA1c), микроалбуминурията, микросъдовите усложнения (ретинопатия, нефропатия). Този подход е използван първоначално от изследователите на UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) (46).

Моделите за оценка на риска използват математически уравнения, за да изчислят вероятността дадено заболяване да е налично (диагностични модели) или ще се изяви в бъдеще (предиктивни модели) при лица с определен профил на рисковите фактори (51). Коефициентът на всеки рисков фактор показва неговия относителен принос към общия сърдечно-съдов риск (51).

След като бъдат създадени, калкулаторите на риска трябва да се валидират както в тестваната популация, която се използва за разработване на модела (вътрешна валидация), така и в независима популация (външно валидиране). Валидирането представлява проверка дали прогностичният модел точно изчислява риска от бъдещо събитие в една или няколко популации (51).

Дискриминацията е способността на модела да различи хората, които ще развият сърдечно-съдово заболяване и тези, които ще останат без инциденти. Тя обичайно се оценява чрез C-статистиката или площта под ROC кривата (AUC), като може да варира от 0.5 (липса на дискриминация) до 1.0 (перфектна дискриминация). В общи линии, C-статистика от около 0.7 или повече, се счита за приемлива (52).

Калибрацията описва съгласието между изчисления и наблюдавания риск. Тя се оценява, като се сравнява абсолютният риск, изчислен чрез модела, с истинския брой на събитията в тестваната популация (52). Най-често използваната мярка за калибрация е Hosmer-Lemeshow статистиката (HLχ2). Стойности на $p<0,05$ показват, че липсва съгласие между прогнозирания риск и реалните събития (53). Оценката на калибрацията е чувствителна на разликите в подлежащите нива на риска сред изследваната популация. Така например, ако даден модел за сърдечно-съдов риск се разработва в популация с висок риск, но се изследва в популация с нисък риск, изчисленият абсолютен риск ще бъде ненадеждно висок. Рекалибрацията на рисковия модел, може да помогне за коригиране на под- или надценяването на риска, посредством регулиране на базовите оценки на риска така, че да паснат на таргетната популация (52).

1. Framingham Risk Score

Първите опити за разработване на модел за оценка на риска датират от 1967 година върху популацията от проучването Framingham Heart Study, което се базира в САЩ и започва през 1948 година, като включва 5 209 мъже и жени без анамнеза за инфаркт или инсулт (1). В последствие се разработват различни варианти на модела, като най-популярен е FRS, който е публикуван за първи път през 1998 година (54).

Първоначално са създадени полово-специфични уравнения за предсказване на риска от коронарни съдови инциденти въз основа на възрастта, диабетния статус, тютюнопушенето, категориите на артериалното налягане, на общия и LDL-холестерола (54). Впоследствие от уравнението е изключен диабетният статус, тъй като излиза становището, че ЗД е еквивалент на сърдечно-съдово заболяване (55). Недостатък на този модел е, че оценява само риска за коронарни съдови събития, но не и този за инсулт, транзиторни исхемични атаки или сърдечна недостатъчност. Тези съществени съдови последици са включени в последното издание на FRS от 2008 година, което вече предвижда цялостния сърдечно-съдов риск (56). Според FRS пациентите с изчислен 10-годишен риск над 20% се нуждаят от интензивна модификация на рисковите фактори. Моделът има добра дискриминация със C-статистика 0.763 за мъже и 0.793 за жени, за кохортата, в която е разработен (56).

Представянето му в диабетна популация, обаче, е значително по-скромно. В част от проучванията FRS значително подценява риска от съдови събития (57–60), докато в

други – той го надценява (52,61,62). Валидирането му в диабетни популации представя предимно лоша към умерена дискриминация (AUC 0.513 – 0.673) и лоша калибрация (60,63).

2.2. SCORE Risk Charts

Друг, широко използван в Европа модел за оценка на риска, са рисковите таблици на SCORE. Те са разработени въз основа на популация от 12 Европейски кохортни проучвания с общо 205 178 участници (64). Таблиците са създадени както за високорискови, така и за нискорискови европейски популации, като се базират на пола, възрастта, тютюнопушенето, систолното артериално налягане и общия холестерол или отношението общ-холестерол/HDL-холестерол. По SCORE се изчислява риска за фатални сърдечно-съдови инциденти (64).

В рисковите таблици на SCORE, обаче, не се взема под внимание диабетният статус, тъй като в популацията, в която са създадени, информацията за ЗД е била непълна или неточна. Все пак авторите предлагат таблиците да се използват и за диабетици, тъй като конвенционалните рискови фактори имат еднакъв ефект върху риска от съдови събития както при диабетици, така и при не-недиабетици, макар и рискът при ЗД да е на по-високо ниво (64).

SCORE е моделът, избран през 2016 от ESC като референтен за оценка на сърдечно-съдов риск (44). Той е и единственият модел, за който е правена валидация върху българска популация.

2.3. UKPDS Risk Engine

Метаанализ на Chanman et al., показва, че моделите на риска, разработени за общата популация, подценяват риска при диабетици в различна степен – от 11% за DECODE до 64% за PROCAM (65). Това означава, че има специфични за диабета фактори, които модифицират и засилват този риск.

Тук идва ролята на голямото, основополагащо проучване UKPDS, което проследява над 5000 души с новодиагностициран ЗД2, които са проследени за период от 30 години (3). Изследователите от UKPDS успяват да покажат, посредством епидемиологични обсервационни методи, взаимоотношенията между рисковите фактори и настъпването на диабетните усложнения (66). След първоначално проследяване от 7.9 години се очертават основните фактори, отговорни за повишения риск от коронарна съдова болест при ЗД2. Това са високата концентрация на LDL-

холестерол (HR 2.26, 95% CI 1.70 - 3.00), пониженият HDL-холестерол (HR 0.55, 95% CI 0.41 - 0.73), HbA1c (HR 1.52, 95% CI 1.15 - 2.01), систолното артериално налягане (HR 1.82, 95% CI 1.34 - 2.47) и анамнезата за тютюнопушене (HR 1.41, 95% CI 1.06 - 1.88) (67).

Всяко намаление на HbA1c с 1% се асоциира с 21% редукция на риска от обща смъртност (95% CI 17% – 24%, p<0,0001), с 14% се намалява честотата на миокарден инфаркт (95% CI 8% – 21%, p<0,0001) и с 37% на микросъдовите усложнения (95% CI 33% – 41%, p<0,0001) (68,69). В последствие се трупат допълнителни доказателства в тази насока. Метаанализът на Selvin et al. показва, че всяко увеличение на HbA1c с 1 % води до увеличен риск за настъпване на сърдечно-съдови заболявания /обобщеният RR е 1.18 (95% CI, 1.10 - 1.26)/ (70). В проучване върху 6 434 пациенти без симптоми за сърдечно-съдово заболяване, се установява, че спрямо нормогликемичните участници, няма разлика в риска за коронарна атеросклеротична плака и сигнификантна стеноза при добре контролираните диабетици (HbA1c <7.0%). От друга страна, диабетиците с лош гликемичен контрол имат значително по-висок риск от коронарна атеросклероза (OR, 2.16; 95% CI, 1.70 - 2.75; *P*<0.001) и сигнификантна стеноза (OR, 3.34; 95% CI, 2.52 - 4.43; *P*<0.001) в сравнение с нормогликемичните участници (71).

Друг важен компонент от рисковия профил на ЗД2 е т.нар. „атерогенна“ дислипидемия (72). Доказва се неоспорима полза от приложението на статини при пациентите със ЗД, което намалява риска от нефатални и фатални съдови събития с около 30% (73,74).

Въз основа на тези данни, през 2001 година работната група на UKPDS създава модел за оценка на риска от сърдечно-съдови събития при пациенти със ЗД2. За разлика от другите модели, той включва информация относно нивата на гликемията, систолното артериално налягане и липидните нива като рискови фактори, както и възрастта, пола, етническата принадлежност, анамнеза за тютюнопушене и давността на диабета (75). В последствие към модела се добавя и анамнеза за предсърдно мъждене като допълнителен независим рисков фактор за инсулт (76). Така през 2004 година се стига до последната версия UKPDS Risk Engine v2.0, която предвижда риска от фатални и нефатални коронарни съдови събития и инсулт при пациентите със ЗД2 (77).

Представянето на UKPDS във външна популация е оценено от van Dieren et al, които провеждат външна валидация на калкулатора UKPDS в диабетна популация, състояща се от 1,622 пациенти от кохортата на проучването EPIC-NL и EPIC-Potsdam. Изчисленият среден предиктивен риск за 8 години е 15.9%, докато наблюдаваната реална честота на коронарна съдова болест е 4.9%, което показва надценяване на риска с 224%. Рискът от други сърдечно-съдови заболявания също е надценен с 112% (78). По отношение прогнозирането на риска от коронарна съдова болест, C-статистиката е 0.66, а калибрацията е лоша (HLχ2 61.9, p<0.001 за 5 годишния риск). Дискриминативната способност на модела при пациенти с давност на захарния диабет над 10 години е същата както при пациенти с давност на диабета под 10 години. Въпреки това калибрацията е по-добра за 4 и 5 годишния предвиден риск за пациенти с над 10 годишен диабет, тъй като HLχ2 статистиката е 15.2 (p = 0.347) за 4 годишния риск и 20.8 (p=0.098) за 5 годишния риск, което показва, че наблюдаваният и предвиденият риск не са се различавали значимо (78).

Проведени са голям брой сравнителни проучвания на UKPDS с други модели и представянето им в диабетни популации. В проучване на van der Hejten et al се цели валидиране и сравняване на резултатите от моделите на риска FRS, SCORE и UKPDS, в предвиждането на сърдечно-съдов риск на индивиди с нормален глюкозен толеранс, интермедиерна хипергликемия и със ЗД, като се използват данните от популацията в кохортното проучване Hoorn. В него са включени 1,125 индивида с нормогликемия, 232 -ма с предиабет и 125 – със захарен диабет (62). Резултатите показват, че FRS и UKPDS надценяват наблюдавания риск от сърдечно-съдови събития и в трите групи. По отношение на първо сърдечно-съдово заболяване, FRS има ниска разграничителна способност във всички подгрупи, освен в групата с новооткрит захарен диабет, където дискриминацията е умерена. UKDPS има умерена способност да идентифицира тези с висок риск от първо сърдечно-съдово събитие в групите с нормален глюкозен толеранс, интермедиерна хипергликемия и новооткрит захарен диабет, но тя е лоша в групата, която съчетава новооткрити и вече известни диабетици. Алгоритъмът SCORE за предвиждане на фатални съдови събития представя умерена предиктивна способност във всички подгрупи. Въпреки че FRS и UKPDS са разработени за изчисляване на риска от първо сърдечно-съдово заболяване съответно в обща популация и в диабетна популация, и двата модела се представят по-добре в оценката

на риска от фатални инциденти, спрямо SCORE, като най-висока разделителна способност се наблюдава при UKPDS в групата с предиабет (62).

В кохорта от 428 новодиагностицирани пациенти със ЗД2 без известно сърдечно-съдово заболяване, проследени за период от 4,2 години, FRS подценява броя на съдовите събития с 33% и на коронарните инциденти с 32% и показва умерена дискриминация и лоша калибрация за риска от съдови събития [C-сатистика = 0.673; $HL\chi^2 = 32.8$ ($P < 0.001$)] и риска от коронарна съдова болест [C-статистика = 0.657; $HL\chi^2 = 19.8$ ($P = 0.011$)]. Въпреки че подценяването е по-малко и несигнификантно при използване на UKDPS за коронарна съдова болест (13%), неговото представяне по отношение на дискриминация и калибрация са сходни [C-статистика= 0.670; $HL\chi^2 = 17.1$ ($P = 0.029$)] (60).

От 10 137 пациенти в популационното проучване EPIC-Norfolk за периода на проследяване от 10.1 години сърдечно-съдови събития настъпват в 25.4% от диабетиците, при 17.7% в групата на недиабетна хипергликемия и при 8.2% при пациентите с нормогликемия. Изчисленият 10-годишен риск по UKDPS и FRS за диабетната група е съответно 33 и 37%. В групата с хипергликемия рисковете съответно са 31% и 22%, а за групата с нормогликемия – 20% и 14%. И двата модела надценяват риска. FRS се представя по-добре в групата на недиабетна хипергликемия и нормогликемия, тъй като не надценяват до такава степен както UKPDS, и класифицира повече от участниците правилно (61), което не е учудващо, след като UKPDS е създаден специфично за диабетна популация, която е високорискова.

В по-голямата част от проучванията, UKDPS значително надценява риска от фатални и нефатални съдови събития. Вече беше споменато, че от основно значение за представянето при външно валидиране е базисният сърдечно-съдов риск на изследваната популация. Тоест, явно кохортата, за която е създаден моделът UKPDS, е с по-висок риск от изследваните в посочените примери. Така например, средната плазмена глюкоза на гладно на участниците е била 11.3 ммол/л (79)– много над препоръчителните в момента стойности, а вече стана ясно, колко голямо значение има хипергликемията за бъдещия сърдечно-съдов риск.

Проучването UKPDS е базирано на популация от 1977 година, когато лечението на диабета и сърдечно-съдовите рискови фактори е било съвсем различно от сега (78). Вече не се набляга на глюкоцентричния контрол и лечение само на хипергликемията,

а на мултифакторния подход с третиране на всички сърдечно-съдови рискови фактори. Както показват и резултатите от проучването Steno-2, с този комбиниран подход се постига значително намаляване на съдовите усложнения и цялостната смъртност при пациентите със ЗД2 (4). В доказателство на това е проучването на Rawshani et al., което показва, че в Швеция за периода от 1998 до 2014 година смъртността и честотата на сърдечно-съдовите инциденти сред пациенти със ЗД1 и ЗД2 значително намалява. Пациентите със ЗД2 имат с около 20% по-голяма редукция на риска спрямо контролите (80). Освен това, пациентите със ЗД2, които имат адекватен контрол на някои от най-значимите рискови фактори (повишен HbA1c, LDL-холестерол, систолно артериално налягане, албуминурия и анамнеза за тютюнопушене), имат почти същия риск от смърт, миокарден инфаркт или инсулт, както в общата популация (81).

Ето защо е възникнала нуждата от нов и подобрен специфичен за диабета модел с по-добра ефективност и още по-важно – с по-добра външна валидация в съвременна диабетна популация.

2.4. ADVANCE Risk Engine

След 2000 год. се очертава нужда от нови предиктивни модели, които да отчитат „съвременното лице“ и промените в лечението на пандемията ЗД2. Такъв е създаденият върху популацията от проучването Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation модел ADVANCE. Новост при него е инкорпорирането на наличните вече усложнения от хипергликемията в цялостната комплексна оценка на риска.

Kengne et al. установяват, че моделите FRS и UKPDS надценяват 4-годишния риск от коронарна съдова болест, респективно с 146% и 198% в популацията от проучването ADVANCE (52). Те отчитат факта, че *както хипергликемията, така и микросъдовите усложнения на диабета, са съществен рисков фактор за настъпване на макросъдови инциденти*.

В група от 1524 пациенти със ЗД2 от проучването ARIC се установява, че *наличието на диабетна ретинопатия се свързва с два пъти по-висок риск от коронарни съдови събития* (HR 2.07, 95% CI 1.38–3.11), както и три пъти по-висок риск от фатални инциденти (HR 3.35, 95% CI, 1.40–8.01) (82). В проучването на Juutilainen et al. също

се установява, че *пролиферативната ретинопатия предсказва риска от общата, сърдечно-съдовата и коронарно-съдовата смъртност при пациенти със ЗД2* (83).

Подобни са откритията и за микросъдовите бъбречни увреждания, чиято най-ранна проява е микроалбуминурията (84,85). При изследване на 200 безсимптомни пациенти със захарен диабет тип 2 и микроалбуминурия, се установява сигнификантна атеросклероза в поне една съдова област (49,1% от участниците), независимо от мултифакторното лечение на сърдечно-съдовите рискови фактори (86). В проучването Second Manifestation of Arterial disease (SMART) също се установява, че микроалбуминурията се свързва с повишен риск от сърдечно-съдови събития при пациентите със ЗД2 (HR 1.38, 95% CI 1.07, 1.77) (87).

Отчитайки всички тези факти, през 2011 година, изследователите от проучването ADVANCE разработват нов модел, който се базира на съвременна, мултинационална кохорта, включваща 7,168 участници над 55 годишна възраст от 20 страни в Азия, Австралия, Европа и Северна Америка (88). За разлика от UKPDS, в модела се включват и рисковите фактори, които са последица от продължителната хипергликемия, а именно диабетната ретинопатия и микроалбуминурията (съотношение албумин/креатинин в урината). Освен тях, в модела се включват още: възраст при поставяне на диагнозата, пол, известна давност на диабета, предсърдно мъждене, HbA1c, не-HDL холестерол и наличие на лекувана хипертония (52).

След публикуването на резултатите от проследяващото прочуване ADVANCE-ON, моделът за оценка на риска ADVANCE се допълва с нови рискови фактори, като вече освен 4-годишния риск за значими сърдечно-съдови събития, новият модел AD-ON предвижда и 5-годишния риск за настъпването на бъбречни усложнения и 10-годишния комбиниран риск от значимо съдово заболяване (макросъдово или бъбречно) (89).

При вътрешна валидация ADVANCE Risk Engine представя приемлива дискриминация (C-статистика 0.70, 95% CI 0.695-728) и добра калибрация (90). Външната му валидация е проведена в популацията от проучването DIABHYCAR (The non-insulin-dependent diabetes, hypertension, microalbuminuria or proteinuria, cardiovascular events, and ramipril study), което включва 1836 участници. Дискриминацията е приемлива (C-статистика 0.69, 95% CI 0.65 - 0.72), а калибрацията е добра, с умерено подценяване на риска (90). При друго валидационно проучване с

популация от 181,399 пациенти със ЗД2 от Шотландия, резултатите показват подобна дискриминация (C-статистика 0.66) и лоша калибрация със значително подценяване на риска, тъй като предвиденият 5-годишен риск е 2.0%, а наблюдаваната реална честота е 9.3% (91).

2.5. Представяне на моделите за сърдечно-съдов риск и рекласификация на риска

В системен анализ върху предиктивните модели за сърдечно-съдов риск, само 12 от 45 са създадени за пациенти със ЗД. При външно валидиране на моделите в популация от диабетици, разграничителната способност на тези, специфични за диабета, е приемлива към добра (C-статистика 0.61-0.86). Разработените за общата популация показват умерена разграничителна способност (C-статистика: 0.59 – 0.80) и тяхната калибрация е слаба (92).

Метаанализ на Chowdhury et al. оценява съществуващите модели за оценка на сърдечно-съдов риск само при пациенти със ЗД2. Установяват се 15 модела, от които 7 са валидирани във външни популации. Допълнително се установяват 11 модела за общата популация, които впоследствие са валидирани за пациенти със ЗД. Най-широко валидираните са различните версии на FRS, следван от UKPDS. Метаанализът показва обобщена C-статистика от 0.67 за валидираните модели, разработени за диабетици и 0.64 за валидираните модели, разработени за общата популация. Трудно е да се препоръча един модел пред друг, тъй като нито един от тях не дава превъзходни резултати. Както моделите за диабетната популация, така и тези за общата, показват умерена дискриминативна способност и често C-статистиката е под 0.70 (93).

В момента основните препоръки, по които се води превенцията на сърдечно-съдовите инциденти при ЗД на световно ниво, са тези на ESC, ADA и Американския колеж по кардиология/Американската сърдечна асоциация (ACC/AHA). Според ESC пациентите със ЗД2 се класифицират като умерено, високо и много високо рискови според възрастта, давността на диабета, броя на рисковите фактори и наличните усложнения (94). Американските препоръки насърчават изчисляването на 10-годишния абсолютен риск от атеросклеротично сърдечно-съдово заболяване (ASCVD) с помощта на модела ASCVD Risk Estimator (45,95).

При сравняване на препоръките за оценка на риска на ACC/AHA, ESC и ATP III (Adult Treatment Panel III) в популация от 4854 участници от проучването Rotterdam, се установява, че лечение със статини ще се препоръча на 96.4% от мъжете и 65.8% от жените според ACC/AHA; 52% от мъжете и 35.5% от жените според ATP III и на 66.1% от мъжете и 39.1% от жените според ESC. И трите модела надценяват съществено реалния риск (96).

Може би калкулаторите на риска имат субоптимално представяне, когато се използват изолирано, и не са широко валидирани. Също така, в тях не се включват клинични данни като еректилната дисфункция или автономната невропатия, въпреки че е всеобщо известно, че тези състояния представят подлежащо сърдечно-съдово заболяване (97). **Ролята на клиницист е да разбере вероятностния характер на получения резултат и да прецени допълнителните фактори**, като затлъстяване, наличие на фамилна анамнеза за преждевременни сърдечно-съдови инциденти или да проведе допълнителни изследвания, които биха могли да модифицират оценката и да подпомогнат да се разграничи дали даденият пациент е по-вероятно да развие заболяване или да бъде в групата без заболяване в края на 10-годишния период (98). Тези допълнителни фактори не са включени в калкулаторите на риска, защото не достигат статистическа значимост или не допринасят съществено отвъд традиционните рискови фактори за определяне на 10-годишния риск на цялата популация (98). Въпреки това, те могат да помогнат за модифициране на базовата оценка на риска, особено при индивиди в интермедиерната категория. Също така, „нисък риск“ не означава „никакъв риск“, особено в контекста на по-дълги времеви периоди (>10 години) (98).

Повечето съвременни ръководства не препоръчват рутинно провеждане на скрининг за субклинична атеросклероза при безсимптомни пациенти със ЗД2. През 2003 година Cosson et al. доказват, че тихата миокардна исхемия е основен фактор, който предвижда бъдещи съдови събития при пациенти със ЗД (99). Въпреки това, проучването DIAD (Detection of Ischemia in Asymptomatic Diabetics), показва, че наличието на тиха миокардна исхемия не добавя допълнителна предиктивна стойност към определянето на сърдечно-съдовия риск, макар да се свързва с по-голяма честота на съдовите инциденти. От друга страна обаче, и скринираната група, и нескринираната, са получавали интензифицирано лечение на рисковите фактори (100). Подобно на DIAD, и проучването FACTOR-64 показва, че пациентите със ЗД1

и ЗД2 с висок риск, които са скринирани чрез КТ коронарна ангиография, имат същата честота на съдови събития, както и диабетиците на стандаратно мултифакторно лечение (101).

В противовес на тези доказателства е проучването на Faglia et al., което показва, че пациентите, които са скринирани за тиха миокардна исхемия и имат доказана коронарна атеросклероза чрез коронарография, имат значително по-малка честота на съдови събития спрямо контролната група (102). Метаанализ на Clerc et al. показва, че неинвазивният скрининг за коронарна артериална болест при безсимптомни пациенти със ЗД значително намалява честотата на сърдечните инциденти с 27% [RR 0.73 (95% CI 0.55-0.97), P = 0.028], основно чрез редукция на нефаталните инфаркти и хоспитализациите за СН (103).

Редица проучвания показват ползата от провеждането на скрининг, но само в определени подгрупи. Така например Tandon et al. установяват, че скринингът за коронарна съдова болест води до значимо по-малко съдови събития само при жените със ЗД, но не и при мъжете. Проучването на Turrini et al. не успява да докаже, че скринингът на безсимптомни диабетици значително намалява сърдечно-съдовите събития, но при подгруповия анализ се установява значително по-малка честота на СН при пациентите в интемедиерната рискова група и на сърдечно-съдовата смърт в групата над 60 години.

Добавянето на нови маркери в моделите за риска би могло да даде най-голяма полза при групата с интермедиерен риск, тъй като могат да ги рекласифицират в друга категория. Правят се опити за добавяне както на биохимични (като тропонин Т (104), високо-сензитивен С-реактивен протеин (hs-CRP) (105), NT-proBNP (106)), така и образни маркери за атеросклероза, за да се подобри предикцията на риска. Например, в проучване, включващо 116 пациента със ЗД2, се установява коронарна съдова болест при 68 от тях. Дискриминативната способност (С-статистиката) на FRS и UKPDS е съответно 0.763 и 0.785. При добавяне на максимално измерена дебелина на интима-медия (cIMT) на каротидните артерии, дискриминацията се подобрява съответно на 0.788 и 0.800 (107). Проучването на Katakami et al. също показва, че добавянето на cIMT към стандартните рискови фактори, значително подобрява стратификацията на сърдечно-съдовия риск при диабетици (108). Измерването на ankle-brachial index (ABI) също може да подобри точността за предикция на сърдечно-съдовия риск отвъд FRS (109). При пациенти със ЗД2 с нисък към интермедиерен риск

по FRS, повишеният калциев скор на коронарните артерии (CAC)>40 е независим предиктор за настъпване на атеросклероза и подобрява С-статистиката от 0.59 на 0.81 (110). И други проучвания доказват, че CAC корелира най-добре с риска от коронарна съдова болест при пациенти с интермедиерен сърдечно-съдов риск (111). Дори и към момента CAC се предлага в Американските и Европейските препоръки като маркер за подобряване на предикцията при пациентите с умерен съдов риск (45,94).

Ползата от добавянето на нови фактори към моделите за определяне на риска се оценява с помощта на нетната рекласификация (NRI). Тя показва колко по-често с помощта на новия модел, ще настъпи уместна рекласификация, в сравнение с неподходяща. Оценява се пропорцията индивиди, които се рекласифицират от една рискова категория (измерена чрез базовия модел), към различна категория (изчислена по новия модел с включени допълнителни променливи). За този тест, стойности на $P<0.05$ показват, че сигнификантно по-голямо количество пациенти се рекласифицират правилно (98).

В заключение може да се каже, че *моделите за определяне на риска са полезни за ежедневната практика, но не достатъчно ефективни в прогнозирането на риска*. UKPDS е най-широко разпространеният калкулатор при пациенти със ЗД2, но отразява състоянието в лечението на диабета преди 30 години. ADVANCE е нов модел, който се основава на съвременните схващания за мултифакторния подход в овладяването на сърдечно-съдовия риск при диабетици. От друга страна рисковите таблици на SCORE включват много по-малко показатели, което ги прави много достъпни и лесни за визуална оценка на риска. Голямо значение има и фактът, че SCORE е единственият валидиран модел в България. Под въпрос остава обаче какъв е най-добрият подход в лечението на пациентите в интермедиерната група според тези модели, което налага търсенето на нови маркери за по-добра оценка на техния сърдечно-съдов риск.

3. Биохимични маркери за сърдечно-съдов риск

Вторият подход за оценка на сърдечно-съдовия риск и ендотелната съдова увреда се състои в измерване на различни биохимични маркери, които отразяват отделни патогенетични звена на атеросклеротичния процес. Тези маркери могат да се разглеждат като интересни както за теоретичната медицинска наука, така и за реалната клинична практика. Сред клинично валидираните и широко утвърдени

маркери за оценка на сърдено-съдовата система са натриуретичните пептиди, високочувствителният тропонин и С-реактивният протеин. В процес на проучване и валидация са и по-нови маркери, някои от които са разгледани по-долу –асиметричен диметиларгинин (ADMA), ендотелин-1 (ET-1), плацентарен растежен фактор (PlGF). Те отразяват различни етапи на атеросклеротичния процес, от дисбаланса в синтеза на вазодилататорните субстанции и инфламаторните цитокини, повлияващи тонуса и ремоделирането на съдовата стена, до неоваскуларизацията и дестабилизацията на атеросклеротичната плака.

3.1. N-терминален про-мозъчен натриуретичен пептид (NT-proBNP)

Мозъчният натриуретичен пептид (BNP) служи като контрарегулаторен хормон на ренин-ангиотензиновата система и подпомага балансираната вазодилатация (112). Той повишава диурезата и натриурезата, като предпазва от повишено преднатоварване и следнатоварване на сърцето, които биха довели до хипертрофия и фиброза на сърдечния мускул (113). Продуктите от разцепването на веригата на proBNP (pro-brain natriuretic peptide): BNP и NT-proBNP, се секретират в еквимоларни концентрации от кардиомиоцитите в отговор на сърдечен хемодинамичен стрес – обемно разтягане или повишено налягане върху камерната стена (112,114–116). Те се повишават също и в отговор на редица биохимични фактори като ендотелина, ангиотензин II, TNF-α, интерлевкин-1, тиреоидните и половите хормони (113,116,117), така и при някои съпътстващи заболявания - хронична бъбречна недостатъчност, ЗД и коронарна съдова болест (115). Миокардната исхемия е мощен стимулатор за секрецията на BNP и NT-proBNP, тъй като в промоторния му регион има хипоксия-чувствителни елементи (113). NT-proBNP е неактивен продукт на proBNP, но е много стабилен при стайна температура, поради което неговото измерване по-често се използва в клиничната практика (112,115).

Редица проучвания установяват повишени нива на NT-proBNP при пациенти с метаболитен синдром и/или ЗД2 в най-различни клинични сценарии (118–124). Изследването на Siervo et al., базирано в Италия, показва по-високи стойности на NT-proBNP при участниците с метаболитен синдром спрямо контролите [51.7 (22.2-85.7) pg/ml спрямо 39.3 (19.5 – 71.3) pg/ml, p=0.004] (119). Сходни резултати се отчитат и в голямото популационно проучването Casale Monferrato, където сравняват нивата на NT-proBNP при пациенти с неусложнен метаболитен синдром (т.е. без данни за хронична бъбречна недостатъчност, сърдечно заболяване или ЗД2) спрямо

контролната група [съответно 35.4 (15.5-98.2) спрямо 24.4 (11.7-49.6) pg/ml, p=0.014] (118). В под анализ на същата студия, което включва и пациенти със ЗД2, се наблюдават по-високи нива на NT-proBNP в групата на диабетиците (124). В проучването на Magnusson et al, което включва 253 пациенти със ЗД2 и 250 участника без диабет, се установяват по-високи средни стойности на NT-proBNP (360.9 pmol/l [262.6-467.9]) в сравнение с контролната група (302.7 pmol/l [215.4-419.2]) (p<0.001) (123). Повишени стойности на NT-proBNP се отчитат при пациенти със ЗД2, както без установени сърдечно-съдови заболявания (120,123), така и при вече известни такива. Например в изследването на Vergès et al. върху 560 пациенти, постъпили по спешност по повод остър миокарден инфаркт, се установява, че при диабетиците нивата на NT-proBNP са сигнификантно по-високи спрямо не-диабетици (245 (81-77) спрямо 130 (49-199) pmol/L, P<0.0001), което се свързва и с по-лоша краткосрочна прогноза след инцидента (122).

Интересен е фактът, че при пациентите без ЗД се открива отрицателна обратна връзка между индекса на телесна маса (BMI) и нивата на NT-proBNP (125–128). Отново в проучването Casale Monferrato се установява, че диабетиците с наднормено тегло или затлъстяване (BMI ≥ 25 кг/м^2) имат значително по-ниски стойности на маркера спрямо тези от тях с нормално тегло (съответно 62.4 pg/ml спрямо 77.3 pg/ml, p=0.006) (124). Има няколко хипотези за тази тенденция. Една от тях е, че при пациентите със затлъстяване има намалено образуване на хормона в сърдечния мускул, което е израз на потиснати приспособителни способности към хемодинамичните изменения (129). Открива се и отрицателна връзка между NT-proBNP с повишения CRP, степента на инсулинова резистентност (124), висцералната мастна тъкан (130) и стеатозата на черния дроб (131) – маркери, характерни за пациентите със затлъстяване и метаболитен синдром.

Все пак се доказва, че NT-proBNP допринася значително за прогнозирането на риска от СН, независимо от обратната си връзка с BMI, дори и сред пациентите със затлъстяване. В проучването ARIC, сред участниците с нива на NT-proBNP между 100 и 200 pg/ml, 10-годишният риск от СН е под 5% за тези с нормално тегло, но е над 10% за тези със затлъстяване (125). Други проучвания не могат да докажат сигнификантна корелация на NT-proBNP и BMI при диабетици (126), което може би се дължи на по-високата честота на субклинични сърдечни заболявания, отслабващи тази зависимост.

BNP и NT-proBNP са вече утвърдени диагностични и прогностични маркери за СН, както в общата популация, така и при диабетици (113,115,132,133). Пациентите със ЗД често развиват левокамерна диастолна дисфункция (ЛКДД), като първа ранна изява на специфичната за диабета кардиомиопатия. Тя не винаги има клинична симптоматика и често дълго време остава неразпозната, което благоприятства прогресията към явна СН. NT-proBNP се асоциира с редица ехокардиографски показатели, включително тежестта на диастолната дисфункция, ЛК мускулен индекс (LVMI), отношението E/Em (134) и левопредсърдния обем (135). Може би по-голямата честота на неразпозната ЛКДД при пациентите със ЗД2 е причината за повишената секреция на NT-proBNP, която се установява при тях, дори и без да имат клинично изявено сърдечно-съдово заболяване (136–140). И наистина, епидемиологично проучване сред 605 пациенти със ЗД2 показва висока честота на недиагностицирана ЛКДД (25.1%) и СН (27.7%), която най-често е със запазена фракция на изтласкване (141).

Не е изненадващо, че редица проучвания установяват сигнификантно по-високи нива на NT-proBNP при диабетиците с нарушена ЛК диастолна функция (123,142–144). Kim et al. отчитат повишен NT-proBNP при диабетици с ЛКДД спрямо тези с нормална ЛК функция (1491.1 pg/ml спрямо 232.3 pg/ml, p=0.01), независимо от фракцията на изтласкване (съответно 61.2 % ± 7.9% спрямо 60 ± 8.4%, p = 0.773) (139). В друга студия, включваща 4128 пациента със СН и запазена фракция на изтласкване, от които 1134 са със ЗД (27%), се установяват по-високи концентрации на NT-proBNP, по-голяма левокамерна маса и левопредсърдна площ при диабетици в сравнение с не-диабетици. Доплеровите показатели за диастолна дисфункция (E-вълна и отношението E/Em) са по-високи при диабетиците, като за периода на проследяване от 4.1 години заболеваемостта от СН и смъртността при участниците със ЗД е повишена (145). В прочуването ADVANCE, само NT-proBNP успява да подобри значително предсказването на СН, като за всяко 1-SD покачване на NT-proBNP рискът се покачва трикратно /HR 3.06 (95% CI 2.37 – 3.96)/ (133). Jarolim P et al проследяват нивата на NT-proBNP базално и на шестия месец при пациенти със ЗД2 и исхемична болест на сърцето, които са включени в проучването Examination of Cardiovascular Outcomes with Alogliptin versus Standard of Care (EXAMINE). Установява се, че както високите му изходни нива, така и покачването им на шестия месец, са свързани със сигнификантно по-висок риск от сърдечно-съдова смърт или

СН, в сравнение с тези пациенти, при които нивата на NT-proBNP остават ниски и в двете времеви точки (146). Това доказва, че **NT-proBNP е оптимален скринингов маркер за миокардна увреда, която подлежи на допълнително уточняване с ехокардиография** (113,123,147).

Оказва се, че *NT-proBNP е предиктор не само за СН, но и за атеросклеротична съдова болест и обща сърдечно-съдова смъртност, независимо от други рискови фактори* (112,114,142,144,148–151). Метаанализ на Willeit et al. показва, че NT-proBNP има силна зависимост, както с честотата на новопоявила се СН, така и с бъдеща коронарна съдова болест и инсулт (152). В проучването на Wu et al. се установява, че NT-proBNP е независим предиктор за наличието на коронарна съдова болест (OR:1.66 (95% CI: 1.06-2.61), $p<0.05$), като прагова стойност за диагностицирането или изключването ѝ се приема 641.15 pmol/l (AUC = 0.56, 95% CI: 0.51-0.61) (150). Друго изследване определя нива на NT-proBNP ≥ 250 pg/ml като прогностични за налична ангиографски коронарна атеросклероза (151). При пациентите със стабилна ангина пекторис, по-високите нива на NT-proBNP се свързват с високостепенна стеноза на коронарните артерии и вече налична миокардна исхемия (153).

В голямото популационно проучване Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) се установява, че повишените нива на NT-proBNP се свързват с намалена перфузия на миокарда при пациенти без симптоми за сърдечно-съдово заболяване, което предполага, че NT-proBNP отразява субклинична дисфункция в микроциркулацията на сърдечния мускул (154). Това се доказва в проучването на Partosrmerlo et al., в което NT-proBNP се асоциира със субклинично заболяване на сърцето и съдовете в група от 807 безсимптомни участници (148). При безсимптомни пациенти с артериална хипертония се установяват по-високи нива на NT-proBNP в случаите на повишен CAC или cIMT над 75-тия персентил (155).

Тези наблюдения показват, че NT-proBNP може да служи като маркер за субклинична атеросклероза и да подпомогне решението за започване или интензифициране на лечение, насочено към модифициране на сърдечно-съдовите рискови фактори. Така в голямо кохортно проучване, при проследяване на 12 987 участници с хипертония за период от 10 години, се наблюдават 825 сърдечно-съдови събития. NT-proBNP и тропонин-Т успяват да идентифицират тези от тях, които все още не са показани за антихипертензивно лечение, но са с висок сърдечно-съдов риск. Рискът остава нисък,

ако маркерите са в границите на нормата, дори и при наличие на хипертония от 1 и 2 степен (156).

Оказва се, че *NT-proBNP служи като маркер за макросъдови усложнения и при пациентите със ЗД2*. Редица проучвания успяват да докажат сигнификантно по-високи нива на NT-proBNP при диабетици с доказана ангиографски сигнификантна стеноза на коронарните артерии (86,157,158). Освен това NT-proBNP е предиктор за миокардна исхемия, независимо от HbA1c, креатинин, албуминурия, хипертония, дислипидемия и тютюнопушене (158). В проучването Edinburgh Type 2 Diabetes Study (ET2DS), което включва възрастни пациенти със ЗД (средна възраст 67.9 ±4.2 год), се установява, че NT-proBNP се асоциира с настъпването на коронарни и мозъчно-съдови инциденти, независимо от другите рискови фактори, както и приема на липидо-понижаваща и антихипертензивна терапия. Увеличението на log NT-proBNP с едно стандартно отклонение се асоциира с 1.77 пъти по-висок риск от всички сърдечно-съдови събития, с 1.79 пъти по-висок риск от коронарни инциденти и 1.73 пъти по-висок риск от мозъчно-съдови инциденти ($p<0.001$ за всички). Връзката остава сигнификантна и след коригиране спрямо традиционните рискови фактори, бъбречната функция, социалния статус и подлежащите съдови заболявания (142). В друго проучване на Colombo et al. се установява силна зависимост между NT-proBNP и настъпилите съдови инциденти (миокарден инфаркт и инсулт) с HR 2.02 (95% CI 1.63 – 2.50) (159). В студията ARIC, която проследява 10 902 души за период от 11.3 години, се открива силна позитивна зависимост между NT-proBNP и мозъчно-съдовите събития. Най-чест е кардиоемболичният инсулт, който се установява при 58% от участниците в групата с най-високи изходни нива (160).

Изследването на високочувствителен тропонин-Т (hs-TnT) подсилва предиктивната стойност на NT-proBNP при ЗД2 (161). Пациентите със ЗД2 и повишени нива на hs-TnT и NT-proBNP са с по-висок абсолютен риск от сърдечно-съдова смърт или хоспитализация за СН с честота 265 за 1000-пациентогодини, в сравнение с честота от 42 за 1000-пациентогодини при тези без диабет и нормални нива на hs-TnT и NT-proBNP (162). В кохорта от 3,862 участници от проучването ADVANCE, се наблюдават 709 (18%) значими сърдечно-съдови събития за период от 5 години. С покачването на NT-proBNP с 1 SD, HR се увеличава с 1.95 (95% CI 1.72, 2.20), а за TnT с 1.50 при повишаване с 1 SD (95% CI 1.36, 1.65). И двата маркера подобряват точността, с която се определя бъдещият риск от сърдечно-съдова смърт

(136). След проследяване на 1510 пациенти със ЗД от проучването ARIC за период от 13.1 години, се наблюдават общо 540 фатални/нефатални съдови събития. Диабетиците се представят с 1.6-пъти по-висок риск от сърдечно-съдово заболяване спрямо пациентите без диабет. Въпреки това, пациентите със ЗД2, но с нормални биомаркери (hs-TnT, NT-proBNP) и без диабетни усложнения или изменения в ЕКГ, имат нисък сърдечно-съдов риск (HR 1.12 [95% CI 0.95 – 1.31]). Установява се, че NT-proBNP >125 pg/ml е независим предиктор за сърдечно-съдови инциденти (HR 1.61 [95% CI 1.29- 1.99]) (163). Проучването MESA в кохорта от 5 584 участници, от които 799 с предиабет и 695 с диабет, показва, че *NT-proBNP и hs-TnT в комбинация и поотделно предсказват заболеваемостта от СН и сърдечно-съдово заболяване при пациентите с предиабет и ЗД2*, като този риск се повишава с покачването и на двата маркера. При диабетиците, според различните квартили в стойностите на NT-proBNP, честотата на СН за 1000 пациенто-години възлиза на 3.2 до 39.4, а по отношение на сърдечно-съдовите инциденти – от 13.7 до 39.4 (164).

NT-proBNP се свързва и с настъпването на микросъдови усложнения при ЗД. Hamano et al. доказват, че NT-proBNP в най-високата трета (>71 pg/ml) се свързва с повишен риск както от макросъдови усложнения (OR 9.33), така и микросъдови изменения при ЗД2 – нефропатия (OR 6.23), невропатия (6.6) и ретинопатия (13.78) (117). До момента най-силна предиктивна способност се установява по отношение на нефропатията (84,85,165).

Налице е статистическа зависимост между нивата на NT-proBNP и микроалбуминурията, като с напредването от нормоалбуминурия към нефропатия се наблюдава прогресивно покачване на плазмения NT-proBNP (84,85). При изследване на 200 безсимптомни пациенти със ЗД2 и микроалбуминурия, се установява сигнификантна атеросклероза в поне една съдова област (49,1% от участниците), независимо от мултифакторното лечение на сърдечно-съдовите рискови фактори (86). Високорисковите пациенти с микроалбуминурия, стратифицирани според високите плазмени концентрации на NT-proBNP и/или CAC скор, са с много по-голям риск от сърдечно-съдови събития и смъртност в сравнение с нискорисковите пациенти (112).

Може би *NT-proBNP е рисковият маркер, който свързва албуминурията и ограничената бъбречна функция с повишената сърдечно-съдова смъртност при дибетици*. В подкрепа на това идва проучването на Tarnow et al., в което се установява, че нивата на NT-proBNP корелират с общата и сърдечно-съдовата

смъртност, като тази връзка е независима от степента на албуминурията и конвенционалните сърдечно-съдови рискови фактори (166). Също така, в голямото популационно проучване Casale Monferrato при диабетици с умерено ограничена бъбречна функция (eGFR > 45 ml/min/1.73 m2) се отчита 6-пъти по-висока сърдечно-съдова смъртност, която се обяснява основно с NT-proBNP. Той остава най-силният прогностичен маркер за по-лош изход от сърдечно-съдови събития, дори и след коригиране спрямо останалите рискови фактори и предхождащо съдово събитие (114). В друг под анализ на същата студия при възрастни пациенти със ЗД2 (> 60 години) стойности на NT-proBNP > 91 pg/ml дават HR 2.05 (95% CI 1.47 – 2.86) за цялостна смъртност и 4.47 (95% CI 2.38 – 8.39) за сърдечно-съдова смъртност, независимо от други сърдечно-съдови рискови фактори и степента на албуминурията (167). Подобно на тях, Clodi et al. установяват при 1071 пациенти със ЗД2, че NT-proBNP е по-добър предиктор от албуминурията (ACR>30mg/g) за настъпване на сърдечно-съдово събитие или смърт (съответно HR 2.31; 95% CI 1.91-2.80, p<0.001 спрямо HR 1.54; 95% CI 1.01 – 2.37, p=0.047) (168).

В обобщение може да се каже, че NT-proBNP е доказан маркер, който може да се използва в прогнозата на атеросклеротичната съдова болест, СН и цялостната сърдечно-съдова смъртност.

3.2. Асиметричен диметиларгинин (ADMA)

Ендотелната дисфункция е тясно свързана с процеса на атеросклероза. Интактният ендотел участва в поддържането на съдовия тонус, свободния кръвен ток и коагулацията, като в същото време ограничава пролиферацията и възпалението на гладкомускулните съдови клетки (169). Ендотелът предпазва от образуването на атеросклеротични съдови лезии, посредством отделяне на вазоактивни субстанции, от които най-значими са азотния оксид (NO), ендотелин-1 (ET-1), ангиотензин II, простациклин, хиперполяризиращ фактор, произлизащ от ендотела (EDHF) (169–171). Асиметричният диметиларгинин (asymmetric dimethylarginine, ADMA) е ендогенна молекула, потискаща синтеза на NO, което води до ендотелна дисфункция и потенциране на атеросклеротичния процес (170–176).

ADMA и симетричният диметиларгинин (SDMA) са производни на аминокиселината L-аргинин. ADMA действа като конкурентен инхибитор на NO синтазата (eNOS) (177). ADMA се елиминира от тялото чрез екскреция през бъбреците (20%) и

метаболизиране (80%) от ензима диметиламинохидролаза (DDAH) (174,175). Дисфункцията на DDAH има основна роля за повишаване нивата на ADMA. В експериментални условия се доказва, че активността на DDAH в клетъчни култури от ендотелен епител се редуцира под действието на оксидирани LDL-частици и тумор некрозис фактор-α (TNF-α), както и при високи глюкозни концентрации (175). При хора е установено рязко увеличаване в концентрациите на ADMA и потискане дилатацията на брахиалната артерия в условия на постпрандиална хипергликемия (178).

ADMA може да се открие в плазмата и урината, но изглежда вътреклетъчните му концентрации са значително по-високи (177). Към момента за определянето на ADMA се използват високоефективна течна хроматография (HPLC), мас-спектрометрия (MS) и ензимен имуноанализ (ELISA) (179). От проведено в България изследване на 150 здрави индивида (възраст между 18 и 65 години), се установява, че 95% от измерванията на ADMA по метода ELISA са в интервала 0.22 - 0.69 μmol/l. Стойностите не зависят от възрастта и пола (180).

ADMA се конкурира с L-аргинина като субстрат на eNOS само когато е в повишени концентрации, което води до намалена синтеза на NO в съдовия ендотел (174,175). И наистина, Tessari et al установява, че синтезата на NO е намалена при пациенти в напреднала възраст и при ЗД2, като тя е обратнопропорционална на концентрацията на метаболитите на аргинина (ADMA, SDMA) (181). Също така, ADMA е способен да разтрогва електронния транспорт между L-аргинин и eNOS, като способства за образуването на реактивни кислородни радикали (ROS) (182).

Основните заболявания и *фактори, които са свързани с дисбаланс в системата NOS/DDAH, са затлъстяването, ЗД, ХБН, артериалната хипертония, дислипидемията, тютюнопушенето* (170,171,183,184).

Доказателство, за връзката на ADMA с обезитета, предоставят Koc et al., които откриват сигнификантно по-високи нива на ADMA при пациентите със затлъстяване спрямо контролите (5.4 ± 3.3 спрямо 3.1 ± 1.8 μmol/l, p=0.006) (185). В друго проучване се доказва, че пациентите с метаболитен синдром също имат сигнификантно по-високи нива на ADMA спрямо контролите (0.71 ± 0.38 спрямо 0.48 ± 0.28 μmol/L, $p = 0.0009$) (186). И в двете студии се открива правопропорционална зависимост между обиколката на талията и нивата на ADMA

(185,186). Обяснението на тази връзка вероятно се крие в инсулиновата резистентност, която се потенцира от висцералното затлъстяване и води до потискане синтезата на NO (187–190).

Какво показват проучванията до момента за нивата на ADMA при повишена кръвна захар? Установяват се по-високи концентрации на ADMA, както при предиабет (187,191), така и при пациентите със ЗД2 (174,192–194). Така например Huang et al. установяват значително по-високи нива на ADMA при нарушен въглехидратен толеранс и диабет спрямо индивиди с нормален въглехидратен толеранс ($p<0.05$). И тук те откриват зависимост на ADMA с телесното тегло, като доказват повишени концентрации при диабетиците със затлъстяване, спрямо тези без (съответно 4.54 ± 1.01 спрямо 3.78 ± 0.81 μmol/l, $p<0.05$). И в това проучване се доказва позитивна корелация на инсулиновата резистентност и ADMA (187).

Проучването на Začiragić et al. също подкрепя връзката на ADMA с гликемията. Установяват се значително по-високи концентрации на ADMA при пациенти със ЗД2 (1.54 ± 0.06 μmol/l) спрямо здрави контроли (0.62 ± 0.02 μmol/l, $p<0.0001$), като се открива позитивна корелация с HbA1c ($r=0.494$, $p<0.01$) (193). Пациенти с новооткрит ЗД2, без съдови усложнения, също имат повишени нива на ADMA (195). Освен при ЗД2, високи концентрации на ADMA се установяват и при хипертония, хиперхолестеролемия и хипертриглицеридемия, като ADMA корелира с броя на сърдечно-съдовите рискови фактори. Отчита се статистически значима разлика в нивата му между диабетици с придружаващи рискови фактори и такива без други рискови фактори (1.49 ± 0.58 спрямо 1.11 ± 0.61, $p=0.020$).

Доказателствата за ролята на ADMA в потенцирането на ендотелната дисфункция са неоспорими, а тя от своя страна е тясно свързана с атеросклерозата. Ето защо в редица проучвания се открива *зависимост между нивата на ADMA и морфологичен субстрат от функционалните и образните методи за оценка на атеросклерозата*.

В популационното проучване Gutenberg Health Study сред 5000 участници се установява малка, но сигнификантна зависимост между ADMA и приток-индуцираната вазодилатация и периферната артериална тонометрия (196). Подобни са резултатите и от българско проучване при пациенти с изразена хиперхолестеролемия (184). В друго проучване сред пациентите с предиабет,

повишените нива на ADMA и LDL-холестерол корелират с повишената артериална ригидност, оценена чрез скоростта на пулсовата вълна (PWV) (191).

Много са изследванията, които доказват връзката на ADMA с cIMT, както при пациенти без въглехидратни нарушения, така и при диабетици. При 712 индивида без известно мозъчно-съдово заболяване, измереното средно ниво на ADMA е 0.50 μmol/l, като се установява значима линейна зависимост между нивата на ADMA и cIMT ($p<0.001$) (197). И в проучването на Riccioni et al при 80 здрави пациенти, се доказва позитивна корелация на ADMA с cIMT ($p<0.001$) (198). При други 712 пациента, без придружаващи сърдечно-съдови заболявания, се установява, че ADMA е единственият предиктор за прогресия на cIMT ($\beta= 0 .241$; $p<0.01$), при проследяване за период от 6 години (199).

Xia et al. сравняват 72-ма новооткрити пациенти със ЗД2, без започната медикаментозна терапия, със 72 здрави контроли, като се отчита независима асоциация на ADMA с cIMT при диабетиците. В това проучване ADMA е единственият предиктор за образуването на каротидни плаки (OR 2.43, 95% CI 1.19 – 4.94, $p<0.05$) (200).

Същото се открива и при други високо-рискови групи, каквито са пациентите с хронично бъбречно заболяване (ХБЗ). Метаанализ върху 22 проучвания, с общо 6168 участници, установява сигнификантна зависимост между нивата на ADMA и cIMT (R: 0.29; 95% CI 0.20 – 0.38, $p<0.001$). Подгруповият анализ показва, че тази връзка е най-силна при пациенти с ХБЗ (201). Друг метаанализ на Wang et al. показва същата асоциация между ADMA и cIMT при ХБЗ (202).

От друга страна, голямо проучване, включващо 2958 от участниците в Framingham Heart Study, се установява, че *ADMA се асоциира с cIMT на вътрешните каротидни артерии* ($\beta = 0.0246$, $P=0.002$), но не и с cIMT на общата каротидна артерия ($P=0.991$) (203). Riccioni et al. също откриват корелация на ADMA с cIMT и наличието на плаки само в някои региони на каротидната артерия, и по-точно на общата и вътрешната, но не и на външната (204). Това предполага, че ADMA се свързва с промотиране на атеросклероза на определени места от артериалното дърво, които са по-податливи на въздействието на проатерогенни фактори (203).

Съвсем различни резултати показва обаче проучването на Zsuga et al., които установяват отрицателна зависимост между нивата на ADMA и cIMT (Spearman’s Rho

= -0.300, p=0.0041). Авторите предполагат, че може би леко повишените нива на ADMA имат протективен ефект върху индуцируемата NOS (iNOS), която е отговорна за повишено образуване на свободни радикали в състояния на оксидативен стрес (205).

След като вече има толкова натрупани данни за участието на ADMA в настъпването и прогресията на атеросклеротичния процес, не е учудващо, че се проучва възможността ADMA да служи като маркер за риска от сърдечно-съдови събития (190). Няколко метаанализа успяват да докажат тази връзка за общата популация. Колективът на Willeit et al., изучава 22 кохортни проучвания с почти 20 000 участника, и показва връзка между ADMA и SDMA с риска от настъпването на сърдечни-съдово събитие. Участниците с най-високи стойности на ADMA имат приблизително 40% по-висок риск от съдов инцидент, спрямо тези с най-ниски концентрации на ADMA (RR 1.42, 95% CI 1.29 – 1.56) (206). Друг метаанализ, включващ 34 проучвания (общо 32 428 участници), показва, че ADMA във високите си концентрации, за разлика от ниските, носи релативен риск (RR) от 1.52 (1.37 – 1.68) за обща смъртност и от 1.33 (1.22-1.45) за сърдечно-съдово заболяване (207). И не на последно място е метаанализът на Zhou et al., който включва 34 проучвания с общо 39 137 участника, и показва, че ADMA е независим предиктор за общата смъртност при пациенти с ХБЗ (RR 1.30, 95% CI 1.19-1.43), с вече известно сърдечно-съдово заболяване (RR 1.26, 95% CI 1.16-1.37), както и при участниците без нито едно от двете състояния (RR 1.31, 95% CI 1.13-1.53) (208).

Връзка на ADMA със сърдечно-съдовия риск се открива и при ниско-рискови популации. Така при 836 жени за период на проследяване от 24 години се установява, че всяко покачване на ADMA с 0.15 μmol/l се асоциира с 30% увеличение на честотата на миокарден инфаркт и инсулт. Нискорисковите пациентки, оценени чрез SCORE и FRS, с нива на ADMA ≥ 0.71 μmol/l се оказва, че имат същия сърдечно-съдов риск, както тези, оценени като високорискови (22% спрямо 21%, *P*=0.68). Кумулативният риск от сърдечно-съдови инциденти при ADMA ≥ 0.71 μmol/l е 22%, спрямо 12% при стойности на ADMA < 0.71 μmol/l (p=0.003) (209).

Има данни, че **повишеният ADMA корелира с настъпването на коронарната съдова болест**. При 601 индивида (от които 286 с преждевременна атеросклероза и 315 контроли) се установяват по-високи нива на ADMA в групата с коронарна съдова болест в сравнение с контролите (0.480 ± 0.110 μmol/l спрямо

0.457 ± 0.091, *P* = 0.007). Концентрациите на ADMA се покачват значително с увеличаване броя на засегнатите съдове (p<0.001) (210). Метаанализ, включващ 16 проучвания с общо 2939 пациенти и 1774 контроли, показва, че пациентите с коронарна съдова болест имат по-високи нива на ADMA спрямо здравите контроли. Подгруповият анализ открива същата зависимост при пациенти с миокарден инфаркт, стабилна и нестабилна ангина пекторис (211). При 281 пациенти, насочени за провеждане на коронарна ангиография, се установяват по-високи нива на ADMA при участниците с функционално значима коронарна стеноза, спрямо останалите (0.51 [0.43–0.64] спрямо 0.46 [0.39–0.58] μmol/L, p = 0.005) (212).

Открива се *връзка на ADMA и с мозъчно-съдовата болест*. Така при 262 пациенти с остро настъпил мозъчен инфаркт се установяват повишени нива на ADMA, за разлика от здравите контроли (0.69 ± 0.14 спрямо 0.47 ± 0.10, p<0.001) (213).

Насочено се изследва и възможността *ADMA да служи като маркер за макросъдови усложнения при пациенти със ЗД2*. Krzyzanowska et al. доказват, че при пациенти със ЗД2, по-високи нива на ADMA има при тези с известни макроваскуларни усложнения спрямо тези без такива (0.62 (0.74 – 0.73) μmol/L спрямо 0.55 (0.48 – 0.63) μmol/L, p=0.004). Пациентите с нива на ADMA >0.63 μmol/L имат сигнификантно по-високо съотношение на риска за настъпването на сърдечно-съдово събитие (HR 2.37, 95% CI 1.05 – 5.35, p=0.038), спрямо тези с ADMA ≤ 0.53 μmol/L (214). Проучването на Celik et al, също успява да покаже, че средните нива на ADMA са по-високи при пациентите с макроваскуларни усложнения, спрямо тези без усложнения и контролите (съответно 0.52 ± 0.23, 0.39 ± 0.16 и 0.32 ± 0.13 μmol/l, *P* < 0.05) (194). Konya et al. проследяват 77 пациенти със ЗД2 за период от 5 години, като регистрират сърдечно-съдови усложнения при 19 от участниците. Установява се, че те имат сигнификантно по-високи нива на ADMA, спрямо останалите 58 диабетици без настъпили усложнения (0.56 ± 0.09 μmol/L спрямо 0.45 ± 0.07 μmol/L, *P* < 0.00001) (215).

ADMA може да служи не само като маркер за риска от сърдечно-съдови събития, но *успява да предскаже и сърдечно-съдовата смъртност при диабетици*. В кохорта от 170 високо-рискови мъже със ЗД2 с подозирана или известна коронарна съдова болест, насочени за ангиография, се установява, че плазмените нива на ADMA са силен и независим предиктор за общата смъртност (HR 2.63 95% CI 1.13 – 6.11, p = 0.0247). Също така, според нивата на ADMA може да се прогнозира настъпването на комбинирана крайна точка – обща смъртност и миокарден инфаркт (HR 2.44, 95% CI

1.26 – 4.72, p=0.0079), както и обща смъртност, миокарден инфаркт или инсулт (HR 2.00, 95% CI 1.10-3.62, p=0.0232) (216). В проучване на Hsu et al., което проследява 270 пациенти със ЗД2 за период от 5.7 години, се регистрират значими сърдечно-съдови събития (включително сърдечно-съдова смърт, миокарден инфаркт и инсулт) при 20.4% от участниците. Установява се, че ADMA в най-горната трета е независим предиктор за сърдечно-съдова смърт спрямо най-ниските стойности (p = 0.026, HR: 2.31, 95% CI: 1.10 − 4.81). Прогностичната сила на ADMA обаче се губи при пациентите с добър гликемичен контрол (HbA1c ≤ 6.5%). (217)

Изследването на Böger et al, което включва 3320 участници от проучването Framingham Offspring Study, установява че ADMA се асоциира със смъртността при пациентите без диабет (HR 1.30; 95% CI, 1.13 - 1.50), но не и с тази при диабетиците (HR 0.85; 95% CI, 0.62 - 1.16). Те отчитат еднакви средни нива на ADMA при диабетици и не-диабетици (0.550 μmol/l и в двете групи), като не се доказва зависимост на маркера с настъпването на съдови инциденти (218). Вероятната причина за този резултат се дължи на факта, че ADMA може би има известен протективен ефект в условия на повишен оксидативен стрес, както е при ЗД. Поради декуплиране на eNOS, тя започва да образува свободни радикали, а ADMA потиска нейната активност. Това може би обяснява липсата на зависимост със смъртността при неусложнен ЗД2. Докато при недобре контролиран ЗД с по-голяма давност и налични усложнения, ADMA има позитивна обратна връзка с разпространението на съдови инциденти (219).

3.3. Ендотелин-1 (ET-1)

В съдовия ендотел, освен NO, се синтезират и отделят ендотелините, които също участват в поддържането на съдовия тонус. ET-1 е най-изобилният и важен ендотелин, който се образува от съдовите клетки (220,221). Той упражнява биологичния си ефект посредством активиране на два рецептора: ендотелинов рецептор A (ETA) и ендотелинов рецептор B (ETB) (220–222). След освобождаването си от ендотела, ET-1 предизвиква вазоконстрикция, чрез свързване с ETA рецепторите, които са разположени основно в съдовата медия (изградена от гладкомускулни клетки) в големите събирателни артерии и вени, както и в малките резистентни съдове (220). Стимулирането на ETB, който се разполага предимно в ендотела, води до отделяне на NO и други вазодилататорни субстанции (220). ETB действа и като очистващ рецептор и предпазва от хиперстимулацията на ETA (222).

ЕТ-1 предизвиква изключително силна и дълго действаща вазоконстрикция в съдовете на повечето бозайници, включително и у човека (223). Само NO се е доказал като физиологичен антагонист на ЕТ-1, като предотвратява свързването му с неговия рецептор и изцяло антагонизира съдовата констрикция (220).

Свръхпродукцията на ЕТ-1 води до патологични промени в циркулацията (224). Това е особено изразено при състояния на намалено образуване на опозиращите вазодилататорни субстанции, като NO и простациклините. Доказано е, че *в ниски концентрации ЕТ-1 стимулират вазодилатацията, свързвайки се с ЕТВ рецептора, докато при по-високи нива - покачва артериалното налягане и тоталната периферна съдова резистентност* (220,225). Дисбалансът между ендотелиновата система и eNOS е в основата на ендотелната дисфункция (226).

Множество проучвания намират *връзка между затлъстяването и свръхекспресията на ЕТ-1* (227–229). При затлъстяване, хроничното възпаление и дисрегулацията на адипокините нарушават съдовата хомеостаза като се установява дисбаланс между протективния ефект на NO и неблагоприятното влияние на ЕТ-1 (228). Някои данни показват, че инсулиновата резистентност и хиперинсулинемията също допринасят за това нарушено равновесие. Експериментално проучване на Mahmoud et al. доказва това, като се изследват експресията на ЕТ-1, eNOS и ендотелиновите рецептори в артериоли от скелетни мускули, биопсирани в условията на хиперинсулинемична-еугликемична клампа. И при здравите контроли, и при пациенти със ЗД2, се установява повишена експресия на изследваните фактори и нарушена ендотел-зависима вазодилатация в условията на хиперинсулинемия (230).

От друга страна, Reynolds et al. не могат да възпроизведат същите резултати. В мускулен биоптат преди започване на хиперинсулинемична-еугликемична клампа и след това, се установяват по-високи базални нива на ЕТ-1 при диабетици в сравнение със слаби индивиди без диабет, но не се наблюдава никаква промяна под действието на инсулина (231).

В крайна сметка метаанализ, включващ 12 проучвания върху връзката между инсулиновата резистентност и ендотелната дисфункция, установява, че тази асоциация е слаба. Вероятно в условия на инсулинова резистентност има и други фактори, които потенцират ендотелната дисфункция като хипергликемията, дислипидемията и хроничното възпаление (232).

Редица проучвания обаче показват *по-високи плазмени нива на ЕТ-1 и ендотелна дисфункция при пациенти с предиабет и ЗД* (233–239). В едни от изследванията се установяват по-високи концентрации на ЕТ-1 при пациенти със ЗД2, когато са сравнени със здрави контроли (1.36 ± 0.53 спрямо 1.01 ± 0.4 pg/ml, P<0.01) (237). Наличието на придружаващи заболявания при диабетиците, също повлиява експресията на ЕТ-1. Например, Kostov et al. отчитат значително по-високи нива на ЕТ-1 при пациенти със ЗД2 и хипертония (6.64 ± 5.36 pg/ml), спрямо тези с пре-хипертония (3.52 ± 2.29 pg/ml) и нормотония (3.55 ± 1.78 pg/ml, p<0.05) (235). Също така, Ju et al. установяват сигнификантно по-високи нива на ЕТ-1 при пациенти със ЗД2 (65.26 ± 19.17 ng/ml), пациенти с исхемична болест на сърцето (ИБС) (66.45 ±18.35 ng/ml) и такива със ЗД2 с придружаваща ИБС (96.27 ± 24.29 ng/ml), спрямо контроли (49.34 ± 13.18 ng/ml, p<0.05 за всички). Вижда се, че при пациентите със ЗД2 с придружаваща ИБС, нивата на ЕТ-1 са значително по-високи, спрямо тези с наличието на двете състояния поотделно (p<0.05) (236). Концентрациите на ЕТ-1 са сигнификантно по-високи при пациенти със ЗД2 и ампутация на крайник, вследствие периферна съдова болест, в сравнение с пациентите със ЗД2 без ампутация и здрави контроли (240).

В противовес е проучването на Dimova et al., в което не се доказва корелация на ЕТ-1 с метаболитните параметри при пациенти с предиабет и метаболитен синдром. Няма разлика в нивата спрямо пациенти с нормален глюкозен толеранс, предиабет и новодиагностициран ЗД2 (съответно 50 (20.8 – 79), 54.0 (20.5 – 83) и 48.0 (19.3 – 93.3), p=0.976) (241).

Вероятно за *настъпването на ендотелна дисфункция има значение и промяната в експресията на ендотелиновите рецептори, които правят тъканите по-чувствителни на ЕТ-1*, независимо от неговата концентрация. Така например е установено, че при пациенти с миокардна исхемия има с 50% увеличение в гъстотата на ЕТА рецептора в лявата камера на сърцето (220). Експериментални модели с животни също показват повишена чувствителност на съдовете към ЕТ-1 при ЗД. При плъхове със ЗД2 (Goto-Kakizaki, GK плъхове) се оказва, че базиларните мозъчни артерии са по-чувствителни на ЕТ-1 спрямо контролната група без ЗД. Ендотел-зависимата релаксацията на базиларните артерии, под действието на ацетилхолин, също е нарушена при диабет. След приложение на блокер на ЕТА рецептора, обаче, вазодилатацията се възстановява, което предполага, че нарушенията се медиират

именно под действието на ЕТА рецептора (242). Множество проучвания в тази насока показват, че блокирането на ЕТА има благоприятен ефект върху системното артериално налягане (243), подобрява пулмоналната хипертония (221,244), СН (223) и дори има благоприятен ефект върху диабетната нефропатия (220,245).

Повишена експресия на ЕТ-1 се установява при животински модели на атеросклероза, както и при хора с коронарна болест на сърцето и периферна съдова болест (246), което може би го прави потенциален маркер за определяне на бъдещия сърдечно-съдов риск (247). В популационно проучване, което включва 2160 здрави индивиди (без сърдечно-съдово заболяване, ЗД и BMI > 35 kg/m^2), се установява значима корелация на ЕТ-1 със сърдечно-съдовия риск, оценен чрез Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) и FRS (съответно, β 0.18 (95% CI 0.06; 0.31), p = 0.004, и β 0.11 (95% CI 0.05; 0.16), p < 0.0001) (248). В друго, по-малко проучване, при проследяване на 82 здрави индивиди за период от 20 години, сърдечно-съдови събития (миокарден инфаркт, реваскуларизации, инсулт, обща смъртност) се наблюдават с по-голяма честота в групата с висок ЕТ-1 (>2.7 pg/ml), спрямо тези с нисък ЕТ-1 (съответно 95% спрямо 5%, p<0.0001). Пациентите с по-висок ЕТ-1 имат по-голяма честота на традиционните рискови фактори, включително хипертония (p=0.03), повишена cIMT или налична плака (p=0.001). Регресионният анализ показва, че хипертонията (OR 20.4 (3.3 – 127), P=0.001), високите концентрации на ЕТ-1 (OR 1.4 (1.0-1.8), p=0.02) и повишена cIMT или наличието на безсимптомна плака (OR 3.7 (1.14 – 12.1), P=0.02) са независими предиктори за бъдещи събития (249). В група от пациенти със ЗД2 без данни за сърдечно-съдово заболяване, се отчита сигнификантна позитивна зависимост между транзиторната исхемична дилатация (TID) и нивата на ЕТ1 (250). TID е феномен, който се наблюдава при провеждане на миокардна перфузионна сцинтиграфия и се изразява в увеличен обем на камерната кухина при стрес (251). Това е сензитивен и специфичен маркер за тежестта на съдовото засягане и е независим предиктор за сърдечно-съдови инциденти (250).

Освен вазоконстрикторен ефект, ЕТ-1 притежава и митогенна активност, като води до хипертрофия и отлагане на колаген в съдовата стена с намаляване диаметъра на лумена, разрастване на медията и пролиферация на интимата (252). **ЕТ-1 стимулира ремоделирането на мозъчните съдове и вероятно допринася за повишения риск от инсулт при пациентите със ЗД2** (252). В експериментален животински модел, се установява, че свръхекспресията на ЕТ-1 води до увеличено отношение медия/лумен

на мезентериалните артерии, както при мишки със стрептозоцин-индуциран ЗД, така и без диабет ($p<0.05$) (226).

Ендотелиновите рецептори се експресират и в сърдечния мускул, като ЕТА съставлява 90% от рецепторите в миоцитите (220). Експериментален модел показва, че при мишки със ЗД, увеличената експресия на ЕТ-1, води до митохондриална увреда и нарушена подредба на миофибрилите посредством генериране на супероксид. ЕТ-1 подпомага миокардната фиброза и сърдечната недостатъчност, чрез акумулиране на фибробласти посредством преобразуване на ендотелните клетки в мезенхимни (253). Wang et al. откриват зависимост между миокардната фиброза, настъпваща със стареенето, и повишената експресия на ЕТ-1 (254).

Ето защо **ЕТ-1 би могъл да служи като маркер за прогнозата на СН**. Метаанализ на Zhang et al. показва, че повишените плазмени концентрации на ЕТ-1 са сигнификантно свързани със смъртността или неблагоприятните последици от СН (RR= 2.22, 95% CI 1.82-2.71; P< 0.001). Средната стойност на ЕТ-1, над която се наблюдава по-висок риск е 1.76 pmol/l (255).

От друга страна в проучването MESA Angiogenesis Sub-study ЕТ-1 се изследва при 1 361 участници без сърдечно-съдово заболяване. Участниците с по-високи нива на ЕТ-1 имат по-нисък риск за настъпване на СН и сърдечно-съдова смърт (p=0.05) (256), което е съвсем противоположно на резултатите от проведените до момента проучвания. Авторите предполагат, че резултатът от тяхното изследване се дължи на отсъствието на подлежащо сърдечно-съдово заболяване в изследваната кохорта. В повечето изследвания, в които по-високите нива на ЕТ-1 корелират със СН и сърдечно-съдовата смърт, пациентите вече имат доказано съдово заболяване (256).

<u>В обобщение може да се каже, че ЕТ-1 е маркер, отразяващ цялостния процес на ремоделиране на съдовата стена и миокарда, в основата на които лежи ендотелната дисфункция. Обещаващи са резултатите от проучванията за ролята му на маркер, определящ бъдещия риск от макросъдови събития и сърдечна недостатъчност.</u>

3.4. Плацентарен растежен фактор (PlGF)

PlGF е нов, сравнително слабо проучен растежен фактор, с евентуална роля в оценката на ремоделирането на съдовата стена. PlGF е от семейството на съдовите ендотелни растежни фактори (VEGF), като за първи път е изолиран в човешка плацента, откъдето произлиза и името му (257). Повишените му нива се свързват с

възникването на преeклампсия по време на бременност (258). В последствие е установено, че се експресира и от ендотелните клетки, тиреоидните клетки, а при патологични състояния и от кардиомиоцитите, бронхиалния епител и от туморни клетки. PlGF е плейотропен цитокин, който стимулира ангиогенезата посредством свързване с рецептора си fms-like tyrosine kinase-1, който се експресира при състояния на хипоксия (257).

PlGF участва в неоангиогенезата, като стимулира растежа на ендотела, подпомага миграцията на гладкомускулните клетки около новоформираните съдове, промотира деленето на фибробластите в адвентицията. Под негово действие се повишава миграцията на моноцитите и макрофагите в съдовата стена, които от своя страна започват да отделят проангиогенни цитокини (259,260). Тези механизми би трябвало да имат протективен ефект в условия на исхемия. Има доказателства, че приложението на PlGF стимулира реваскуларизацията на инфарцираните зони в миокарда, както и в крайниците при остра исхемия (259).

От друга страна има данни и за неблагоприятен ефект на PlGF в рамките на атеросклеротичния процес. Трансферът на PlGF-гена в каротидните артерии на зайци води до значително удебеляване на интимата, акумулация на макрофаги и експресия на съдово клетъчната адхезионна молекула -1 (VCAM-1), както и неоваскуларизация на адвентицията. От друга страна, мишки с липсващ ген за PlGF имат по-малък размер на ранните атеросклеротични лезии и намалено съдържание на макрофаги в тях (261). В друго проучване върху мишки, след приложение на анти-PlGF моноклонално антитяло (αPlGF mAb), се постига намаляване на инфилтрацията на инфламаторни клетки в атероматозните плаки, както и на техния размер в ранните етапи на атеросклерозата (262). Това доказва ролята на PlGF в прогресията на атеросклеротичния процес.

С напредване на атеросклерозата и разрастването на съдовите плаки, те започват да се васкуларизират от множество нео-съдове (263). Броят на нео-съдовете е много по-висок при нестабилните плаки спрямо стабилните, като имунохистохимично се установява акумулация на инфламаторни клетки в съдовата стена (264). PlGF промотира патологичната ангиогенеза по описаните вече механизми и локалното възпаление чрез активация на макрофагите. Повишената секреция на проинфламаторни цитокини може да доведе до нестабилност и руптура на плаката (259,260,265). Така приспособителните механизми на PlGF се превръщат в

декомпенсаторни. В подкрепа на този факт идват резултатите от проучване на Pilarczyk et al., където се установява, че серумните нива на PlGF са по-високи при пациенти с каротидни плаки, които имат изявена симптоматика в сравнение с безсимптомните (115.4 ± 8.2 спрямо 83.6 ± 10.5 дензитометрични единици (DU), $p < 0.05$) (266).

Ето защо се предполага, че **PlGF би могъл да служи и като маркер за сърдечно-съдов риск**. Тази възможност се изследва в едно голямо проучване сред 32 826 жени, в което се регистрират 453 сърдечно-съдови събития за периода на проследяване от 14 години. Жените с най-високи стойности на PlGF (>17.9 ng/l) имат по-висок риск от сърдечно-съдов инцидент, спрямо тези с най-ниски стойности (RR: 1.58; 95% CI: 1.03 - 2.41). По-високите нива на PlGF, измерени повече от 10 години преди сърдечно-съдовото събитие, се асоциират с по-висок риск от коронарна съдова болест (267). Има доказателства и за ползата му в предвиждане и на смъртността в общата популация. При изследване на участниците от проучването FINRISK се установява, че по-високите нива на PlGF се свързва с 10-годишната смъртност (HR 1.23 [95% CI, 1.14–1.32]) (268). Това дава основание за предположението, че PlGF се асоциира с дългосрочното предсказване на сърдечно-съдовия риск (267).

Има множество проучвания, които доказват, че *PlGF служи като маркер за сърдечно-съдова смъртност при пациенти с бъбречна недостатъчност* (269–272). В едно от проучванията, по-високи нива на PlGF се установяват при пациенти с ограничена бъбречна функция спрямо контроли (10.5 ± 3.3 pg/mL спрямо 8.1 ± 1.8 pg/mL, $p<0.0001$). В групата на пациентите с ХБЗ, тези, които имат сърдечно-съдови усложнения, имат повишени концентрации на PlGF, спрямо тези без сърдечно-съдови заболявания (12.1 ± 3 pg/mL спрямо 10.0 ± 3.2 pg/mL, $p = 0.03$). Не се установява обаче разлика в нивата между пациентите с ХБЗ и придружаващ ЗД, и без диабет (10.1 ± 3.5 pg/mL спрямо 11.4 ± 2.4 pg/mL, $p = 0.15$) (271). В проучването на Matsui et al., комбинираната крайна точка от смърт и сърдечно-съдов инцидент настъпва при 76.4% от пациентите с най-високи нива на PlGF (>19.6 pg/ml), както и с най-ниските стойности на eGFR (<30 ml/min/1.73 m2) (270).

PlGF се оказва предиктор за по-лош изход и при друга високорискова популация, а именно пациентите с доказана исхемична болест на сърцето (273–278). В сравнение с контроли (28.9 ± 6.6 pg/mL), пациентите с нестабилна ангина пекторис (38.6 ± 9.1 pg/mL) и остър миокарден инфаркт (46.3±13.4 pg/mL) имат по-високи нива на PlGF,

но не и тези със стабилна ангина (276), което подчертава ролята на PlGF в дестабилизацията на атеросклеротичните плаки. При пациенти с остър миокарден инфаркт без ST-елевация, се установяват по-високи нива при починалите пациенти, спрямо оцелелите (273). В проучването на Lenderink et al., при 544 пациенти с остър коронарен синдром, нива на PlGF > 27 ng/l се свързват с по-висока смъртност спрямо по-ниските стойности (10.8% спрямо 3.2%; HR, 3.3; 95% CI, 1.6 - 7.1) (274). И още едно проучване при пациенти с коронарна съдова болест показва, че преживяемостта на тези с ниски стойности на PlGF (<7.5 pg/ml) е много по-добра от тази при участниците с високи стойности >20.5 pg/ml (среден период без инцидент 1038 спрямо 578 дни) (275). В голямото проучване PROVE IT-TIMI 22 се установява, че високите нива на PlGF при пациентите с преживян остър коронарен инцидент се асоциира с дългосрочния риск от повторно съдово събитие или смърт, независимо от традиционните рискови фактори (279).

Малко са проучванията, които търсят ролята на PlGF при пациенти с хипергликемия. В изследването на Siervo et al. се отчитат по-високи нива на PlGF при пациенти с метаболитен синдром, в сравнение с контроли /13.5 (11.7 – 16.0) спрямо 11.5 (9.5-13.8), p=0.004/. Установява се, че PlGF корелира с обиколката на талията (r=0.25, p<0.001) и кръвната захар на гладно (r=0.18, p<0.001) (119). Някои данни свързват PlGF с настъпването на микросъдови усложнения при ЗД, като ретинопатия (280) и нефропатия (281). Така например при пациенти със ЗД1 и нефропатия се доказват по-високи нива на PlGF спрямо тези с нормоалбуминурия (15 (4–131) спрямо 11 (7–64) ng/l, (*P* <0.001)). Също така, високите нива на PlGF са независим предиктор за общата и сърдечно-съдовата смъртност при пациентите с нефропатия (HR 1.94 [1.16–3.24] и HR 2.91 [1.45–5.85]), както и риска от фатални и нефатални сърдечно-съдови събития при диабетиците с нормоалбуминурия (HR 1.97; [1.03–3.76]) (281).

Необходими са още проучвания, които да покажат дали има връзка на PlGF с честотата на макросъдовите инциденти и при пациенти със ЗД2.

4. Ехографски методи за обективизиране на морфологични сурогати на сърдечно-съдовия риск

Много от новодиагностицираните пациенти със ЗД2 имат множество придружаващи рискови фактори за сърдечно-съдова болест или вече имат налични атеросклеротични изменения в съдовете. ЗД потенцира ускорената атеросклероза на коронарните съдове

и води до метаболитни, структурни и функционални промени в миокарда. Всичко това стои в основата на диабетната кардиомиопатия. Това прави ехокардиографията незаменим метод за диагностична оценка на пациентите със ЗД2, защото с нейна помощ могат да се оценят както миокардната структура, така и най-ранните промени в систолната и диастолната функция.

Контраст-усилената ангиография е един от най-надеждните методи за оценка на съдовата атеросклероза, но това е инвазивна процедура, показана основно за високорисковите пациенти. От тази гледна точка, много по-подходящ е неинвазивният ултразвук, който е лесен за приложение, няма странични ефекти и е добре поносим. Освен това може да се използва във всички възрастови групи, независимо от подлежащия съдов риск. *Промените в хемодинамиката на каротидните и бъбречните артерии могат да се използват като сурогатен маркер за прогресията на цялостния дегенеративен процес в съдовото русло*. А директната визуализация на каротидните плаки е индикатор за налична атеросклероза и отразява нуждата от промяна в начина на живот и модифициране на наличните сърдечно-съдови рискови фактори.

4.1. Ехокардиографско изследване на диастолната функция на лявата камера

Коронарната болест на сърцето е основен рисков фактор за СН при пациентите със ЗД. Въпреки това, СН се наблюдава и при диабетици без анамнеза за предхождаща исхемична болест на сърцето, клапни увреждания или хипертония. Това състояние е отделна клинична единица, наречена диабетна кардиомиопатия (282). Тя има прогресивен ход и мултифакторна етиология.

Инсулиновата резистентност и хипергликемията се считат за основните задвижващи патогенетични механизми в развитието на ранна диастолна дисфункция при пациентите със ЗД2 (283–287). Доказателство за това е разликата в сърдечната функция при пациентите със ЗД2 и ЗД1. При ЗД2 по-често се наблюдава диастолна дисфункция или СН със запазена фракция на изтласкване (ФИ), докато при ЗД1 е точно обратното - по-често е систолната дисфункция и намалената ФИ (283). Разликата се установява и на патоанатомично ниво. Сърцето при СН със запазена ФИ има лява камера с нормални размери, но хипертрофирала и твърда стена, докато при СН с редуцирана ФИ лявата камера е дилатирана. На микроскопско ниво се установява повишено отлагане на колаген. При СН от диастолен тип, обаче, той е отложен предимно в есктрацелуларния матрикс между хипертрофиралите миоцити

(реактивна фиброза), докато при систолна дисфункция кардиомиоцитите са видимо увредени със загуба на саркомери, а колагенът покрива по-големи региони, което е показател за заместителна фиброза след апоптоза на мускулните клетки (288). И в двата случая има разреждане на микросъдовете и натрупване на крайни продукти на гликирането (AGEs), което е резултат от хипергликемията (288). Тъй като тя е налична и при двата типа ЗД, то различията във вида на СН се дължат на разлика в нивата на инсулина, който при ЗД1 на практика е в абсолютен дефицит.

В условията на инсулинова резистентност се увеличава и метаболизмът на свободните мастни киселини (СМК) в миокарда, което води до повишена консумация на кислород, намалена сърдечна работоспособност и липотоксичност (283,289). Хроничните промени във въглехидратния и липиден метаболизъм, вследствие на инсулиновия дисбаланс, води до понижена активност на аденозин трифосфат (АТФ), намалена способност на саркоплазмения ретикулум да поема калций и до вътреклетъчно натрупване на токсични междинни продукти от СМК (283). Това може да доведе до изчерпване на АТФ, промени в калциевата хомеостаза и повишена кислородна консумация на миокарда, предизвикващи миоцитна хипертрофия и възпаление, както и силен профибротичен отговор, което води до ремоделиране и фиброза на екстрацелуларния матрикс (290). Натрупването на AGEs в отложения колаген стабилизира неговата структура и не позволява той да бъде разграден, което води до повишена миокардна ригидност (290).

Структурните изменения в миокарда на ЛК водят до нейните функционални нарушения. В началото те протичат безсимптомно, но с времето водят до клинично изявена СН. Тези промени могат да бъдат установени рано в хода на болестта чрез трансторакална ехокардиография. В най-ранните етапи на диабетната кардиомиопатия се развива диастолна дисфункция (ДД) (282). Два механизма са отговорни за ДД - намалената левкомарена релаксация и повишената пасивна ригидност (твърдост, неразтегливост) на камерната стена, дължащи се на миокардната хипертрофия и развитието на фиброза (291). Релаксацията е динамичен и енергоемък процес, който започва от края на систолата и продължава по време на изоволуметричната релаксация и ранното диастолно пълнене. Диастолната твърдост се измерва в края на диастолното пълнене на ЛК и се определя от кривата на взаимоотношението налягане-към-обем (291).

Ехокардиографията е референтен метод за обективизация на сърдечната структура и функция в рамките на оценката на съвкупния риск.

Ехокардиографията е метод на избор за диагностиката на ранните функционални и структурни промени в миокарда. Конвенционалните методи за изследване на левокамерната функция са: двуизмерната техника (2D), M-mode ехокардиографията и пулсовият Доплер (Pulsed-wave Doppler) (292).

Двуизмерната ехокардиография идентифицира измененията в ЛК, които са субстрат за ЛКДД, като хипертрофия и нарушения в движението на миокарда (293). Повишената ЛК маса (LVMI>95 g/m^2 за жени и > 115 g/m^2 за мъже) е честа при пациентите с диастолна СН (292,293). Обикновено се наблюдава увеличен обем на лявото предсърдие, тъй като мускулатурата му не може да преодолее повишеното налягане на диастолно пълнене на ЛК и работи срещу по-голямо натоварване, и съответно води до неговата дилатация (293). Увеличеният обем на лявото предсърдие има по-силна негативна, отколкото позитивна прогностична стойност. Диастолната дисфункция е малко вероятна при нормални размери на лявото предсърдие. От друга страна, увеличен обем на лявото предсърдие може да се наблюдава и при други състояния, като предсърдно мъждене или хипертония, без да има повишено диастолно налягане на ЛК (293). Това налага приложението на допълнителни техники за оценка на диастолната функция.

Налягането на диастолното пълнене и скоростта на трансмитралния кръвоток могат да измерят чрез пулсовия Доплер (294). По време на диастола моделът на пълнене на ЛК се състои от две фази: ранно диастолно пълнене и късна фаза на предсърдно съкращение. Измерват се съответно Е-вълна (Е), която зависи от отпускането на лявата камера и пасивното й напълване, и А-вълна (А), която показва активното пълнене на ЛК вследствие на систолата на лявото предсърдие. *Отношението Е/А се използва, за да се оцени релаксацията на ЛК* (294). При млади и здрави индивиди с нормално диастолно пълнене, ЛК буквално „засмуква“ кръв в кухината си, което води до бързо изпразване на лявото предсърдие. В този случай Е-вълната ще е по-висока, а А-вълната ще е по-къса и съответно съотношението на Е/А ще бъде над 1 (293,295). С намаляване на еластичността и комплайънса на ЛК мускулатура, налягането на пълнене се покачва, което води до повишаване на А-вълната и обръщане на съотношението Е/А. Показателите от пулсовия Доплер, обаче, са зависими от много фактори - преднатоварването, сърдечната честота, възрастта (296). Понякога

показателите са трудни за интерпретация, поради „псевдонормализиране“ на митралния кръвоток, което се получава при забавена релаксация на ЛК и умерено повишено налягане в лявото предсърдие (293). То се оказва достатъчно да отвори митралната клапа, въпреки по-високото налягане в ЛК, което дава образ на нормално съотношение E/A, но при налична диастолна дисфункция (293,295). В тези случаи се налага демаскиране на нарушената диастолна функция чрез други методи, като пробата на Валсалва или измерване на потока в пулмоналните вени (291).

По-чувствителен диагностичен метод за оценка на ЛК релаксация е тъканният доплер (Tissue Doppler Imaging, TDI), който показва скоростта на движение на определени сегменти от миокарда (297,298). Митралният пръстен се движи в посока към левокамерния връх по време на систола и се отдалечава по време на диастола. Записват се Sm - вълна (систолна вълна), Em и Am- вълни, които са диастолни параметри. Em отразява левокамерната релаксация (удължаване), а Am отразява донапълването на ЛК от предсърдното съкращение (скъсяване) (295). Колкото по-дълго време отнема на ЛК да се отпусне, толкова по-ниска ще е Em и съответно съотношението E/Em ще се увеличи (293). Това са едни от най-ранните маркери за диастолна дисфункция и зависят в много по-малка степен от възрастта и преднатоварването (293,295,298).

С помощта на отношението E/Em ЛКДД може да се класифицира по следния начин: 1) лека (степен I и Ia), дефинирана като нарушена ЛК релаксация със или без повишено налягане на пълнене; 2) умерена (степен II) дефинирана като нарушена релаксация, асоциирана с умерено увеличено налягане на ЛК пълнене или още „псевдонормален“ тип; 3) тежка – силно намален комплайънс, който може да е обратим (степен III) или фиксиран (степен IV) рестриктивен тип на пълнене (294). Метаанализ на Sharifov et al., обаче, показва, че E/Em не може да се използва самостоятелно за диагностициране на ЛКДД и трябва да се съчетава и с други параметри от TDI, пулсовия Доплер и 2D ехокардиографията (299), което заляга и в най-новите препоръки за оценка на диастолната дисфункция (298).

Този комбиниран подход има съществено значение за определянето на нейното разпространение и диагноза. В проучване на Boyer et al. при безсимптомни пациенти със ЗД2, TDI показва ЛКДД при 63%, докато конвенционалния Доплер установява дисфункция само при 46% от индивидите (300). В проучването на Zahiti et al. са включени 300 пациенти, 150 от които са пациенти със ЗД2 без затлъстяване и

хипертония и 150 са здрави контроли. Резултатите за систолната и диастолна функция от конвенционалната ехокардиография не показват съществена разлика между двете групи, докато след провеждането на TDI се отчита по-ниска стойност на Em в групата от пациенти със ЗД, като тази разлика се засилва значимо след провеждане на стрес тест (301).

ЛКДД е широко-застъпен проблем както в общата популация, така и в диабетната. В популационно проучване, включващо 36 261 пациента, ЛКДД се установява при 65.2% от кохортата, като най-разпространена е леката степен на диастолна дисфункция (302). Подобни са резултатите и при 1396 участници в проучването Course of Diastolic Dysfunction and Heart Failure (DIAST-CHF), в което се доказва лека ЛКДД при 64.5% от пациентите и умерено-тежка при 16.8% (303). Тези данни са важни, когато за контролна група се ползват привидно здрави субекти (от общото население).

При сравняване на пациенти със ЗД2 и здрави контроли, се установява значително по-голямо разпространение на ЛКДД при диабетиците (304–306). Липса на такава разлика се установява в много редки случаи и то при пациенти със ЗД2 без хипертония, придружаваща коронарна съдова болест или микросъдови усложнения (307). Обяснението за съществено по-високата честота на ЛКДД при пациентите със ЗД2 вероятно се дължи на по-ранното начало на миокардната структурна увреда, още преди изявата на хипергликемията и поставянето на диагнозата ЗД.

Честотата на ЛКДД при пациентите със ЗД2 в различните проучвания варира между 7% и 77.3% в зависимост от степента ѝ и метода на изследване (141,308–314). В метаанализ на Bouthoorn et al. се доказва честота на ЛКДД при 35% (95% CI 26% - 46%) от пациентите със ЗД2 в доболничната помощ и при 48% (95% CI 38% - 58%) при хоспитализираните пациенти, като не се установява разлика в разпределението между мъже и жени (съответно 46% и 47%) (314). Проучване на Zoppini et al. върху пациенти с новооткрит ЗД2 и със запазена ФИ, показва, че честотата на ДД е съответно: за 1 ст 77.3%, 2 ст. 6.8%; 3 ст – 2.3%, докато нормална диастолна функция на ЛК има едва при 13.6%. (309).

Допълнителен проблем е, че ЛКДД често е безсимптомна и остава дълго време неразпозната. Тя се среща при до 48% от пациентите със ЗД2 и с нормално артериално налягане и ЕКГ (315). В друго проучване при 161 безсимптомни пациенти със ЗД2,

субклинична ЛКДД в покой се установява при 45% от тях и се демаскира при още 12% след натоварване (311). **Всичко това предполага, че ехокардиография в съчетание с TDI за диастолна дисфункция трябва да се използва рутинно при пациенти със ЗД, за които се предполага, че имат иначе здрави сърца** (316).

Проучването на Zhao et al. показва, че при новодиагностицирани пациенти със ЗД2 вече има данни за структурни изменения в сърцето спрямо здрави контроли. Множество от параметрите за левокамерна хипертрофия са повишени, като ЛК мускулна маса, дебелината на междукамерната преграда и задната стена на ЛК, диастолният размер на ЛК (317).

Другият фактор, който значително променя хода на ЛКДД при ЗД2, е хипергликемията и нейната давност. При проучване, включващо 208 пациенти, от които 57 със ЗД2, се установява, че E/Em се покачва заедно със статуса на глюкозния метаболизъм: от нормален (7.6 [6.2-10.1]), към нарушен глюкозен толеранс (8.8 [7.4-11.0]) до ЗД (10.5 [8.1-13.2], p<0.001) (318). В друго популационно проучване се наблюдава спадане на Em с прогресията към метаболитен синдром (МС) и до изявата на ЗД2 (11.2 ± 3.3 без МС; 9.7 ± 3.1 с МС без ЗД; 9.2 ± 2.8 cm/s при МС със ЗД; p < 0.0001) (284).

Голямата вариабилност на кръвната захар се свързва с ЛК хипертрофия и нарушена ЛК релаксация, оценена по E/Em (319,320). Промените в HbA1c при проследяване се асоциира с годишните изменения в крайния диастолен размер на ЛК, междукамерния септум, ЛК мускулна маса и отношението E/Em, независимо от средните нива на HbA1c (321).

Значение има и давността на ЗД (322–325). Установява се покачване на E/Em с 0.23 (95% CI 0.16 – 0.30, p=0.007) за всяка следваща година след диагнозата ЗД2. Давност над ЗД > 4 години е независим предиктор за ЛКДД (326). От своя страна пациентите с ЛКДД имат 36.9% по-голям риск да развият СН, спрямо 16.8% при пациентите с нормална диастолна функция (312).

Освен като маркер на риска от СН, **ЛКДД има предиктивна стойност по отношение на сърдечно-съдовите инциденти и общата сърдечно-съдова смъртност** (312,326). Blomstrand et al. установяват, че пациенти със ЗД2 и стойности на E/Em > 15 имат три пъти по-голям относителен риск от миокарден инфаркт и инсулт, в сравнение с диабетиците с E/Em ≤ 15 (327). Авторите доказват, че предиктивната стойност на

E/Em е сравнима с тази на HbA1c и даже по-добра, и е независима от възрастта, пола, BMI, ФИ на ЛК, cIMT, LDL-холестерола, скоростта на аортната пулсова вълна, глобалния лонгитудинален стрейн и наличието на хипертония или коронарно заболяване (327). При 191 пациенти, от които 20% със ЗД, ЛКДД и възрастта над 65 години се асоциират с трикратно по-висок риск от субклинична атеросклероза (оценена по CAC) (328). Намалената миокардна перфузия е много по-честа при 2-ра степен ЛКДД, в сравнение с тези, които имат ЛКДД от степен 1 (329).

Малко са проучванията, които свързват ремоделирането на ЛК и ЛКДД с биохимичните маркери за ендотелна дисфункция и субклинична атеросклероза. Установява се значителна зависимост между нивата на ADMA и риска от ЛКДД и нейната тежест (303,330). При пациенти с ХБЗ се доказва, че повишените нива на ЕТ-1 корелират сигнификантно с ЛК мускулна маса, междукамерната преграда и крайния диастолен размер на ЛК (331). **Няма и много проучвания, които да корелират изчисления с различните калкулатори сърдечно-съдов риск и обективните параметри от ехокардиографията и TDI**. Необходими са повече изследвания и в тази насока.

4.2. Дебелина интима-медия на каротидните артерии (cIMT)

Ултразвуковото изследване на каротидните артерии с измерване на дебелината интима-медия и оценка наличието на каротидни атеросклеротични плаки, е най-широко използваният метод за неинвазивна диагностика на субклинична атеросклероза и бъдещ сърдечно-съдов риск (332–336). Счита се, че освен като рисков фактор за настъпване на инсулт, атеросклерозата на каротидните артерии се асоциира с дегенеративните изменения и в други съдови басейни (337–339).

Ултразвуковото изследване на каротидните артерии демонстрира двойно-контуриран изглед на тяхната стена. Това са ехолиниите, разграничаващи прехода лумен-интима и медия-адвентиция, а дистанцията между тях показва задебеляването на интима-медия (295,340). Измерването на cIMT може да се осъществи във всички отдели на каротиса: общата и вътрешната каротидна артерия, както и нейната бифуркация. Въпреки това, измерването на IMT на далечната стена на общата каротидна артерия се е доказал като по-лесен и възпроизводим метод и не отстъпва по информативна стойност на останалите две локации (333,335,341,342). Друга важна информация, която може да получим от конвенционалното ехографското изследване, е наличието на плаки, тяхната морфология и степента на стеноза на каротидните артерии (339).

Атеросклеротичните изменения в каротидните артерии са често срещани, но трябва да се търсят целенасочено, особено при безсимптомни пациенти. Установява се, че до 80% от здравите индивиди имат увеличена cIMT или наличие на атеросклеротична плака в каротидните артерии (343). Основни рискови фактори за това са напредващата възраст, хипертонията и тютюнопушенето (344,345).

Множество проучвания показват, че *cIMT и наличието/отсъствието на плаки подобрява прогнозирането на риска от коронарна съдова болест и инсулт*. В проучване, включващо 150 последователни пациенти без известна ИБС, се установява по-висока средна IMT при пациентите, на които с КТ-ангиография е доказана коронарна съдова болест, спрямо тези без коронарна атеросклероза (0.76 спрямо 0.66 mm, $P < 0.003$) (346). В друго проучване се установява, че каротидните плаки, IMT ≥ 1.5 mm, или средна IMT > 0.75 mm, се асоциират с CAC >0 (съответно OR: 5.4, p < 0.0001, 2.7, p < 0.001; 2.9, p = 0.011) и заболяване на поне една коронарна артерия (съответно OR: 2.8, p = 0.03, 2.19, p = 0.073; 2.22, p = 0.058) (337).

Студията на Eikendal et al., включваща 3067 пациенти под 45-годишна възраст, доказва, че cIMT се асоциира с настъпването на първо сърдечно-съдово събитие (на миокарден инфаркт или инсулт) с HR 1.40 за всяко SD увеличение на cIMT, независимо от други рискови фактори (95% CI 1.11-1.76) (347). Пациентите под 45 години обичайно не подлежат на стандартен сърдечно-съдов скрининг, така че cIMT се оказва полезен маркер за предвиждане на съдови събития, особени при тези от тях с по-неблагоприятен рисков профил.

Друга **по-особена група са пациентите с изчислен интермедиерен сърдечно-съдов риск**. В тези случаи решението за бъдещото терапевтично поведение е трудно, поради което се търсят допълнителни маркери за рекласифициране на риска към по-ниска или по-висока категория. Такъв маркер би могъл да бъде cIMT. Метаанализ на Peters et al. показва, че NRI (нетната рекласификация) се подобрява с 1.4% до 12% при добавяне на cIMT и от 8% до 11% при наличие на каротидни плаки при различните кохорти. Доказва се най-голяма полза при пациентите с дефиниран интермедиерен сърдечно-съдов риск (348). Дори през 2010 година в препоръките на AHA/ACC се посочват *cIMT, както и CAC скора, като клас IIa препоръка за определяне на риска при безсимптомни пациенти с умерен сърдечно-съдов риск* (349), след което и в препоръките на ESC през 2012 година (350).

Какво показват проучванията при индивидите с по-висок риск, каквито са пациентите със ЗД2? Установяват се сигнификантно по-високи стойности на cIMT при пациентите с нарушен глюкозен метаболизъм в сравнение с контроли (0.60±0.10 при нормален глюкозен толеранс, 0.75 ±0.10 при предиабет и 0.78±0.14 при ЗД, p<0.001) (351). Метаанализ на Brohall et al. показва, че ЗД2 се асоциира с 0.13 мм увеличение на cIMT спрямо контроли (352).

Както в общата популация, така и при пациентите със ЗД2, се открива зависимост между наличието на каротидна атеросклероза с тази на коронарните артерии. В кохорта от 262 безсимптомни пациенти със ЗД2 се установява каротидна плака при 47% от тях и средната cIMT е 0.75±0.14 mm. При 76% от участниците се установява CAC скор >0, от които 22% имат тежка атеросклероза. В тази група, каротидна плака се открива при 79% от пациентите. Наличието на каротидни плаки и по-висока средна cIMT корелира с повишен CAC скор. (338). В друго проучване се установява, че пациентите със ЗД2 с повишена cIMT, имат много по-често нарушена миокардна перфузия (75% спрямо 9%) и тежка хипоперфузия (28% спрямо 3%), в сравнение с диабетиците с нормална cIMT (353). В група от 98 безсимптомни пациенти със ЗД2, тези с коронарна плака, доказана при КТ-ангиография, имат по-висока честота и на каротидни плаки (58% спрямо 38%, p=0.01) и увеличена cIMT (0.80 ± 0.20 mm спрямо 0.70 ± 0.11 mm, p = 0.02) (354).

Това дава основание да се търси връзка на cIMT с риска от сърдечно-съдови инциденти. Проучване на Cordoso et al. установява, че пациенти със ЗД2 и увеличена cIMT и/или наличието на плаки имат 1.5 до 1.8-пъти по-голям риск от съдови събития (355). В метаанализ, включващ 3 902 пациенти, отношението на риска за настъпване на сърдечно-съдови събития е 1.22 (95% CI 1.12-1.33) за 1 SD увеличение на cIMT (356).

Натрупаните с времето данни от големите проучвания, обаче, дават противоречиви резултати относно допълнителната предиктивна стойност на cIMT в общата популация. Така например, проучванията ARIC (357), CHS (Cardiovascular health study) (358), и Rotterdam (359), посочват, че cIMT може да се използва за определяне на риска от сърдечно-съдови заболявания и инциденти, докато в проучването MESA се установява, че макар cIMT да има корелация с настъпването на коронарни и мозъчно-съдови инциденти, тя не успява да рекласифицира риска по FRS (111).

Тук идват данните и от няколко метаанализа върху способността на cIMT за рекласификация на риска. Така van den Oord et al. показват, че всяко увеличение на cIMT с 1 SD предвижда миокарден инфаркт с HR 1.26 (95% CI 1.20-1.31) и инсулт с HR 1.31 (95% CI 1.26-1.36), но производителността на моделите за оценка на риска не се увеличава значително след прибавяне на cIMT към данните. C-статистиката се увеличава от 0.726 на 0.729 (p=0.8) (332). Друг метаанализ, включващ общо 45 828 индивида, C-статистиката за двата модела (FRS без и със cIMT) е еднаква (0.757; 95% CI, 0.749-0.764; и 0.759; 95% CI, 0.752-0.766). NRI при добавянето на IMT към FRS е много малка (0.8% 95% CI, 0.1%-1.6%). При тези с интермедиерен риск NRI също не е достатъчна - 3.6% (95% CI, 2.7%-4.6%) (360). Още един метаанализ върху 11 популационни проучвания (общо 54 336 пациенти) показва, че за разлика от cIMT, наличието на каротидна плака, има значително по-висока диагностична точност за предикцията на бъдещи коронарни съдови събития (361).

Същото се отнася и за диабетната популация. При анализ на данните от 4220 диабетици в метаанализ на den Ruijter et al. след период на проследяване от 8.7 години, настъпват 684 първични сърдечно-съдови събития. C-статистиката за FRS е 0.67, а за модела с cIMT 0.68. Абсолютният 10-годишен риск за настъпване на миокарден инфаркт или инсулт е 16% и при двата модела. Но се установява, че няма подобрение в NRI с включването на IMT (1.7%, 95% CI 1.8 – 3.8) (362).

Тези противоречиви данни са причината в по-новите препоръки на Американската и Европейската асоциации да отпадне измерването на IMT като маркер за съдов риск (44,45). Въпреки това обаче, се отчита фактът, че **наличието на каротидна плака може да се окаже фактор, модифициращ класификацията на сърдечно-съдовия риск** (44). Така например при 6101 безсимптомни участници в проучването High Risk Plaque Biomalge, 65.3% имат умерен риск според FRS. Каротидна плака се установява при 78% от случаите. Тежестта на каротидните плаки корелира по-силно с CAC скора и честотата на сърдечно-съдови събития, за разлика от cIMT (363,364).

4.3. Резистивен индекс на бъбречните и каротидните артерии

Промяната в *хемодинамиката на бъбречните артерии се свързва както с цялостния съдов дегенеративен процес, така и с намалената левокамерна релаксация* (365). С помощта на Доплер-сонографията може да се оцени кръвотокът на паренхимните бъбречни артерии и да се изчисли техния резистивен индекс (renal resistive index,

RRI). Той се определя по съотношението: пикова систолна скорост – крайна диастолна скорост/пикова систолна скорост (366). Стойности на RRI 0.60 ±0.01 се считат за нормални, докато 0.70 се приема за горна граница на нормата при възрастни (367).

RRI зависи от бъбречни и извънбъбречни фактори и както ниските, така и високите стойности, показват патологичен процес. Така RRI < 0.60 може да отразява сигнификантна стеноза на бъбречните артерии, но и на супрареналните артерии и абдоминалната аорта. Високият RRI > 0.70 може да отразява вазоконстрикция, артериолосклероза или адренергична хиперстимулация, брадикардия и повишено системно пулсово налягане (израз на аортна ригидност) (366).

RRI е утвърден маркер за локално бъбречно увреждане и предвижда риска от влошаване на бъбречната функция (368,369). В проучване на Radermacher et al. се установява, че стойности на RRI ≥ 0.80 могат да идентифицират пациентите, които имат риск от прогресия на бъбречното си заболяване (369). При пациенти с хипертония и запазена бъбречна функция, повишеният RRI > 0.70 е маркер за субклинично бъбречно увреждане и показва директна връзка с количеството на албуминурията (370). Също така, повишеният RRI предвижда по-лоши бъбречни и сърдечно-съдови последици (371). Установява се, че RRI може да прогнозира влошаване на бъбречната функция и при пациенти със ЗД2, независимо от все още нормалните стойности на eGFR (372).

Въпреки че първоначално RRI е считан за маркер за увреда в бъбречната микроциркулация, се натрупват множество данни, които го свързват и с общата хемодинамика (373). Тъй като бъбречните артериоли и капиляри основно са резистентни съдове, величината на RRI би трябвало да зависи основно от тяхната хемодинамика. Оказва се обаче, че RRI се определя в голяма степен от комплайънса на централните артерии, което е доказано както при ин витро, така и при ин виво проучвания (373,374).

Тази зависимост стои в основата на много проучвания и при хора. Така Hashimoto et al. изследват 133 пациенти с хипертония и установяват, че RRI корелира силно с аортното пулсово налягане ($r=0.62$, $p<0.001$) и скоростта на пулсовата вълна на аортата ($r=0.51$, $p<0.001$) (375). В проучване на Calabia et al. при 202 пациенти с хипертония, се доказва, че независими фактори за повишен RRI са показателите за

артериална ригидност (скорост на пулсовата вълна, индекс на артериалната ригидност, 24-часово пулсово налягане). Допълнително, RRI корелира позитивно с маркерите за атеросклероза, оценени чрез каротидна IMT и наличие на каротидни плаки, както и с маркера за ендотелна дисфункция – ADMA (376).

Показателни са и няколко проучвания, проведени при пациенти с донорски бъбреци. Установява се, че RRI на паренхимните артерии в донорския бъбрек зависи основно от хемодинамичните показатели на реципиента, а не на донора (377). В проучване при 321 пациенти с донорски бъбрек, не се установява зависимост между величината на RRI и влошаването на бъбречната функция и нуждата от диализа, но от друга страна RRI > 0.80 се асоциира с повишена смъртност на реципиента, а основен определящ фактор за по-висок RRI е неговата възраст (378). И в друго проучване на Seiler et al. се наблюдават подобни резултати. RRI корелира с cIMT, но не и със специфични за алографта маркери, като eGFR и протеинурията. RRI не успява да предвиди строго бъбречни последици, но предвижда смъртността на реципиента (379). В проучването на Heine et al. при пациенти с ХБЗ, RRI корелира с традиционни рискови фактори и субклинична атеросклероза (cIMT), но не се доказва като специфичен маркер за бъбречна увреда (380).

От изброените данни става ясно, че *състояния, които намаляват съдовия комплайънс и увеличават съдовата ригидност, водят до покачване на пулсовото налягане и съответно на RRI*. Това е нормално явление при намаляване на еластичността на съдовете с напредване на възрастта (381). Патологични състояния като атеросклерозата, хипертонията и хроничните бъбречни заболявания, също водят до увеличение на RRI (382). **Редица проучвания доказват зависимост между системната атеросклероза и RRI** (376,380,383,384). При 106 пациента с eGFR > 60 ml/min/1.72 m2, RRI се покачва значително с увеличаване броя на атеросклеротичните съдове (липса на атеросклероза: 0.65±0.04 спрямо атеросклероза в един съд: 0.67±0.06 спрямо атеросклероза в няколко съда: 0.71±0.05, p<0.001), оценена по CAC скор и cIMT (365). RRI корелира с тежестта на коронарната атеросклероза при пациенти с остър коронарен синдром (385).

Бъбречната хемодинамика е тясно свързана със сърдечната функция, от където произлиза и понятието кардиоренален синдром. Острата или хронична сърдечна недостатъчност може да увреди бъбречната функция и обратно – острата и хронична бъбречна дисфункция може да доведе до декомпенсирана сърдечна недостатъчност

(295). Пациентите със сърдечна недостатъчност имат сигнификантно по-високи стойности на RRI спрямо контроли (382). Промените в RRI настъпват както при систолна, така и диастолна дисфункция на сърцето. При 250 пациенти с хронична СН, повишеният RRI се асоциира с прогресия и влошаване на състоянието (HR 1.14; 95% CI 1.09–1.19; $P < 0.001$] (386). В проучване на Ennezat et al. се доказват по-високи средни стойности на RRI при пациенти със СН със запазена фракция на изтласкване, в сравнение с контроли (0.84 ±0.07 спрямо 0.70±0.07, p<0.0001). RRI е независим предиктор за по-лоша прогноза при пациентите със СН [HR 1.06; 95% CI (1.01– 1.11), P = 0.02] (387). При 452 пациенти с известно сърдечно-съдово заболяване, RRI корелира с ехокардиографските показатели за диастолна дисфункция: обемния индекс на лявото предсърдие, ЛК мускулна маса, и E/Em, като представя обратна зависимост с Em. Пациентите с реализирани съдови събития имат значително по-висок RRI, спрямо контроли (0.74 ± 0.08 спрямо 0.70 ± 0.07, p<0.001), независимо от възрастта и eGFR (388).

RRI може да се използва и като маркер за субклинична увреда на сърдечната функция. При 171 безсимптомни пациенти, избрани на случаен принцип от общата популация, RRI се асоциира с Е-вълната и отношението E/A, както и със систолната функция на ЛК (389). В проучване на Tedesco et al. при пациенти с известна хипертония, но без данни за сърдечна недостатъчност, RRI ≥ 0.70 се свързва с повишена ЛК мускулна маса, cIMT, и по-голяма честота на ЛК хипертрофия, каротидни плаки и микроалбуминурия. Открива се негативна зависимост с диастолните параметри от TDI (390).

Повишеният RRI се изследва като прогностичен маркер за настъпване на сърдечно-съдови събития и смърт. В проучване, включващо 426 пациенти с есенциална хипертония, за период на проследяване от 3.1 години, по-високите стойности на RRI се асоциират с повишен риск от настъпване на комбинираната крайна точка (обща смъртност, миокарден инфаркт, инсулт, сърдечна недостатъчност, аортна дисекация и терминална бъбречна недостатъчност) с HR 1.81 за всяко увеличение с 1 SD (95% CI 1.45 – 2.22, p<0.01) (391). Установява се, че *стойности на RRI ≥ 0.70 са рисков фактор за обща смъртност* (HR 1.29, 95% CI, 1.02 - 1.65, $P< 0.05$) при пациенти с ХБЗ, дори независимо от eGFR, диабетния статус, артериалното налягане, наличието на подлежащо сърдечно заболяване и BMI. Тази връзка е най-изразена при по-младите пациенти и при тези с eGFR > 30 ml/min/1.73m^2

(392). В проучване, включващо 111 последователни пациенти със стабилна и нестабилна ангина пекторис, се установява, че стойности на RRI > 0.645 преди провеждане на коронарна ангиография, корелират с риска от настъпването на значимо сърдечно-съдово събитие (миокарден инфаркт, сърдечна смърт, миокардна реваскуларизация или инсулт) в рамките на 24 месеца след хоспитализацията (AUC = 0.78, p = 0.001) (393).

Редица проучвания показват повишени стойности на RRI при пациентите със ЗД2. Вече е доказана връзката между повишения RRI с диабетната нефропатия (380,394–396). Има данни, че RRI ≥ 0.73 се асоциира с увеличение на албуминурията и прогресия на диабетната нефропатия (395). Повишеният RRI ≥0.75 се асоциира освен с нефропатията, и с другите микросъдови увреждания при пациенти със ЗД2 (ретинопатия и невропатия) със съответни OR 4.99 (2.61-9.56), 2.78 (1.52-5.09) и 5.74 (1.8-18.3) (397).

От друга страна, *не винаги повишеният RRI при ЗД2 може да се обясни с бъбречното засягане*. В проучване на Kawai et al. пациентите със ЗД имат сигнификантно по-високи стойности на RRI, въпреки че няма разлика в eGFR спрямо другите участници (0.73 ± 0.08 спрямо 0.69 ± 0.08, p<0.01) (398). При сравняване на пациенти с новооткрит ЗД2 с нормоалбуминурия и пациенти с хипертония и контроли, се установяват много по-високи нива на RRI при диабетиците (съответно 0.65±0.06, 0.59±0.05 и 0.58±0.05) (399). На тази база може да се предположи, че пациентите със ЗД2 демонстрират много по-ранна съдова увреда, която е започнала още преди изявата на диабета. И наистина, Afsar et al. доказват, че инсулиновата резистентност, оценена чрез HOMA-IR, е независим предиктор за повишен RRI (400).

Така се оформят *няколко механизма за повишен RRI при пациентите с диабет*. Освен микросъдовото засягане на бъбреците, ефектът върху макросъдовото русло също води до хемодинамични промени и в бъбречните артерии. Други предполагаеми механизми са повишената съдова ригидност при ЗД2 и ендотелната дисфункция, в резултат от директното действие на отклоненията във въглехидратния и липиден метаболизъм и натрупването на AGEs (401).

Резистивният индекс на бъбречните артерии е проучен обстойно като сурогатен маркер за системна атеросклероза. Много по-малко са проучванията по отношение на резистивния индекс на каротидните артерии (CARI) и връзката му с

атеросклеротичния процес. В търсене на такава зависимост, Frauchiger et al. провеждат проучване, включващо 157 пациенти с наличие на сърдечно-съдови рискови фактори или с доказана атеросклероза. Те установяват сигнификантна зависимост на CARI на общата и вътрешната сънна артерия с cIMT (402). В друго проучване при 145 пациента с поне един сърдечно-съдов рисков фактор, Uthoff et al. изследват предиктивната стойност на cIMT и RI на вътрешната сънна артерия за настъпване на сърдечно-съдови събития. Изходно средната IMT е 0.79 ± 0.16 mm, а CARI 0.66 ± 0.08. Увеличението на CARI на вътрешната каротидна артерия и cIMT за периода на проследяване от 6 години, се асоциира с повишаване на риска от сърдечно-съдови събития (403).

Подобно на RRI, и CARI се повишава при състояния, свързани с повишена ригидност и намален комплайънс на артериалната стена. Ozari et al. установяват, че CARI е повишен при млади пациенти с обезитет и без хипертония, спрямо контроли (съответно 0.7±0.1 и 0.6±0.1, p<0.0001). Основните предиктори за по-висок CARI са нивата на HDL-холестерола и BMI, но няма зависимост с обиколката на талията, HOMA-IR и CRP (404). Има данни за зависимост на CARI с хиперурикемията и наличието на захарен диабет (405). При 382 пациенти със ЗД2 и 110 контроли, се установяват по-високи нива на CARI (0.73 ± 0.06 спрямо 0.76 ± 0.06, p<0.001) и cIMT (0.65 ± 0.16 спрямо 0.78 ± 0.20, p<0.001) при диабетиците спрямо контролите. Установява се корелация на CARI с cIMT. Не се установява обаче зависимост между CARI и честотата на мозъчния инфаркт (406).

Много малко са проучванията, които изследват зависимостта на CARI със сърдечната функция. Има доказателства за връзка между сърдечните функционални показатели и параметрите за еластичност и ригидност на каротидните артерии. Установява се значителна корелация на показателите за ригидност на общата каротидна артерия и фракцията на изтласкване и E/Em (407). При пациенти с есенциална хипертония и левокамерна хипертрофия се наблюдава значителна промяна в хемодинамичните показатели на каротидните артерии (408).

Заключение

Наличието на ЗД2 потенцира риска от сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност. Множество фактори засилват неговия негативен ефект върху съдовата патология, като степента на инсулиновата резистентност и хиперинсулинемията, времето на изява на хипергликемията и продължителността на нейното действие, настъпилите микросъдови усложнения. ЗД2 много често е съпътстван от други рискови състояния, в това число затлъстяването, артериалната хипертония и дислипидемията, в рамките на метаболитния синдром.

Въз основа на съчетанието от посочените фактори може да се определи риска от бъдещи съдови събития на конкретния пациент. Основна цел на този подход е лечението на пациента да се оптимизира по такъв начин, че да се постигне максимално дълго време без диабетни усложнения и, в идеалния вариант, рискът от сърдечно-съдови инциденти да достигне този на здравите индивиди. Ето защо е важно оценката на риска да се случи възможно най-рано в хода на заболяването.

Към момента един от най-често използваните методи за определяне на сърдечно-съдовия риск е интуитивният (полуколичествен), без да може да каже в рамките на какъв период може да настъпи инцидент или кой е факторът с най-голямо значение. Калкулаторите за оценка на риска използват конкретни уравнения, като всеки отделен фактор носи определена информативна стойност, а сумата им дава точно определен процент на абсолютния риск за настъпване на съдово събитие в даден период от време.

При пациентите със ЗД2 могат да се използват редица калкулатори, като съвременния ADVANCE и по-стария, но широко валидиран UKDPS, както и класическите FRS и SCORE. Все още не е напълно изяснено, обаче, кой от тях е най-подходящ и предсказва по-добре риска от сърдечно-съдови инциденти. Друг проблем е класифицирането на пациентите в групата с умерен риск, което не позволява да се вземе дефинитивно решение за най-подходящия терапевтичен план.

Ето защо се търсят нови маркери за ендотелна дисфункция и субклинична атеросклероза, които да се използват като допълнение в оценката на бъдещия сърдечно-съдов риск. *Сред най-добре валидираните биохимични маркери са натриуретичните пептиди, в процес на утвърждаване са ADMA и ET-1, а PlGF е недостатъчно изучен маркер*.

В допълнение, могат да се използват директни визуализиращи методи за оценка на сърдечната структура и функция, както и атеросклеротичните изменения в големите артериални съдове. В клиничната практика най-често се започва с конвенционална ехокардиография, последвана евентуално от тъканен Доплер (TDI), изследване на IMT на каротидните артерии и наличието на плаки, както и изследване на бъбречните съдове.

В литературата практически отсъстват проучвания, които да съчетават или сравняват трите подхода за оценка на сърдечно-съдовия риск – математическия (калкулатори), лабораторния (маркери) и образния (ехокардиография, ултразвук на каротидни и бъбречни артерии).

Тези изводи очертаха полето на изследване на настоящия дисертационен труд, в който си поставихме следната цел и задачи:

Цел и задачи

Цел: Да се изчисли сърдечно-съдовият риск при група от пациенти със ЗД2 на перорална терапия и да се потърси връзката му с биомаркери за атеросклероза и ендотелна дисфункция, както и с обективни показатели от ехокардиография и Доплер ултразвуково изследване на каротидните и бъбречните съдове.

Задачи:

1. Да се *оценят сърдечно-съдовите рискови фактори* (нива на гликемията, липиден профил, артериално налягане, BMI, отношение талия/ханш и талия/ръст, бъбречна функция, микросъдови усложнения) *и да се изчисли сърдечно-съдовият риск* с различни калкулатори (FRS, UKPDS Risk Engine v2.0, ADVANCE Risk Engine и SCORE) в рамките на срезово проучване при пациенти със ЗД2 на перорална терапия и без известни сърдечно-съдови събития.
2. Да *се измерят съвременни биомаркери за атеросклероза и ендотелна дисфункция*: N-терминален мозъчен натриуретичен пептид (NT-proBNP), асиметричен диметиларгинин (ADMA), ендотелин-1 и плацентарен растежен фактор (PlGF).
3. Да *се определят съвременни ехокардиографски параметри* за систолна и диастолна дисфункция.
4. Да *се определят индекс интима-медия и наличието на плаки на каротидните артерии и резистивен индекс на бъбречните и каротидните артерии*.
5. Да *се сравнят* изследваните сърдечно-съдови биомаркери, ехографските показатели и изчисления сърдечно-съдов риск *с контролна група от пациенти без ЗД2*.
6. При пациентите *със ЗД2 да се опишат комплексните взаимовръзки* между изследваните биомаркери за атеросклероза и ендотелна дисфункция, изчисления сърдечно-съдов риск и обективните параметри от ехокардиография и Доплер ултразвук на съдове.
7. Да *се проследят пациентите със ЗД2* и да се регистрират настъпилите макросъдови инциденти – миокарден инфаркт и инсулт, както и общата смъртност.

8. Да се *сравни изчисленият при диабетиците сърдечно-съдов риск с реално* настъпилите събития.
9. Да *се оцени връзката на изследваните биомаркери и ехографските показатели с настъпилите инциденти* при проследените диабетици.
10. Да се предложи клиничен алгоритъм за инкорпориране на изследваните методи за оценка на сърдечно-съдов риск в общата диагностично-лечебна стратегия при ЗД2.

Работни хипотези:

1. Ролята на изчисления абсолютен сърдечно-съдов риск при конкретни пациенти не е пренебрежима, особено при интермедиерните и трудните за полуколичествена преценка случаи.

2. Изследването на добре подбрани биомаркери е в състояние да осветли различни аспекти на ендотелната дисфункция и атеросклеротичния процес в ранния стадий на ЗД2 и съответно – да алармира за наличието на повишен сърдечно-съдов риск в най-ранен етап.

3. Съвременните ултразвукови изследвания позволяват обективизация на финия морфологичен субстрат на сърдечно-съдовия риск от страна на сърцето, каротидните и бъбречните артерии. Те предоставят доказателствена основа на изследването на биомаркерите и изчисленията с калкулатори.

Използването на тези 3 метода в съчетан комплексен подход ще позволи индивидуализирана медицина в полето на ЗД2, особено в по-ранните етапи на заболяването.

Материали и методи

1. Дизайн на проучването

Проучването имаше две части. Първата включваше обсервационно, срезово, кохортно проучване, а втората беше проспективна, обсервационна.

2. Етични норми

Това проучване е съобразено с Декларацията от Хелзинки за Етични правила за медицински изследвания върху хора, при спазване на правилата за добра клинична практика на Република България. Проучването беше одобрено от Етичната комисия на Съвета по Медицинска наука при Медицински университет – София. Всички участници дадоха информирано съгласие, преди да бъдат включени в проучването. Личните данни на пациентите бяха засекретени и всеки от участниците получи уникален идентификационен номер, според който се въвеждаха резултатите от проведените изследвания. Пълната информация за всеки участник беше достъпна единствено за главния изследовател.

3. Критерии за участие в проучването

За участие в проучването бяха поканени общо 300 пациента, които са преминали през клиниката по Ендокринология и болести на обмяната в УМБАЛ "Александровска" за период от 4 години (2013 год - 2016 год и 2018-2019 год), от които 199 се съгласиха да вземат участие.

Участниците бяха разделени на две групи. Първата група се състоеше от пациенти със ЗД2. Включихме само диабетици на перорална терапия или новодиагностицирани пациенти с все още съхранени инсулинови резерви, за да се оценят ранните промени върху сърдечно-съдовата система, настъпващи в хода на ЗД2. Втората група, която определихме като контролна, се състоеше от пациенти с налични сърдечно-съдови рискови фактори (затлъстяване, артериална хипертония, дислипидемия, предиабет), но без диагностициран ЗД2. Идеята ни беше да оценим по какъв начин диабетната хипергликемия модулира сърдечно-съдовия риск при равни други условия.

Участниците ***в първата група със ЗД2*** бяха подбрани по следните критерии:

Включващи критерии: Диагноза ЗД2, поставена амбулаторно или в хода на пролежаване в клиниката, или провеждане на лечение с орални антидиабетни средства.

Изключващи критерии:

- Възраст под 18 години;
- Пациенти със ЗД1;
- Лечение с инсулин;
- Доказано сърдечно-съдово заболяване или преживяно сърдечно-съдово събитие: исхемична болест на сърцето, преживян миокарден инфаркт, мозъчно-съдова болест, преживян инсулт, периферна съдова болест с ампутация на крайник, сърдечна недостатъчност ≥ 2 степен по NYHA;
- Терминална бъбречна недостатъчност с eGFR <15 ml/min/1.73 m^2;
- Чернодробна недостатъчност;
- Злокачествени заболявания;
- Други ендокринни заболявания, освен добре компенсиран хипотиреоидизъм или еутиреоидна форма на автоимунен тиреоидит и нодозна струма.
- Бременност;

Втората група включваше пациенти без ЗД2, но с придружаващи един или повече сърдечно-съдови рискови фактора:

- Наднормено тегло или затлъстяване;
- Артериална хипертония;
- Дислипидемия;
- Предиабет – нарушена гликемия на гладно, нарушен въглехидратен толеранс;

Изключващите критерии за втората група са както при първата група, но с допълнителен критерий – налична диагноза ЗД2.

Част I

Срезово проучване

На всички участници беше снета подробна анамнеза и физикален статус, като се оцениха антропометричните показатели и се определи телесен състав. Изчисли се сърдечно-съдовият риск с подбрани калкулатори. Осъществи се ултразвуково изследване на сърце, каротидни артерии и бъбреци.

A. Данни от анамнезата, които имаха особена важност са:

1. **Възраст при диагнозата** ЗД и **давност** на диабета (ако е приложимо);
2. Данни за микросъдови усложнения на ЗД (ако е приложимо): **ретинопатия**, **нефропатия**;
3. Информация относно сърдечно-съдовите рискови фактори: тютюнопушене, наличие на артериална хипертония, предсърдно мъждене.

B. Данни от статуса, които бяха включени в проучването:

1. Антропометрични показатели:

- Ръстът в сантиметри (см) и теглото в килограми (кг) се измериха на калибриран кантар (Tanita Corp., Japan).
- **Индексът на телесната маса (BMI)** се изчисли по формулата: BMI = тегло в кг/ръст в метри^2. Приложиха се критериите на Световната Здравна Организация (СЗО) за класификация на затлъстяването (409): BMI 19-24.9 kg/m^2 е нормално тегло, наднормено тегло –BMI - 25-29.9 kg/m^2, затлъстяване I ст- BMI- 30-34.9 kg/m^2, затлъстяване II ст- BMI- 35-39.9 kg/m^2, затлъстяване III ст- BMI > 40 kg/m^2.
- **Талията и ханша** се измериха с помощта на шивашки метър в изправено положение на пациента, със събрани крака и отпуснати до тялото ръце. Обиколката на талията се измери по средата на разстоянието между най-долното ребро и илиачния гребен, а ханшна – на нивото на големия трохантер. Границите на обиколката на талията, според дефиницията на СЗО, които се свързват с повишен сърдечно-съдов риск при мъже са >94 см, а при жени >80 см (410). Изчислиха се съотношенията **талия към ханш (WHR) и талия към ръст (WtHR)**. Според СЗО нормата за WHR е <0.90 за мъже и <0.85 за жени (410).

2. **Систолно и диастолно артериално налягане.** Артериалното налягане беше измерено след 5 – минутна почивка, в седящо положение с помощта на сфигмоманометър с маншет. Измери се налягането на двете ръце, като се взе по-високата стойности и се записа в mmHg.

   Артериалната хипертония се дефинира според критериите на Европейското дружество по кардиология/Европейското дружество по хипертония (ESC/ESH) от 2018 година, а именно систолно артериално налягане ≥ 140 mmHg и/или диастолно артериално налягане ≥ 90 mmHg (411), или провеждано лечение с антихипертензивни медикаменти.

C. Телесен състав

Оцени се с помощта на боди - импедансметрия на апарат TANITA TBF-250 (Tanita Corp., Japan) и се измериха: процент мазнини (Fat %), тегло мастна тъкан (Fat mass, kg), свободна от мазнини маса (FFM, kg) и тотално водно съдържание в тялото (TBW, kg). Изследванията бяха проведени сутрин на гладно, като участниците бяха облечени в леко стайно облекло, без обувки. Нормата за процентно съдържание на мазнини при мъже е под 23%, а при здрави жени – под 27% (412).

D. Лабораторни изследвания – биохимични показатели и биомаркери за сърдечно-съдов риск

1. **Биохимични изследвания:** Всичките гликемични и метаболитни показатели се изследваха на апарат Cobas 6000, като всички лабораторни китове бяха на фирма Roche (Basel, Switzerland).

- **Глюкоза**, измерена в капилярна кръв с помощта на ензимен метод с хексокиназа, в рамките на четирикратен кръвно-захарен профил в групата със ЗД2. За пациентите от контролната група се прие нарушена гликемия на гладно при стойности на кръвната захар от 6,1 до 6,9 ммол/л и нарушен глюкозен толеранс при кръвна захар от 7,8 до 11,0 ммол/л на 120 минута в хода на орален глюкозо-толерансен тест (94).
- **Пълен липиден профил** с общ холестерол и неговите фракции: LDL- холестерол, HDL-холестерол, VLDL-холестерол, и триглицериди; non-HDL-холестеролът се изчисли по формулата: тотален холестерол – HDL-холестерол. Липидните показатели се изследваха посредством ензимен колориметричен метод в mmol/l;

  Според критерии на ESC за пациенти със ЗД приехме наличие на **дислипидемия** при стойности на LDL-холестерол > 2.6 mmol/l, HDL-холестерол < 1.0 ммол/л за

мъже и < 1.3 ммол/л за жени, не-HDL-холестерол > 3.0 ммол/л, триглицериди > 1.7 ммол/л (413), или лечение със статин или фибрат.

- **Гликиран хемоглобин (HbA1c)** беше определен количествено в % чрез измерване на фотометрична трансмисия. Добър гликемичен контрол се прие при HbA1c < 7.0 % (414).
- **Пикочна киселина** в µmol/l с помощта на ензимен колориметричен метод;
- **Серумен креатинин** – изследва се с ензимен метод в µmol/l. **Големината на гломерулна филтраци (eGFR)** се изчисли по четирикомпонентната формула от проучването Modification of Diet in Renal Disease (MDRD): 186 x (креатинин, µmol/l / 88.4)$^{-1.154}$ x (възраст)$^{-0,203}$ (x (0.742 за жени) (достъпен на https://qxmd.com/calculate/calculator_140/mdrd-egfr). За нормални се приеха стойности на eGFR > 90 ml/min/1.73m^2; хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) 2 степен при eGFR – 60 – 89.9 ml/min/1.73m^2; ХБЗ 3 степен при eGFR – 30 – 59.9 ml/min/1.73m^2; ХБЗ 4 степен при eGFR 15 – 29.9 ml/min/1.73m^2; (415).
- **Отношение албумин/креатинин (ACR)** в mg/mmol в първа сутрешна урина - албумин в урината се изследва с помощта на имунотурбидиметричен метод, а на креатинина -с кинетичен колориметричен анализ.

2. **Биомаркери** – Сутрин, до 8 часа, след 12-часово гладуване, чрез венепункция бяха изтеглени 12 мл венозна кръв във вакутейнери със сепариращ гел за серум. Епруветките бяха центрофугирани на 4000 оборота за 15 минути. След сепариране, серумът беше замразен на -20^{o}C и насочен за провеждане на лабораторни анализи. Изследванията бяха проведени от опитен медицински персонал в Централна клинична лаборатория на УМБАЛ "Александровска", която е референтна за България.

- Серумните нива на **NT-proBNP** и **PlGF** се измериха чрез електрохемилуминисцентен имунологичен тест (ECLIA, Roche Diagnostics, Basil, Switzerland) на апарат Elecsys 2010. Принципът на теста е сандвичев:
    - Първо инкубиране: Антиген в пробата, биотинилирано (NT-proBNP или PlGF-специфично) моноклонално антитяло и моноклонално (NT-proBNP или PlGF-специфично) антитяло, белязано с рутениев комплекс, реагират и образуват сандвичев комплекс.

- Второ инкубиране: След добавянето на покрити със стрептавидин микрочастици, комплексът се свързва с твърдата фаза посредством взаимодействието на биотин и стрептавидин.
- Реакционната смес се аспирира в измервателната клетка, където микрочастиците се улавят магнитно на повърхността на електрода. След това несвързаните вещества се отстраняват с ProCell. Прилагането на напрежение към електрода след това предизвиква хемилуминисцентна емисия, която се измерва от фотоумножител.
- Резултатите се определят чрез калибрационна крива, която се генерира специфично за анализатора чрез 2 точкова калибрация и еталонна крива, взета от баркода на реактива.

Интерференции на теста за NT-proBNP и PlGF: Анализът не се влияе от иктер, хемолиза и липемия. При пациенти на лечение с биотин не трябва да се вземат проби за изследване в рамките на поне 8 часа след последния прием на биотин. Не се наблюдава интерференция от ревматоидни фактори до концентрация от 1500 IU/mL за NT-proBNP и 600 IU/ml за PlGF. Може да се наблюдава високо-дозов "кука" ефект при концентрации на NT-proBNP над 33400 pmol/L (300000 pg/mL) и на PlGF над 100000 pg/ml.

Нива на NT-proBNP ≥ 125 pg/ml се приеха за повишени, тъй като свързват с по-висок сърдечно-съдов риск (94).

- За изследването на **ADMA** (BioVendor, Brno, Czech Republic) и **ET-1** (IBL International GMBH, Hamburg, Germany) се използва ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA). Известният антиген (ADMA, ET-1) е предварително свързван към микротитърна платка. Антигенът в изследваните проби се ацилира и се конкурира със свързания към твърдата повърхност антиген за фиксиран брой свързващи места върху специфичните за антигена ензимно-свързвани антитела. Когато системата достигне равновесие, свободните антигени и антиген-антисерум комплекси се отмиват. След това към всяко кладенче от платката се добавя TMB субстрат, който се катализира от ензима, свързан с антителата. Цветната реакция се отчита спектрофотометрично при дължина на вълната 450 nm. Количеството антитяло, свързано към твърдата фаза, е обратно-пропорционално на концентрациите на антигена в серума.

Недостатъци на теста за ADMA и ET-1: Силно хемолизирали или липемични серуми могат да дадат грешни концентрации на маркерите.

Е. Калкулатори за сърдечно-съдов риск:

1. **UKPDS Risk Engine v2.0** – изчисли се 10-годишният риск от коронарна съдова болест (CHD), фатална коронарна съдова болест (fatal CHD), нефатален инсулт (Stroke) и фатален инсулт (fatal Stroke) в проценти. Рискът се изчислява на базата на възраст, пол, наличие на предсърдно мъждене, етническа принадлежност, тютюнопушене, стойностите на HbA1c, систолното артериално налягане, тоталния и HDL – холестерол (77). Приеха се следните категории на риска: нисък (<15%); умерено повишен (15% – 20%) и висок (≥20%);
2. **ADVANCE Risk Engine** – изчисли се 4-годишен сърдечно-съдов риск за значими сърдечно-съдови събития. Калкулаторът включва пол, възраст и възраст при диагнозата ЗД, давност на диабета, обиколка на талията, систолно артериално налягане, диастолно артериално налягане, HbA1c, ACR, eGFR, non-HDL-холестерол; информация за наличието на лекувана хипертония, ретинопатия и предсърдно мъждене. Въз основа на тези показатели се определя 4-годишният риск от сърдечно-съдови заболявания, като високорискови са пациентите с ≥8% изчислен риск (което отговаря на ≥ 20% 10-годишен риск), с умерен риск (4% до 8%) и с нисък риск (<4%) (90).
3. **SCORE** – изчисли се 10-годишният риск от фатални съдови събития, въз основа на данните за възрастта, пола, систолното артериално налягане, общия и HDL-холестерол и тютюнопушенето. За висок риск се прие стойност над 10%, а за умерено повишен от 5% до 10%.
4. **Framingham risk engine** – изчисли се 10-годишен риск от значими коронарни съдови събития. В модела се включва анамнеза за пол, възраст, тютюнопушене, общ и HDL-холестерол, систолно артериално налягане и анамнеза за прием на антихипертензивни медикаменти. За нисък се прие риск под 10%, умерено повишен при 10% до 20% и висок при изчислен риск ≥20%.

F. Изследвани ехографски показатели, свързани със сърдечно-съдов риск – сърце, каротидни артерии и бъбреци

Всички изследвания бяха проведени от сертифициран ехографист, на когото не бяха известни клиничните данни на пациента. Изследванията бяха проведени на апарат S22 SonoScape (SonoScape Medical Corp., China).

1. Проведе се **двуизмерна (2D), M-mode и Doppler ехокардиография**. Записаха се минимум три сърдечни цикъла, след което данните се анализираха и усредниха.

Използва се 2.5-MHz Phased array трансдюсер (2P, 1-6 MHz), който работи с пулсов Doppler с честота 2.5 MHz. Определиха се размерите на аортата, лявото предсърдие, дебелината на междукамерната преграда (МКП), задната стена на лявата камера (ЗСЛК), големината на лявата камера (ЛК), левокамерната мускулна маса, фракцията на изтласкване (ФИ) и фракцията на скъсяване (ФС). Изчисли се левокамерния мускулен индекс (LVMI в g/m^2) по формулата: левокамерна мускулна маса/телесна повърхност.

2. Чрез **пулсов Доплер** се измери Е-вълната, А-вълната и тяхното съотношение Е/А, което се изчислява автоматично от софтуера на апарата след като се очертаят спектралните криви. Времето на децелерация (DT) в милисекунди се изчисли като времето между пика на Е-вълната и кривата на намаляването до нулевата линия.
3. Проведе се **тъканен доплер (Tissue Doppler Imaging, TDI),** като пробният обем от 2 мм се постави на латералната стена на ЛК на нивото на митралния пръстен, за да се избегне влияние от страна на дясната камера. Измери се Em вълната, след което се изчисли съотношението Е/Em.

Нормалните стойности, които се приеха за някои от посочените показатели са:

- Фракция на изтласкване- > 50% (298);
- Фракция на скъсяване – между 25% и 45%;
- LVMI - норма <115 гр/$м^2$ за мъже и <96 гр/$м^2$ за жени (292). Над тези стойности се прие наличието на левокамерна хипертрофия;
- DT - < 220 msec;
- Е-вълна - > 50 cm/sec;
- Е/А – между 0.75 и 1.5;
- Em - ≥ 8 cm/sec;
- Е/Em - < 10;

Моделът на трансмитралния кръвоток и неговите отклонения се оцени по следните критерии (296):

- Нормален – при Е/А > 0.75 и <1.5; DT >140 msec; Е/Em < 10;
- Нарушена релаксация – Е/А ≤ 0.75; Е/Em < 10;
- Псевдонормален – 0.75 < Е/А < 1.5; DT > 140 msec; Е/Em ≥ 10;
- Рестриктивен – Е/А ≥ 1.5; DT < 140 msec; Е/Em ≥ 10;

4. Ултразвуковото **изследване на каротидните артерии** се проведе с помощта на 10 – MHz линеарен трансдюсер (L742, 5-12 MHz, 38 mm), работещ с пулсов Doppler с честота 5 MHz. Пациентът беше поставен да легне с глава, завъртяна на 45° в противоположна посока на изследваната артерия. Измери се дебелината на интима-медия (intima-media thickness, IMT) в мм на далечната стена на общата каротидна артерия двустранно, като се прие средната стойност между двата показателя. За норма се приема cIMT < 1,0 мм (339). Оцени се наличието на плаки и калцификати в стената на артериите. Плаката се дефинира като локализирана протрузия в стената на съда, която 1) навлиза в лумена ≥ 1,5 мм, или 2) има дебелина, която надвишава IMT на съседната част от съда с над 50% (340). С помощта на пулсов - Доплер се определи резистивният индекс на общите каротидни артерии (carotid resistive index, CARI) двустранно с пробен обем от 3 мм и ъгъл на ориентация между 30^0 и 60^0. Крайната систолна (peak systolic velocity, PSV) и крайната диастолна скорост (end diastolic velocity, EDV) на кръвотока се определиха автоматично от вграден софтуер. CARI се изчисли по формулата: RI = PSV – EDV/PSV и се прие средната стойност за двете артерии (339) CARI > 0,70 показва повишена резистентност. За нормални се приемат стойности на PSV < 125 см/сек и EDV < 40 см/сек (339).
5. **Ултразвуково изследване на бъбреците** се проведе в съответно ляво и дясно странично положение на пациента. С помощта на 5 MHz конвексен трансдюсер (C353, 6-2 MHz/R60) се визуализираха бъбреците, като с пулсов Доплер се определи PSV и EDV на паренхимните артерии (аркуатни и интерлобарни) и се изчисли RI на бъбречните артерии (renal RI, RRI). За нормална средна стойност на RRI се прие 0,60, а стойности >0,70 за повишени (367).

Част II

Проспективно проучване

Сърдечно-съдовият риск на участниците беше оценен при включването им в проучването, като пациентите бяха проследени отново в неговия край (2020 година), с контакт по телефона и по възможност с лична среща. Средният период на проследяване възлиза на 4,8 години (2 до 7 години). Регистрира се честотата на

преживените сърдечно-съдови събития (миокарден инфаркт, инсулт) и общата смъртност. Всички случаи бяха документално верифицирани.

Статистическа обработка на данните

За да може да се проведе смислен корелационен и регресионен анализ с достатъчна степен на свобода, ние определихме следната големина на извадката: по 50 участника със ЗД2 за всяка подгрупа на риска (нисък, умерен и висок), т.е. общо 150 пациента, както и приблизително 30 участници в контролната група.

Данните от получените анамнеза и статус бяха включени в електронна база данни в програмата Excel на Microsoft Office версия 2007, след което бяха обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 25.0 и MedCalc Version 14.8.1, от специалист по медицинска статистика към катедра по „Социална медицина“- МУ София. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p<0,05$. Бяха приложени следните методи:

2. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
3. **Вариационен анализ** – за оценка на характеристиките на централната тенденция и статистическото разсейване.
4. **Тест χ^2 и точен тест на Фишер** - за търсене на зависимости между категорийни признаци.
5. **Сравнение на относителни дялове.**
6. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.
7. **Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк** – за проверка на разпределението за нормалност.
8. **Еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA)** – за сравнение на средните аритметични стойности на повече от две независими извадки.
9. **Т-критерий на Стюдънт** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
10. **Непараметричен тест на Крускал-Уолис** - за сравнение на повече от две независими извадки.

11. **Непараметричен тест на Ман-Уитни** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
12. **Корелационен анализ** – за търсене на линейна зависимост между количествени признаци.
13. **ROC curve** – за определяне на прагови стойности при количествени променливи.

    Праговите стойности на показателите бяха определени съгласно:
    Youden index = [maximum (sensitivity + specificity−1).
14. **Критерии за валидизация на скрининг тестове**.

    За оценяване **валидността** на скриниращия (диагностициращия) тест се използваха следните критерии (416):

- Чувствителност;
- Специфичност;
- Положителна предсказваща стойност;
- Отрицателна предсказваща стойност;
- Прецизност (% на верните отговори).

Възможни резултати от теста

Резултати от теста	**Със заболяване**	**Без заболяване**	**Общо**
Положителен	a истински положителни	b фалшиво положителни	a+b
Отрицателен	c фалшиво отрицателни	d истински отрицателни	c+d
Общо	a+c	b+d	a+b+c+d

Чувствителността (Sensitivity) или способността на теста да открива лицата със заболяване, се измерва с вероятността за позитивен тест при скринираните болни лица:

$$Se = \frac{a}{a + c}$$

Специфичността (Specifity) или способността на теста да открива здравите лица, се измерва с вероятността за отрицателен тест при скринираните здрави лица:

$$Sp = \frac{d}{b + d}$$

Положителната предсказваща стойност (Positive predictive value) на теста се измерва с вероятността за наличие на заболяване при лицата с положителен тест:

$$PV = \frac{a}{a + b}$$

Отрицателната предсказваща стойност (Negative predictive value) на теста се измерва с вероятността за отсъствие на заболяване при лицата с отрицателен тест:

$$NV = \frac{d}{c + d}$$

Прецизност (Accuracy) – относителен дял на верните отговори:

$$Ac = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

Резултати

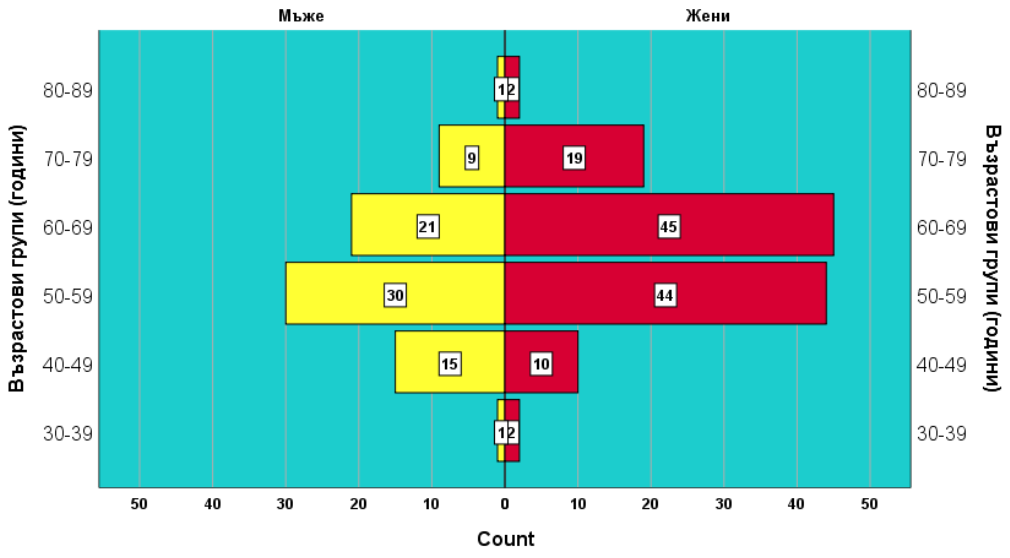
Част I

Срезово проучване

1. Клинични характеристики на изследваната група

В проучването участваха общо 199 участници, от които 77 (38,7%) мъже и 122 (61,3%) жени. *Средната възраст на участниците в проучването е 59,54 ± 9,43 години* в диапазона 33 – 83 години. Участниците бяха причислени към една от следните групи: *контроли* – n = 27 (13,6%); *захарен диабет* – n = 172 (86,4%).

Разпределението им по пол и възраст е представено на Фигура 1.



Фигура 1. Разпределение на изследвания контингент по пол и възрастови групи

С най-голяма численост (30) при мъжете е възрастова група 50-59 години, следвана от 60-69 с 21, а с най-малка (по 1) – 30-39 и 80-89 години. При жените с най-голяма численост (45) е възрастова група 60-69 години, следвани от 50-59 с 44. С най-малка (по 2) – 30-39 и 80-89 години.

Сравнителният анализ показва сигнификантна разлика в средните стойности на възрастта при разпределението по пол, като *жените са по-възрастни със средно 3,3 години* (57,2 ± 9,4 спрямо 60,82 ± 9,2, p=0,016).

Характеристиките на отделните групи са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Демографски и антропометрични характеристики на разглежданите групи

Показател	Група на изследване				P
	Контроли (n=27)		Захарен диабет (n=172)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
Възраст, год.	57,6	7,46	60,4	9,54	0,078
Давност на диабета, год.	-	-	7,4	6,8	-
САН, mmHg	127,5	13	130	20	**0,020**
ДАН, mmHg	80	10	80	10	0,293
BMI, kg/m^2	34,7	5,54	32,8	7,1	0,135
Тегло, kg	96,9	28,3	90,5	27	0,159
Талия, cm	104,5	16	103,5	14,5	0,548
WHR	0,93	0,9	0,97	0,15	0,208
WtHR	0,62	0,09	0,61	0,11	0,322
Fat, %	43,3	5,4	40,2	11,1	0,126

САН- систолно артериално налягане; ДАН – диастолно артериално налягане; WHR – отношение талия/ханш; WtHR – отношение талия/ръст; Fat -процент мазнини;

Двете групи не се различават сигнификантно по възраст и телесни пропорции. Установява се единствено значима разлика по отношение на систолното артериално налягане, което е по-високо в групата със ЗД2.

Биохимичните показатели на двете изследвани групи са представени в Таблица 2.

Таблица 2. Сравнение на биохимичните показатели между разглежданите групи.

Показател	Група на изследване				P
	Контроли (n=27)		Захарен диабет (n=172)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
HbA1c, %	6,0	0,4	7,7	2,6	**0,013**
Общ хол, mmol/l	5,58	1,12	4,99	1,55	0,071
LDL-хол, mmol/l	3,47	0,85	2,91	5,46	**0,011**
HDL-хол, mmol/l	1,14	0,40	1,21	0,30	0,712
non-HDL-хол, mmol/l	4,33	1,1	3,75	1,63	0,083
Триглицериди, mmol/l	1,35	1,27	1,67	1,20	0,262
UA, mcmol/l	380	85,6	314	130	**0,011**
eGFR, ml/min/1,73 m^2	83,1	18,6	87,3	29,1	0,606
ACR, mg/mmol	-	-	0,89	1,89	-

UA – пикочна киселина; ACR – отношение албумин/креатинин в урина;

При пациентите от контролната група се установяват по-високи стойности на LDL-холестерол и пикочна киселина. Не се установява ограничена бъбречна функция от 4 степен (eGFR < 30 ml/min/1.73 m^2) при нито един от изследваните пациенти.

В Таблица 3 е представено честотното разпределение на сърдечно-съдовите рискови фактори по групи.

Таблица 3. Сравнение на честотното разпределение на сърдечно-съдовите рискови фактори по групи

Показател	Група на изследване				P
	Контроли		Захарен диабет		
	n	%	n	%	
Тютюнопушене:					
- Настоящи	3	11,1	23	13,4	0,322
- Бивши	11	40,7	37	21,5	
- Непушачи	13	48,1	112	65,1	
АХ	16	59,3	145	84,3	**0,002**
САН ≥140 mmHg	4	15,4	43	25,0	0,283
Затлъстяване	22	81.5	114	66,3	0,305
Ретинопатия	-	-	22	12,8	-
HbA1c ≥ 7.0%	-	-	110	63,9	-
LDL-хол > 2,6 mmol/l	21	77,8	103	61,4	**0,028**
HDL-хол <1,0 mmol/l (м), <1.3 mmol/l (ж.)	14	51,9	62	38,0	0,184
Тригл. > 1,7 mmol/l	9	33,3	84	49,4	0,159
eGFR, ml/min/1.72 m^2					0,064
- ХБЗ 2 ст. (60 – 89,9)	17	63	78	45,3	-
- ХБЗ 3 ст. (30 – 59.9)	-	-	22	12,79	-

АХ – артериална хипертония; ХБЗ – хронично бъбречно заболяване;

При пациентите със ЗД2 се наблюдава много по-често артериална хипертония, докато в контролната група има по-голям процент на участници с дислипидемия.

В Таблица 4 е представено честотното разпределение на рисковите фактори по пол.

Таблица 4. Честотно разпределение на рисковите фактори по пол

Показател	Група на изследване				P
	мъже		жени		
	n	%	n	%	
Тютюнопушене:					
- Настоящи	13	16,9	13	10,7	**0.007**
- Бивши	26	33,8	22	18	
- Непушачи	38	49,3	87	71,3	
АХ	60	77,9	101	82,8	0,395
САН ≥ 140 mmHg	15	19,5	32	26,4	0,261
Затлъстяване	51	66,2	85	69,7	0,717
Повишена талия	67	87,0	110	93,2	0,143
Повишено WHR	61	79,2	93	78,2	0,895
Давност на ЗД					
• < 5 год	28	38,9	48	48,0	
• 5-10 год	27	37,5	30	30,0	0,462
• ≥10 год	17	23,6	22	22,0	
Ретинопатия	9	11,7	10	10,7	0,821
HbA1c ≥ 7.0%	52	67,5	58	47,5	*0,082*
LDL-хол > 2,6 mmol/l	42	58,3	76	68,5	0,162
HDL-хол <1,0м; <1,3ж	22	29,3	53	70,7	**0,016**
Тригл. > 1,7 mmol/l	39	51,3	54	45,0	0,388
eGFR, ml/min/1.72 m^2					0,064
- ХБЗ 2 ст. (60 – 89,9)	31	40,3	64	52,9	**0,013**
- ХБЗ 3 ст. (30 – 59.9)	5	6,5	17	14,0	
ACR>3 mg/mmol	31	18,2	30	17,6	0,916

АХ – артериална хипертония; ХБЗ – хронично бъбречно заболяване;

Установява се, че повече мъже са бивши или настоящи пушачи и по-малко са непушачи, в сравнение с жените. При жените в 70,7% има по-ниски нива на HDL-холестерол спрямо 29,3% при мъжете (p=0,016). Жените имат по-голяма честота на ограничена бъбречна функция от втора и трета степен.

Честотното разпределение на участниците със ЗД2 по давност на диабета показа, че с *най-голяма численост са пациентите със ЗД2 под 5-годишна давност (76)*, следван от 5 до 10-годишна давност (57), а най-малко са (39) с над 10-годишна давност.

2. Изчислен сърдечно-съдов риск по моделите FRS, UKPDS Risk Engine v2.0, ADVANCE Risk Engine, SCORE

Таблица 5 обобщава данните за резултатите от изчисления сърдечно-съдов риск според калкулаторите FRS, SCORE, UKPDS и ADVANCE.

Таблица 5. Изчислен сърдечно-съдов риск по FRS, SCORE, UKPDS Risk Engine v2.0, ADVANCE Risk Engine при ЗД2 и контроли

Показател	Група на изследване				P
	Контроли (n=27)		Захарен диабет (n=172)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
FRS, %	3,15	5,2	6,5	10,2	**0,001**
SCORE, %	1,0	2,0	4,0	4,0	**<0.001**
UKPDS, CHD	6,1	6,4	16,7	14,3	**<0.001**
UKPDS, f. CHD	2,1	2,6	11,0	10,7	**<0.001**
UKPDS, Stroke	2,1	2,5	8,2	9,4	**<0.001**
UKPDS, f. Stroke	0,3	0,3	1,2	1,5	**<0.001**
ADVANCE, %	0,9	0,7	3,1	3,0	**<0.001**

Пациентите със ЗД2 имат сигнификантно по-висок изчислен сърдечно-съдов риск по всички модели (FRS, SCORE, UKPDS и ADVANCE) спрямо контролите.

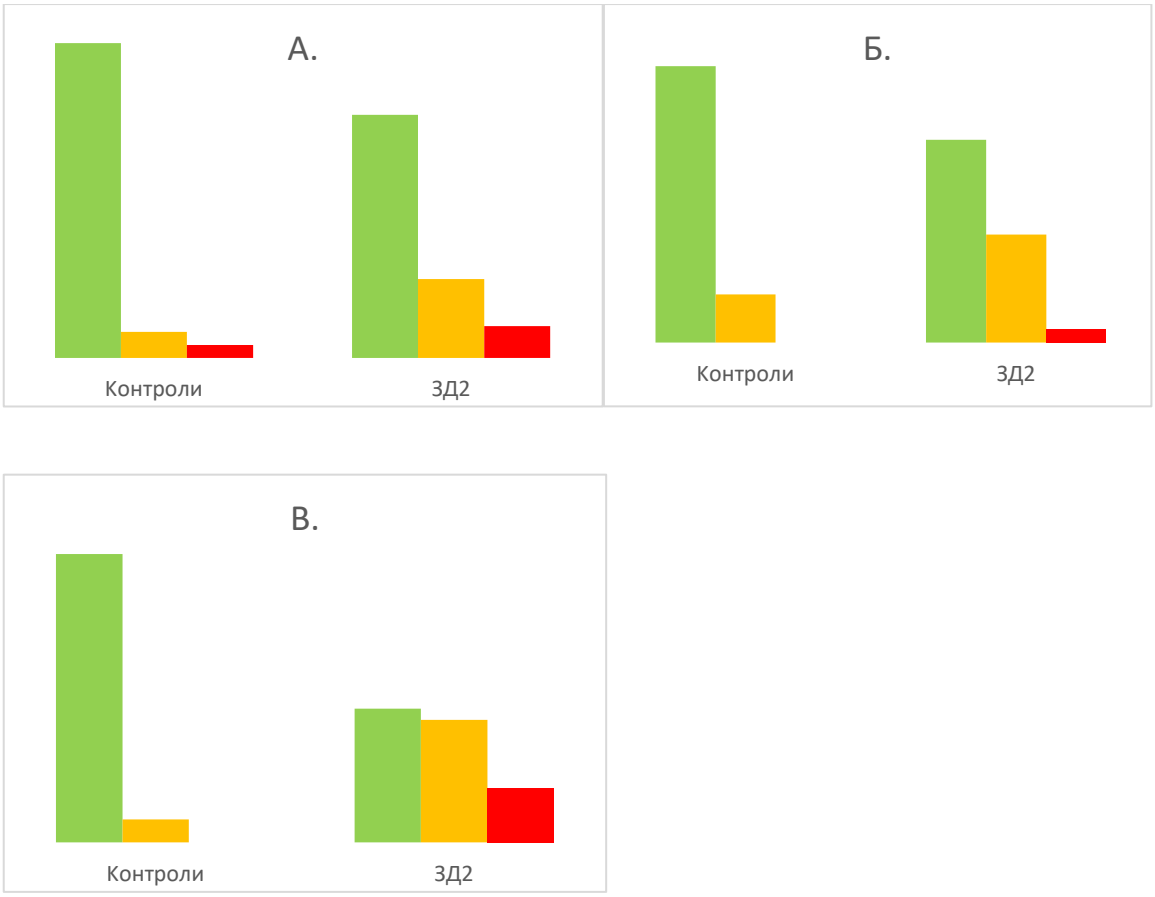
На Таблица 6 е представено честотното разпределение на изчисления сърдечно-съдов риск по пол в групата със ЗД2.

Таблица 6. Изчислен сърдечно-съдов риск по FRS, SCORE, UKPDS Risk Engine v2.0, ADVANCE Risk Engine по пол при пациентите със ЗД2

Показател	Захарен диабет 2				P
	мъже (n=72)		жени (n=100)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
FRS, %	13,1	11,3	4,7	4,8	**<0,001**
SCORE, %	4,0	4,0	3,0	4,0	**<0.001**
UKPDS, CHD	22,4	18,7	13,7	9,1	**<0.001**
UKPDS, f. CHD	14,5	17,9	9,8	7,7	**<0.001**
UKPDS, Stroke	8,2	13,6	8,2	7,9	0,474
UKPDS, f. Stroke	1,3	2,1	1,2	1,3	0,551
ADVANCE, %	3,3	4,6	3,0	2,9	***0,053***

Както се вижда от таблицата, **мъжете имат по-висок изчислен риск според FRS, SCORE, UKDPS за нефатални и фатални коронарни събития**, в сравнение с жените. Не се установява разлика между половете по отношение на риска от нефатален и фатален инсулт според UKPDS, а за *изчисления риск по ADVANCE се установява гранична сигнификантност* ($p<0,1$).

Честотното разпределение на изчисления риск от коронарни съдови събития по групи (ЗД2 и контролна група) е представено на Фигура 2.



Фигура 2. Честотно разпределение на изчисления риск от коронарни съдови събития при пациентите със ЗД2 и контроли според: А. FRS; Б. SCORE; В. UKPDS за коронарни съдови събития (в зелено – нисък риск; жълто – умерен риск; червено – висок риск).

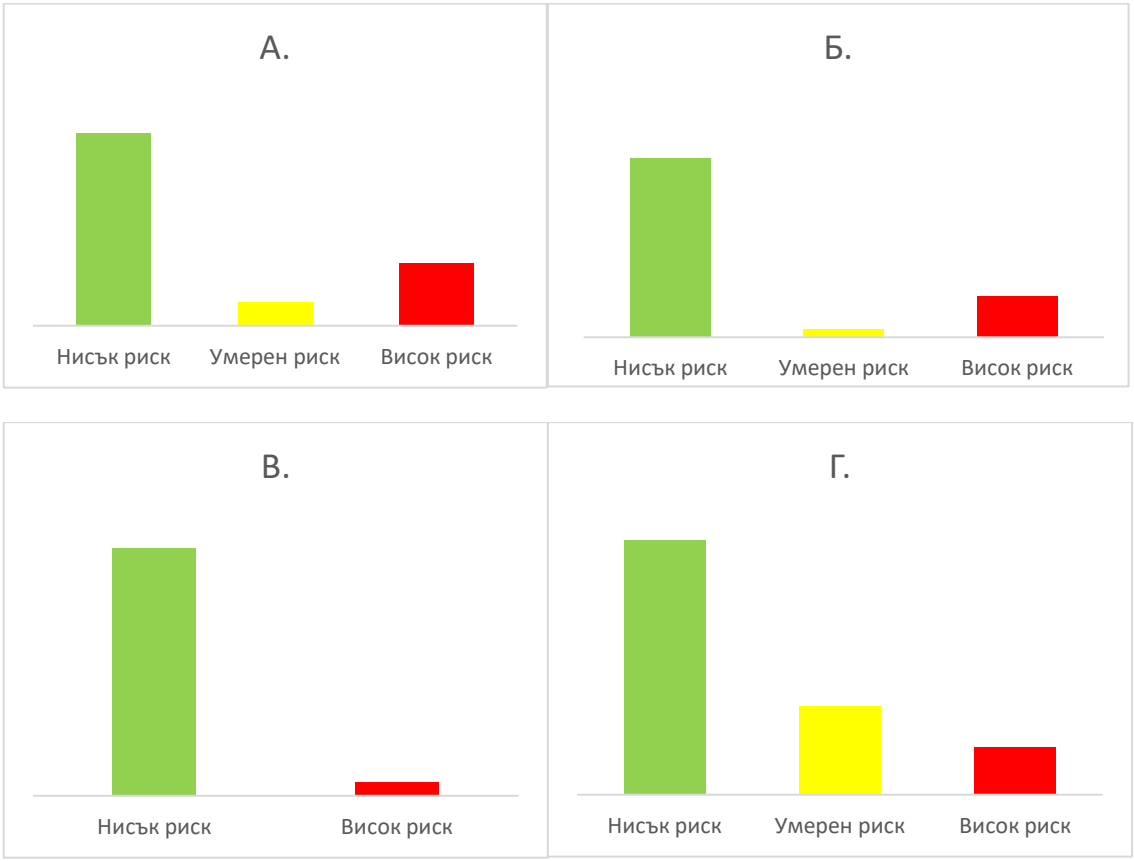
Честотното разпределение на групите на риска според FRS показва, че в контролната група най-голям дял се пада на участниците с нисък риск – 24 (89%), а в групите с умерен и висок риск има съответно по 2 (7,4%) и 1 участник (3,7%). *В групата със ЗД2 най-голям брой са участниците с нисък риск – 114 (68,7%)*, след което с умерен риск – 37 (22,3%) и висок риск – 15 (9,0%). (Фигура 2, А.).

В контролната група няма пациенти с изчислен висок риск от фатални съдови събития *по SCORE*, а най-многобройни са тези с нисък риск – 23 (85,2%), следвани от тези с умерен риск – 4 (14,8%). **В групата със ЗД2 най-многобройни са пациентите с нисък риск** – 105 (62,5%), следвани от тези с умерен риск – 56 (33,3%), а най-малко са пациентите с висок риск – 7 (4,2%). (Фигура 2, Б.)

При участниците от контролната група има само 2 (7,4%), които имат умерен изчислен риск за коронарни-съдови събития *според UKPDS*, като всички останали са

с нисък риск. **В групата със ЗД2 пациентите с нисък и умерен риск са разпределени почти по равно (съответно 71 (43%) и 65 (39,4%))**, а тези с висок риск са 29 (17,6%). (Фигура 2, В.)

Всички пациенти от контролната група имат изчислен нисък риск за фатални коронарни съдови събития, инсулт и фатален инсулт по UKPDS, както и за сърдечно-съдови събития според ADVANCE.



Фигура 3. Честотно разпределение на риска в групата на пациентите със ЗД2: А. За фатални коронарни съдови събития по UKPDS; Б. За инсулт по UKPDS; В. За фатален инсулт по UKPDS; Г. За значими сърдечно-съдови събития по ADVANCE. (зелено – нисък риск; жълто – умерен риск; червено – висок риск).

На Фигура 3А. и Б. се вижда, че при пациентите със ЗД2, броят на пациентите с нисък риск от фатални коронарни инциденти и инсулт е най-многоброен (съответно 114 (69,1%) и 129 (78,2%)), следван от тези с висок риск (съответно 37 (22,4%) и 30 (18,2%)), а **най-малко са тези с умерен риск** (съответно 14 (8,5%) и 6 (3,6%)). *Пациентите със ЗД2 се разделят на две групи според риска от фатален инсулт – с*

нисък (163 (99,4%)) и висок риск (1 (0,6%)) (Фигура 3, В). Честотното разпределение на изчисления риск *според ADVANCE* при пациентите със ЗД2 показва, че **най-многобройни са пациентите с нисък риск (112, (65,1%)),** следвани от тези с умерен риск (39 (22,7%)) и висок риск (21 (12,2%)).

На Таблица 7 е представено честотното разпределение на рисковите категории, разпределени по пол.

Таблица 7. Честотно разпределение на риска по пол при пациентите със ЗД2

Показател	**Захарен диабет тип 2**				**P**
	Мъже		Жени		
	n	%	n	%	
FRS:					
• Нисък	30	42,8	84	87,5	**<0,001**
• Умерен	27	38,6	10	10,4	
• Висок	13	18,6	2	2,1	
SCORE					
• Нисък	35	50,0	70	72,9	
• Умерен	28	40,0	28	29,1	**0,001**
• Висок	7	10,0	0	0	
UKDPS, CHD					
• Нисък	19	27,1	53	55,2	
• Умерен	30	42,9	35	36,5	**<0,001**
• Висок	21	30,0	8	8,3	
UKPDS, f. CHD					
• Нисък	36	51,4	78	81,3	
• Умерен	7	10	7	7,3	**<0,001**
• Висок	27	38,6	11	11,4	
UKPDS, Stroke					
• Нисък	51	72,9	79	82,3	
• Умерен	3	4,3	3	3,1	0,317
• Висок	16	22,8	14	14,6	
UKPDS, f. Stroke					
• Нисък	70	100,0	95	99,0	0,393
• Висок	0	0	1	1,0	
ADVANCE					
• Нисък	42	58,3	70	70,0	
• Умерен	16	22,2	23	23,0	**0,045**
• Висок	14	19,5	7	7,0	

Вижда се, че мъжете със ЗД2 по-често се класифицират в категория с умерен и висок риск според FRS, SCORE, UKPDS за нефатални и фатални коронарни инциденти. Няма разлика в категорията на риска от фатален и нефатален инсулт между половете. **Мъжете по-често се класифицират във високорисковата група *според ADVANCE*, но няма разлика между половете в категорията с умерен риск.**

3. Нива на биомаркерите NT-proBNP, ADMA, ET-1, PlGF и сравнителното им разпределение по групи

3.1. Сравнителен анализ по групи при пациенти със ЗД2 и контроли

Таблица 8 обобщава данните от сравнителния анализ на изследваните биомаркери между пациентите със ЗД2 и контролната група.

Таблица 8. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи

Показател	**Група на изследване**				**P**
	Контроли (n=27)		Захарен диабет (n=172)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA, µmol/l	0,61	0,10	0,62	0,17	0,709
ET-1, pg/ml	5,07	2,28	17,08	12,52	**0,002**
NT-proBNP, pg/ml	78,98	73,31	215,30	403,72	0,236
PlGF, pg/ml	15,96	4,79	16,09	4,30	0,738

Установява се сигнификантна разлика между групите на изследване по разглежданите маркери ***единствено за ET-1***, като **пациентите със ЗД2 имат значимо по-висока средна стойност.**

Таблица 9. Сравнителен анализ на изследваните маркери по полова принадлежност

Показател	Пол				P
	Мъже (n=77)		Жени (n=122)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA, µmol/l	0,59	0,15	0,64	0,18	**0,022**
ET-1, pg/ml	15,07	12,22	17,21	12,63	0,215
NT-proBNP, pg/ml	203,43	358,27	204,58	409,40	0,172
PlGF, pg/ml	16,31	4,53	15,94	4,18	0,437

Резултатите от Таблица 9 показват, че **двата пола се различават само по маркера ADMA,** имащ статистически достоверно *по-висока средна стойност при жените*.

В Таблица 10 са обобщени данните от сравнителния анализ на биомаркерите по BMI категории.

Таблица 10. Сравнителен анализ на изследваните маркери по BMI групи

BMI	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P		
					2	3	4
1. Нормален	ADMA	14	0,67[a]	0,24	0,427	0,539	0,666
2. Наднормен		49	0,60[a]	0,12		0,776	0,667
3. Затлъстяване I ст.		72	0,61[a]	0,18			0,946
4. Затлъстяване II ст.		64	0,62[a]	0,17			
1. Нормален	ET-1	14	23,53[a]	13,04	***0,083***	0,145	**0,008**
2. Наднормен		49	16,51[ac]	13,43		0,426	0,325
3. Затлъстяване I ст.		72	21,14[a]	29,47			**0,038**
4. Затлъстяване II ст.		64	12,99[bc]	11,00			
1. Нормален	NT-proBNP	14	166,54[a]	244,12	0,561	0,812	0,809
2. Наднормен		49	203,22[a]	349,02		0,742	0,648
3. Затлъстяване I ст.		72	234,69[a]	473,52			0,925
4. Затлъстяване II ст.		64	178,59[a]	340,77			
1. Нормален	PlGF	14	16,39[a]	3,05	0,394	0,415	0,503
2. Наднормен		49	15,88[a]	4,27		0,888	0,708
3. Затлъстяване I ст.		72	15,93[a]	4,57			0,752
4. Затлъстяване II ст.		64	16,36[a]	4,41			

В колоните 2, 3 и 4 са дадени стойности на p при сравнение с подгрупа 1 (норма)
* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)

Сигнификантна разлика между категориите на BMI се установява единствено за маркера ET-1. **Пациентите с BMI > 35 kg/m^2 имат значимо по-ниска средна стойност** спрямо тези с нормално тегло и затлъстяване I ст., но не и спрямо

пациентите с наднормено тегло, чиято средна стойност не се различава статистически от тези на останалите подгрупи.

Таблица 11. Сравнителен анализ на изследваните маркери по изчислена бъбречна функция с eGFR-MDRD

eGFR-group	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Норма		82	0,60[a]	0,15	1-2=0,659
2. ХБЗ 2 ст.	ADMA	95	0,61[a]	0,18	1-3=***0,082***
3. ХБЗ 3 ст.		22	0,67[a]	0,18	2-3=0,141
1. Норма		82	15,56[a]	10,31	1-2=0,646
2. ХБЗ 2 ст.	ET-1	95	18,52[a]	27,04	1-3=0,232
3. ХБЗ 3 ст.		22	20,86[a]	14,83	2-3=0,143
1. Норма		82	118,60[a]	206,76	1-2=0,126
2. ХБЗ 2 ст.	NT-proBNP	95	205,17[b]	392,70	1-3<**0,001**
3. ХБЗ 3 ст.		22	488,13[c]	646,04	2-3<**0,001**
1. Норма		82	16,86[a]	4,81	1-2=***0,074***
2. ХБЗ 2 ст.	PlGF	95	15,56[a]	3,95	1-3=0,314
3. ХБЗ 3 ст.		22	15,72[a]	3,80	2-3=0,804

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)
** - категориите с брой на случаите под 8 не участват в анализа поради липса на статистическа представителност

Статистически значима разлика **между категориите на гломерулната филтрация се установява единствено за маркера NT-proBNP** (Таблица 11). При средните стойности на изследвания маркер се наблюдава *сигнификантна тенденция на нарастване от категорията с нормална бъбречна функция към категорията с ХБЗ 2 ст. и достига най-високи стойности в групата с ХБЗ 3 ст.* При маркера ADMA разликата между средните стойности в групата нормална бъбречна функция и ХБЗ 3 ст. е с гранична сигнификантност ($p<0,1$). По отношение на PlGF разликата между средните стойности в групите с нормална бъбречна функция и ХБЗ 2 ст. също е с гранична сигнификантност ($p<0,1$).

В Таблица 12, Таблица 13 и Таблица 14 е представено разпределението на маркерите по групи според нивата на LDL-холестерола, наличието на артериална хипертония и систолното артериално налягане.

Таблица 12. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според LDL-холестерол

Показател	LDL-холестерол				P
	Норма (n=75)		Повишен (n=124)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,61	0,15	0,62	0,18	0,525
ET-1	18,06	13,34	17,84	24,90	0,335
NT-proBNP	299,50	525,96	154,27	301,47	**0,040**
PlGF	16,28	3,85	15,70	4,55	0,212

Вижда се, че статистически достоверна разлика **между групите с нормален и повишен LDL-холестерол се установява единствено за NT-proBNP**, като значимо *по-висока средна стойност имат пациентите с LDL-холестерол в норма*.

Таблица 13. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според наличието на артериална хипертония

Показател	Артериална хипертония				P
	Не (n=41)		Да (n=158)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,55	0,11	0,63	0,18	***0,058***
ET-1	13,77	13,38	18,31	21,55	0,143
NT-proBNP	79,60	125,12	230,52	420,03	**0,004**
PlGF	15,83	4,23	16,13	4,34	0,581

Участниците с артериална хипертония имат значимо по-високи стойности на маркерите ADMA и NT-proBNP (Таблица 13). Разликата при ADMA е с гранична сигнификантност ($p<0,1$).

Таблица 14. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според систолно артериално налягане

Показател	Систолно артериално налягане				P
	Нормално (n=152)		Повишено (n=47)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,19	0,60	0,09	0,848
ET-1	18,54	22,40	15,27	14,47	0,206
NT-proBNP	191,27	363,16	247,32	464,03	***0,050***
PlGF	16,06	4,19	16,19	4,74	0,879

Единствената разлика между групите с нормално и повишено систолно артериално налягане с гранична сигнификантност ($p<0,1$) се наблюдава при маркера NT-proBNP (Таблица 14). По-високата средна стойност е на хипертониците.

Изследва се зависимостта между нивата на по-малко валидираните биомаркери (ET-1, ADMA, PlGF) с тези на вече утвърдения NT-proBNP, за да се определи дали повишението на маркерите е успоредно и засяга всички от тях. Резултатите са представени в Таблица 15.

Таблица 15. Сравнителен анализ на ADMA, PlGF, ET-1 според групи по нивата на NT-proBNP (нормален < 125 pg/ml или повишен ≥ 125 pg/ml)

Показател	NT-proBNP				P
	Нормален (n=119)		Повишен (n=80)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,61	0,18	0,62	0,14	0,407
ET-1	13,67	10,56	21,84	14,26	**0,001**
PlGF	15,36	4,30	17,43	4,04	**0,001**

Таблица 15 показва, че **при повишение на NT-proBNP се очаква и такова на ET-1 и PlGF, но не и на ADMA**.

3.2. Сравнителен анализ на биомаркерите по групи при пациентите със ЗД2 – според основните сърдечно-съдови рискови фактори (пол, давност на диабета и т.н.)

- *По пол (Таблица 16)*

Таблица 16. Сравнителен анализ на изследваните маркери по полова принадлежност при пациентите със захарен диабет

Показател	Пол				P
	Мъже (n=72)		Жени (n=100)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,59	0,15	0,64	0,19	**0,024**
ET-1	15,39	12,31	18,20	12,60	0,123
NT-proBNP	207,66	364,35	220,63	430,77	0,163
PlGF	16,25	4,48	15,98	4,19	0,520

На Таблица 16 се вижда, че единствено при ADMA има сигнификантна разлика между диабетиците от двата пола. По-високата средна стойност е при жените.

- *По давност на диабета (Таблица 17)*

Таблица 17. Сравнителен анализ на изследваните маркери по давност на диабета

Давност на диабета	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Под 5 години	ADMA	76	0,64[a]	0,20	1-2=**0,045**
2. 5 – 10 години		57	0,57[bc]	0,12	1-3=0,746
3. Над 10 години		39	0,64[ac]	0,18	2-3=***0,053***
1. Под 5 години	ET-1	76	17,91[a]	27,43	1-2=0,228
2. 5 – 10 години		57	18,32[a]	13,69	1-3=0,127
3. Над 10 години		39	20,11[a]	13,62	2-3=0,623
1. Под 5 години	NT-proBNP	76	135,78[a]	204,97	1-2=0,108
2. 5 – 10 години		57	284,09[a]	547,48	1-3=0,202
3. Над 10 години		39	268,80[a]	429,50	2-3=0,902
1. Под 5 години	PlGF	76	16,35[a]	4,67	1-2=0,377
2. 5 – 10 години		57	15,55[a]	3,70	1-3=0,972
3. Над 10 години		39	16,45[a]	4,44	2-3=0,425

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)

От Таблица 17 става ясно, че **интервалите за давност на диабета се различават статистически значимо само при ADMA**. Средната стойност на маркера за интервала 5-10 години е сигнификантно по-ниска от тази на интервала под 5 години, но не и от тази на интервала над 10 години, която е статистически неразличима от тези на останалите две подгрупи.

- *Според стойностите на HbA1c (Таблица 18)*

Таблица 18. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи на HbA1c (нормален < 7%, повишен ≥ 7%)

Показател	HbA1c				P
	Нормален (n=62)		Повишен (n=110)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA, µmol/l	0,64	0,18	0,61	0,17	0,223
ET-1, pg/ml	22,03	30,91	16,34	12,73	0,228
NT-proBNP, pg/ml	186,79	267,63	228,10	462,20	0,334
PlGF, pg/ml	16,32	3,92	16,04	4,51	0,503

От Таблица 18 става ясно, че имащите нормален и повишен HbA1c не се различават сигнификантно по нито един от изследваните маркери.

- *Според наличието на тютюнопушене (Таблица 19)*

Таблица 19. Сравнителен анализ на изследваните маркери по тютюнопушене при пациентите със захарен диабет

Тютюнопушене	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Непушач	ADMA	109	0,63[a]	0,18	1-2=**0,016**
2. Бивш		36	0,55[b]	0,12	1-3=0,426
3. Активен		22	0,65[a]	0,18	2-3=**0,023**
1. Непушач	ET-1	109	18,81[a]	12,98	1-2=0,457
2. Бивш		36	19,97[a]	11,11	1-3<**0,001**
3. Активен		22	5,71[b]	3,03	2-3<**0,001**
1. Непушач	NT-proBNP	109	209,70[a]	392,72	1-2=0,763
2. Бивш		36	265,51[a]	506,01	1-3=0,403
3. Активен		23	163,28[a]	256,27	2-3=0,442
1. Непушач	PlGF	109	16,09[a]	4,37	1-2=0,228
2. Бивш		36	16,79[a]	3,87	1-3=0,607
3. Активен		22	15,06[a]	4,56	2-3=0,151

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

Статистически достоверно различие между установените категории на показателя тютюнопушене може да са направи посредством маркерите ADMA и ET-1 (Таблица 19). Бившите пушачи имат сигнификантно по-ниска средна стойност на ADMA спрямо тези на останалите две категории, които не се различават статистически помежду си. При маркера ET-1 значимо по-ниска средна стойност спрямо тези на останалите две категории (които не се различават статистически помежду си) се установява при активните пушачи.

- *По наличието на ретинопатия (Таблица 20)*

Таблица 20. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според наличието на ретинопатия при пациентите със захарен диабет

Показател	Ретинопатия				P
	Не (n=153)		Да (n=19)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,17	0,61	0,17	0,746
ET-1	17,62	12,68	12,32	10,10	0,110
NT-proBNP	218,27	424,05	195,65	232,55	0,364
PlGF	16,07	4,46	16,24	3,06	0,514

Четирите изследвани маркери не се различават при имащите и нямащите ретинопатия пациенти със захарен диабет (Таблица 20).

- *По наличието на артериална хипертония (Таблица 21)*

Таблица 21. Сравнителен анализ на изследваните маркери по артериална хипертония при пациентите със захарен диабет

Показател	Артериална хипертония				P
	Не (n=27)		Да (n=145)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,56	0,11	0,63	0,18	0,138
ET-1	14,86	13,61	17,41	12,37	0,276
NT-proBNP	84,19	137,89	239,31	431,19	**0,007**
PlGF	16,04	4,37	16,10	4,31	0,760

От Таблица 21 става ясно, че единствено *при NT-proBNP* има статистически значимо различие между групите с и без артериална хипертония, като **хипертоницитие имат по-високата средна стойност.**

3.3. Сравнителен анализ на изследваните маркери според изчисления сърдечно-съдов риск по FRS, UKPDS, ADVANCE и SCORE

В този раздел са показани разликите между средните стойности на биомаркерите в подгрупите с нисък, умерен или висок риск според различните калкулатори. Таблица 22 показва сравнителен анализ според риска по ADVANCE, Таблица 23 – според UKPDS, Таблица 24 – според FRS и Таблица 25 – според SCORE.

Таблица 22. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според изчисления сърдечно-съдов риск според ADVANCE Risk Engine

ADVANCE RE	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Нисък риск		139	0,60[a]	0,16	1-2=0,298
2. Умерен риск	ADMA	39	0,62[a]	0,11	1-3=0,439
3. Висок риск		21	0,67[a]	0,29	2-3=0,952
1. Нисък риск		139	18,07[a]	23,69	1-2=0,965
2. Умерен риск	ET-1	39	16,26[a]	12,20	1-3=**0,023**
3. Висок риск		21	25,19[b]	15,03	2-3=**0,044**
1. Нисък риск		139	130,41[a]	205,16	1-2=**0,005**
2. Умерен риск	NT-proBNP	39	350,76[b]	634,44	1-3<**0,001**
3. Висок риск		21	410,82[b]	524,19	2-3=0,254
1. Нисък риск		139	16,37[a]	4,39	1-2=0,137
2. Умерен риск	PlGF	39	15,13[a]	3,75	1-3=0,805
3. Висок риск		21	16,37[a]	4,70	2-3=0,342

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)

Както се вижда от Таблица 22, *статистически значима разлика между групите на риска по ADVANCE се открива единствено за маркерите ET-1 и NT-proBNP*. **Средната стойност на ET-1 е сигнификантно по-висока в групата с висок риск спрямо останалите две групи**, които не се различават статистически помежду си по стойностите на този маркер. **По отношение на NT-proBNP, средната му стойност е сигнификантно по-ниска в групата с изчислен нисък риск спрямо останалите**

две групи, които не се различават статистически помежду си по стойностите на този маркер.

Таблица 23. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според UKPDS Risk Engine v2.0

UKPDS	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Нисък риск	ADMA	96	0,62[a]	0,18	1-2=0,697
2. Умерен риск		67	0,60[a]	0,12	1-3=0,601
3. Висок риск		29	0,63[a]	0,24	2-3=0,834
1. Нисък риск	ET-1	96	21,60[a]	28,84	1-2=0,290
2. Умерен риск		67	16,12[a]	11,93	1-3=0,473
3. Висок риск		29	16,88[a]	14,05	2-3=0,948
1. Нисък риск	NT-proBNP	96	171,01[a]	374,90	1-2=0,378
2. Умерен риск		67	232,24[ac]	417,13	1-3=**0,027**
3. Висок риск		29	319,57[bc]	468,54	2-3=0,132
1. Нисък риск	PlGF	96	15,92[a]	4,32	1-2=0,149
2. Умерен риск		67	16,68[a]	4,01	1-3=0,807
3. Висок риск		29	15,66[a]	4,90	2-3=0,232

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)

Статистически достоверно различие между категориите на UKPDS Risk Engine v2.0 се установява единствено за маркера NT-proBNP (Таблица 23) - средната стойност на изследвания маркер при **имащите повишен риск е значимо по-висока** от тази на имащите нисък риск, но не и спрямо пациентите с умерен риск, които не се различават статистически от останалите две групи.

Таблица 24. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи на риска според FRS

FRS	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Нисък риск	ADMA	138	0,60[a]	0,14	1-2=0,435
2. Умерен риск		39	0,64[a]	0,18	1-3=0,636
3. Висок риск		16	0,58[a]	0,06	2-3=0,347
1. Нисък риск	ET-1	138	18,50[a]	23,49	1-2=0,994
2. Умерен риск		39	16,89[a]	12,62	1-3=0,369
3. Висок риск		16	15,13[a]	15,31	2-3=0,487

1. Нисък риск	NT-proBNP	138	194,87[a]	399,95	1-2=0,315
2. Умерен риск		39	205,43[a]	311,36	1-3=0,521
3. Висок риск		16	313,06[a]	520,50	2-3=0,912
1. Нисък риск	PlGF	138	16,27[a]	4,18	1-2=0,604
2. Умерен риск		39	16,49[a]	4,13	1-3=0,136
3. Висок риск		16	14,42[a]	5,63	2-3=0,111

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

Резултатите от Таблица 24 показват, че четирите изследвани маркери *не дават възможност за статистически достоверно различаване на категориите на показателите за риска по FRS.*

Таблица 25. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групите на риска според SCORE

SCORE	Маркер	n	$\overline{X}$	SD	P
1. Нисък риск	ADMA	128	0,62[a]	0,19	1-2=0,667
2. Умерен риск		60	0,62[a]	0,14	1-3= -
3. Висок риск		7	0,59	0,08	2-3= -
1. Нисък риск	ET-1	128	18,92[a]	23,96	1-2=0,981
2. Умерен риск		60	17,68[a]	13,99	1-3= -
3. Висок риск		7	5,26	1,61	2-3= -
1. Нисък риск	NT-proBNP	128	160,20[a]	311,51	1-2<**0,001**
2. Умерен риск		60	319,24[b]	530,56	1-3= -
3. Висок риск		7	168,32	201,78	2-3= -
1. Нисък риск	PlGF	128	15,92[a]	3,97	1-2=0,570
2. Умерен риск		60	16,34[a]	4,66	1-3= -
3. Висок риск		7	16,32	5,65	2-3= -

* еднаквите букви по вертикалите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05); ** - категориите с брой на случаите под 8 не участват в анализа поради липса на статистическа представителност

По отношение на групите на риска по SCORE - единствено **при NT-proBNP се установява статистически значима разлика между категориите нисък и умерен риск.** По-високата средна стойност е на имащите умерен риск по SCORE (Таблица 25).

4. Показатели от ултразвуково изследване на сърце, каротидни и бъбречни артерии

4.1. Описателна статистика на резултатите от ехокардиографското изследване, ултразвука на каротидните и бъбречните артерии при изследваните групи

Сравнението на ехографските показатели при пациентите със ЗД2 спрямо контролната група е представено на Таблица 26.

Таблица 26. Описание и сравнение на ултразвуковите показатели: RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, Е-вълна, E/A, Em, E/Em при пациентите със ЗД2 и контролите

Показател	Група на изследване				P
	Контроли (n=27)		ЗД2 (n=44)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
RRI	0,64	0,04	0,69	0,06	**<0,001**
CARI	0,66	0,04	0,73	0,05	**<0,001**
cIMT, mm	0,75	0,10	0,93	0,12	**<0,001**
ФИ, %	70,22	3,12	68,21	3,76	**0,032**
ФС, %	39,95	2,68	38,04	3,22	**0,018**
LVMI, g/m^2	95,60	21,91	124,87	31,43	**<0,001**
DT, msec	207,48	36,61	244,12	28,26	**<0,001**
Е-вълна, cm/sec	71,39	13,23	67,21	14,06	0,316
E/A	1,06	0,31	0,90	0,19	0,105
Em, cm/sec	12,14	3,84	8,81	2,94	**0,001**
E/Em	6,31	1,80	8,38	2,94	**0,001**

Както се вижда от Таблица 26, *статистически достоверна разлика между пациентите със захарен диабет и контролите се установява при всички изследвани ехографски показатели без Е-вълна и E/A*. Пациентите със захарен диабет имат значимо по-високи средни стойности при показателите RRI, CARI, IMT, LVMI, DT и E/Em, а контролите при ФИ, ФС и Em.

Честотното разпределение на абнормните стойности на ехографските показатели в двете групи е представено на Таблица 27.

Таблица 27. Честотно разпределение на абнормните стойности на ехографските показатели по групи

Показател	Група на изследване				P
	Контроли		Захарен диабет		
	n	%	n	%	
cIMT > 1 mm	0	0	17	38,6	**<0.001**
Наличие на плака	8	29,6	27	61,4	**0,039**
CARI > 0,70	3	11,1	30	68,2	**<0.001**
RRI > 0,70	1	3,7	19	43,2	**0,001**
ЛКХ	11	40,7	30	68,2	0,104
E/A					
• <0.75	4	14,8	8	18,2	0,145
• ≥ 1,5	2	7,4	0	0	
DT > 220 msec	6	22,2	34	77,3	**<0.001**
Em <8 cm/sec	2	7,4	16	36,4	**0,013**
E/Em ≥ 10	1	3,7	12	27,3	**0,022**
Трансмитрален кръвоток					
• нормален	23	85,2	24	54,5	0,019
• нарушена релаксация	4	14,8	8	18,2	0,903
• псевдонормален	0	0	12	27,3	**0,005**

АХ – артериална хипертония; ХБЗ – хронично бъбречно заболяване;

Вижда се, че **пациентите със ЗД2 имат по-голяма честота на каротидните плаки и повишени стойности на cIMT, резистивния индекс на бъбречните и каротидните артерии (RRI и CARI), в сравнение с контролите**.

Всички участници в проучването са със запазена систолна функция (ФИ > 50% и ФС>25%). Не се установява разлика в честотата на левокамерна хипертрофия и съотношението E/A. *При пациентите със ЗД2* има значително по-често **удължено време на децелерация (DT) спрямо контролите**. **По-голяма е честотата на абнормните показатели за диастолна дисфункция – Em и E/Em**, при пациентите със ЗД2. **При по-голяма част от диабетиците има изменения в налягането на ЛК пълнене по типа на нарушена релаксация (18,2%) и псевдонормален тип (27,3%).**

В контролната група почти всички пациенти са с нормално налягане на ЛК пълнене (85,2%), и само 4 от тях имат нарушена релаксация на ЛК (14,8%), а псевдонормален тип на ЛК пълнене не се среща. *И в двете групи не се установява рестриктивен тип на ЛК пълнене.*

Анализ на честотното разпределение на ехографските показатели според гликемичния контрол (HbA1c) е представен на Таблица 28.

Таблица 28. Разпределение на ехографските показатели по групи според HbA1c

Показател	**HbA1c**				**P**
	<7,0%		≥7,0%		
	n	%	n	%	
cIMT > 1 mm	3	16,7	14	46,7	**0.035**
Наличие на плака	8	44,4	20	66,7	0,131
CARI > 0,70	9	50,0	21	70,0	0.166
RRI > 0,70	5	27,8	14	46,7	0,195
ЛКХ	11	61,1	22	73,3	0,376
E/A					
• <0.75	3	16,7	5	17,2	0,439
• ≥ 1,5	1	5,6	0	0	
DT > 220 msec	8	47,1	27	93,1	**<0.001**
Em <8 cm/sec	1	5,6	15	51,7	**0,001**
E/Em ≥ 10	2	11,1	10	34,5	0,074
Трансмитрален кръвоток					
• нормален	13	72,2	14	48,3	0,106
• нарушена релаксация	3	16,7	5	17,2	0,959
• псевдонормален	2	11,1	10	34,5	0,074

АХ – артериална хипертония; ХБЗ – хронично бъбречно заболяване;

От Таблица 28 се вижда, че **пациентите с HbA1c ≥7,0% много по-често имат IMT>1 мм (46,7%), удължено DT > 220 msec (93,1%) и скъсена Em-вълна < 8 cm/sec.**
На Таблица 29 е представено честотното разпределение на ехографските показатели според давността на ЗД2.

Таблица 29. Разпределение на ехографските показатели според давността на диабета

Показател	Давност на диабета						P
	<5 год		5-10 год		≥10 год		
	n	%	n	%	n	%	
cIMT > 1 mm	9	42,9	6	40,0	2	25,0	0,671
Плака	13	61,9	8	53,3	6	75,0	0,595
CARI > 0,70	11	52,4	11	73,3	8	100,0	**0,042**
RRI > 0,70	3	14,3	10	66,7	6	75,0	**0,001**
ЛКХ	12	57,1	11	73,3	7	87,5	0,254
E/A <0.75	5	25,0	1	6,7	2	25,0	0,439
DT > 220 msec	14	73,7	12	80,0	8	100	0,281
Em <8 cm/sec	6	30,0	6	40,0	4	50,0	0,590
E/Em ≥ 10	3	15,0	6	40,0	3	37,5	0,211
Трансмитрален кръвоток							
• нормален	12	60,0	8	53,3	3	37,5	
• нарушена релаксация	5	25,0	1	6,7	2	25,0	0,337
• псевдонормален	3	15,0	6	37,5	3	37,5	

Само по показателите CARI и RRI се установява сигнификантна разлика между групите, като те по-често са повишени при давност на диабета над 5 години.

4.2. Нива на биомаркерите в зависимост от ултразвуковите показатели

Нивата на биомаркерите са обобщени в зависимост от ехографските параметри. Таблица 30 показва анализа в зависимост от наличието/отсъствието на каротидни плаки, Таблица 31 – в зависимост от RRI (нормален/повишен), Таблица 32 – в зависимост от CARI (нормален/повишен). Таблица 33 показва нивата на биомаркерите при нормален или повишен IMT, Таблица 34 – според наличието/отсъствието на левокамерна хипертрофия.

Таблица 30. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според наличието на каротидни плаки

Показател	Каротидни плаки				P
	Не (n=36)		Да (n=35)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,12	0,62	0,11	0,973
ET-1	9,02	7,28	6,34	3,03	0,258
NT-proBNP	85,20	119,86	141,46	212,20	**0,034**
PlGF	17,01	4,51	16,23	3,81	0,761

Маркерът NT-proBNP се оказва статистически достоверно чувствителен по отношение на каротидните плаки – *средната му стойност при имащите такива плаки е значимо по-висока от тази на нямащите* (Таблица 30).

Таблица 31. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според RRI

Показател	RRI				P
	Норма (n=51)		Повишен (n=20)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,61	0,12	0,64	0,11	0,424
ET-1	8,01	6,32	6,52	3,01	0,740
NT-proBNP	104,98	133,38	142,71	248,10	0,657
PlGF	16,76	4,18	16,21	4,01	0,782

Сравнителният анализ на изследваните маркери по групите според RRI и IMT не установи наличие на статистически достоверна разлика (Таблица 31 и Таблица 33).

Таблица 32. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според CARI

Показател	CARI				P
	Норма (n=38)		Повишен (n=33)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,58	0,10	0,64	0,11	0,133
ET-1	9,34	7,81	6,37	2,85	0,461
NT-proBNP	75,79	108,00	150,54	216,91	**0,019**
PlGF	15,91	3,29	16,88	4,46	0,691

Единствената сигнификантна разлика между групите с нормален и повишен CARI се наблюдава **при маркера NT-proBNP**, като *по-високата средна стойност е на имащите повишен CARI.*

Таблица 33. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според IMT

Показател	IMT				P
	Норма (n=54)		Повишен (n=17)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,60	0,11	0,65	0,13	0,240
ET-1	7,74	6,26	6,73	2,00	0,535
NT-proBNP	119,44	198,86	115,80	138,46	0,372
PlGF	16,69	3,70	16,22	4,90	0,378

Таблица 34. Сравнителен анализ на изследваните маркери по според наличието на левокамерна хипертрофия (ЛКХ)

Показател	ЛКХ				P
	Не (n=30)		Да (n=41)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,14	0,62	0,10	0,825
ET-1	7,86	8,09	7,22	3,61	0,281
NT-proBNP	157,12	265,39	100,55	126,10	0,685
PlGF	16,16	3,80	16,70	4,24	0,595

Резултатите от Таблица 34 показват, че четирите изследвани маркери не дават възможност за статистически достоверно различаване на категориите за левокамерна хипертрофия.

5. Корелационен анализ

Резултатите от извършения корелационен анализ за връзката между биомаркерите и ехографските показатели с антропометричните и биохимичните показатели, както и изчисления сърдечно-съдов риск са представени по-долу.

5.1. Корелация на биомаркерите с антропометричните показатели на изследваните групи

Проведеният корелационен анализ между изследваните маркери и показателите възраст, давност на диабета, САН, BMI, тегло, талия, WHR, WtHR, процент мазнини при пациентите със захарен диабет (Таблица 35) показва, че *ADMA и PlGF не корелират с нито един от включените в таблицата показатели*. **ET-1 корелира слабо и еднопосочно с възраст и давност на диабета**, а слабо и разнопосочно с талия, WHR и WtHR. **NT-proBNP корелира единствено с възрастта** - правопропорционално и умерено по сила.

Таблица 35. Корелационни коефициенти между изследваните маркери и показателите възраст, давност на диабета, САН, BMI, тегло, талия, WHR, WtHR, процент мазнини при пациентите със захарен диабет

Показатели	ADMA	ET-1	NT-proBNP	PlGF
Възраст	0,145	**0,258****	**0,497*****	0,020
Давност на диабета	0,008	0,207*	0,142	-0,054
САН	-0,099	0,097	0,151	0,019
BMI	0,048	-0,110	0,002	-0,021
Тегло	-0,124	-0,142	-0,112	0,049
Талия	-0,056	**-0,227****	-0,055	0,004
WHR	-0,021	-0,183*	0,011	0,028
WtHR	0,039	-0,192*	0,024	-0,041
Fat%	0,091	-0,059	-0,012	-0,057

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

5.2. Корелационен анализ на изследваните биомаркери с биохимичните показатели

Проведеният корелационен анализ между изследваните маркери и показателите HbA1c, общ холестерол, триглицериди, LDL-холестерол, HDL-холестерол, non-HDL-холестерол, пикочна киселина, eGFR-MDRD, ACR при пациентите със захарен диабет (Таблица 36) показа, че ADMA не корелира с нито един от включените в таблицата показатели. ET-1 корелира слабо и еднопосочно с HDL-холестерола. NT-proBNP корелира слабо и разнопосочно с триглицеридите, LDL-холестерола и non-HDL-холестерола, слабо и еднопосочно с HDL-холестерола, и обратнопропорционално и умерено по сила с eGFR-MDRD. PlGF корелира слабо и разнопосочно с HDL-холестерола.

Таблица 36. Корелационни коефициенти между изследваните маркери и показателите HbA1c, общ холестерол, триглицериди, LDL-холестерол, HDL-холестерол, non-HDL-холестерол, пикочна киселина, eGFR-MDRD, ACR при пациентите със захарен диабет

Показатели	ADMA	ET-1	NT-proBNP	PlGF
HbA1c	-0,116	-0,113	-0,115	-0,033
Tchol	0,088	-0,040	-0,115	-0,053
Tg	0,103	-0,136	-0,179*	0,051
LDL	0,134	-0,037	-0,179*	-0,101
HDL	0,020	**0,281****	0,186*	**-0,226****
non-HDL	0,055	-0,120	-0,168*	-0,025
Uric acid	0,003	0,072	0,057	-0,033
eGFR-MDRD	-0,104	-0,002	**-0,342*****	0,082
ACR	0,056	0,019	-0,053	-0,035

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

5.3. Корелационен анализ на биомаркерите с изчисления сърдечно-съдов риск по ADVANCE, UKPDS, FRS и SCORE

Проведеният корелационен анализ между изследваните маркери и изчисления риск според ADVANCE, UKPDS за КСБ, фатални КСБ, инсулт, фатален инсулт, FRS, SCORE при пациентите със захарен диабет (Таблица 37) показа, че ADMA и PlGF не корелират с нито един от включените в таблицата показатели. **ЕТ-1 корелира слабо и еднопосочно с инсулт и фатален инсулт**. *NT-proBNP корелира правопропорционално и умерено по сила с ADVANCE и SCORE, слабо и еднопосочно с UKPDS за КСБ, фатални КСБ и FRS,* **а изразено и правопропорционално с инсулт и фатален инсулт.**

Таблица 37. Корелационни коефициенти между изследваните маркери и изчисления риск според ADVANCE, UKPDS за КСБ, фатални КСБ, инсулт, фатален инсулт, FRS, SCORE при пациентите със захарен диабет

Показатели	ADMA	ET-1	NT-proBNP	PlGF
ADVANCE%	0,071	0,114	**0,426*****	-0,006
UKPDS%	-0,018	-0,050	0,176*	0,107
f. CHD%	0,010	0,007	**0,263****	0,027
Stroke%	0,135	0,187*	**0,500*****	-0,005
f. stroke%	0,110	0,185*	**0,518*****	-0,026
FRS%	0,003	-0,105	0,199*	0,049
SCORE%	0,032	-0,051	**0,341*****	0,075

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

5.4. Корелация на биомаркерите с ултразвуковите показатели (Таблица 38):

Таблица 38. Корелационни коефициенти между изследваните маркери и ултразвуковите показатели RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, Е-вълна, Е/А, Em, Е/Em при пациентите със захарен диабет

Показатели	ADMA	ET-1	NT-proBNP	PlGF
RRI	0,173	-0,132	0,065	0,040
CARI	0,168	-0,142	0,219	0,178
IMT	0,138	-0,160	0,291	0,007
ФИ	-0,222	0,104	-0,175	0,052
ФС	-0,189	0,182	-0,147	0,047
LVMI	-0,122	-0,034	0,056	0,164
DT	0,269	-0,017	0,114	0,031
Е - вълна	-0,025	-0,196	-0,024	0,190
Е/А	0,112	-0,103	-0,136	-0,190
Em	-0,132	0,149	-0,442**	-0,070
Е/Em	0,110	-0,164	0,336*	0,096

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001,

От Таблица 38 става ясно, че единствено **NT-proBNP** корелира *умерено и обратнопропорционално с ехографския показател Em*, а **умерено и правопропорционално с Е/Em.** Останалите маркери не показват връзка с нито един ултразвуков показател.

5.5. Корелация на изчисления сърдечно-съдов риск и ехографските показатели (Таблица 39)

Таблица 39. Корелационни коефициенти между калкулаторите на риска - ADVANCE%, UKPDS%, f.CHD%, Stroke%, f.stroke%, FRS%, SCORE% и показателите RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E wave, E/A, Em, E/Em при пациентите със захарен диабет

Пока-затели	ADVANCE %	UKPDS%	f.CHD%	Stroke%	f.stroke %	FRS%	SCORE %
RRI	**0,566*****	0,372*	**0,606*****	**0,536*****	0,506**	0,379*	0,447**
CARI	**0,819*****	**0,607*****	**0,751*****	**0,693*****	**0,705*****	**0,629*****	**0,733*****
IMT	**0,604*****	0,439**	**0,620*****	0,483**	0,488**	**0,564*****	**0,528*****
ФИ	-0,280	**-0,552*****	**-0,551*****	-0,249	-0,279	-0,417**	-0,330*
ФС	-0,277	**-0,547*****	**-0,549*****	-0,242	-0,281	-0,423**	-0,291
LVMI	0,234	0,268	0,436**	0,351*	0,356*	0,280	0,325*
DT	**0,614*****	0,468**	**0,628*****	0,473**	0,429**	0,499**	0,477**
E-вълна	0,052	0,041	0,169	0,250	0,222	0,061	0,037
E/A	-0,420**	-0,443**	-0,380*	-0,177	-0,233	-0,315*	-0,326*
Em	**-0,659*****	-0,499**	**-0,696*****	-0,436**	-0,485**	**-0,561*****	-0,490**
E/Em	0,600**	0,481**	0,689**	0,454**	0,480**	0,528**	0,429**

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

Проведеният корелационен анализ между калкулаторите на риска - ADVANCE, UKPDS за КСБ, фатални КСБ, инсулт и фатален инсулт, FRS, SCORE и показателите RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E-вълна, E/A, Em, E/Em при пациентите със захарен диабет (Таблица 39) показа, че:

- Изчисленият риск по ADVANCE корелира силно и правопропорционално с CARI, изразено и еднопосочно с RRI, IMT, DT и E/Em, изразено и разнопосочно с Em, а умерено и разнопосочно с E/A;
- Изчисленият риск по UKPDS за КСБ корелира изразено и еднопосочно с CARI, изразено и разнопосочно с ФИ и ФС, умерено и правопропорционално с RRI, IMT, DT и E/Em, а умерено и разнопосочно с E/A и Em;
- Рискът за фатални КСБ корелира силно и правопропорционално с CARI, изразено и еднопосочно с RRI, IMT, DT и E/Em, изразено и разнопосочно с ФИ, ФС и Em, умерено и правопропорционално с LVMI, а умерено и разнопосочно с E/A;

- Рисковете за инсулт и фатален инсулт по UKPDS корелират изразено и еднопосочно с RRI и CARI, умерено и правопропорционално с IMT, LVMI, DT и E/Em, умерено и разнопосочно с Em;
- Изчисленият риск по FRS корелира изразено и еднопосочно с CARI, IMT и E/Em, изразено и разнопосочно с Em, умерено и правопропорционално с RRI и DT, а умерено и разнопосочно с ФИ, ФС и E/A;
- Рискът по SCORE корелира силно и правопропорционално с CARI, изразено и еднопосочно с IMT, умерено и правопропорционално с RRI, LVMI, DT и E/Em, а умерено и разнопосочно с ФИ, E/A и Em.

Дотук става явно, че най-чести са корелациите между изчисления риск по различните модели и ултразвуковите показатели от каротидните и бъбречните артерии (cIMT, CARI и RRI), както и маркерите за диастолна функция на лявата камера (DT, Em и E/Em).

5.6. Корелация на ултразвуковите показатели с антропометричните характеристики на участниците (Таблица 40)

Таблица 40. Корелационни коефициенти между ехографските показатели RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E-вълна, E/A, Em, E/Em и възраст, давност на диабета, САН, BMI, тегло, талия, WHR, WtHR, процент мазнини при пациентите със захарен диабет

Пока-затели	Възраст	Давност	САН	BMI	Тегло	Талия	WHR	WtHR	Fat%
RRI	**0,435*****	**0,616*****	0,027	0,054	-0,035	-0,022	0,211	0,053	-0,158
CARI	**0,627*****	0,472**	0,199	0,021	-0,029	0,071	0,235	0,075	-0,129
IMT	0,535**	0,071	0,247	0,113	-0,008	0,127	0,229	0,131	-0,031
ФИ	-0,195	-0,219	-0,164	-0,163	-0,313*	-0,263*	-0,295	-0,143	-0,047
ФС	-0,136	-0,242	-0,212	-0,212	-0,322*	-0,249*	-0,297	-0,165	-0,150
LVMI	0,253*	0,235	0,177	-0,222	-0,090	-0,093	0,075	-0,140	-0,233
DT	0,388*	0,506**	-0,074	0,025	-0,063	0,027	0,158	0,053	-0,005
E	0,015	0,190	0,117	0,152	-0,059	0,072	0,159	0,189	-0,253
E/A	-0,374*	-0,076	-0,012	0,228	0,078	0,220	0,112	0,305*	0,329
Em	**-0,519*****	-0,241	-0,235	0,002	-0,030	-0,034	-0,103	-0,037	-0,060
E/Em	0,449**	0,310*	0,252	0,101	-0,062	0,099	0,169	0,137	-0,149

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

Проведеният корелационен анализ между ехографските показатели RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E-вълна, E/A, Em, E/Em и възраст, давност на диабета, САН, BMI,

тегло, талия, WHR, WtHR, процент мазнини при пациентите със захарен диабет (Таблица 40) установи, че:

- Възрастта корелира изразено и правопропорционално с CARI и IMT, изразено и разнопосочно с Em, умерено и еднопосочно с RRI, DT и E/Em, умерено и разнопосочно с E/A, а слабо и еднопосочно с LVMI;
- Давността на диабета корелира изразено и еднопосочно с RRI и DT, и умерено и правопропорционално с CARI и E/Em;
- САН, BMI, WHR и процента мазнини не корелират с нито един от включените в таблицата ехографски показатели;
- ФИ и ФС корелират умерено и разнопосочно с теглото, а слабо и обратнопропорционално с талията.

Най-силна е връзката на възрастта и давността на диабета с изследваните ултразвукови показатели на каротидните и бъбречните артерии, както и маркерите за диастолна дисфункция.

5.7. Корелация на ехографските показатели с биохимичните характеристики на участниците (Таблица 41)

Таблица 41. Корелационни коефициенти между ехографските показатели RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E вълна, E/A, Em, E/Em и HbA1c, общ холестерол, триглицериди, LDL-холестерол, HDL-холестерол, non-HDL-холестерол, пикочна киселина, eGFR-MDRD, ACR при пациентите със захарен диабет

Пока-затели	HbA1c	Tchol	Tg	LDL	HDL	non-HDL	Uric acid	eGFR-MDRD	ACR
RRI	0,150	0,114	0,082	0,143	-0,123	0,195	-0,066	0,198	0,229
CARI	0,184	0,012	0,095	0,134	-0,168	0,193	-0,116	0,137	**0,436****
IMT	0,325*	0,016	0,009	0,279	-0,094	0,107	-0,119	0,117	0,254
ФИ	-0,110	0,117	-0,012	-0,037	0,166	0,011	0,099	0,012	-0,290
ФС	-0,101	0,079	-0,073	-0,037	0,158	-0,012	0,059	-0,023	-0,243
LVMI	0,025	-0,197	0,060	-0,212	-0,245	-0,018	-0,081	0,226	0,219
DT	0,380*	0,032	-0,068	0,192	-0,128	0,089	-0,137	-0,079	0,204
E	-0,201	0,090	0,263	-0,071	-0,124	0,225	0,255	0,165	**0,463****
E/A	-0,172	-0,049	0,030	-0,037	0,091	-0,039	0,322*	-0,206	0,181
Em	**-0,453****	0,014	0,130	-0,217	0,050	-0,045	0,302	0,041	-0,099
E/Em	0,371*	0,014	-0,002	0,178	-0,137	0,146	-0,176	0,039	0,305

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

Проведеният корелационен анализ между ехографските показатели RRI, CARI, IMT, ФИ, ФС, LVMI, DT, E вълна, E/A, Em, E/Em и HbA1c, общ холестерол, триглицериди, LDL-холестерол, HDL-холестерол, non-HDL-холестерол, пикочна киселина, eGFR-MDRD, ACR при пациентите със захарен диабет (Таблица 41) показа, че:

- HbA1c корелира умерено и правопропорционално с IMT, DT и E/Em, а умерено и разнопосочно с Em;
- Общият холестерол, триглицеридите, LDL-холестерола, HDL-холестерола, non-HDL-холестерола и eGFR-MDRD не корелират с нито един от включените в таблицата ехографски показатели;
- Пикочната киселина корелира единствено с E/A - умерено и еднопосочно;
- ACR корелира умерено и правопропорционално с CARI и E-вълната.

5.8. Корелация на ехокардиографските показатели с ултразвуковите параметри на каротидните и бъбречните артерии

Оценката на взаимовръзката между изследваните ехографски показатели са представени на Таблица 42.

Таблица 42. Корелация на ехокардиографските показатели с резултатите от доплера на каротидните и бъбречните артерии

Показатели	RRI	CARI	IMT
ФИ	-0,339**	-0,316**	-0,375**
ФС	-0,356**	-0,297*	-0,377**
LVMI	0,533**	0,465**	0,417**
DT	0,537**	0,633**	0,564**
E вълна	0,167	0,012	0,026
E/A	-0,295*	-0,329**	-0,319**
Em	-0,413**	-0,610**	-0,613**
E/Em	0,478**	0,614**	0,641**
RRI	1,000	0,686**	0,560**
CARI	0,686**	1,000	0,708**

* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001

От Таблица 42 се вижда, че **RRI, CARI и IMT, корелират сигнификантно с всички от изследваните ехокардиоргафски показатели**, освен с E-вълната.

Взаимовръзката между наличието на каротидни плаки и ултразвуковите параметри е представена на Таблица 43.

Таблица 43. Честотно разпределение на ехографските показатели според наличието на каротидни плаки

Показател	Каротидна плака				P
	Не		Да		
	n	%	n	%	
cIMT > 1 mm	3	9,4	14	40,0	**0,004**
CARI > 0,70	9	28,1	24	68,6	**0,001**
RRI > 0,70	6	18,8	14	40,0	***0,058***
ЛКХ	19	59,4	22	62,9	0,770
DT > 220 msec	14	45,2	26	76,5	**0,010**
Em <8 cm/sec	4	12,9	14	40,0	**0,014**
E/Em ≥ 10	4	12,9	9	25,7	0,192

Както се вижда от Таблица 43, **пациентите с каротидни плаки имат значително по-често повишени IMT, CARI, RRI и удължено DT, а Em -вълната е по-къса.**

6. Регресионен анализ на взаимовръзката при налични положителни резултати от корелационния анализ

6.5. Предикция на изчисления сърдечно-съдов риск според нивата на биомаркерите

Дотук получените резултати (виж Таблица 37) дават основание да се предполага, че NT-proBNP и отчасти ET-1 биха могли да се използват за предсказване на изчисления риск по ADVANCE, UKPDS за КСБ, фатален КСБ, инсулт и фатален инсулт, FRS, SCORE.

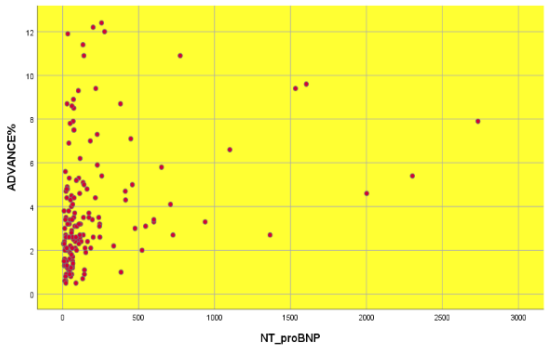
Поради това, че корелацията е еднопосочна може да се твърди, че с увеличаването на стойностите на NT-proBNP се очакват по-високи стойности на риска по ADVANCE, UKPDS за КСБ, фатален КСБ, инсулт и фатален инсулт, FRS, SCORE, както и че на по-ниски стойности на маркера ще съответстват по-ниски стойности на прогнозираните показатели. Надеждността на прогнозирането е правопропорционална на силата на корелацията. От таблицата се вижда, че NT-proBNP корелира най-силно с риска за инсулт и фатален инсулт по UKPDS и риска по ADVANCE, а най-слабо с риска за КСБ по UKPDS.

Визуализацията на данните показва обаче, че:

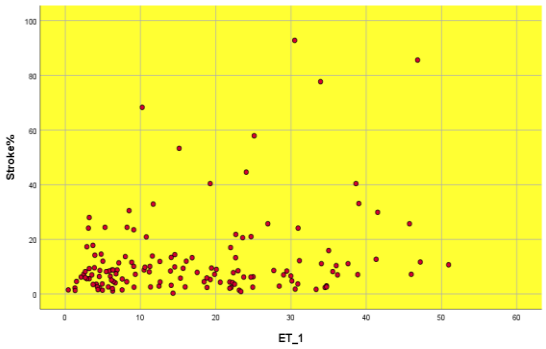
- При стойности на NT-proBNP в диапазона 0-500 при почти всички показатели на изчисления риск (без UKPDS за КСБ) на една и съща стойност на NT-proBNP съответства широк диапазон от стойности по оста Y, което означава, че точността на прогнозирането би била много ниска.
- При риска за КСБ по UKPDS на всички стойности на NT-proBNP съответстват само 3 стойности на UKPDS - 0, 1 и 2 без никаква видима връзка.

В този аспект много по-слабата корелация на ET-1 с риска от инсулт и фатален инсулт също не би могла да бъде надежден способ за прогнозиране на тези показатели. Стойностите на маркера ET-1 в широкия диапазон 0-50 най-често съответстват на стойности на риска за инсулт в интервала 0-10 или на стойности на риска за фатален инсулт в интервала 0-5.

За илюстрация на липсата на реална предикция ни показва разсейването на риска по ADVANCE спрямо стойностите на NT-proBNP (Фигура 4) и на ET-1 спрямо риска от инсулт по UKPDS (Фигура 5).



Фигура 4. Диаграма на разсейване между риск по ADVANCE и NT-proBNP



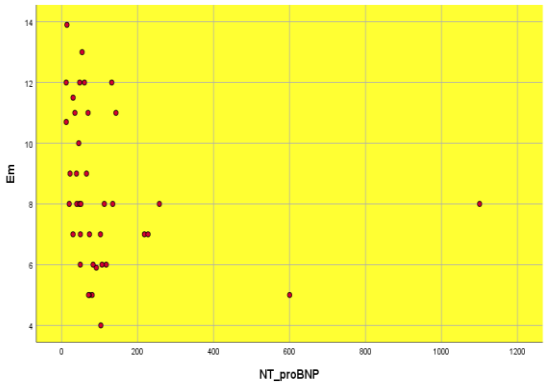
Фигура 5. Диаграма на разсейване между риска от инсулт по UKPDS и ET-1

От проведения регресионен анализ става ясно, че не може да се предвиди с точност изчисленият риск при дадена стойност на изследваните маркери.

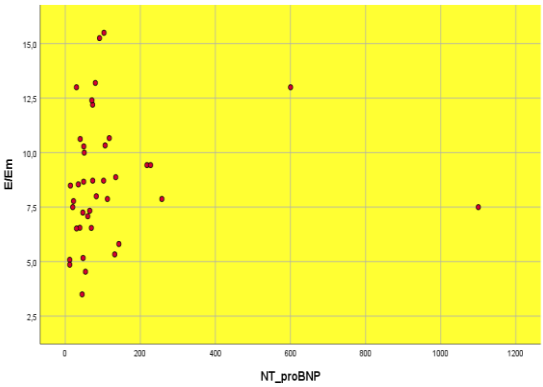
6.2. Предсказване на ултразвуковите показатели според нивата на биомаркерите

Резултатите от **Таблица 38** показват, че само **NT-proBNP би могъл да се използва за предсказване на ехографските показатели Em и E/Em**. Поради това, че в първия случай корелацията е разнопосочна може да се твърди, че с увеличаването на стойностите на NT-proBNP се очакват по-ниски стойности на Em и обратно. За E/Em корелацията с NT-proBNP е еднопосочна и може да се твърди, че с увеличаването на стойностите на NT-proBNP се очакват по-високи стойности на E/Em, а за по-ниски – съответно по-ниски.

Визуализацията на данните показва (Фигура 6 и Фигура 7), че на една и съща стойност на маркера по оста X съответстват множество стойности по оста Y, което прави прогнозирането силно ненадеждно.



Фигура 6. Диаграма на разсейване между Em и NT-proBNP



Фигура 7. Диаграма на разсейване между E/Em и NT-proBNP

7. Анализ на кривата ROC за установяване на прагови стойности на биомаркерите, които разграничават групите с нисък/умерен и висок сърдечно-съдов риск според различните модели

Проведеният ROC curve анализ установи, че могат да се намерят прагови стойности на биомаркерите за отдиференциране на групите риска по моделите ADVANCE, UKPDS за КСБ, SCORE, както и на показателите DT и Em.

Праговите стойности на маркерите бяха определени съгласно:

Youden index = [maximum (sensitivity + specificity−1).

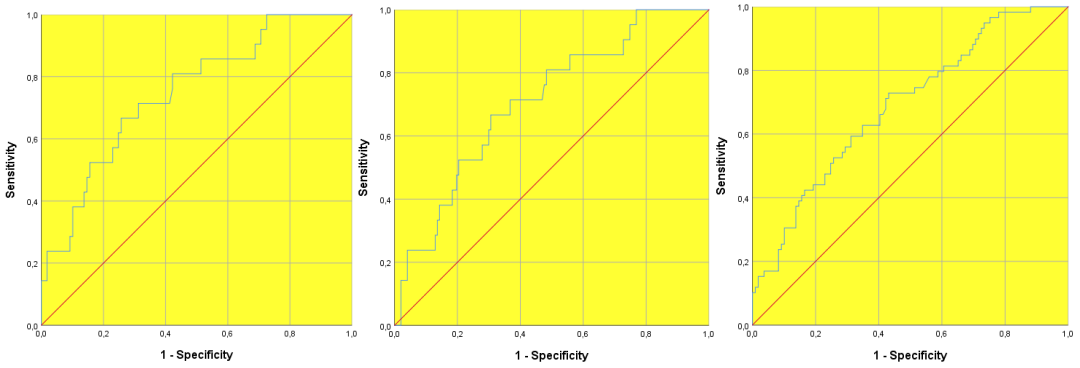
7.1. Прагови стойности на NT-proBNP и ET-1 за разграничаване на групите на риска според ADVANCE

Групиране на риска по ADVANCE Risk Engine – 0 – нисък (<4%); 1 – умерен (4-8%); 2 – висок (≥8%);

Изследвахме три възможности за разграничаване на риска от ADVANCE – подгрупа 0 от 2, подгрупи 0+1 от 2 и подгрупи 0 от 1+2.

Проведеният ROC curve анализ установи, че *прагови стойности могат да се намерят само за маркерите NT-proBNP и ET-1*.

7.1.1. NT-proBNP



а) б) в)

Фигура 8. ROC крива на NT-proBNP за определяне прагова стойност при разграничаване на имащите нисък и висок риск по ADVANCE а) категории 0 и 2, (площ под кривата 0,748, p<0,001), б) категории 0+1 и 2 (площ под кривата 0,707, p=0,002), в) категории 0 и 1+2 (площ под кривата 0,688, p<0,001)

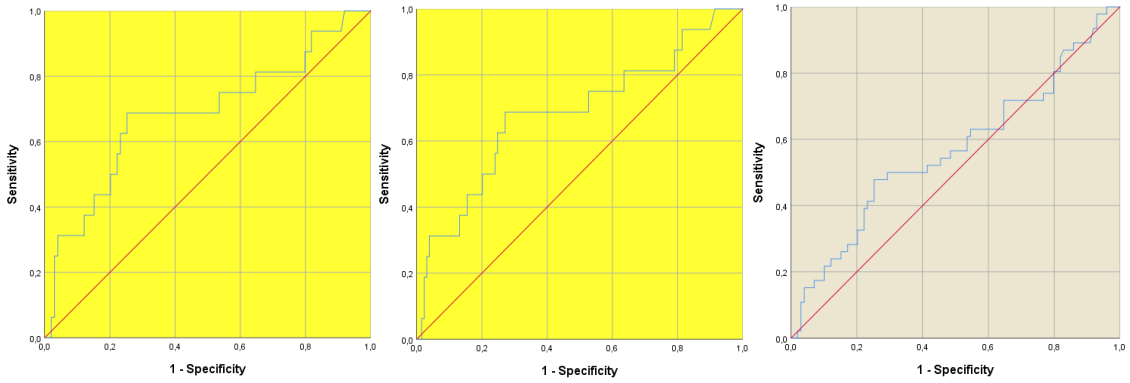
От Фигура 8 става ясно, че най-голямата площ под ROC крива на NT-proBNP е за определяне прагова стойност при разграничаването на имащите нисък и висок риск по ADVANCE (0,748), следвана от тази при разграничаването на подгрупи 0+1 от 2 (0,707) и подгрупи 0 от 1+2 (0,688). Критериите за валидизация на скрининг тестове са представени на Таблица 44.

Таблица 44. Прагови величини на NT-proBNP за отграничаване на имащите нисък и висок риск по ADVANCE, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Отграничаване на:	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 2	≥124,5	67	74	33	92	73
0+1 от 2	≥124,5	67	69	24	94	69
0 от 1+2	≥68,8	73	57	48	79	63

7.1.2. ET-1

На Фигура 9 се вижда, че най-голямата площ под ROC крива на ET-1 е за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск по ADVANCE (0,685), следвана от тази при разграничаването на подгрупи 0+1 от 2 (0,684). За отграничаването на подгрупа 0 от 1+2 прагова стойност не може да бъде установена (p>0,05).



а) б) в)

Фигура 9. ROC крива на ET-1 за определяне прагова стойност при разграничаване на имащите нисък и висок риск по ADVANCE а) категории 0 и 2 (площ под кривата 0,685, p=0,018), б) категории 0+1 и 2 (площ под кривата 0,684, p=0,016), в) категории 0 и 1+2 (площ под кривата 0,566, p=0.203)

Тези резултати се потвърждават и от неособено високите стойности на критериите за валидизация (Таблица 45).

Таблица 45. Прагови величини на ЕТ-1 за отграничаване на имащите нисък и висок риск по ADVANCE, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

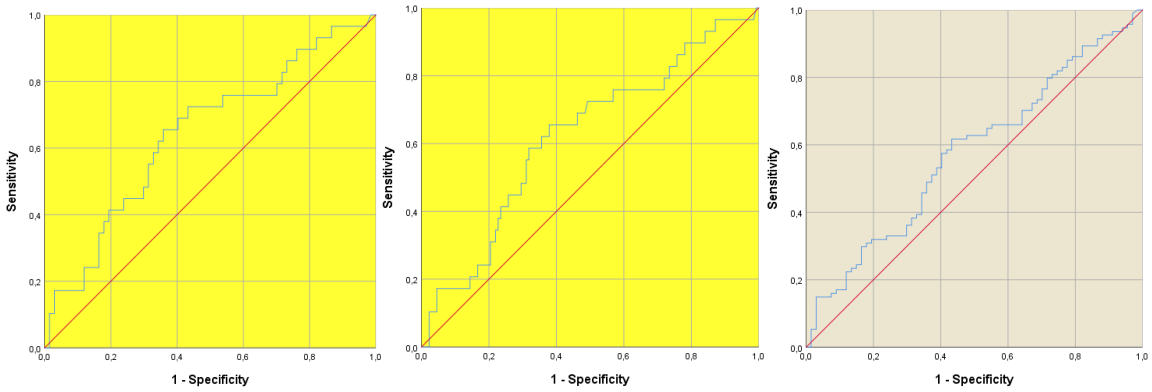
Отграничаване на:	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 2	≥22,6	69	75	31	94	74
0+1 от 2	≥22,6	69	72	23	95	72
0 от 1+2	-	-	-	-	-	-

Комбинираното използване на двата маркера не даде по-добри резултати.

7.1.3. Прагови стойности на NT-proBNP за отдиференциране на рисковите групи по UKPDS

Групиране на риска по UKPDS – 0 – нисък (<15%); 1 – умерен (15-20%); 2 – висок (≥20%);

Според групирането по UKPDS имахме три възможности за разграничаване – подгрупи 0 и 2, подгрупи 0+1 от 2 и подгрупи 0 от 1+2.



а) б) в)

Фигура 10. ROC крива на NT-proBNP за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск за КСБ по UKPDS а) категории 0 и 2, (площ под кривата 0,643, p=0,027), б) категории 0+1 и 2 (площ под кривата 0,621, p=0,042), в) категории 0 и 1+2 (площ под кривата 0,575, p=0,106)

От Фигура 10 става ясно, че най-голямата площ под ROC крива на NT-proBNP е за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск за КСБ по UKPDS (0,643), следвана от тази при разграничаването на подгрупи 0+1 от 2 (0,621). За отграничаването на подгрупа 0 от 1+2 прагова стойност не може да бъде установена (p>0,05).

Неособено високите стойности на критериите за валидизация са представени в Таблица 46.

Таблица 46. Прагови величини на NT-proBNP за отграничаване на имащите нисък и висок риск за КСБ по UKPDS, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Отграничаване на:	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 2	≥98,8	66	64	44	81	65
0+1 от 2	≥102,7	66	61	27	89	62
0 от 1+2	-	-	-	-	-	-

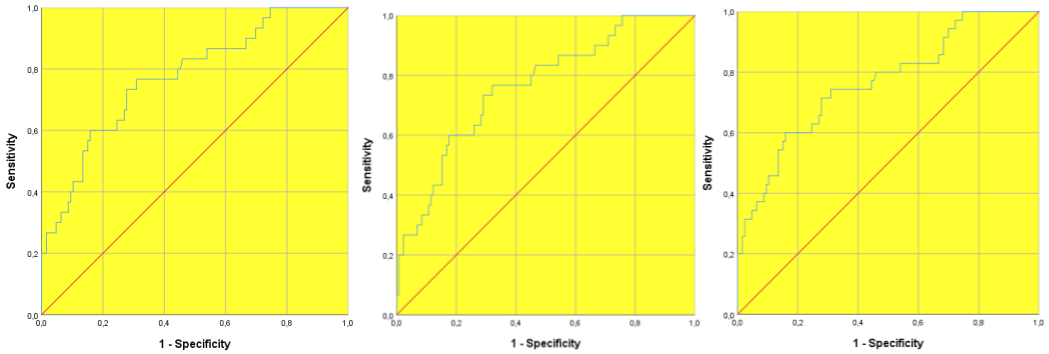
7.2. Прагови стойности на NT-proBNP и ET-1 за отдиференциране на групите на риска от инсулт според UKPDS

Приложихме следното групиране по риска от инсулт - 0 - нисък риск при стойности от 0.1 до 14.9; 1 - умерено повишен риск - 15 - 19.9; 2 - висок риск ≥20.0%;

Според групите на риска от инсулт имахме три възможности за разграничаване – подгрупи 0 и 2, подгрупи 0+1 от 2 и подгрупа 0 от 1+2.

Проведеният ROC curve анализ установи, че *прагови стойности могат да се намерят само за маркерите NT-proBNP и ET-1*.

7.2.1. NT-proBNP (Фигура 11):



а) б) в)

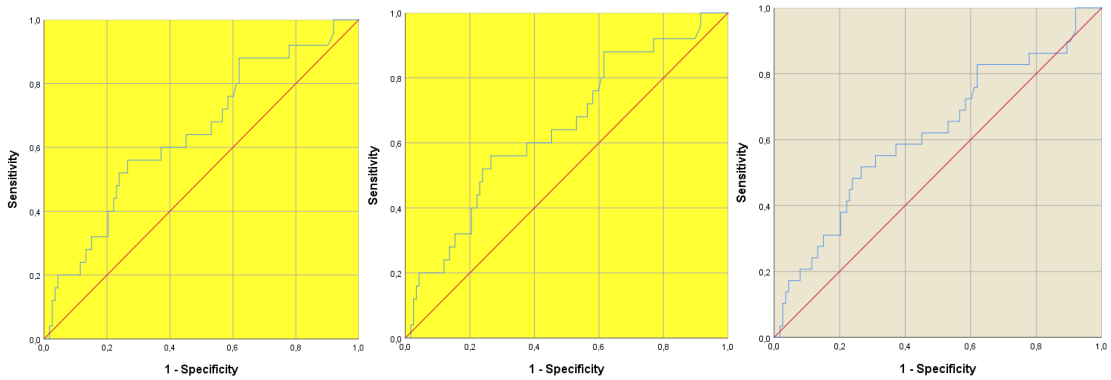
Фигура 11. ROC крива на NT-proBNP за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск от инсулт а) категории 0 и 2, (площ под кривата 0,773, p<0,001), б) категории 0+1 и 2 (площ под кривата 0,762, p=0,002), в) категории 0 и 1+2 (площ под кривата 0,765, p<0,001)

От Фигура 11 става ясно, че ***най-голямата площ под ROC крива на NT-proBNP е за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск от инсулт*** (0,773), следвана от тази при разграничаването на подгрупа 0 от 1+2 (0,765) и подгрупи 0+1 от 2 (0,762). Критериите за валидизация са изложени в Таблица 47.

Таблица 47. Прагови величини на NT-proBNP за отграничаване на имащите нисък и висок риск от инсулт, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Отграничаване на:	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 2	≥109,9	77	69	37	93	71
0+1 от 2	≥109,9	77	68	35	93	70
0 от 1+2	≥186,1	60	84	51	88	79

7.2.2. ЕТ-1 (Фигура 12):



а) б) в)

Фигура 12. ROC крива на ЕТ-1 за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск от инсулт а) категории 0 и 2, (площ под кривата 0,645, p=0,023), б) категории 0+1 и 2 (площ под кривата 0,646, p=0,022), в) категории 0 и 1+2 (площ под кривата 0,618, p=0,050)

На Фигура 12 се вижда, че ***най-голямата площ под ROC крива на ЕТ-1 е за определяне прагова стойност при отграничаването на подгрупи 0+1 от 2 (0,646),*** следвана от тази при разграничаването на имащите нисък и висок риск от инсулт (0,645). За отграничаването на подгрупа 0 от 1+2 прагова стойност не може да бъде установена (p=0,05). Таблица 48 показва в детайли критериите за валидизация.

Таблица 48. Прагови величини на ЕТ-1 за отграничаване на имащите нисък и висок риск от инсулт, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Отграничаване на:	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 2	≥22,65	56	73	32	88	70
0+1 от 2	≥22,65	56	74	31	89	70
0 от 1+2	-	-	-	-	-	-

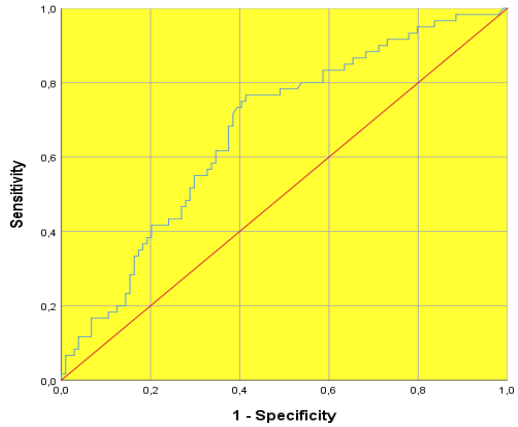
Комбинираното използване на двата маркера не даде по-добри резултати.

При риска за фатален инсулт 163 пациенти са в норма и само 1 е с повишен риск, поради което не може да се направи статистически анализ.

7.3. Прагови стойности на NT-proBNP за отдиференциране на групите на риска според SCORE

Групирането на риска според SCORE бе: 0 – нисък (<5%); 1 - умерен (5-10%); 2 – висок (≥10%);

Прагова стойност може да се намери само за *маркера NT-proBNP единствено за две подгрупи на SCORE – 0 и 1+2* (Фигура 13 и Таблица 49).



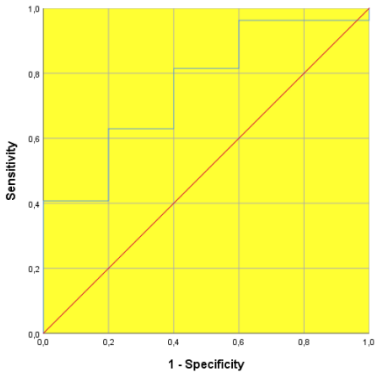
Фигура 13. ROC крива на NT_proBNP за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нисък и висок риск по SCORE (площ под кривата 0,671, p<0,001)

Таблица 49. Прагова величина на NT-proBNP за отграничаване на имащите нисък и висок риск по SCORE, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Отграничаване на	Прагова величина	Чувствителност	Специфичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
0 от 1+2	≥68,3	77	59	52	81	65

7.4. Прагови стойности на биомаркерите за отграничаване на абнормни ултразвукови показатели.

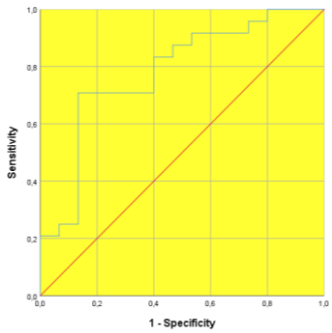
Такива се откриват само за ADMA за отдиференциране на нормално и удължено DT (Фигура 14 и Таблица 50) и за NT-proBNP за разграничаване на нормална от ниска Em-вълна (Фигура 15 и Таблица 51).



Фигура 14. ROC крива на ADMA за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нормален и повишен DT (площ под кривата 0,756, p=0,073)

Таблица 50. Прагова величина на ADMA за отграничаване на имащите нормален и повишен DT, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Показател	Прагова величина	Чувстви-телност	Специ-фичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
ADMA	≥0,58	63	60	89	23	63



Фигура 15. ROC крива на NT-proBNP за определяне прагова стойност при отграничаването на имащите нормален и понижен Em (площ под кривата 0,781, p=0,004)

Таблица 51. Прагова величина на NT-proBNP за отграничаване на имащите нормален и понижен Em, и стойности на критериите за валидизация на скрининг тестове

Показател	Прагова величина	Чувстви-телност	Специ-фичност	Положителна предиктивна стойност	Отрицателна предиктивна стойност	% верни отговори
NT-proBNP	≥70,2	71	87	89	65	77

Част II

Проследяващо рамо

В проспективната част на това проучване, пациентите бяха проследени за среден период от 4,8 години, като се регистрираха настъпилите макросъдови събития (миокарден инфаркт, инсулт) и общата смъртност.

1. **Сравнителен анализ на рисковите фактори според настъпилите макросъдови инциденти и смъртността.**

За периода на проследяване от средно 4,8 години, *крайната точка от миокарден инфаркт, инсулт или смърт, беше постигната при съответно 11 (6,39%), 9 (5,23%) и 22 (12,8%) от участниците със ЗД2 и при нито един от контролната група*.

Разликата в антропометричните, демографските и биохимичните показатели на починалите и преживелите са показани в Таблица 52.

Таблица 52. Сравнителен анализ на демографските, антропометричните показатели и биохимичните изследвания според смъртността

Показател	Живи (n=177)		Починали (n=22)		P
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
Възраст	59,12	9,03	69,14	8,67	**<0,001**
Възраст при диагнозата	52,4	9,85	59,05	10,43	**0,004**
Давност на диабета	6,00	8,00	10,00	5,00	**0,003**
САН	130	20	140	23	**0,026**
BMI	33,0	7,5	30,6	6,2	0,342
тегло	91,0	28,2	86,7	26,8	0,147
талия	102	19	105	17	0,681
WHR	0,95	0,09	0,96	0,10	0,737
WtHR	0,60	0,11	0,61	0,08	0,717
Fat%	41,3	11,0	37,9	11,6	0,290
HbA1c	7,26	2,6	7,95	2,9	0,176
Tchol	5,00	1,32	5,44	2,21	0,297
Tg	1,63	1,26	1,63	0,81	0,797
HDL-хол	1,19	0,38	1,35	0,45	0,193
LDL-хол	3,02	1,02	3,38	1,13	0,149
non-HDL	3,80	1,47	4,41	2,63	0,181
UA	317	129	307	137	0,652
eGFR	88,4	28,5	85,8	31,1	0,240

От Таблица 52 се вижда, че **починалите пациенти са по-възрастни** със средно 10 години (69,14 спрямо 59,12, p<0,001), **имат по-голяма давност на ЗД** със средно 4 години (10 години спрямо 6 години, p=0,003), диагнозата ЗД е поставена на по-късна възраст (59 спрямо 52 години, p=0,004) и **имат по-високо систолно артериално налягане** (средно 140 mmHg спрямо 130 mmHg, p=0,026).

Разпределението на рисковите фактори при починалите и преживелите е показано в Таблица 53, а според наличието на инфаркт или инсулт съответно в Таблица 54 и 55.

Таблица 53. Разпределение на рисковите фактори според смъртността

Показател	Живи		Починали		P
	n	%	n	%	
Пол					
• мъже	64	36,4	12	54,5	0,098
• жени	112	63,4	10	45,5	
Тютюнопушене					
• непушачи	112	63,6	12	54,5	
• бивши	40	22,7	8	36,4	0,356
• активни	24	13,6	2	9,1	
Затлъстяване	122	69,1	13	59,1	0,385
Ретинопатия	20	11,3	2	9,1	0,749
АХ	140	79,5	20	90,9	0,202
САН ≥ 140 mmHg	34	22,8	8	36,4	0,168
Давност на ЗД					
• < 5 години	73	49	3	13,6	**0,002**
• 5-10 години	46	30,9	10	45,5	0,173
• ≥ 10 години	30	20,1	9	40,9	0,030
HbA1c ≥ 7.0%	92	60,5	17	77,3	0,129
LDL-хол > 2,6 mmol/l	103	63,2	14	63,6	0,366
Тригл. > 1,7 mmol/l	84	48,6	9	40,9	0,499
eGFR, ml/min/1.72 m^2					
- ХБЗ 2 ст. (60 – 89,9)	85	48,6	10	45,5	0,176
- ХБЗ 3 ст. (30 – 59.9)	17	9,7	5	22,7	

От Таблица 53 и 54 се вижда, че **по-малко са случаите на миокарден инфаркт и на починалите при пациентите с давност на диабета под 5 години**. *Честотата на инфаркта е значително по-висока при мъжкия пол и при пациентите с ХБЗ 3 ст.*

Таблица 54. Разпределение на рисковите фактори по групи според наличието на инфаркт

Показател	Инфаркт				P
	Не		Да		
	n	%	n	%	
Пол					
• мъже	67	36,2	8	72,7	**0,019**
• жени	118	63,8	3	27,3	
Тютюнопушене					
• непушачи	114	61,6	8	72,4	
• бивши	46	24,9	2	18,2	0,760
• активни	25	13,5	1	9,1	
Затлъстяване	129	69,7	5	45,4	0,055
Ретинопатия	19	10,3	3	27,3	0,112
АХ	147	79,5	11	100,0	0,127
САН ≥ 140 mmHg	45	24,5	2	18,2	0,636
Давност на ЗД					
• < 5 години	74	46,5	1	9,1	**0,015**
• 5-10 години	50	31,4	6	54,5	0,114
• ≥ 10 години	35	22,0	4	36,4	0,273
HbA1c ≥ 7.0%	105	64,6	4	36,4	0,063
LDL-хол > 2,6 mmol/l	115	67,6	1	10,0	**<0,001**
Тригл. > 1,7 mmol/l	87	47,8	3	27,3	0,185
eGFR, ml/min/1.72 m^2					
- ХБЗ 2 ст. (60 – 89,9)	89	48,4	5	45,5	**0,019**
- ХБЗ 3 ст. (30 – 59.9)	18	9,8	4	36,4	

Таблица 55. Разпределение на рисковите фактори по групи според наличието на инсулт

Показател	Инсулт				P
	Не		Да		
	n	%	n	%	
Пол					
• мъже	71	38,0	4	44,4	0,734
• жени	116	62,0	5	55,6	
Тютюнопушене					
• непушачи	114	61,0	8	88,9	
• бивши	47	25,1	1	11,1	0,221
• активни	26	13,9	0		
Затлъстяване	129	69,0	5	55,5	0,849
Ретинопатия	19	10,2	3	33,3	0,066
АХ	149	79,7	9	100,0	0,202
САН ≥ 140 mmHg	45	24,2	2	22,2	0,893
Давност на ЗД					
• < 5 години	72	44,7	3	33,3	0,503
• 5-10 години	52	32,3	4	44,4	0,450
• ≥ 10 години	37	23,0	2	22,2	0,957
HbA1c ≥ 7.0%	105	63,6	4	44,4	0,246
LDL-хол > 2,6 mmol/l	111	64,9	5	55,6	0,568
Тригл. > 1,7 mmol/l	85	46,2	5	55,6	0,583
eGFR, ml/min/1.72 m^2					
- ХБЗ 2 ст. (60 – 89,9)	91	48,9	3	33,3	0,619
- ХБЗ 3 ст. (30 – 59.9)	21	11,3	1	11,1	

Както се вижда от Таблица 55, не може да се намери статистически значима разлика на рисковите фактори при пациентите с реализиран инсулт.

2. Нива на биомаркерите при пациентите, достигнали крайната точка (миокарден инфаркт, инсулт, смърт)

Те са изложени в зависимост от реализираните събития – миокарден инфаркт, инсулт и починали, съответно в Таблици 56, 57 и 58.

Таблица 56. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според прекаран миокарден инфаркт

Показател	Миокарден инфаркт				P
	Не (n=188)		Да (n=11)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,61	0,17	0,68	0,17	0,160
ET-1	16,96	20,93	28,87	14,38	**0,007**
NT-proBNP	187,37	378,60	486,90	486,27	**0,002**
PlGF	16,09	4,36	16,08	3,55	0,920

Резултатите от Таблица 56 показват, че **статистически достоверна разлика между пациентите с и без инфаркт се установява при маркерите ET-1 и NT-proBNP**, като *пациентите с инфаркт имат значимо по-високи средни стойности*.

Таблица 57. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според прекаран инсулт

Показател	Инсулт				P
	Не (n=190)		Да (n=9)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,17	0,65	0,10	0,226
ET-1	17,32	20,90	26,02	15,82	-
NT-proBNP	202,75	389,27	266,54	450,75	0,467
PlGF	16,05	4,37	16,78	2,65	0,358

Резултатите от сравнителния анализ на изследваните маркери според наличието на инсулт при пациентите със захарен диабет не дават основание да се твърди, че маркерите дават възможност за предикция на разглежданото събитие (Таблица 57).

Таблица 58. Сравнителен анализ на изследваните маркери по групи според смъртността

Показател	Починал				P
	Не (n=177)		Да (n=22)		
	$\overline{X}$	SD	$\overline{X}$	SD	
ADMA	0,62	0,15	0,63	0,26	0,758
ET-1	16,50	21,22	26,88	13,79	**<0,001**
NT-proBNP	170,92	338,94	450,25	608,08	**<0,001**
PlGF	15,94	4,14	17,34	5,30	0,330

От Таблица 58 става ясно, че **статистически достоверна разлика между починалите и останали живи пациентите се установява при маркерите ET-1 и NT-proBNP**, като починалите *пациентите имат значимо по-високи средни стойности*.

3. Сравнителен анализ на ехографските показатели при пациентите, достигнали крайната точка

Данни за ехографските показатели при пациентите получили инфаркт, инсулт и починалите нямат статистическа представителност, поради което не може да се оцени достоверно способността им за предикция на това събитие. Бройките на пациентите с направените изследвания е значително по-малка от общата, а починалите от тях са двама, инфаркт е получил 1 и инсулт – още 1.

4. Сравняване на предвидения сърдечно-съдов риск с реално наблюдаваните събития

Независимо от малкия брой участници и реализираните събития, анализът на данните показа някои тенденции, които се виждат в Таблици 59, 60 и 61.

Таблица 59. Анализ на зависимостта между наличието на инфаркт и калкулаторите на риска

Показател	Категория	Честота	Инфаркт		P
			Не	Да	
ADVANCE	Нисък	n	105	5	0,294
		%	66,0	45,5	
	Умерен	n	36	3	0,990
		%	22,6	27,3	
	Висок	n	18	3	0,277
		%	11,3	27,3	
UKPDS	Нисък	n	66	5	0,873
		%	43,1	45,5	
	Умерен	n	63	2	0,235
		%	41,2	18,2	
	Висок	n	24	4	0,178
		%	15,7	36,4	
FRS	Нисък	n	129	6	0,621
		%	72,5	60,0	
	Умерен	n	36	1	0,703
		%	20,2	10,0	
	Висок	n	13	3	***0,055***
		%	7,3	30,0	
SCORE	Нисък	n	121	4	***0,074***
		%	67,6	36,4	
	Умерен	n	51	7	**0,034**
		%	28,5	63,6	
	Висок	n	7	0	0,874
		%	3,9	0,0	

От Таблица 59 се вижда, че от четирите разглеждани калкулатори на риска само два - **SCORE и донякъде FRS, са успели да прогнозират правилно риска за инфаркт**. При SCORE процентът на получилите инфаркт в категорията умерен риск е значимо по-висок от този на неполучилите, а относителният дял на неполучилите инфаркт с гранична сигнификантност ($p<0,1$) превъзхожда този на получилите такъв в категория нисък риск. При FRS процентът на получилите инфаркт в категорията висок риск с гранична сигнификантност ($p<0,1$) превъзхожда този на неполучилите.

Таблица 60. Анализ на зависимостта между наличието на инсулт и калкулаторите на риска

Показател	Категория	Честота	Инсулт		p
			Не	Да	
ADVANCE	Нисък	n	106	4	0,343
		%	65,8	44,4	
	Умерен	n	37	2	0,725
		%	23,0	22,2	
	Висок	n	18	3	0,150
		%	11,2	33,3	
UKPDS	Нисък	n	67	4	0,783
		%	43,2	44,4	
	Умерен	n	63	2	0,455
		%	40,6	22,2	
	Висок	n	25	3	0,380
		%	16,1	33,3	
UKPDS, инсулт	Нисък	n	150	4	0,041
		%	82,9	44,4	
	Умерен	n	6	0	0,578
		%	3,3	0	
	Висок	n	25	5	**<0,001**
		%	13,8	55,6	
FRS	Нисък	n	109	5	0,595
		%	69,9	55,6	
	Умерен	n	33	3	0,660
		%	21,2	33,3	
	Висок	n	14	1	0,702
		%	9,0	11,1	
SCORE	Нисък	n	101	4	0,410
		%	63,9	44,4	
	Умерен	n	50	5	0,260
		%	31,6	55,6	
	Висок	n	7	0	0,830
		%	4,4	0,0	

Резултатите от Таблица 60 показват, че има **сигнификантна зависимост между прогнозирания риск от инсулт според UKPDS и реално настъпилите събития**,

като по-голяма част от пациентите с висок риск са имали инсулт и по-голям процент от групата с нисък риск не са имали мозъчно-съдови инциденти.

Таблица 61. Анализ на зависимостта между смъртността и калкулаторите на риска

Показател	**Категория**	**Честота**	**Починали**		**p**
			Не	Да	
ADVANCE	Нисък	n	108	4	**<0,001**
		%	72,5	18,2	
	Умерен	n	33	6	0,787
		%	22,1	27,3	
	Висок	n	8	12	**<0,001**
		%	5,4	54,5	
UKPDS	Нисък	n	69	2	**0,001**
		%	48,6	9,1	
	Умерен	n	58	7	0,569
		%	40,8	31,8	
	Висок	n	15	13	**<0,001**
		%	10,6	59,1	
UKPDS, ф. КСБ	Нисък	n	136	5	**<0,0001**
		%	80,5	22,7	
	Умерен	n	13	1	0,594
		%	7,7	4,5	
	Висок	n	20	16	**<0,0001**
		%	11,8	72,7	
FRS	Нисък	n	109	5	**<0,001**
		%	75,2	25,0	
	Умерен	n	27	10	**0,004**
		%	18,6	50,0	
	Висок	n	9	5	**0,016**
		%	6,2	25,0	
SCORE	Нисък	n	99	6	**0,001**
		%	67,8	28,6	
	Умерен	n	42	14	**0,001**
		%	28,8	66,7	
	Висок	n	5	1	0,760
			3,4	4,8	

Най-голяма адекватност на калкулаторите на риска се установява за прогнозирането на смъртността. От Таблица 61 става ясно, че **при ADVANCE и**

UKPDS за нефатални и фатални коронарни инциденти процентът на починалите в категорията висок риск, е значимо по-висок от този на останалите живи, а относителният дял на непочиналите в категория нисък риск сигнификантно превъзхожда този на починалите. При FRS процентът на починалите в категориите умерен риск и висок риск е значимо по-висок от този на останалите живи, а относителният дял на преживелите в категория нисък риск сигнификантно превъзхожда този на починалите. При SCORE процентът на починалите в категориите умерен риск е значимо по-висок от този на останалите живи, а относителният дял на непочиналите в категория нисък риск сигнификантно превъзхожда този на починалите. Не се установи статистически значима разлика в честотата на смъртността и изчисления риск от инсулт и фатален инсулт по UKPDS, поради което те не са включени в таблицата.

Обобщение на най-важните резултати

1. Участниците със ЗД2 имат значително **по-висок изчислен сърдечно-съдов риск спрямо контролната група по всички модели на риска** – FRS, SCORE, ADVANCE Risk Engine, UKPDS Risk Engine v2.0. В групата със ЗД2, *мъжете по-често се класифицират в по-висока категория на риска спрямо жените*. Не се установява разлика единствено по отношение на риска от фатален и нефатален инсулт според UKPDS, както и от значими съдови събития според ADVANCE Risk Engine.
2. При разглеждане на маркерите за сърдечно-съдов риск между групите, се установява **сигнификантна разлика единствено по отношение на ET-1, който е по-висок при диабетици**. Средните стойности на NT-proBNP също са по-високи, но не достигат статистически сигнификантна разлика.
3. При разглеждане на връзката **между класическите сърдечно-съдови рискови фактори и биомаркерите за сърдечно-съдов риск, зависимост се установява основно за NT-proBNP**. Той корелира с възрастта и eGFR, като сигнификантно по-високи стойности се наблюдават при наличието на артериална хипертония и ограничена бъбречна функция. От специфичните за диабета рискови фактори се установява *правопропорционална зависимост единствено на ET-1 с давността на диабета*.
4. NT-proBNP е общоприет като референтен маркер, който се свързва с повишен сърдечно-съдов риск. Установи се, че **повишените му стойности се асоциират и с повишени нива на ET-1 и PlGF.**

5. От четирите изследвани биомаркера, **NT-proBNP дава най-добра асоциация с калкулаторите на риска**, като по-високите му стойности се свързват с по-висок изчислен риск по ADVANCE, UKPDS и SCORE. *Нивата на ЕТ-1 корелират с изчисления риск от инсулт*, а по-високи стойности се наблюдават в категорията с висок риск по ADVANCE. Установиха се прагови величини и за двата маркера за разграничаване на групите на риска според ADVANCE и UKPDS за инсулт.
6. **Ултразвуковото изследване** на сърце, каротидни и бъбречни артерии, **показа по-голяма честота на абнормни стойности при участниците със ЗД2** спрямо контролите. Измененията се асоциират основно с гликемичния контрол (HbA1c) и давността на диабета. По-голямата част от ехографските маркери (освен Е-вълна), корелират с изчисления сърдечно-съдов риск по всички калкулатори.
7. Проследяването на участниците показа, че **единствено в групата със ЗД2 са настъпили сърдечно-съдови събития и смърт**. По-голяма честота на миокарден инфаркт се наблюдава при мъжете и при давност на диабета над 5 години. *Починалите пациенти са по-възрастни, с по-голяма давност на диабета и по-високо систолно артериално налягане*. Сигнификантно по-високи нива на NT-proBNP и ЕТ-1 се установиха при пациентите с миокарден инфаркт и при починалите участници.
8. При сравняване на резултатите от изчисления сърдечно-съдов риск според калкулаторите и реално настъпилите събития, **най-голяма адекватност се установява при прогнозирането на общата смъртност**. Починалите пациенти имат по-висок изчислен риск по-всички модели, но *най-добре са се представили специфичните за диабета ADVANCE и UKPDS*. Най-голям е процентът на починалите пациенти с висок изчислен риск по тези два модела.

Обсъждане

Пациентите със ЗД2 имат доказано по-висока заболеваемост и смъртност от сърдечно-съдови заболявания (9). Една от основните причини за това е съчетанието на ЗД2 с поне един или повече сърдечно-съдови рискови фактори (417). Установява се синергично действие на специфичните за ЗД хипергликемия, нейната давност, микросъдовите усложнения и традиционните рискови фактори, което води до значително по-високата честота на съдовите събития в диабетната популация (418).

В нашето проучване предприехме три различни подхода за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациентите със ЗД2. Избрахме диабетици на перорална антидиабетна терапия, които са в стадий на относително запазена инсулинова секреция и субклинични съдови усложнения. Решихме да приложим няколко калкулатора за изчисляване на абсолютния риск от съдови събития, в съчетание с изследване на биохимични и ултразвукови маркери за обективна сърдечно-съдова увреда.

И при нашите пациенти със ЗД2 се отчете по-висок изчислен сърдечно-съдов риск спрямо недиабетни контроли по моделите FRS, SCORE, UKPDS и ADVANCE, като се **установи и връзка с реално настъпилите събития, особено по отношение на смъртността**.

Успяхме да потвърдим ролята на NT-proBNP като маркер за повишен сърдечно-съдов риск, като доказахме корелация на неговите нива както с изчисленията на моделите за риска, така и с реалните събития. От другите потенциални биомаркери **най-обещаващ се оказа ET-1**. И двата маркера корелират с изчисления сърдечно-съдов риск, а повишените им нива се установяват както при пациентите с настъпил миокарден инфаркт, така и при починалите.

Обективните образни методи за оценка на сърдечно-съдовата патология показаха, че в сравнение с контролната група, **пациентите със ЗД2 имат по-напреднала степен на съдова атеросклероза, промени в хемодинамиката на каротидните и бъбречните артерии, както и структурни и функционални изменения в левокамерния миокард**. Установи се значителна корелация на почти всички маркери с изчисления съдов риск, а от биомаркерите единствено NT-proBNP показа връзка с промените в диастолната функция на сърцето.

Накрая изследвахме взаимовръзката между трите подхода (или трите рамена на триъгълника):



1. Място на калкулаторите за оценка на сърдечно-съдовия риск

Калкулаторите за оценка на абсолютния сърдечно-съдов риск използват математически уравнения, в които заляга определена комбинация от фактори. Когато се цели изчисляване на риска за общата популация, обичайно ЗД е представен като дихотомна променлива (да/не), което поставя диабетиците винаги в по-висока категория на риска (46). Ето защо се предполага, че моделите, разработени в диабетни популации, би трябвало да определят по-точно риска, тъй като отчитат специфичните за ЗД рискови фактори.

Обичайно се изисква проспективно популационно проучване с голям брой участници, за да се валидира даден калкулатор на риска в определена общност. Тъй като не разполагахме с такъв ресурс, решихме да оценим какъв е изчисленият прогностичен сърдечно-съдов риск в българска кохорта от пациенти със ЗД2 с модели на риска, разработени както за обща, така и за диабетна популация. Единственият модел, който към момента е валидиран за българската популация е SCORE, който не включва ЗД като рисков фактор. *Ние изчислихме риска с най-мащабно проучвания калкулатор – FRS и със специфичните за диабета модели – ADVANCE и UKPDS, като сравнихме тяхното представяне с „референтния“ за България SCORE.*

Пациентите със ЗД2 в настоящото проучване имат значително по-висок изчислен сърдечно-съдов риск при използване на калкулаторите на риска за общата популация – FRS и SCORE, спрямо контролите (съответно 6,5% спрямо 3,15%, p=0.001 и 4,0% спрямо 1,0%, p<0.001). Интересен е фактът, че рискът според SCORE е по-висок, независимо, че хипергликемията не се включва като определяща променлива. В нашето проучване подбрахме контролна група без ЗД, но с придружаващи сърдечно-съдови рискови фактори. Следователно разликата в изчисленията се дължи на различията в рисковия профил между двете групи, изключвайки диабета. При сравнителния анализ, се установяват различия в честотата на артериалната хипертония и в стойностите на систолното артериално налягане, които са по-високи при пациентите със ЗД2. В контролната група има значително по-високи стойности на LDL-холестерола (3,47 спрямо 2,91, p=0,011), но така или иначе този показател не се включва в модела SCORE.

При изчисляване на сърдечно-съдовия риск със специфичните за диабетици модели (ADVANCE и UKPDS Risk engine), отново се установява, че той е значително по-висок в диабетната група (съответно 3,1 спрямо 0,9 %, p<0.001 и 16,7 спрямо 6,1 %, p<0.001). Това е очакван резултат, имайки предвид, че пациентите от контролната група са с по-ниски стойности на HbA1c и нямат характерните за диабета микросъдови усложнения (ретинопатия и нефропатия).

При разглеждането на групите на риска според различните калкулатори (FRS, SCORE, UKDPS, ADVANCE), **средно между 35 до 50% от пациентите със ЗД2 са класифицирани в категория с повишен риск**. Подгруповият анализ показва, че *мъжете със ЗД2 имат значително по-висок изчислен риск спрямо жените* при почти всички модели, освен ADVANCE и риска за инсулт и фатален инсулт според UKPDS. По отношение на изчисленията с FRS и SCORE, това не е толкова учудващо, тъй като в тях мъжкият пол има по-голяма тежест като рисков фактор. Имайки предвид по-високия сърдечно-съдов риск, който носят жените със ЗД2 (42), в специфичните за диабета калкулатори – UKDPS (77) и ADVANCE (90), е обратното - женският пол е по-рисков.

По-нисък изчислен риск за коронарни съдови събития при жени според UKPDS се установява и в други проучвания (419,420). Авторите отчитат сигнификантна разлика в рисковите фактори по отношение на тютюнопушенето, като неговата честота е по-висока при мъжете (419,420). Това е основна разлика, която се наблюдава между

половете и в нашето проучване, като мъжете са по-често настоящи или бивши пушачи. Изследвания върху честотата на рисковите фактори при жени диабетички, установяват, че повечето от тях имат по-лош контрол на LDL-холестерола и систолното артериално налягане (421–423). Макар и в нашето проучване тези изменения да се срещат по-често при жени, не се достига сигнификантна разлика спрямо мъжете. От друга страна жените имат значимо по-голяма честота на нисък HDL-холестерол и ХБЗ, което може би е причината за отслабване на различията между половете по отношение на средния изчислен риск според ADVANCE. Въпреки това мъжете по-често са класифицирани във високорисковата категория и по този модел.

Фактът, който прави впечатление е, че **пациентите със ЗД2 по-често се разпределят в ниската или високата категория на риска от фатални коронарни събития, инсулт или фатален инсулт според UKPDS, докато групите на умерен риск са по-малки**. Това би трябвало да означава, че тези уравнения успяват да разграничат по-добре ниско- от високорисковите групи. Някои проучвания наистина успяват да докажат по-добро представяне на уравненията за инсулт и фатален инсулт по UKPDS, но не и по отношение на риска от коронарна съдова болест (59,424).

От друга страна, голям процент от нашите пациенти със ЗД2 са класифицирани в категория с умерен риск според FRS (22,3%), SCORE (33,3%), UKPDS за нефатални коронарни съдови събития (39,4%) и ADVANCE (22,7%). Много проучвания са посветени на опитите за рекласификация на пациентите от групата с интермедиерен риск към друга категория (59,107,109–111). Това се дължи на факта, че в тази категория се включват както пациенти с висок риск, така и с нисък, което понякога прави избора на терапия труден (111).

Налага се търсене и на други начини за прецизиране на риска от бъдещи съдови събития при пациентите със ЗД2. Един от вариантите е да се определят нивата на биохимичните маркери за съдова увреда и ендотелна дисфункция и да се потърси връзка с бъдещия сърдечно-съдов риск (425,426). Другият подход е директната визуализация на промените в съдовата стена и миокарда, които се свързват с по-лоша прогноза по отношение на бъдещи съдови събития (427).

2. Биохимични маркери за сърдечно-съдов риск

Решихме да потърсим зависимост между биохимичните и ехографските маркери за сърдечно-съдова увреда с изчисления риск според различните калкулатори. Опитахме да намерим тези показатели, които се свързват с висок изчислен сърдечно-съдов риск и биха били полезни в рекласифицирането на пациентите от интермедиерната група.

2.1. Връзка на NT-proBNP със сърдечно-съдовия риск

В нашето проучване изследвахме един от референтните маркери за сърдечно-съдов риск, а именно NT-proBNP, в допълнение към маркерите за ендотелна дисфункция – ADMA и ET-1, и все още проучвания PlGF.

От всичките маркери, **най-добро представяне се откри за NT-proBNP, който се асоциира с изчисления риск по всички модели**. Тези резултати не са толкова учудващи, имайки предвид, че NT-proBNP вече е утвърден маркер, прогнозиращ бъдещи сърдечно-съдови събития. Метаанализ на Angelantonio et al. показва, че при високорисковите пациенти, с комбинация от няколко рискови фактора, повишеният NT-proBNP носи по-висок сърдечно-съдов риск с RR 3,35 [95% CI 2,38 – 4,72](428). В тази категория се включват и пациентите със ЗД2. Големи популационни проучвания при пациенти със ЗД2 също откриват връзката на NT-proBNP с риска от СН, сърдечно-съдовите събития, общата и сърдечно-съдовата смъртност (114,117,136,157,163,164,167). В проучването ARIC се посочва граница от 125 pg/ml, над която NT-proBNP се превръща в независим предиктор за атеросклеротични съдови заболявания (163). ESC също посочва тази стойност като прагова за изключване на съдови събития (94).

Голяма част от проучванията установяват повишени нива на NT-proBNP при пациентите със ЗД2 (120,122,123). *В нашето проучване, обаче, не успяхме да докажем значителна разлика в концентрациите на NT-proBNP между изследваните групи.* Независимо от това, средните му стойности са над приетата горна граница от 125 pg/ml при диабетиците, в сравнение с контролите (215,3 спрямо 78,98 pg/ml, p=0,236). Вероятно липсата на съществена разлика се дължи на факта, че контролната ни група не се състои от напълно здрави индивиди, а от недиабетици с метаболитен синдром. Те имат затлъстяване в 81,5% от случаите (среден BMI 34,7 ± 5,54), 59,3% са с артериална хипертония, 78% са с повишен LDL-холестерол, 52% с нисък HDL-холестерол и 33% - с повишени триглицериди. Всички тези фактори се свързват с

повишени нива както на NT-proBNP (118), така и на останалите маркери (ADMA (185–187), PlGF (119) и ET-1 (227–229)).

Най-силната зависимост, която открихме за NT-proBNP, е с изчисления риск за инсулт и фатален инсулт. Редица проучвания успяват да докажат връзката на този маркер с честотата на исхемичния и хеморагичен инсулт (160,429,430). Работната група на проучването UKPDS открива, че най-силни рискови фактори за бъдещ инсулт са давността на диабета, възрастта, женският пол, систолното артериално налягане и съотношението на общ холестерол към HDL-холестерол. Те не включват HbA1c в моделите за оценка на риска от инсулт и фатален инсулт (76,77). В нашето проучване жените имат сходен риск от тези събития, както и мъжете. Не се установява и сигнификантна разлика на NT-proBNP между двата пола, както и зависимост с давността на диабета, тютюнопушенето и систолното артериално налягане, но пък се откриват значително по-високи стойности при пациентите с артериална хипертония (239,31 pg/ml спрямо 84,19 pg/ml, p=0,007). От друга страна повишените нива на NT-proBNP корелират с ограничената бъбречна функция, а повече жени със ЗД2 в нашето проучване имат по-ниски стойности на eGFR, което вероятно обяснява и по-добрата корелация на маркера с риска от инсулт. Установява се и значителна връзка с възрастта, а в нашето проучване жените са средно с 3,3 години по-възрастни от мъжете.

Интересното в нашите резултати е, че по отношение на липидните показатели, се установява *отрицателна зависимост на NT-proBNP с LDL-, non-HDL-холестерола и триглицеридите и положителна с HDL-холестерола*. Пациентите с LDL-холестерол в норма имат значително по-високи нива на NT-proBNP (299,5 спрямо 154,27 pg/ml, p=0.040). Метаанализ на Spannella et al. (431), доказва, че по-високите концентрации на натриуретичните пептиди се свързват с по-благоприятен липиден профил. Има доказателства, че те участват в липидния метаболизъм, като спомагат поемането на богатите на триглицериди частици от адипоцитите, действат директно върху метаболизма на LDL-холестерола посредством PCSK9, също така подобряват инсулиновата чувствителност (432,433). Такъв ефект се наблюдава основно за А-тип натриуретичните пептиди, но се открива зависимост и с NT-proBNP, дори при високите му концентрации (431), както е в нашето проучване.

При разглеждане на биомаркера по категории на риска според различните калкулатори, липса на значима разлика има само при групите според FRS. Във всички

останали случаи **(ADVANCE, UKPDS, SCORE), NT-proBNP е сигнификантно по-висок при пациентите с умерен и висок риск, спрямо тези с нисък риск**. **Корелацията на NT-proBNP е най-висока с изчисления риск за инсулт според UKPDS.** *За модела ADVANCE успяхме да намерим прагова стойност на NT-proBNP от 68.8 pg/ml, която да разграничи пациентите с нисък риск от останалите две групи. Почти същият е прагът (68,3 pg/ml) и за разграничаване на нискорисковата група по SCORE.* Въпреки това, по отношение на модела ADVANCE, много по-добро представяне на валидационните тестове имат стойностите на NT-proBNP, които разграничават високорисковата категория от останалите две. Праговата стойност, която установихме, е 124,5 pg/ml, която има 67% чувствителност и 69% специфичност за разграничаване на пациентите с нисък и умерен риск, от тези с висок. Нивата на NT-proBNP над тази граница имат отрицателна предиктивна стойност от 94%, което означава, че пациентите с по-ниски концентрации е малко вероятно да имат висок риск от настъпване на това събитие. Тази стойност е на практика същата, която се предлага и от ESC за стратификация на риска от сърдечно-съдови заболявания (94).

2.2. Връзка на по-новите маркери (ADMA и ET-1) със сърдечно-съдовия риск

2.2.1. Ролята на ADMA за предикция на риска от съдови събития

От останалите биомаркери, само ET-1 успява да покаже слаба корелация с риска от инсулт и фатален инсулт по UKPDS, докато за ADMA и PlGF не се открива зависимост с нито един от калкулаторите.

Това е озадачаващ резултат, особено по отношение на ADMA. Този маркер се свързва с ендотелната дисфункция и процеса на атеросклероза. Събрани са достатъчно доказателства от няколко метаанализа, които показват, че той се асоциира с риска от сърдечно-съдови заболявания и обща смъртност (206–208). Също така, по-високите му стойности при пациенти със ЗД2 се свързват с по-голяма честота на микросъдови усложнения (434), както и на миокарден инфаркт, инсулт и сърдечно-съдова смъртност (216,217). От друга страна, тази зависимост се губи при диабетици с добър гликемичен контрол (HbA1c < 6,5%) (217).

Няколко проучвания показват, че пациентите със ЗД2 и по-високи нива на ADMA имат налични макросъдови усложнения (194,214,216). Пациентите със стойности над 0,63 μmol/l имат два пъти по-висок риск от настъпване на сърдечно-съдови събития

(214). *В нашето проучване не се установи разлика в нивата на ADMA между групите със ЗД2 и контроли, а средните нива в диабетната група са 0,62 µmol/l.*

Доказано е, че инсулиновата резистентност, която е характерна при пациентите със затлъстяване, потенцира ендотелната дисфункция (187,230), което се свързва и с по-високи концентрации на ADMA и ET-1. Установена е позитивна корелация между нивата на ADMA и обиколката на талията (185,186). В нашето проучване, обаче, не откриваме зависимост на ADMA нито с антропометричните показатели, нито с традиционните сърдечно-съдови рискови фактори. Възможно е обаче лечението за ЗД2 да оказва влияние върху нивата на ADMA. След като той се асоциира с инсулиновата резистентност, терапията с метформин потиска неговите концентрации (435,436), а това е първи медикамент на избор при ЗД2 и присъства при почти 100% от нашите диабетици.

2.2.2. Значение на ET-1 за определяне на сърдечно-съдовия риск

Лечението за ЗД2 би трябвало да повлияе и концентрациите на **ET-1**, както тези на ADMA, но в нашето проучване откриваме **значително по-високи нива при диабетиците спрямо контролите** (17,08 pg/ml спрямо 5.07 pg/ml, p=0.002). Неочакван резултат е отрицателната корелация на ET-1 с обиколката на талията, отношението талия/ханш и WtHR, които по принцип се свързват с повишена инсулинова резистентност и хиперинсулинемия. В проучване на Dimova et al. също липсва корелация на ET-1 с метаболитните и антропометрични параметри, но авторите не успяват да докажат и различия в нивата им при пациенти с нормален глюкозен толеранс, предиабет и новооткрит ЗД2. Метаанализ на Muniyappa и Sowers показва, че асоциацията на ET-1 с инсулиновата резистентност не е толкова силна и вероятно има други фактори, свързани с нея, които потенцират ендотелната дисфункция (232).

В нашето проучване, от всички диабетни показатели, **ET-1 корелира единствено с давността на диабета, като най-високи стойности се отчитат при пациентите с давност над 10 години**. Вероятно на това се дължи разликата ни с проучването на Dimova et al. Вече е известна връзката на оксидативния стрес със стимулацията на ендотелиновата система (437). Комбинацията от инсулинова резистентност и хипергликемия при ЗД2 потенцира образуването на кислородни радикали (438) и оксидирането на LDL-частиците, които са посочвани като основен стимулатор в

продукцията на ЕТ-1 (439). Оксидативният стрес задейства няколко механизма на тъканна увреда (полиоловия път на разграждане на глюкоза, образуване и натрупване на AGEs в различни тъкани, експресията на протеин киназа С, свръхактивацията на хексозаминовия път), които лежат в основата на „метаболитната памет“ при диабетици (438,440). Тогава не е учудващо, че с напредването на диабета и натрупването на свободни радикали, AGEs и съдови изменения, ще се покачват и нивата на ЕТ-1.

Ето защо не изключваме вероятността по-високите концентрации на ЕТ-1 да се дължат на наличието на подлежащо съдово заболяване, което да протича безсимптомно при нашите пациенти със ЗД2. Няколко проучвания успяват да докажат по-високи нива на ЕТ-1 при пациенти с макросъдови атеросклеротични промени (234,236,237,250). Освен това, повишеният ЕТ-1 се асоциира с по-висок риск от съдови събития, по-лоша прогноза и повишена смъртност при пациенти със СН (249,255,441–443). Установява се връзка на ЕТ-1 с промени в коронарната и мозъчно-съдовата циркулация (444). Под действието на ЕТ-1 настъпва ремоделиране на мозъчните съдове с развитие на хипертрофия на медията и отлагане на колаген в стената им, което значително стеснява техния лумен (252). В експериментални условия е доказано, че мозъчните артерии при плъхове със ЗД имат нарушен отговор към вазодилататорни стимули (242). *Може би това е обяснението за асоциацията на ЕТ-1 с изчисления риск от инсулт и фатален инсулт, която откриваме в нашето проучване.*

Установява се, че подобно на NT-proBNP, и **ЕТ-1 достига най-високи стойности (25,19 pg/ml) в категорията с висок риск според ADVANCE Risk Engine.** В допълнение на това, ние отчетохме, че повишените нива на NT-proBNP ≥ 125 pg/ml се асоциират и с по-високи концентрации на ЕТ-1 и PlGF. В проучване на Ju et al. се отчита едновременно покачване в нивата на BNP, ЕТ-1 и матриксна металопротеиназа-9 (MMP-9) при пациенти с коронарна атеросклероза, като концентрациите им растат пропорционално на броя засегнати клонове (236). Доказано е, че ЕТ-1 играе роля в ремоделирането както на коронарните артерии (445), така и на сърдечния мускул, като потенцира миокардната хипертрофия и фиброза (253). Това го свързва както с исхемичната болест на сърцето, така и с развитието на СН. От своя страна, секрецията на NT-proBNP също се стимулира от състояния на исхемия и хемодинамичен стрес с цел да се предотврати камерното ремоделиране и

натрупването на колаген (113). Явно е, че и двата маркера (ET-1 и NT-proBNP) се свързват с общи патологични процеси, които настъпват в сърцето и неговите съдове, и това би трябвало да обясни синергичното им покачване.

2.3. PlGF и сърдечно-съдов риск

Другият маркер, който се асоциира с нивата на NT-proBNP, е PlGF. Това е растежен фактор, който участва в процеса на нео-васкуларизацията, ремоделирането на съдовата стена, прогресията и дестабилизирането на атеросклеротичните плаки (265). Няколко проучвания при пациенти с коронарна съдова болест успяват да покажат по-лоша прогноза за фатален изход при миокарден инфаркт при повишени нива на PlGF, като се предполага, че причината за това е дестабилизацията на коронарните плаки (274,275,279,281). В същото време се открива и асоциация на NT-proBNP с прогресията на атеросклеротичния процес. Например Barbato et al. доказват нарастване в нивата на маркера още при появата на дискретни промени в коронарните артерии (156 [98-170] pg/ml), след което се покачват прогресивно с напредването на дегенеративния процес към умерена атеросклероза (NT-proBNP 162 [84-283] pg/ml) и до стеноза на коронарните артерии (222 [191-784] pg/ml). За сравнение средните нива при здрави контроли са 78 (40-136) pg/ml, ($p<0.05$ за всички групи) (446). Същата средна стойност установяваме и в нашата контролна група (78,98 pg/ml). Наличието на напреднал атеросклеротичен съдов процес би могло да обясни връзката на повишения NT-proBNP с PlGF. В проучването на Matsui et al. се установяват синергично повишени нива на BNP и PlGF при пациенти с ХБЗ, което се свързва и с повишена сърдечно-съдова и обща смъртност в тази популация (269).

От друга страна, в нашето проучване **не установихме асоциация на PlGF с изчисленията по моделите на съдовия риск.** Няма разлика в нивата му по полова принадлежност или диабетния статус, и той остава непроменен при наличието на придружаващи сърдечно-съдови рискови фактори, като артериална хипертония, повишен LDL-холестерол и триглицериди, тютюнопушене, обезитет, което е в противоречие с други проучвания (267,269). Установено е, че има повишени нива на PlGF години преди поставянето на диагнозата ЗД2, като той не корелира нито с нивата на гликемията и инсулиновата резистентност, нито със затлъстяването (447). *Пациентите от контролната група в нашето проучване са с повишен риск от развитие на ЗД2, което може би обяснява липсата на значима разлика в нивата на маркера спрямо диабетната група.* Открива се единствено отрицателна зависимост

с нивата на HDL-холестерола. Тази корелация се открива и в другите студии (267,269,448). Ниските концентрации HDL-холестерола са всеобщо известен рисков фактор за съдови събития, което още веднъж доказва връзката на PlGF с процеса на атеросклероза.

В заключение, биомаркерите NT-proBNP и ET-1 показаха най-голям потенциал за разграничаване на високорисковите пациенти в нашето проучване, докато ADMA и PlGF не показаха значителна зависимост с изчисления съдов риск или сърдечно-съдовите рискови фактори при диабетици.

3. Обективни ехографски показатели за сърдечно-съдова дисфункция и изчислен сърдечно-съдов риск

Много по-убедителни са данните от корелационния анализ между изчисления сърдечно-съдов риск и по четирите модела с показателите от ехокардиографията и ултразвука на каротидните и бъбречните артерии. Установява се зависимост на почти всички ултразвукови маркери с прогнозния риск, като ще разгледаме всеки от тях поотделно.

3.1. Ехокардиографски показатели и сърдечно-съдов риск

3.1.1. Конвенционална ехокардиография

Ехокардиографията е основен инструмент за оценката на структурата и функцията на сърдечния мускул (292). Провеждането на конвенционалната двуизмерна ехокардиография на пациентите в нашето проучване, показа, че **диабетиците имат значително по-висока левокамерна мускулна маса спрямо контролите**, въпреки че честотата на левокамерна хипертрофия не достига статистически значима разлика между двете групи (40,7% при контроли и 68,2% при диабетици, p=0,104). Тези резултати са в съгласие с други проучвания, които доказват по-голяма ЛК маса при диабетици (308,317,449), макар ние да не установихме връзка с нивата на гликемията, давността на диабета и антропометричните показатели. Все пак в голямо проучване на Palmieri et al. се установява, че ЗД2 се асоциира с по-висока ЛК мускулна маса, независимо от възрастта, пола, телесните пропорции и артериалното налягане (450).

В нашето проучване установихме зависимост на LVMI с изчисления риск за фатални коронарни инциденти по UKPDS и SCORE, както и риска от инсулт и фатален инсулт. Това не е учудващо, имайки предвид, че наличието на левокамерна

хипертрофия е вече доказан прогностичен маркер, който увеличава риска от миокарден инфаркт, инсулт и сърдечно-съдова смъртност (451–453). Наличието на ЛК хипертрофия се свързва с по-голяма честота на предсърдно мъждене, което потенцира и вероятността от инсулт (453). Има данни за връзката между ЛК мускулна маса и риска от внезапна сърдечна смърт (454). Може би затова *в нашето проучване LVMI се свързва именно с риска от фатални съдови събития.*

От друга страна ЛК хипертрофия е субстрат за систолна (455) и диастолна дисфункция на ЛК (293) и се включва в характерния фенотип на СН със запазена фракция на изтласкване (145,456,457). Известно е, че пациентите със ЗД2 имат висока честота на сърдечна недостатъчност и често това е първата изява на сърдечно-съдовата патология при тях (12). В нашето проучване нямаше пациенти с ограничена систолна функция, макар при диабетиците да има тенденция към по-ниски стойности на ФИ и ФС спрямо контролите (съответно 68% спрямо 70%, p=0,032 и 38% спрямо 40%, p=0,018). Не се установява корелация със специфичните за ЗД показатели, като гликемията, давността на диабета и ACR, но и двата показателя корелират с LVMI, който е по-висок при диабетици. Освен това, в проучването MESA се открива, че анамнезата за тютюнопушене и наличието на ЗД са независими предиктори за по-ниска ФИ (458).

Макар едни и същи рискови фактори да са отговорни за наличието на ЛК хипертрофия и потисната систолна функция (459), **в нашето проучване ФИ и ФС корелират най-добре с риска от фатални и нефатални коронарни инциденти по UKPDS и FRS, а ФИ има сигнификантна, но по-слаба връзка и със SCORE**. Наличието на коронарна съдова болест и миокарден инфаркт се асоциират с прогресията от нормална към потисната систолна функция, независимо от ЛК хипертрофия (455,460,461). Наличието на каротидна атеросклероза (462) и периферна съдова болест (463) също се свързва с редуцирана ФИ. *В нашето проучване също открихме отрицателна зависимост на ФИ с наличието на каротидна атеросклероза, оценена чрез IMT, въпреки че нашите пациенти все още нямат систолна дисфункция.* Ние предполагаме, че ФИ е чувствителен показател, който започва да намалява още в стадий на субклинична атеросклероза, като систолната дисфункция се задълбочава с прогресията към изявена съдова болест. *Може би това обяснява и асоциацията на ФИ и ФС с риска от значими коронарни събития.*

3.1.2. Доплер-показатели на сърдечната функция и сърдечно-съдов риск

Известно е, че функционалните изменения в диастолната функция са по-чести при пациентите със ЗД2, като те настъпват на много ранен етап в хода на заболяването (282). Комбинацията от инсулинова резистентност и хипергликемия води до хипертрофия на миокарда, намаляване на неговата еластичност и нарушения в енергийния му баланс (290). Две са основните последици от ЛК хипертрофия, които лежат в основата на ЛКДД. Това са повишената ригидност на ЛК стена и намалената релаксация на миокарда (291). Сурогатен маркер за тези промени са показателите от Доплеровото изследване на трансмитралния кръвоток – Е-вълната, А-вълната и времето на децелерация (DT) на Е-вълната (464). С намаляването на комплайънса на ЛК и нейната релаксация, Е-вълната става по-полегата, като DT се удължава (>220 ms), а съотношението на Е/А намалява (<1,0) (464). *Това на практика описва модела на нарушена релаксация на ЛК, който е първият етап от диастолната дисфункция*. При задълбочаване на промените в миокарда, ЛК става нееластична и ригидна, наляганeто се увеличава, а времето за напълване е много кратко, което се характеризира с намаляване на DT. Тези изменения са характерни за рестриктивния модел на трансмитрален кръвоток и са израз на тежка диастолна дисфункция (464).

Показателите от пулсовия Доплер на ЛК при нашите пациенти показват удължено DT при диабетиците спрямо контролите (средно 244 msec спрямо 207 msec, p<0,001), като израз на намалена релаксация на ЛК. От друга страна не се открива сигнификантна разлика в Е-вълната и съотношението Е/А. Това може да се дължи на по-голяма честота на псевдонормален модел на пълнене на ЛК, който е често срещан при диабетици (465,466). Пулсовият Доплер не може да различи нормалния от псевдонормалния модел, тъй като и двата се представят със запазено съотношение на Е/А и DT, но във втория случай има повишено налягане на ЛК пълнене и диастолна дисфункция (293).

Тези обстоятелства налагат използването на TDI за „демаскиране“ на диастолната дисфункция (464). Нарушената релаксация на ЛК води до намалена разтегливост на миокарда и съответно намаляване на скоростта на движение на митралния пръстен в диастола (Em), а повишеното съотношение на E/Em отразява увеличеното налягане на ЛК пълнене (464). Резултатите от TDI в нашето проучване показват значително по-къса Em вълна спрямо контролите (средно 8,8 cm/sec спрямо 12,1 cm/sec, p=0,001), и по-високо съотношение E/Em (средно 8,4 спрямо 6,3, p=0,001). Абнормни стойности на Em и E/Em се срещат при съответно 36,4% и 27,3% в диабетната група, за разлика

от едва 7,4% и 3,7% при контролите. **От това следва, че освен по-ниска степен на релаксация на ЛК, пациентите със ЗД2 имат и тенденция към по-високо налягане на ЛК пълнене.** Същите наблюдения правят и Zahiti et al., които не откриват съществена разлика в показателите от конвенционалната ехокардиография между диабетици и здрави контроли, но TDI открива значително по-ниски стойности на Em при диабетиците (301). Дори при сравняване на пациенти с вече налична СН от диастолен тип, пациентите със ЗД2 имат по-високо съотношение на E/Em спрямо тези с нормогликемия (145,456,457). С помощта на TDI ние успяхме да установим нарушена релаксация при 18.2% от диабетиците (спрямо 14,8% при контроли, p=0.903), и псевдонормален модел при 27,3%, за разлика от нито един пациент от контролната група.

Основните рискови фактори, свързани с изменения в показателите за диастолна функция при пациентите със ЗД2 в нашето проучване, са възрастта, давността на диабета и гликемичния контрол. Тези резултати са в съгласие с много проучвания в тази област. По-ниски стойности на Em и повишено съотношение E/Em зависят както от нивата на HbA1c (304,313,323,325), така и от вариабилността на кръвната захар (319,321). Възрастта и давността на диабета също имат съществено значение (304,322,324,326), като измененията започват да се наблюдават дори и при малка давност на заболяването. Установява се, че пациентите ≥ 45 годишна възраст имат три пъти по-висок риск да развият ЛКДД, а дори две-годишна давност на диабета се свързва с двойно увеличение на риска от диастолна дисфункция (310). При нас също се установи липса на значима разлика в стойностите на Em според давността на диабета, като **абнормно ниска Em се среща в 30% от изследваните пациенти с давност на диабета под 5 години**. Това значи, че промените в ЛК настъпват много рано в хода на заболяването.

Показателите от TDI показаха значителна корелация с изчисления сърдечно-съдов риск по всички модели на риска. Данните от пулсовия Доплер са по-скромни, като се установява най-добра корелация по отношение на DT, докато за Е-вълната не се откри никаква. Както вече стана ясно, тя е ненадежден показател, тъй като еднакви нейни стойности може да има както в рамките на запазена диастолна функция, така и при псевдонормален модел на пълнене с повишено ЛК налягане.

3.2. Ехокардиографски показатели и TDI – връзката им с биомаркерите и изчисления сърдечно-съдов риск

Ендотелната дисфункция лежи в основата на процеса на ремоделиране на съдовете, който засяга както големите артерии, така и микросъдовете в миокарда, с което се потенцира неговата фиброза (467). По този начин повишената ригидност и намалена еластичност на ЛК може да се свърже със системната атеросклероза. В доказателство на това е фактът, че **успяхме да открием прагови нива на маркера за ендотелна дисфункция ADMA (≥0,58 μmol/l), които се свързват с повишено DT**. Може би това прави DT по-чувствителен маркер за цялостната съдова увреда. Няколко проучвания успяват да докажат връзката на DT с централните промени в хемодинамиката и артериалната ригидност (468–470). *Ние също намерихме силна корелация на DT с промените в кръвотока на каротидните и бъбречните артерии.*

Показателите Em и E/Em от TDI също отразяват намалената релаксация на ЛК и повишеното налягане на пълнене. Подобно на DT, те се асоциират с изчисления сърдечно-съдов риск по всички калкулатори, а най-изразена е връзката им с модела ADVANCE, както и с риска от фатални коронарни събития по UKPDS. Това е в съгласие с доказателствата за зависимост на ЛКДД с атеросклеротичните изменения на коронарните съдове (328,329), както и със сърдечно-съдовата смъртност (471,472).

Ние потърсихме връзка на *показателите за ЛКДД с маркерите за субклинична атеросклероза*. **Такава намерихме единствено по отношение на NT-proBNP и показателите Em и E/Em от TDI**. Много проучвания установяват, че по-високите стойности на NT-proBNP се свързват с ЛКДД (134,140,473,474). Натриуретичните пептиди се отделят от сърдечния мускул при състояния на хемодинамичен стрес, каквато е сърдечната недостатъчност, дори и при запазена ФИ (475). Grewal et al. посочват прагова стойност на NT-proBNP от 600 pg/ml като независим предиктор за ЛКДД (140), но според препоръките на ESC, такива стойности са силно суспектни за вече налична СН (476). *Ние установихме прагова стойност на NT-proBNP ≥ 70,2 pg/ml, която има 71% чувствителност и 87% специфичност за откриване на ниска Em (AUC 0,781, p=0,004)*. Почти същата е стойността, която откриваме като прагова за отграничаване на нисък риск по ADVANCE Risk Engine и SCORE. **Възможно е именно Em да е един от най-ранните маркери на сърдечно-съдова увреда, който да се свързва с изменението на риска.**

Цитираните стойности на NT-proBNP са доста по-ниски от определената от ESC като прагова за изключване на СН (476). Това може да се дължи на факта, че голяма част от нашите пациенти са със затлъстяване. Много проучвания откриват отрицателна

връзка на NT-proBNP с BMI (124–128), което се дължи отчасти на намаленото му производство от миокарда (129) и на повишения му клирънс в периферната мастна тъкан (477), въпреки че при нас зависимостта между теглото и NT-proBNP не достига статистическа значимост. ESC препоръчват при пациенти с BMI>30 kg/m^2, нормата за NT-proBNP да се редуцира с 50% (476).

3.3. Ултразвукови параметри на каротидните и бъбречните артерии и изчисления сърдечно-съдов риск

Ранните атеросклеротични изменения на съдовата стена могат да бъдат оценени и директно с измерване на IMT или наличието на плаки в каротидните артерии, както и индиректно, чрез промяната в хемодинамиката на съда (339). Ние проверихме връзката им с показателите за диастолна дисфункция. **Откри се значима корелация на Em, E/Em и DT както с IMT, така и с хемодинамичните показатели на каротидните и бъбречните артерии**. Пациентите с наличието на каротидни плаки имат много *по-често повишено DT и ниски стойности на Em, което още веднъж доказва връзката на диастолната дисфункция с цялостния атеросклеротичен процес*.

Подобно на показателите от TDI, ултразвуковите маркери от каротидните и бъбречните артерии корелират с всички прогнозни изчисления на рисковите калкулатори. Вече е доказана връзката на cIMT с коронарната атеросклероза, както при пациенти със ЗД2, така и в общата популация (337,338,346,354). Може би затова *cIMT има най-силна зависимост с изчисления риск от значими съдови събития по ADVANCE и FRS, както и от фатални коронарни събития по UKPDS и SCORE.*

В нашето проучване **пациентите със ЗД2 имаха значително по-високи средни стойности на cIMT спрямо контролите** (0,93 мм спрямо 0,75 мм, p<0.001), като при 38,6% от диабетиците cIMT е над 1 мм, за разлика от нито един пациент от контролната група. Подобни са резултатите в проучването на Poulsen et al., в което при скриниране на 305 пациента със ЗД2 се установява cIMT > 1 мм при 35%, а средната стойност на cIMT е 0,82 мм. Ние установихме и сигнификантна разлика в честотата на каротидните плаки (61,4% при ЗД2 и 29,6% в контролната група, p=0,039). *Така още веднъж се доказва, че пациентите със ЗД2 имат по-напреднала субклинична атеросклероза, спрямо пациентите с нормогликемия и предиабет* (351). Както показва и метаанализа на Brohall et al., наличието на ЗД2 се свързва с 0,13 мм

по-високи стойности на IMT спрямо контролите (352). *Ние установихме сигнификантна зависимост на IMT с HbA1c, което вероятно стои в основата на тези различия.*

Възникват все повече данни за връзката на хемодинамичните показатели на бъбречните артерии със системния атеросклеротичен процес. В нашето проучване установихме **значително по-високи стойности на RRI при пациентите със ЗД2 спрямо контролите (0,69 спрямо 0,64, p<0,001), което може да бъде израз както на начална диабетна нефропатия** (395)**, така и на подлежаща атеросклеротична съдова увреда** (398,399). Не намерихме обаче корелация на RRI с eGFR или ACR, но за сметка на това има значителна зависимост с cIMT и наличието на каротидни плаки. Това още веднъж показва, че RRI не е толкова зависим от бъбречната патология, колкото се е смятало в началото (369). **Отчита се значителна корелация и с калкулаторите на риска, като най-силна е тя за ADVANCE и риска от фатални коронарни инциденти и инсулт по UKPDS**. За разлика от cIMT, RRI не корелира с HbA1c, но се установява много силна зависимост с давността на диабета и възрастта, които са основните рискови фактори, определящи риска от инсулт. Давност на диабета над 5 години се свързва с по-голяма честота на повишени RRI и CARI.

Друг хемодинамичен показател, който представлява интерес е *CARI*. **И по отношение на него установихме значително по-високи средни стойности при диабетиците спрямо контроли** (0,73 спрямо 0,66, p<0,001). Отново най-силна зависимост се открива с възрастта, давността на диабета и cIMT, но тук учудващото е, че CARI се асоциира и с ACR. *Няколко проучвания успяват да докажат връзка на албуминурията с показателите за ригидност на каротидните артерии* (478–481)*, но не се откриват такива, които да я свързват директно с CARI*. Микроалбуминурията е доказан маркер за риска от сърдечно-съдовата заболеваемост и смъртност (94,482,483), като той се свързва както с атеросклерозата на каротидните артерии (484), така и на коронарните (485). *Вероятно в този случай миркоалбуминурията се асоциира именно с атеросклеротичния процес на каротидните артерии, който лежи в основата на променения им кръвоток.*

Въпреки, че е най-малко проучен от останалите ултразвукови показатели, CARI показва най-значима зависимост с всички прогнозни рискове. Най-силна и правопропорционална е корелацията с изчисления риск по ADVANCE, което вероятно се дължи именно на включването на ACR в този модел. Но и останалите

зависимости за нефатални и фатални коронарни и мозъчно-съдови събития също са значителни.

Както вече споменахме, ендотелната дисфункция при ЗД2 и натрупването на AGEs в съдовата стена (400), ускоряват дегенеративния процес в артериалните съдове, поради което стената им става ригидна и неразтеглива (373). Това е причината за взаимната връзка на CARI и RRI с показателите за атеросклероза (cIMT) и ЛК ремоделиране (LVMI, DT, Em). Както CARI, така и RRI са повишени при диабетици. Каротидните артерии, обаче, са по-достъпни за изследване и определянето на CARI е много по-лесно и възпроизводимо, което вероятно е причината за по-добрата му корелация с изчисления съдов риск.

В обобщение, обективните ултразвукови маркери за сърдечно-съдов риск показаха, че пациентите със ЗД2 имат по-напреднала каротидна атеросклероза и диастолна дисфункция спрямо контроли. Открива се значителна връзка на почти всички ултразвукови показатели с изчисления сърдечно-съдов риск, като най-силна зависимост показва CARI. Търсенето на връзка с биомаркерите на риска показа такава единствено за NT-proBNP и показателите от TDI за диастолна дисфункция, а именно Em и E/Em.

4. Петгодишно проследяване на групата диабетици – връзка с биомаркерите и изчисления сърдечно-съдов риск.

4.1. Роля на класическите рискови фактори

При проследяване на пациентите за период от близо 5 години, значими съдови инциденти и смърт настъпиха единствено в групата на ЗД2. **Смъртността при нашите диабетици възлиза на 12.8%**. В голямо популационно проучване на Rawshani et al. за период от 5,7 години смъртността при пациентите със ЗД2 достига 13,9% (от общо 271,174 пациента) (81), което е резултат приблизително близък до нашия. Те установяват, че HbA1c извън таргетните стойности е основен предиктор за настъпването на миокарден инфаркт и инсулт, а тютюнопушенето се свързва със смъртността (81). Ние установихме, че спрямо оцелелите, **починалите пациенти са по-възрастни средно с 10 години** (69,14 спрямо 59,12 години, p<0.001), **имат по-голяма давност на диабета с 4 години** (10 спрямо 6 години, p=0,003), като диагнозата им е била поставена по-късно. Също така се установи **по-високо систолно артериално налягане при починалите**. *Честотата на миокарден инфаркт е по-*

висока при мъжете и при давност на диабета > 5 години. Не успяхме обаче да покажем зависимост в честота на инфарктите, инсултите и смъртността с HbA1c.

Вече е доказана ползата от ранния интензивен гликемичен контрол върху сърдечно-съдовия риск и смъртността (68,486,487). Благоприятният ефект се запазва дори при изравняване на HbA1c между групите на интензивно и стандартно лечение с времето (486), което се дължи на т.нар. „метаболитна памет“. Още едно доказателство за този феномен е проучването ACCORD, което показва увеличение на макросъдовите инциденти при пациентите на интензивно лечение, но за разлика от пациентите в проучването UKPDS, които са с новооткрит диабет, тук те са по-възрастни и имат приблизително 10-годишна давност на диабета (488). Както вече споменахме, с увеличаването на продължителността на хипергликемията се трупат съдови изменения, които стават необратими и не се повлияват от интензивното лечение. *Може би затова не успяхме да открием зависимост на смъртността с HbA1c, а само с давността на диабета*. Ние не знаем ретроспективно какъв е бил контролът на нашите пациенти при старта на заболяването, но в момента на изследването не се установи разлика в нивата на HbA1c между починалите и оцелелите. *Можем само да предполагаме, на базата на проведените до момента изследвания, че вероятно гликемичният контрол на починалите е бил неоптимален от самото начало.*

Макар да не установяваме разлика в честотата на хипертонията при починалите и оцелелите пациенти със ЗД2, се установява сигнификантна разлика в **систолното артериално налягане, което е с 10 mmHg по-високо при починалите,** като то е средно 140 mmHg в тази група. Неоспорим е фактът, че по-ниските стойности на артериалното налягане се свързват с по-малка честота на съдови събития (81,489). Може би не случайно починалите пациенти имат стойности на систолното артериално налягане малко над оптималните, които са между 130 и 139 mmHg (94).

4.2. Нива на биомаркерите при проследените пациенти

След като анализирахме нивата на биомаркерите и реализираните съдови събития, се установи **сигнификантна зависимост на NT-proBNP и ET-1 с наличието на миокарден инфаркт, както и със смъртността, но не и по отношение честотата на инсулта**. Още веднъж се доказва прогностичната стойност на NT-proBNP за риска от коронарни съдови събития и цялостната смъртност при пациентите със ЗД2 (114,136,142,157,159,162–168). *Средните стойности на NT-proBNP при пациентите*

с реализиран миокарден инфаркт и при починалите са сходни, съответно 486,9 pg/ml и 450,25 pg/ml. В проучването на Rudolf et al. се установява, че нива на NT-proBNP > 300 pg/ml се свързват с HR 3,62 (CI 3,15-4,17) за обща смъртност и 6,38 (95% CI 4,84-8,41) за сърдечно-съдова смъртност (490). В проучването на Doi et al. се установява най-висока смъртност при пациентите с нива на NT-proBNP ≥ 400 pg/ml, но рискът започва да расте дори при покачване на стойностите му над 55 pg/ml (491). Подобен е резултатът и от нашето проучване с *прогресивно покачване на риска, започвайки от по-ниски нива на NT-proBNP (68 pg/ml), а най-високите стойности над 450 pg/ml се свързват с повишена честота на миокарден инфаркт и общата смъртност*. Въпреки че NT-proBNP имаше по-добра корелация с риска от инсулт, не успяхме да установим връзка с реално настъпилите събития. Възможно е това да се дължи на по-малкия брой инциденти в тази подкатегория.

Подобно на проучването на Ju et al. (236) и ние успяхме да докажем, че **синергичното покачване на NT-proBNP и ET-1 се свързват с наличието на коронарна съдова болест.** В проучването Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) се установява, че едновременното покачване на BNP и BigET-1 (неактивен прекурсор на ET-1), предсказва по-добре риска от ЛК дисфункция при пациенти с прекаран миокарден инфаркт, от колкото двата маркера поотделно (441). *Така ние затвърждаваме хипотезата си, че NT-proBNP и ET-1 са свързани с общи механизми на съдова и миокардна увреда и могат да се използват като прогностични показатели за бъдещ съдов риск.*

Освен това, **едновременното им покачване се свързва и с по-висока смъртност**. NT-proBNP е вече доказан маркер за прогнозата на общата смъртност (166,492). Трупат се такива данни и за ET-1 (255,442,443), но основно при пациенти със СН. От друга страна в подстудия на проучването MESA се установява, че по-високите концентрации на ET-1 нямат връзка с риска от сърдечна недостатъчност и сърдечно-съдова смъртност (256). Авторите предполагат, че това се дължи на липсата на сърдечно-съдови заболявания в изследваната популация. *Ето защо предполагаме, че резултатът, който получихме за връзката на ET-1 и NT-proBNP със смъртността при пациентите със ЗД2, се дължи на наличието на неразпозната до момента съдова патология*. Смятаме, че ET-1 е свързван с прогресията на макросъдовите изменения в хода на ЗД2. **Починалите пациенти са по-възрастни и с по-голяма давност на заболяването, а ET-1 се асоциира именно с тези два фактора.**

Не успяхме на потвърдим статистически асоциацията на ЕТ-1 с изчисления риск от инсулт, поради малкия брой реални събития в тази подкатегория. Въпреки това се вижда, че **пациентите, получили инсулт, имат тенденция към по-високи нива на ЕТ-1 спрямо тези без съдов инцидент**. Освен това, виждаме, че и при трите крайни точки (миокарден инфаркт, инсулт, смърт), средните нива на ЕТ-1 са сходни (съответно 28,87, 26,02 и 26,88 pg/ml) и са значимо по-високи от тези на оцелелите, при които те са около 16 pg/ml. *Това ни дава основание да мислим, че вероятно ЕТ-1 има връзка и с мозъчно-съдовите инциденти, но се налага допълнително проучване в тази посока.*

PlGF е другият маркер, който се асоциираще с повишените нива на NT-proBNP, но за разлика от ЕТ-1, **не успяхме да докажем връзка между нивата му и настъпилите съдови събития и смъртността**. В проучването NHS се установява, че повишеният PlGF, измерен над 10 години преди сърдечно-съдовото събитие, се асоциира с по-висок риск от коронарна съдова болест (267). *Възможно е липсата на асоциация между настъпилите коронарни съдови събития и PlGF в нашето проучване да се дължи на по-краткия период на проследяване.*

За съжаление не успяхме да установим статистическа зависимост на ехографските показатели за диастолна дисфункция и съдовото ремоделиране, поради малкия брой събития, настъпили в изследваната група.

4.3. Изчислен сърдечно-съдов риск и реално настъпили събития при проследените пациенти

След анализ на връзката между изчисления риск по различните калкулатори и реално настъпилите събития, се установи, че **най-добре в прогнозата на риска от миокарден инфаркт са се представили моделите SCORE и донякъде FRS**. Повече пациенти с изчислен умерен риск по SCORE са получили инфаркт спрямо тези с нисък риск. От друга страна обаче, макар и с гранична сигнификантност, FRS е успял да прогнозира повече коронарни събития във високорисковата група, но се отчитат много инциденти и в нискорисковата категория. Въпреки това и двата модела не дават много убедителни резултати.

По отношение **на мозъчно-съдовите инциденти, само изчисленият риск от инсулт според UKPDS е успял да прогнозира правилно повече събития**, като 55,6% от пациентите с инцидент са били с висок риск, а останалите - с нисък. Маркерът ЕТ-1

показа прагова стойност от 22.65 pg/ml според която може да се разграничи наличието на висок риск от инсулт според UKPDS. Имайки предвид, че пациентите с реализирано събитие имат средни нива на ЕТ-1 от 26 pg/ml, *това още веднъж ни дава основание да мислим, че този маркер може да се използва за прогноза на риска от инсулт.*

Най-голяма адекватност са показали моделите при прогнозирането на риска от фатален изход. И четирите модела са успели да класифицират повече починали пациенти в категория с умерен или висок риск. Забелязва се, обаче, че **специфичните за ЗД2 модели са успели да разграничат по-добре нискорисковите от високорисковите групи**. Според ADVANCE и UKPDS много повече пациенти с висок риск са починали спрямо тези с умерен и нисък риск, а уравнението за фатални инциденти на UKPDS е успяло да прогнозира правилно 72,7% от случаите. Освен това прави впечатление, че процентът на починалите расте с преминаването в следваща категория на риска. От друга страна, според FRS и SCORE повечето от починалите пациенти са с умерен риск (съответно 50% и 66,7%). От това следва, че *и двата калкулатора са подценили риска от фатални инциденти при пациентите със ЗД2*. Тези резултати са в съгласие с резултатите от други проучвания, които показват, че FRS значително подценява риска при пациенти със ЗД2 (57–60,493). От друга страна, някои студии откриват надценяване на риска от страна на FRS (61,62,90), както и от модела SCORE (58). Вероятно причината за тези различия е, че *пациентите със ЗД2 в нашето проучване са с по-неблагоприятен рисков профил спрямо тези популации, в които FRS и SCORE прогнозират повече съдови събития.*

От друга страна, калкулаторите успяват да прогнозират относително правилно разликата в риска при мъже и жени. Всичките модели, освен тези за инсулт, показват **по-висок риск в мъжката група, което съвпада с честотата на реално настъпилите коронарни инциденти**, възлизаща на 72,7%. Също така **честотата на инсултите при мъже и жени е почти равна**, което отново съвпада с прогнозирания риск за инсулт по UKPDS. Въпреки това**, няма разлика в честота на общата смъртност при двата пола**. От всички модели *единствено ADVANCE не намира значителна разлика в риска между мъже и жени, което може би го прави по-добър в прогнозирането на общата смъртност при диабетици.*

Подобно на Echouffo-Tcheugui и Kengne (494), и ние установихме, че **за пациентите със ЗД2 по-добро представяне имат моделите ADVANCE и UKPDS**. В нашето

проучване те успяват най-добре да прогнозират смъртността при пациентите със ЗД2. И за двата калкулатора **откриваме прагови стойности на NT-proBNP и ET-1, които могат да отграничат високорисковите групи, така че използването им в комбинация би могло да даде по-добра прогноза на бъдещия риск на пациентите в интермедиерната група.**

Заключение

ЗД2 е световна пандемия, която се разраства неконтролируемо с всяка изминала година. Той е един от най-мощните рискови фактори, които се свързват с висока честота на СН, макросъдови инциденти и смърт. Въпреки това, вече не е правилно да се говори за ЗД2 като за еквивалент на сърдечно-съдово заболяване. Съвременните терапии с мултифакторния контрол на сърдечно-съдовите рискови фактори дава положителни резултати с редукция на риска при диабетици, но той все още не може да се изравни с този на общата популация. Това налага търсенето на нови подходи за ранното определяне на сърдечно-съдовата патология при ЗД2.

Калкулаторите на риска показват противоречиви резултати, тъй като са силно зависими от подлежащия съдов риск на популацията, в която се използват. Нашата цел беше да охарактеризираме риска на пациентите със ЗД2 в българска кохорта и да го свържем, както с някои класически биомаркери, така и с други, които имат потенциал да се наложат в клиничната практика. Получените данни показват, че **пациентите със ЗД2 на перорално антидиабетно лечение са с предимно нисък или умерен риск според калкулаторите FRS, SCORE, UKPDS и ADVANCE, като във всички случаи той е по-висок от този на пациентите със затлъстяване**. Когато сравнихме получените резултати с реално настъпилите събития, установихме, че **моделите за оценка на риска се представят най-добре в прогнозирането на общата смъртност, с по-голям превес на специфичните за диабета ADVANCE и UKPDS.**

Потвърди се ролята на NT-proBNP като маркер, обхващащ широк диапазон от сърдечно-съдовата патология – от функционалните промени в миокарда, през атеросклеротичните изменения на артериалните съдове, до риска от миокарден инфаркт и смърт. **Друг потенциален маркер, който показа добри резултати е ET-1**, като в комбинация с NT-proBNP, той се свързва с риска от коронарни съдови инциденти и общата смъртност. Затова смятаме, че те могат да подпомогнат

рекласификацията на пациентите с интермедиерен риск към по-висока или по-ниска категория, с което да се определи и най-подходящата терапия за тях. За да може това да се осъществи, **ние успяхме да определим прагови стойности на двата маркера, които се асоциират с по-висок сърдечно-съдов риск.**

Резултатите по отношение на другите два маркера – ADMA и PlGF, останаха разочароващи. От една страна те може би са свързани по еднакъв начин със съдовите промени при пациентите със затлъстяване и ЗД2, а от друга – периодът на проследяване е бил прекалено кратък, за да се изяви асоциацията с риска при диабетици.

Проведените образни изследвания на сърцето, каротидните и бъбречните артерии, показаха, че **пациентите със ЗД2 имат значително по-напреднали изменения спрямо тези със затлъстяване**. Те зависят в най-голяма степен от възрастта и давността на диабета и изглежда много по-малко значение имат гликемичният контрол и другите рискови фактори. В същото време измененията в диастолната функция настъпват много рано, дори при пациенти с давност на диабета под 5 години, което **предполага провеждането на ехокардиография още с поставянето на диагнозата**. От изследваните биомаркери **NT-proBNP** най-добре се свързва с наличието на нарушена ЛК релаксация, като **стойности над 70 pg/ml също трябва да насочат пациента към провеждане на TDI.**

Комплексната оценка на сърдечно-съдовия риск при ЗД2 с калкулатори, биомаркери и обективни ултразвукови показатели ще остане поле за бъдещи проучвания.

Изводи:

1. **Пациентите със ЗД2 са с по-висок сърдечно-съдов риск от пациентите със затлъстяване и метаболитен синдром без ЗД**, което налага ранната му оценка.
2. Жените със ЗД2 имат сходен риск, като мъжете, но само по отношение на риска от инсулт и общата смъртност. **Рискът от миокарден инфаркт при жени е по-нисък.**
3. **За прогнозиране на риска от обща смъртност се препоръчва моделът ADVANCE.** Той е с най-добро представяне при пациентите със ЗД2, тъй като не показва разлика в класифицирането на риска при двата пола и се асоциира с по-голяма честота на събитията във високорисковата група.
4. За **прогнозиране на риска от инсулт се препоръчва уравнението на UKPDS за инсулт.**
5. **Изследването на NT-proBNP в съчетание с ET-1 може да бъде полезно при рекласификация на пациентите с умерен риск** към по-висока или по-ниска категория на риска според ADVANCE.
6. **Прагови стойности на NT-proBNP ≥ 450 pg/ml и ET-1 ≥ 26 pg/ml насочват към непосредствен риск от миокарден инфаркт и смърт** и налагат неотложни превантивни мерки.
7. Още **при поставянето на диагнозата ЗД2 е необходимо провеждане на ехокардиография с тъканен Доплер (TDI)** за изключване на диастолна дисфункция.
8. При пациентите със **ЗД2 с над 5-годишна давност на диабета е уместно провеждане на Доплер ултразвуково изследване на каротидни и бъбречни артерии.**

Резултатите и изводите от нашето проучване ни дадоха основание да предложим примерен подход за определяне на сърдечно-съдов риск при пациентите със ЗД2 на перорална терапия.

Примерен алгоритъм за детайлна оценка на сърдечно-съдовия риск при ЗД2 в стадия на пероралната терапия

1. *Изчисляване на сърдечно-съдовия риск по модела ADVANCE Risk Engine*.
2. Провеждане на *ехокардиография с TDI на всички пациенти* при поставянето на диагнозата ЗД2. Пациентите с абнормни стойности на Em и E/Em се рекласифицират в по-висока категория на риска.
3. Изследване на *биомаркерите NT-proBNP и ET-1* при поставяне на диагнозата, след което периодично в зависимост от изчисления риск. Пациентите с умерен риск по ADVANCE се рекласифицират по следния начин:
   3.1. Нискорискови при NT-proBNP < 68 pg/ml;
   3.2. Високорискови при NT-proBNP ≥ 125 pg/ml и ET-1 ≥ 22.6 pg/ml;
   3.3. Пациентите със стойности на NT-proBNP ≥ 450 pg/ml и ET-1 ≥ 26 pg/ml са с непосредствен риск за настъпване на миокарден инфаркт или смърт;
4. *Проследяване на пациентите* според изчисления риск
   4.1. Пациенти с нисък риск – предлагаме примерен период за проследяване на показателите ET-1, NT-proBNP и Доплер на каротидни артерии на 3 години или при поява на клинична симптоматика. При покачване на NT-proBNP >70 pg/ml– провеждане на ехокардиография с TDI. Пациентите се рекласифицират в по-високорискова категория по критериите от т. 3.
   4.2. Пациенти с висок риск –интензивно лечение на рисковите фактори. Редовен контрол на избрани биомаркери, ехокардиография и ултразвуково изследване на каротидни артерии на примерен период от 1 или 2 години.

Книгопис

1. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. JAMA. 1979;241(19):2035–8.

2. Diabetes Control and Complications Trial Research Group, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, Rand L, Siebert C. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329(14):977-86.

3. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. Br J Clin Pharmacol. 1999;48(5):643–8.

4. Gæde P, Lund-Andersen H, Parving H-H, Pedersen O. Effect of a Multifactorial Intervention on Mortality in Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2008;358(6):580–91.

5. World Health Organization. (2019). World health statistics 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/handle/10665/324835. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

6. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. Diabetes Res Clin Pract. 2019;157:107843.

7. Einarson TR, Acs A, Ludwig C, Panton UH. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. Cardiovasc Diabetol. 2018;17(1):83.

8. Fowkes FGR, Rudan D, Rudan I, Aboyans V, Denenberg JO, McDermott MM, et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. Lancet. 2013;382(9901):1329–40.

9. Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SRK, Gobin R, Kaptoge S, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. Lancet. 2010;375(9733):2215–22.

10. Cavender MA, Steg PG, Smith SC, Eagle K, Ohman EM, Goto S, et al. Impact of Diabetes Mellitus on Hospitalization for Heart Failure, Cardiovascular Events, and Death: Outcomes at 4 Years From the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. Circulation. 2015;132(10):923–31.

11. McAllister DA, Read SH, Kerssens J, Livingstone S, McGurnaghan S, Jhund P, et al. Incidence of Hospitalization for Heart Failure and Case-Fatality Among 3.25 Million People With and Without Diabetes Mellitus. Circulation. 2018;138(24):2774–86.

12. Shah AD, Langenberg C, Rapsomaniki E, Denaxas S, Pujades-Rodriguez M, Gale CP, et al. Type 2 diabetes and incidence of cardiovascular diseases: a cohort study in 1·9 million people. Lancet Diabetes Endocrinol. 2015;3(2):105–13.

13. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med. 1998;339(4):229–34.

14. Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, Brown J, Zhao F, Hunt D, et al. Impact of diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. Circulation. 2000;102(9):1014–9.

15. Mukamal KJ, Nesto RW, Cohen MC, Muller JE, Maclure M, Sherwood JB, et al. Impact of diabetes on long-term survival after acute myocardial infarction: comparability of risk with prior myocardial infarction. Diabetes Care. 2001;24(8):1422–7.

16. Natarajan S, Liao Y, Sinha D, Cao G, McGee DL, Lipsitz SR. Sex differences in the effect of diabetes duration on coronary heart disease mortality. Arch Intern Med. 2005;165(4):430–5.

17. Whiteley L, Padmanabhan S, Hole D, Isles C. Should diabetes be considered a coronary heart disease risk equivalent?: results from 25 years of follow-up in the Renfrew and Paisley survey. Diabetes Care. 2005;28(7):1588–93.

18. Juutilainen A, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Type 2 diabetes as a 'coronary heart disease equivalent': an 18-year prospective population-based study in Finnish subjects. Diabetes Care. 2005;28(12):2901–7.

19. Gowdak LHW, de Paula FJ, César LAM, Filho EEM, Ianhez LE, Krieger EM, et al. Diabetes and coronary artery disease impose similar cardiovascular morbidity and mortality on renal transplant candidates. Nephrol Dial Transplant. 2007;22(5):1456–61.

20. Rashidi A, Sehgal AR, Rahman M, O'Connor AS. The case for chronic kidney disease, diabetes mellitus, and myocardial infarction being equivalent risk factors for cardiovascular mortality in patients older than 65 years. Am J Cardiol. 2008;102(12):1668–73.

21. Hadaegh F, Fahimfar N, Khalili D, Sheikholeslami F, Azizi F. New and known type 2 diabetes as coronary heart disease equivalent: results from 7.6 year follow up in a Middle East population. Cardiovasc Diabetol. 2010;9:84.

22. Ho JE, Paultre F, Mosca L, Women's Pooling Project. Is diabetes mellitus a cardiovascular disease risk equivalent for fatal stroke in women? Data from the Women's Pooling Project. Stroke. 2003;34(12):2812–6.

23. Simons LA, Simons J. Diabetes and coronary heart disease. N Engl J Med. 1998;339(23):1714–5; author reply 1716.

24. Lotufo PA, Gaziano JM, Chae CU, Ajani UA, Moreno-John G, Buring JE, et al. Diabetes and all-cause and coronary heart disease mortality among US male physicians. Arch Intern Med. 2001;161(2):242–7.

25. Evans JMM, Wang J, Morris AD. Comparison of cardiovascular risk between patients with type 2 diabetes and those who had had a myocardial infarction: cross sectional and cohort studies. BMJ. 2002;324(7343):939–42.

26. Eberly LE, Cohen JD, Prineas R, Yang L, Intervention Trial Research group. Impact of incident diabetes and incident nonfatal cardiovascular disease on 18-year mortality: the multiple risk factor intervention trial experience. Diabetes Care. 2003;26(3):848–54.

27. Lee CD, Folsom AR, Pankow JS, Brancati FL, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Cardiovascular events in diabetic and nondiabetic adults with or without history of myocardial infarction. Circulation. 2004;109(7):855–60.

28. Vaccaro O, Eberly LE, Neaton JD, Yang L, Riccardi G, Stamler J, et al. Impact of diabetes and previous myocardial infarction on long-term survival: 25-year mortality follow-up of primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Arch Intern Med. 2004;164(13):1438–43.

29. Saely CH, Rein P, Vonbank A, Huber K, Drexel H. Type 2 diabetes and the progression of visualized atherosclerosis to clinical cardiovascular events. Int J Cardiol. 2013;167(3):776–80.

30. Cano JF, Baena-Diez JM, Franch J, Vila J, Tello S, Sala J, et al. Long-term cardiovascular risk in type 2 diabetic compared with nondiabetic first acute myocardial infarction patients: a population-based cohort study in southern Europe. Diabetes Care. 2010;33(9):2004–9.

31. Natarajan S, Liao Y, Cao G, Lipsitz SR, McGee DL. Sex differences in risk for coronary heart disease mortality associated with diabetes and established coronary heart disease. Arch Intern Med. 2003;163(14):1735–40.

32. Becker A, Bos G, de Vegt F, Kostense PJ, Dekker JM, Nijpels G, et al. Cardiovascular events in type 2 diabetes: comparison with nondiabetic individuals without and with prior cardiovascular disease. 10-year follow-up of the Hoorn Study. Eur Heart J. 2003;24(15):1406–13.

33. Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L. Cardiovascular disease incidence and mortality in older men with diabetes and in men with coronary heart disease. Heart. 2004;90(12):1398–403.

34. Carnethon MR, Biggs ML, Barzilay J, Kuller LH, Mozaffarian D, Mukamal K, et al. Diabetes and coronary heart disease as risk factors for mortality in older adults. Am J Med. 2010;123(6):556.e1-9.

35. Howard BV, Best LG, Galloway JM, Howard WJ, Jones K, Lee ET, et al. Coronary heart disease risk equivalence in diabetes depends on concomitant risk factors. Diabetes Care. 2006;29(2):391–7.

36. Cho E, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. The impact of diabetes mellitus and prior myocardial infarction on mortality from all causes and from coronary heart disease in men. J Am Coll Cardiol. 2002;40(5):954–60.

37. Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CG, Liu S, Willett WC, Speizer FE, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. Arch Intern Med. 2001;161(14):1717–23.

38. Hu G, Jousilahti P, Qiao Q, Katoh S, Tuomilehto J. Sex differences in cardiovascular and total mortality among diabetic and non-diabetic individuals with or without history of myocardial infarction. Diabetologia. 2005;48(5):856–61.

39. Pajunen P, Koukkunen H, Ketonen M, Jerkkola T, Immonen-Räihä P, Kärjä-Koskenkari P, et al. Myocardial infarction in diabetic and non-diabetic persons with and without prior myocardial infarction: the FINAMI Study. Diabetologia. 2005;48(12):2519–24.

40. Rana JS, Liu JY, Moffet HH, Jaffe M, Karter AJ. Diabetes and Prior Coronary Heart Disease are Not Necessarily Risk Equivalent for Future Coronary Heart Disease Events. J Gen Intern Med. 2016;31(4):387–93.

41. Bulugahapitiya U, Siyambalapitiya S, Sithole J, Idris I. Is diabetes a coronary risk equivalent? Systematic review and meta-analysis. Diabet Med. 2009;26(2):142–8.

42. Lee C, Joseph L, Colosimo A, Dasgupta K. Mortality in diabetes compared with previous cardiovascular disease: a gender-specific meta-analysis. Diabetes Metab. 2012;38(5):420–7.

43. Bommer C, Heesemann E, Sagalova V, Manne-Goehler J, Atun R, Bärnighausen T, et al. The global economic burden of diabetes in adults aged 20-79 years: a cost-of-illness study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2017;5(6):423–30.

44. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practiceThe Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts)Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). Eur Heart J. 2016;37(29):2315–81.

45. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the

American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Circulation. 2019;140(11).

46. Echouffo-Tcheugui JB, Kengne AP. On the importance of global cardiovascular risk assessment in people with type 2 diabetes. Prim Care Diabetes. 2013;7(2):95–102.

47. Sattar N, Preiss D, Murray HM, Welsh P, Buckley BM, de Craen AJM, et al. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials. Lancet. 2010;375(9716):735–42.

48. Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. Lancet. 2009;373(9678):1849–60.

49. De Berardis G, Sacco M, Strippoli GFM, Pellegrini F, Graziano G, Tognoni G, et al. Aspirin for primary prevention of cardiovascular events in people with diabetes: meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ. 2009;339:b4531.

50. Kunutsor SK, Seidu S, Khunti K. Aspirin for primary prevention of cardiovascular and all-cause mortality events in diabetes: updated meta-analysis of randomized controlled trials. Diabet Med. 2017;34(3):316–27.

51. Moons KGM, Kengne AP, Woodward M, Royston P, Vergouwe Y, Altman DG, et al. Risk prediction models: I. Development, internal validation, and assessing the incremental value of a new (bio)marker. Heart. 2012;98(9).

52. Kengne AP. The ADVANCE cardiovascular risk model and current strategies for cardiovascular disease risk evaluation in people with diabetes. Cardiovasc J Afr. 2013;24(9–10):376–81.

53. Crowson CS, Atkinson EJ, Therneau TM. Assessing Calibration of Prognostic Risk Scores. Stat Methods Med Res. 2016;25(4):1692–706.

54. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation. 1998;97(18):1837–47.

55. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation. 2002;106(25):3143–421.

56. D'Agostino Ralph B., Vasan Ramachandran S., Pencina Michael J., Wolf Philip A., Cobain Mark, Massaro Joseph M., et al. General Cardiovascular Risk Profile for Use in Primary Care. Circulation. 2008;117(6):743–53.

57. McEwan P, Williams JE, Griffiths JD, Bagust A, Peters JR, Hopkinson P, et al. Evaluating the performance of the Framingham risk equations in a population with diabetes. Diabet Med. 2004;21(4):318–23.

58. Coleman RL, Stevens RJ, Retnakaran R, Holman RR. Framingham, SCORE, and DECODE risk equations do not provide reliable cardiovascular risk estimates in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2007;30(5):1292–3.

59. Davis WA, Colagiuri S, Davis TME. Comparison of the Framingham and United Kingdom Prospective Diabetes Study cardiovascular risk equations in Australian patients with type 2 diabetes from the Fremantle Diabetes Study. Med J Aust. 2009;190(4):180–4.

60. Guzder RN, Gatling W, Mullee MA, Mehta RL, Byrne CD. Prognostic value of the Framingham cardiovascular risk equation and the UKPDS risk engine for coronary heart disease in newly diagnosed Type 2 diabetes: results from a United Kingdom study. Diabet Med. 2005;22(5):554–62.

61. Simmons RK, Coleman RL, Price HC, Holman RR, Khaw K-T, Wareham NJ, et al. Performance of the UK Prospective Diabetes Study Risk Engine and the Framingham Risk Equations in Estimating Cardiovascular Disease in the EPIC- Norfolk Cohort. Diabetes Care. 2009;32(4):708–13.

62. van der Heijden AAWA, Ortegon MM, Niessen LW, Nijpels G, Dekker JM. Prediction of coronary heart disease risk in a general, pre-diabetic, and diabetic population during 10 years of follow-up: accuracy of the Framingham, SCORE, and UKPDS risk functions: The Hoorn Study. Diabetes Care. 2009;32(11):2094–8.

63. Zomer E, Liew D, Owen A, Magliano DJ, Ademi Z, Reid CM. Cardiovascular risk prediction in a population with the metabolic syndrome: Framingham vs. UKPDS algorithms. Eur J Prev Cardiol. 2014;21(3):384–90.

64. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. Eur Heart J. 2003;24(11):987–1003.

65. Chamnan P, Simmons RK, Sharp SJ, Griffin SJ, Wareham NJ. Cardiovascular risk assessment scores for people with diabetes: a systematic review. Diabetologia. 2009;52(10):2001–14.

66. Adler AI. UKPDS-modelling of cardiovascular risk assessment and lifetime simulation of outcomes. Diabet Med. 2008;25 Suppl 2:41–6.

67. Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). BMJ. 1998;316(7134):823–8.

68. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. BMJ. 2000;321(7258):405–12.

69. Association AD. Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study. Diabetes Care. 2002;25(suppl 1):s28–32.

70. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. Ann Intern Med. 2004;141(6):421–31.

71. Park GM, Lee CH, Lee SW, Yun SC, Kim YH, Kim YG, et al. Impact of Diabetes Control on Subclinical Atherosclerosis: Analysis from Coronary Computed Tomographic Angiography Registry. Diabetes Metab J. 2020;44(3):470–9.

72. Creager MA, Lüscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. Circulation. 2003;108(12):1527–32.

73. Collins R, Armitage J, Parish S, Sleigh P, Peto R, Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2003;361(9374):2005–16.

74. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HAW, Livingstone SJ, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2004;364(9435):685–96.

75. Stevens RJ, Kothari V, Adler AI, Stratton IM, United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. The UKPDS risk engine: a model for the risk of coronary heart disease in Type II diabetes (UKPDS 56). Clin Sci. 2001;101(6):671–9.

76. Kothari V, Stevens RJ, Adler AI, Stratton IM, Manley SE, Neil HA, et al. UKPDS 60: risk of stroke in type 2 diabetes estimated by the UK Prospective Diabetes Study risk engine. Stroke. 2002;33(7):1776–81.

77. Stevens RJ, Coleman RL, Adler AI, Stratton IM, Matthews DR, Holman RR. Risk Factors for Myocardial Infarction Case Fatality and Stroke Case Fatality in Type 2 Diabetes: UKPDS 66. Diabetes Care. 2004;27(1):201–7.

78. van Dieren S, Peelen LM, Nöthlings U, van der Schouw YT, Rutten GEHM, Spijkerman AMW, et al. External validation of the UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) risk engine in patients with type 2 diabetes. Diabetologia. 2011;54(2):264–70.

79. UK Prospective Diabetes Study Group. UK prospective diabetes study (UKPDS). Diabetologia. 1991;34(12):877–90.

80. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Eliasson B, Svensson A-M, Miftaraj M, et al. Mortality and Cardiovascular Disease in Type 1 and Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2017;376(15):1407–18.

81. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Sattar N, Eliasson B, Svensson A-M, et al. Risk Factors, Mortality, and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2018;379(7):633–44.

82. Cheung N, Wang JJ, Klein R, Couper DJ, Sharrett AR, Wong TY. Diabetic Retinopathy and the Risk of Coronary Heart Disease: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. Diabetes Care. 2007;30(7):1742–6.

83. Juutilainen A, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Retinopathy Predicts Cardiovascular Mortality in Type 2 Diabetic Men and Women. Diabetes Care. 2007;30(2):292–9.

84. Danis R, Ozmen S, Arikan S, Gokalp D, Alyan O. Predictive value of serum NT-proBNP levels in type 2 diabetic people with diabetic nephropathy. Diabetes Res Clin Pract. 2012;95(3):312–6.

85. Zhou L, Cai X, Li M, Han X, Ji L. Plasma NT-proBNP is independently associated with albuminuria in type 2 diabetes. J Diabetes Complicat. 2016;30(4):669–74.

86. Reinhard H, Wiinberg N, Hansen PR, Kjær A, Petersen CL, Winther K, et al. NT-proBNP levels, atherosclerosis and vascular function in asymptomatic type 2 diabetic patients with microalbuminuria: peripheral reactive hyperaemia index but not NT-proBNP is an independent predictor of coronary atherosclerosis. Cardiovasc Diabetol. 2011;10:71.

87. Soedamah-Muthu SS, Visseren FLJ, Algra A, van der Graaf Y, SMART Study Group. The impact of Type 2 diabetes and microalbuminuria on future cardiovascular events in patients with clinically manifest vascular disease from the Second Manifestations of ARTerial disease (SMART) study. Diabet Med. 2008;25(1):51–7.

88. Heller SR, Group* on behalf of the AC. A Summary of the ADVANCE Trial. Diabetes Care. 2009;32(suppl 2):S357–61.

89. Woodward M, Hirakawa Y, Kengne A-P, Matthews DR, Zoungas S, Patel A, et al. Prediction of 10-year vascular risk in patients with diabetes: the AD-ON risk score. Diabetes Obes Metab. 2016;18(3):289–94.

90. Kengne AP, Patel A, Marre M, Travert F, Lievre M, Zoungas S, et al. Contemporary model for cardiovascular risk prediction in people with type 2 diabetes. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2011;18(3):393–8.

91. Read SH, van Diepen M, Colhoun HM, Halbesma N, Lindsay RS, McKnight JA, et al. Performance of Cardiovascular Disease Risk Scores in People Diagnosed With Type 2 Diabetes: External Validation Using Data From the National Scottish Diabetes Register. Diabetes Care. 2018;41(9):2010–8.

92. van Dieren S, Beulens JWJ, Kengne AP, Peelen LM, Rutten GEHM, Woodward M, et al. Prediction models for the risk of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes: a systematic review. Heart. 2012;98(5):360–9.

93. Chowdhury MZI, Yeasmin F, Rabi DM, Ronksley PE, Turin TC. Prognostic tools for cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of C-statistics. J Diabetes Complicat. 2019;33(1):98–111.

94. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. Eur Heart J. 2020;41(2):255–323.

95. American Diabetes Association. 10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. Diabetes Care. 2020;43(Suppl 1):S111-S134.

96. Kavousi M, Leening MJG, Nanchen D, Greenland P, Graham IM, Steyerberg EW, et al. Comparison of application of the ACC/AHA guidelines, Adult Treatment Panel III guidelines, and European Society of Cardiology guidelines for cardiovascular disease prevention in a European cohort. JAMA. 2014;311(14):1416–23.

97. Lam T, Burns K, Dennis M, Cheung NW, Gunton JE. Assessment of cardiovascular risk in diabetes: Risk scores and provocative testing. World J Diabetes. 2015;6(4):634–41.

98. Lloyd-Jones DM. Cardiovascular risk prediction: basic concepts, current status, and future directions. Circulation. 2010;121(15):1768–77.

99. Cosson E, Guimfack M, Paries J, Paycha F, Attali J-R, Valensi P. Prognosis for Coronary Stenoses in Patients With Diabetes and Silent Myocardial Ischemia. Diabetes Care. 2003;26(4):1313–4.

100. Young LH, Wackers FJT, Chyun DA, Davey JA, Barrett EJ, Taillefer R, et al. Cardiac outcomes after screening for asymptomatic coronary artery disease in patients with type 2 diabetes: the DIAD study: a randomized controlled trial. JAMA. 2009;301(15):1547–55.

101. Muhlestein JB, Lappé DL, Lima JAC, Rosen BD, May HT, Knight S, et al. Effect of screening for coronary artery disease using CT angiography on mortality and cardiac events in high-risk patients with diabetes: the FACTOR-64 randomized clinical trial. JAMA. 2014;312(21):2234–43.

102. Faglia E, Manuela M, Antonella Q, Michela G, Vincenzo C, Maurizio C, et al. Risk reduction of cardiac events by screening of unknown asymptomatic coronary artery disease in subjects with type 2 diabetes mellitus at high cardiovascular risk: an open-label randomized pilot study. Am Heart J. 2005;149(2):e1-6.

103. Clerc OF, Fuchs TA, Stehli J, Benz DC, Gräni C, Messerli M, et al. Non-invasive screening for coronary artery disease in asymptomatic diabetic patients: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2018;19(8):838–46.

104. Lan NSR, Bell DA, McCaul KA, Vasikaran SD, Yeap BB, Norman PE, et al. High-Sensitivity Cardiac Troponin I Improves Cardiovascular Risk Prediction in Older Men: HIMS (The Health in Men Study). J Am Heart Assoc. 2019;8(5):e011818.

105. Lin JS, Evans CV, Johnson E, Redmond N, Burda BU, Coppola EL, et al. Nontraditional Risk Factors in Cardiovascular Disease Risk Assessment: A Systematic Evidence Report for the U.S. Preventive Services Task Force. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2018.

106. Daniels LB, Clopton P, deFilippi CR, Sanchez OA, Bahrami H, Lima JAC, et al. Serial measurement of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and cardiac troponin T for cardiovascular disease risk assessment in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Am Heart J. 2015;170(6):1170–83.

107. Fujihara K, Suzuki H, Sato A, Ishizu T, Kodama S, Heianza Y, et al. Comparison of the Framingham risk score, UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Risk Engine, Japanese Atherosclerosis Longitudinal Study-Existing Cohorts Combine (JALS-ECC) and maximum carotid intima-media thickness for predicting coronary artery stenosis in patients with asymptomatic type 2 diabetes. J Atheroscler Thromb. 2014;21(8):799–815.

108. Katakami N, Mita T, Gosho M, Takahara M, Irie Y, Yasuda T, et al. Clinical Utility of Carotid Ultrasonography in the Prediction of Cardiovascular Events in Patients with Diabetes: A Combined Analysis of Data Obtained in Five Longitudinal Studies. J Atheroscler Thromb. 2018;25(10):1053–66.

109. Ankle Brachial Index Collaboration, Fowkes FGR, Murray GD, Butcher I, Heald CL, Lee RJ, et al. Ankle brachial index combined with Framingham Risk Score to predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. JAMA. 2008;300(2):197–208.

110. Lau K-K, Wong Y-K, Chan Y-H, Yiu K-H, Teo K-C, Li LS-W, et al. Prognostic implications of surrogate markers of atherosclerosis in low to intermediate risk patients with type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2012;11:101.

111. Yeboah J, McClelland RL, Polonsky TS, Burke GL, Sibley CT, O'Leary D, et al. Comparison of novel risk markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. JAMA. 2012;308(8):788–95.

112. von Scholten BJ, Reinhard H, Hansen TW, Lindhardt M, Petersen CL, Wiinberg N, et al. Additive prognostic value of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and coronary artery calcification for cardiovascular events and mortality in asymptomatic patients with type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2015;14:59.

113. Gruden G, Landi A, Bruno G. Natriuretic peptides, heart, and adipose tissue: new findings and future developments for diabetes research. Diabetes Care. 2014;37(11):2899–908.

114. Bruno G, Barutta F, Landi A, Cavallo Perin P, Gruden G. NT-proBNP linking low-moderately impaired renal function and cardiovascular mortality in diabetic patients: the population-based Casale Monferrato Study. PLoS ONE. 2014;9(12):e114855.

115. Maries L, Manitiu I. Diagnostic and prognostic values of B-type natriuretic peptides (BNP) and N-terminal fragment brain natriuretic peptides (NT-pro-BNP). Cardiovasc J Afr. 2013;24(7):286–9.

116. Георгиева Ж. Биомаркери и сърдечна недостатъчност. Наука Кардиология 2012;6:303-320

117. Hamano K, Nakadaira I, Suzuki J, Gonai M. N-terminal fragment of probrain natriuretic peptide is associated with diabetes microvascular complications in type 2 diabetes. Vasc Health Risk Manag. 2014;10:585–9.

118. Bruno G, Barutta F, Landi A, Pinach S, Caropreso P, Mengozzi G, et al. Levels of N-terminal pro brain natriuretic peptide are enhanced in people with the uncomplicated metabolic syndrome: a case-cohort analysis of the population-based Casale Monferrato study. Diabetes Metab Res Rev. 2015;31(4):360–7.

119. Siervo M, Ruggiero D, Sorice R, Nutile T, Aversano M, Stephan BCM, et al. Angiogenesis and biomarkers of cardiovascular risk in adults with metabolic syndrome. J Intern Med. 2010;268(4):338–47.

120. Andersen NH, Poulsen SH, Knudsen ST, Heickendorff L, Mogensen CE. NT-proBNP in normoalbuminuric patients with Type 2 diabetes mellitus. Diabet Med. 2005;22(2):188–95.

121. Huang F-Y, Peng Y, Deng X-X, Huang B-T, Xia T-L, Gui Y-Y, et al. The influence of metabolic syndrome and diabetes mellitus on the N-terminal pro-B-type natriuretic peptide level and its prognostic performance in patients with coronary artery disease. Coron Artery Dis. 2017;28(2):159–65.

122. Vergès B, Zeller M, Beer J-C, Cottin Y, RICO survey working group. Plasma N-terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide (Nt-proBNP) level and prognosis after myocardial infarction in diabetes. Diabetes Metab. 2008;34 Suppl 1:S10-15.

123. Magnusson M, Melander O, Israelsson B, Grubb A, Groop L, Jovinge S. Elevated plasma levels of Nt-proBNP in patients with type 2 diabetes without overt cardiovascular disease. Diabetes Care. 2004;27(8):1929–35.

124. Baldassarre S, Fragapani S, Panero A, Fedele D, Pinach S, Lucchiari M, et al. NTproBNP in insulin-resistance mediated conditions: overweight/obesity, metabolic syndrome and diabetes. The population-based Casale Monferrato Study. Cardiovasc Diabetol. 2017;16(1):119.

125. Ndumele CE, Matsushita K, Sang Y, Lazo M, Agarwal SK, Nambi V, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide and Heart Failure Risk Among Individuals With and Without Obesity: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Circulation. 2016;133(7):631–8.

126. Park SJ, Cho KI, Jung SJ, Choi SW, Choi JW, Lee DW, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic Peptide in overweight and obese patients with and without diabetes: an analysis based on body mass index and left ventricular geometry. Korean Circ J. 2009;39(12):538–44.

127. Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: results from the Dallas Heart Study. Circulation. 2005;112(14):2163–8.

128. Ricci MA, De Vuono S, Pucci G, Di Filippo F, Berisha S, Gentili A, et al. Determinants of low levels of brain natriuretic peptide in morbid obesity. Clin Nutr. 2017;36(4):1075–81.

129. Shah Z, Wiley M, Sridhar AM, Masoomi R, Biria M, Lakkireddy D, et al. Inverse Correlation of Venous Brain Natriuretic Peptide Levels with Body Mass Index Is due to Decreased Production. Cardiology. 2017;137(3):159–66.

130. Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Nagumo A, Makino H, Miyamoto Y, et al. Visceral fat is negatively associated with B-type natriuretic peptide levels in patients with advanced type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2010;89(2):174–80.

131. Sanchez OA, Lazo-Elizondo M, Zeb I, Tracy RP, Bradley R, Duprez DA, et al. Computerized tomography measured liver fat is associated with low levels of N-terminal pro-brain natriuretic protein (NT-proBNP). Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Metab Clin Exp. 2016;65(5):728–35.

132. Choi E-Y, Bahrami H, Wu CO, Greenland P, Cushman M, Daniels LB, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, left ventricular mass, and incident heart failure: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Circ Heart Fail. 2012;5(6):727–34.

133. Ohkuma T, Jun M, Woodward M, Zoungas S, Cooper ME, Grobbee DE, et al. Cardiac Stress and Inflammatory Markers as Predictors of Heart Failure in Patients With Type 2 Diabetes: The ADVANCE Trial. Diabetes Care. 2017;40(9):1203–9.

134. McGrady M, Reid CM, Shiel L, Wolfe R, Boffa U, Liew D, et al. N-terminal B-type natriuretic peptide and the association with left ventricular diastolic function in a population at high risk of incident heart failure: results of the SCReening Evaluationof the Evolution of New-Heart Failure Study (SCREEN-HF). Eur J Heart Fail. 2013;15(5):573–80.

135. Мария Стоянова Димова-Милева. Проспективно проследяване на сърдечно-съдовия статус и сърдечно-съдовата патология при пациенти с таласемия майор. Дис. Варна. 2017.

136. Hillis GS, Welsh P, Chalmers J, Perkovic V, Chow CK, Li Q, et al. The relative and combined ability of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to predict cardiovascular events and death in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2014;37(1):295–303.

137. Görmüş U, Ozmen D, Ozmen B, Parildar Z, Ozdoğan O, Mutaf I, et al. Serum N-terminal-pro-brain natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and homocysteine levels in type 2 diabetic patients with asymptomatic left ventricular diastolic dysfunction. Diabetes Res Clin Pract. 2010;87(1):51–6.

138. Castaño Rodríguez S, Coma-Canella I, López Salazar B, Barba Cosials J. Echocardiographic findings and NT-proBNP level in type-2 diabetic patients with and without ischemic heart disease. Rev Esp Cardiol. 2009;62(10):1184–8.

139. Kim J-Y, Lee EY, Jee J-H, Lee B-W, Chung JH, Jeun ES, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in Type 2 diabetes with left ventricular dysfunction. Diabetes Res Clin Pract. 2007;77 Suppl 1:S238-242.

140. Grewal J, McKelvie R, Lonn E, Tait P, Carlsson J, Gianni M, et al. BNP and NT-proBNP predict echocardiographic severity of diastolic dysfunction. Eur J Heart Fail. 2008;10(3):252–9.

141. Boonman-de Winter LJM, Rutten FH, Cramer MJM, Landman MJ, Liem AH, Rutten GEHM, et al. High prevalence of previously unknown heart failure and left ventricular dysfunction in patients with type 2 diabetes. Diabetologia. 2012;55(8):2154–62.

142. Price AH, Welsh P, Weir CJ, Feinkohl I, Robertson CM, Morling JR, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and risk of cardiovascular events in older patients with type 2 diabetes: the Edinburgh Type 2 Diabetes Study. Diabetologia. 2014;57(12):2505–12.

143. Wiersma JJ, van der Zee PM, van Straalen JP, Fischer JC, van Eck-Smit BLF, Tijssen JGP, et al. NT-pro-BNP is associated with inducible myocardial ischemia in mildly symptomatic type 2 diabetic patients. Int J Cardiol. 2010;145(2):295–6.

144. Ballo P, Betti I, Barchielli A, Balzi D, Castelli G, De Luca L, et al. Prognostic role of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in asymptomatic hypertensive and diabetic patients in primary care: impact of age and gender : Results from the PROBE-HF study. Clin Res Cardiol. 2016;105(5):421–31.

145. Kristensen SL, Mogensen UM, Jhund PS, Petrie MC, Preiss D, Win S, et al. Clinical and Echocardiographic Characteristics and Cardiovascular Outcomes According to Diabetes Status in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: A Report From the I-Preserve Trial (Irbesartan in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction). Circulation. 2017;135(8):724–35.

146. Jarolim P, White WB, Cannon CP, Gao Q, Morrow DA. Serial Measurement of Natriuretic Peptides and Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes in the EXAMINE Trial. Diabetes Care. 2018;41(7):1510–5.

147. Tzonevska A, Tzvetkov K, Atanasova M, Chakarova A, Piperkova E. Myocardial scintigraphy, echocardiography and proBNP for early detection of myocardial cardiotoxicity in breast cancer patients after chemo-radiotherapy. Hell J Nucl Med. 2011;14(3):269–73.

148. Pastormerlo LE, Maffei S, Latta DD, Chubuchny V, Susini C, Berti S, et al. N-terminal fragment of B-type natriuretic peptide predicts coexisting subclinical heart and vessel disease. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2017;18(10):750–7.

149. Vinnakota S, Scott CG, Rodeheffer RJ, Chen HH. Estimated Glomerular Filtration Rate, Activation of Cardiac Biomarkers and Long-Term Cardiovascular Outcomes: A Population-Based Cohort. Mayo Clin Proc. 2019;94(11):2189–98.

150. Wu N, Ma F, Guo Y, Li X, Liu J, Qing P, et al. Association of N-terminal pro-brain natriuretic peptide with the severity of coronary artery disease in patients with normal left ventricular ejection fraction. Chin Med J. 2014;127(4):627–32.

151. Ribeiro DGL, Silva RP, Barboza DRMM, Lima-Júnior RCP, Ribeiro RA. Clinical correlation between N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and angiographic coronary atherosclerosis. Clinics (Sao Paulo). 2014;69(6):405–12.

152. Willeit P, Kaptoge S, Welsh P, Butterworth AS, Chowdhury R, Spackman SA, et al. Natriuretic peptides and integrated risk assessment for cardiovascular disease: an individual-participant-data meta-analysis. Lancet Diabetes Endocrinol. 2016;4(10):840–9.

153. Caselli C, Prontera C, Liga R, De Graaf MA, Gaemperli O, Lorenzoni V, et al. Effect of Coronary Atherosclerosis and Myocardial Ischemia on Plasma Levels of High-Sensitivity Troponin T and NT-proBNP in Patients With Stable Angina. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016;36(4):757–64.

154. Mitchell A, Misialek JR, Folsom AR, Duprez D, Alonso A, Jerosch-Herold M, et al. Usefulness of N-terminal Pro-brain Natriuretic Peptide and Myocardial Perfusion in Asymptomatic Adults (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). Am J Cardiol. 2015;115(10):1341–5.

155. Pastormerlo LE, Maffei S, Latta DD, Chubuchny V, Susini C, Berti S, et al. N-terminal prob-type natriuretic peptide is a marker of vascular remodelling and subclinical atherosclerosis in asymptomatic hypertensives. Eur J Prev Cardiol. 2016;23(4):366–76.

156. Pandey A, Patel KV, Vongpatanasin W, Ayers C, Berry JD, Mentz RJ, et al. Incorporation of Biomarkers Into Risk Assessment for Allocation of Antihypertensive Medication According to the 2017 ACC/AHA High Blood Pressure Guideline: A Pooled Cohort Analysis. Circulation. 2019;140(25):2076–88.

157. Cosson E, Nguyen MT, Pham I, Pontet M, Nitenberg A, Valensi P. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: an independent marker for coronary artery disease in asymptomatic diabetic patients. Diabet Med. 2009;26(9):872–9.

158. Hamano K, Abe M, Komi R, Kobayashi S. N-terminal fragment of pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) for predicting silent myocardial ischaemia in type 2 diabetes mellitus independent of microalbuminuria. Diabetes Metab Res Rev. 2010;26(7):534–9.

159. Colombo M, Looker HC, Farran B, Agakov F, Brosnan MJ, Welsh P, et al. Apolipoprotein CIII and N-terminal prohormone b-type natriuretic peptide as independent predictors for cardiovascular disease in type 2 diabetes. Atherosclerosis. 2018;274:182–90.

160. Folsom AR, Nambi V, Bell EJ, Oluleye OW, Gottesman RF, Lutsey PL, et al. Troponin T, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, and incidence of stroke: the atherosclerosis risk in communities study. Stroke. 2013;44(4):961–7.

161. Resl M, Clodi M, Vila G, Luger A, Neuhold S, Wurm R, et al. Targeted multiple biomarker approach in predicting cardiovascular events in patients with diabetes. Heart. 2016;102(24):1963–8.

162. Rasmus Rørth, Jhund PS, Kristensen SL, Desai AS, Køber L, Rouleau JL, et al. The prognostic value of troponin T and N-terminal pro B-type natriuretic peptide, alone and in combination, in heart failure patients with and without diabetes. Eur J Heart Fail. 2019;21(1):40–9.

163. Gori M, Gupta DK, Claggett B, Selvin E, Folsom AR, Matsushita K, et al. Natriuretic Peptide and High-Sensitivity Troponin for Cardiovascular Risk Prediction in Diabetes: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Diabetes Care. 2016;39(5):677–85.

164. Nguyen K, Fan W, Bertoni A, Budoff MJ, Defilippi C, Lombardo D, et al. N-terminal Pro B-type Natriuretic Peptide and High-sensitivity Cardiac Troponin as Markers for Heart Failure and Cardiovascular Disease Risks According to Glucose Status (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). Am J Cardiol. 2020;125(8):1194–201.

165. Welsh P, Woodward M, Hillis GS, Li Q, Marre M, Williams B, et al. Do cardiac biomarkers NT-proBNP and hsTnT predict microvascular events in patients with type 2 diabetes? Results from the ADVANCE trial. Diabetes Care. 2014;37(8):2202–10.

166. Tarnow L, Gall M-A, Hansen BV, Hovind P, Parving H-H. Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and mortality in type 2 diabetes. Diabetologia. 2006;49(10):2256–62.

167. Bruno G, Landi A, Barutta F, Ghezzo G, Baldin C, Spadafora L, et al. N-terminal probrain natriuretic peptide is a stronger predictor of cardiovascular mortality than C-reactive protein and albumin excretion rate in elderly patients with type 2 diabetes: the Casale Monferrato population-based study. Diabetes Care. 2013;36(9):2677–82.

168. Clodi M, Resl M, Neuhold S, Hülsmann M, Vila G, Elhenicky M, et al. A comparison of NT-proBNP and albuminuria for predicting cardiac events in patients with diabetes mellitus. Eur J Prev Cardiol. 2012;19(5):944–51.

169. Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. Rev Diabet Stud. 2013;10(2–3):133–56.

170. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. Curr Cardiol Rev. 2010;6(2):82–90.

171. Chen J-Y, Ye Z-X, Wang X-F, Chang J, Yang M-W, Zhong H-H, et al. Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis. Biomed Pharmacother. 2018;97:423–8.

172. Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality--an update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. Pharmacol Res. 2009;60(6):481–7.

173. De Gennaro Colonna V, Bianchi M, Pascale V, Ferrario P, Morelli F, Pascale W, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and a novel cardiovascular risk molecule. Med Sci Monit. 2009;15(4):RA91-101.

174. Tariq K, Khan MA. Asymmetrical dimethyl arginine in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. J Pak Med Assoc. 2016;66(8):957–60.

175. Lai L, Ghebremariam YT. Modulating DDAH/NOS Pathway to Discover Vasoprotective Insulin Sensitizers. J Diabetes Res. 2016;2016:1982096.

176. Узунова И, Кирилов Г, Захариева С, Златарева Н, Калинов К. Асиметричен диметиларгинин като маркер за ендотелна дисфункция при хипосоматотропизъм. Наука Ендокринология 2015;3.

177. Böger RH, Bode-Böger SM. Asymmetric dimethylarginine, derangements of the endothelial nitric oxide synthase pathway, and cardiovascular diseases. Semin Thromb Hemost. 2000;26(5):539–45.

178. Mah E, Noh SK, Ballard KD, Matos ME, Volek JS, Bruno RS. Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. J Nutr. 2011;141(11):1961–8.

179. Bouras G, Deftereos S, Tousoulis D, Giannopoulos G, Chatzis G, Tsounis D, et al. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA): a promising biomarker for cardiovascular disease? Curr Top Med Chem. 2013;13(2):180–200.

180. Deneva-Koycheva TI, Vladimirova-Kitova LG, Angelova EA, Tsvetkova TZ. Plasma asymmetric dimethylarginine levels in healthy people. Folia Med (Plovdiv). 2011;53(1):28–33.

181. Tessari P, Cecchet D, Artusi C, Vettore M, Millioni R, Plebani M, et al. Roles of insulin, age, and asymmetric dimethylarginine on nitric oxide synthesis in vivo. Diabetes. 2013;62(8):2699–708.

182. Németh B, Ajtay Z, Hejjel L, Ferenci T, Ábrám Z, Murányi E, et al. The issue of plasma asymmetric dimethylarginine reference range - A systematic review and meta-analysis. PLoS ONE. 2017;12(5):e0177493.

183. Matrozova J, Vasilev V, Vandeva S, Elenkova A, Kirilov G, Zaharieva S. Asymmetric Dimethylarginin (ADMA) as a Marker of Endothelial Dysfunction in Primary Aldosteronism. Int J Endocrinol Metab. 2016;14(4).

184. Владимирова-Китова Л. Асиметричният диметиларгинин като предиктор на поток-индуцираната вазодилатация при изразена хиперхолестеролемия. Българска Кардиология. 2008;(2):69–76.

185. Koc F, Tokac M, Erdem S, Kaya C, Unlu A, Karabag T, et al. Serum asymmetric dimethylarginine levels in normotensive obese individuals. Med Sci Monit. 2010;16(11):CR536-539.

186. Palomo I, Contreras A, Alarcón LM, Leiva E, Guzmán L, Mujica V, et al. Elevated concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in individuals with metabolic syndrome. Nitric Oxide. 2011;24(4):224–8.

187. Huang S, Xu Y, Peng W-F, Cheng J, Li H-H, Shen L-S, et al. A correlational study between serum asymmetric dimethylarginine level and impaired glucose tolerance patients associated with obesity. J Cell Physiol. 2019;234(7):10640–5.

188. Bøtker HE, Møller N. ON NO--the continuing story of nitric oxide, diabetes, and cardiovascular disease. Diabetes. 2013;62(8):2645–7.

189. Колева Д, Орбецова М, Денева Т. Асиметричен диметил-аргинин – медиатор на ендотелна дисфункция и връзката му със синдроми на инсулинова резистентност. Списание Ендокринология 2013;18(1):33-40.

190. Колева Д, Орбецова М, Денева Т. Асиметричен диметил-аргинин при жени с метаболитен синдром и синдром на поликистозни яйчници. Списание Ендокринология. 2014;19(3):149-159.

191. Protopsaltis I, Foussas S, Angelidi A, Gritzapis A, Sergentanis TN, Matsagos S, et al. Impact of ADMA, endothelial progenitor cells and traditional cardiovascular risk factors on pulse wave velocity among prediabetic individuals. Cardiovasc Diabetol. 2012 ;11:141.

192. Gać P, Poręba M, Jurdziak M, Trzmielewska E, Gocławska K, Derkacz A, et al. Cardiovascular risk factors and the concentration of asymmetric dimethylarginine. Adv Clin Exp Med. 2020;29(1):63–70.

193. Začiragić A, Huskić J, Mulabegović N, Avdagić N, Valjevac A, Hasić S, et al. An assessment of correlation between serum asymmetric dimethylarginine and glycated haemoglobin in patients with type 2 diabetes mellitus. Bosn J Basic Med Sci. 2014;14(1):21–4.

194. Celik M, Cerrah S, Arabul M, Akalin A. Relation of asymmetric dimethylarginine levels to macrovascular disease and inflammation markers in type 2 diabetic patients. J Diabetes Res. 2014;2014:139215.

195. Sciacqua A, Grillo N, Quero M, Sesti G, Perticone F. Asymmetric dimethylarginine plasma levels and endothelial function in newly diagnosed type 2 diabetic patients. Int J Mol Sci. 2012 Oct 24;13(11):13804–15.

196. Baum C, Johannsen SS, Zeller T, Atzler D, Ojeda FM, Wild PS, et al. ADMA and arginine derivatives in relation to non-invasive vascular function in the general population. Atherosclerosis. 2016;244:149–56.

197. Furuki K, Adachi H, Matsuoka H, Enomoto M, Satoh A, Hino A, et al. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are related to intima-media thickness of the carotid artery: an epidemiological study. Atherosclerosis. 2007;191(1):206–10.

198. Riccioni G, Bucciarelli V, Scotti L, Aceto A, D Orazio N, Di Ilio E, et al. Relationship between asymmetric dimethylarginine and asymptomatic carotid atherosclerosis. J Biol Regul Homeost Agents. 2010;24(3):351–8.

199. Furuki K, Adachi H, Enomoto M, Otsuka M, Fukami A, Kumagae S, et al. Plasma level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a predictor of carotid intima-media thickness progression: six-year prospective study using carotid ultrasonography. Hypertens Res. 2008;31(6):1185–9.

200. Xia W, Shao Y, Wang Y, Wang X, Chi Y. Asymmetric dimethylarginine and carotid atherosclerosis in Type 2 diabetes mellitus. J Endocrinol Invest. 2012;35(9):824–7.

201. Bai Y, Sun L, Du L, Zhang T, Xin W, Lan X, et al. Association of circulating levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with carotid intima-media thickness: evidence from 6168 participants. Ageing Res Rev. 2013;12(2):699–707.

202. Wang F, Xiong R, Feng S, Lu X, Li H, Wang S. Association of Circulating Levels of ADMA with Carotid Intima-Media Thickness in Patients with CKD: a Systematic Review and Meta-Analysis. Kidney Blood Press Res. 2018;43(1):25–33.

203. Maas R, Xanthakis V, Polak JF, Schwedhelm E, Sullivan LM, Benndorf R, et al. Association of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA with carotid artery intimal media thickness in the Framingham Heart Study offspring cohort. Stroke. 2009;40(8):2715–9.

204. Riccioni G, Scotti L, D'Orazio N, Gallina S, Speziale G, Speranza L, et al. ADMA/SDMA in elderly subjects with asymptomatic carotid atherosclerosis: values and site-specific association. Int J Mol Sci. 2014;15(4):6391–8.

205. Zsuga J, Torok J, Magyar MT, Valikovics A, Gesztelyi R, Kéki S, et al. Serum asymmetric dimethylarginine negatively correlates with intima-media thickness in early-onset atherosclerosis. Cerebrovasc Dis. 2007;23(5–6):388–94.

206. Willeit P, Freitag DF, Laukkanen JA, Chowdhury S, Gobin R, Mayr M, et al. Asymmetric dimethylarginine and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 22 prospective studies. J Am Heart Assoc. 2015;4(6):e001833.

207. Schlesinger S, Sonntag SR, Lieb W, Maas R. Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine as Risk Markers for Total Mortality and Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. PLoS ONE. 2016;11(11):e0165811.

208. Zhou S, Zhu Q, Li X, Chen C, Liu J, Ye Y, et al. Asymmetric dimethylarginine and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2017;7:44692.

209. Leong T, Zylberstein D, Graham I, Lissner L, Ward D, Fogarty J, et al. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(5):961–7.

210. Xuan C, Liu Z-F, Wang Q, Guo F-F, Zhang X, He G-W, et al. Increased serum concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients with early-onset coronary artery disease. Clin Chim Acta. 2017;464:195–9.

211. Xuan C, Tian Q-W, Li H, Zhang B-B, He G-W, Lun L-M. Levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, and risk of coronary artery disease: A meta-analysis based on 4713 participants. Eur J Prev Cardiol. 2016;23(5):502–10.

212. Mangiacapra F, Conte M, Demartini C, Muller O, Delrue L, Dierickx K, et al. Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis. Int J Cardiol. 2016;220:629–33.

213. Chung J-W, Oh MJ, Cho YH, Moon GJ, Kim G-M, Chung C-S, et al. Distinct Roles of Endothelial Dysfunction and Inflammation in Intracranial Atherosclerotic Stroke. Eur Neurol. 2017;77(3–4):211–9.

214. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Wolzt M, Schernthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care. 2007;30(7):1834–9.

215. Konya H, Miuchi M, Satani K, Matsutani S, Yano Y, Tsunoda T, et al. Asymmetric dimethylarginine, a biomarker of cardiovascular complications in diabetes mellitus. World J Exp Med. 2015;5(2):110–9.

216. Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, Poludasu S, Yanamadala S, Frishman WH, et al. Relation of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular morbidity and mortality at two years in men with diabetes mellitus referred for coronary angiography. Atherosclerosis. 2010;210(1):226–31.

217. Hsu C-P, Hsu P-F, Chung M-Y, Lin S-J, Lu T-M. Asymmetric dimethylarginine and long-term adverse cardiovascular events in patients with type 2 diabetes: relation with the glycemic control. Cardiovasc Diabetol. 2014;13:156.

218. Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. Circulation. 2009;119(12):1592–600.

219. Anderssohn M, Schwedhelm E, Lüneburg N, Vasan RS, Böger RH. Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguing interaction with diabetes mellitus. Diab Vasc Dis Res. 2010;7(2):105–18.

220. Davenport AP, Hyndman KA, Dhaun N, Southan C, Kohan DE, Pollock JS, et al. Endothelin. Pharmacol Rev. 2016;68(2):357–418.

221. Богданов Г, Методиев Р, Бояджиева Н. Нови изследвания върху ендотелини и техни рецептори. Сърдечно-съдови заболявания. 2015;46(3):3-8

222. Trindade M, Oigman W, Fritsch Neves M. Potential Role of Endothelin in Early Vascular Aging. Curr Hypertens Rev. 2017;13(1):33–40.

223. Miyauchi T, Sakai S. Endothelin and the heart in health and diseases. Peptides. 2019;111:77–88.

224. Ламбова С, Кузманова С, Николова Ю, Иванова Р, Цветкова Т, Денева Т, Петрова Н. Плазмени нива на ендотелин-1 при болни със склеродермия: корелация с клиничната и капиляроскопската картина. Ревматология. 2008;1-2

225. Костов К. Патофизиологична роля на ендотелин-1, матриксните металопротеинази-2, -9 и магнезия в развитието и динамиката на съдовите промени при различни степени на артериална хипертония. Дис. Плевен. 2015.

226. Idris-Khodja N, Ouerd S, Mian MOR, Gornitsky J, Barhoumi T, Paradis P, et al. Endothelin-1 Overexpression Exaggerates Diabetes-Induced Endothelial Dysfunction by Altering Oxidative Stress. Am J Hypertens. 2016;29(11):1245–51.

227. Prieto D, Contreras C, Sánchez A. Endothelial dysfunction, obesity and insulin resistance. Curr Vasc Pharmacol. 2014;12(3):412–26.

228. Tesauro M, Cardillo C. Obesity, blood vessels and metabolic syndrome. Acta Physiol (Oxf). 2011;203(1):279–86.

229. Virdis A. Endothelial Dysfunction in Obesity: Role of Inflammation. High Blood Press Cardiovasc Prev. 2016;23(2):83–5.

230. Mahmoud AM, Szczurek MR, Blackburn BK, Mey JT, Chen Z, Robinson AT, et al. Hyperinsulinemia augments endothelin-1 protein expression and impairs vasodilation of human skeletal muscle arterioles. Physiol Rep. 2016;4(16).

231. Reynolds LJ, Credeur DP, Manrique C, Padilla J, Fadel PJ, Thyfault JP. Obesity, type 2 diabetes, and impaired insulin-stimulated blood flow: role of skeletal muscle NO synthase and endothelin-1. J Appl Physiol. 2017;122(1):38–47.

232. Muniyappa R, Sowers JR. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction. Rev Endocr Metab Disord. 2013;14(1):5–12.

233. Diehl KJ, Templeton DL, Ma J, Weil BR, Greiner JJ, Stauffer BL, et al. Impaired fasting blood glucose is associated with increased endothelin-1 vasoconstrictor tone. Atherosclerosis. 2013;229(1):130–3.

234. el-Mesallamy H, Suwailem S, Hamdy N. Evaluation of C-reactive protein, endothelin-1, adhesion molecule(s), and lipids as inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus patients. Mediators Inflamm. 2007;2007:73635.

235. Kostov K, Blazhev A, Atanasova M, Dimitrova A. Serum Concentrations of Endothelin-1 and Matrix Metalloproteinases-2, -9 in Pre-Hypertensive and Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes. Int J Mol Sci. 2016;17(8).

236. Ju C, Ye M, Li F. Plasma Brain Natriuretic Peptide, Endothelin-1, and Matrix Metalloproteinase 9 Expression and Significance in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Ischemic Heart Disease. Med Sci Monit. 2015;21:2094–9.

237. Skalska AB, Grodzicki T. Carotid atherosclerosis in elderly hypertensive patients: potential role of endothelin and plasma antioxidant capacity. J Hum Hypertens. 2010;24(8):538–44.

238. Sen S, Chen S, Feng B, Iglarz M, Chakrabarti S. Renal, retinal and cardiac changes in type 2 diabetes are attenuated by macitentan, a dual endothelin receptor antagonist. Life Sci. 2012;91(13–14):658–68.

239. Костов К, Димитрова А, Тишева С, Блажев А, Атанасова М, Русева А и др. Ендотелин-1 при пациенти с артериална хипертония и захарен диабет тип 2. Science and Technologies. 2014;4(1):420-424

240. Kuo Y-R, Chien C-M, Kuo M-J, Wang F-S, Huang E-Y, Wang C-J. Endothelin-1 Expression Associated with Lipid Peroxidation and Nuclear Factor-κB Activation in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Angiopathy and Limb Amputation. Plast Reconstr Surg. 2016;137(1):187e–95e.

241. Dimova R, Tankova T, Kirilov G, Chakarova N, Grozeva G, Dakovska L. Endothelial and Autonomic Dysfunction at Early Stages of Glucose Intolerance and in Metabolic Syndrome. Horm Metab Res. 2020;52(1):39–48.

242. Harris AK, Elgebaly MM, Li W, Sachidanandam K, Ergul A. Effect of chronic endothelin receptor antagonism on cerebrovascular function in type 2 diabetes. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008;294(4):R1213-1219.

243. Rautureau Y, Schiffrin EL. Endothelin in hypertension: an update. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2012;21(2):128–36.

244. Khadka A, Singh Brashier DB, Tejus A, Sharma AK. Macitentan: An important addition to the treatment of pulmonary arterial hypertension. J Pharmacol Pharmacother. 2015;6(1):53–7.

245. Илиева А. Инхибиране на ангиотензин и ендотелин конвертиращите ензими и ролята им в профилактиката и лечението на микроалбуминурията при захарен диабет тип 2. Дис. София. 2016.

246. Pernow J, Shemyakin A, Böhm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. Life Sci. 2012;91(13–14):507–16.

247. Кирилов Г, Томова А, Даковска Л, Куманов Ф. Плазмени нива на ендотелин-1 при болни със синдрома на Cushing. Списание Ендокринология. 2011;6(1):35-41.

248. Bossard M, Pumpol K, van der Lely S, Aeschbacher S, Schoen T, Krisai P, et al. Plasma endothelin-1 and cardiovascular risk among young and healthy adults. Atherosclerosis. 2015;239(1):186–91.

249. Novo G, Sansone A, Rizzo M, Guarneri FP, Pernice C, Novo S. High plasma levels of endothelin-1 enhance the predictive value of preclinical atherosclerosis for future cerebrovascular and cardiovascular events: a 20-year prospective study. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2014;15(9):696–701.

250. Kartamihardja AHS. Correlation between Transient Ischemic Dilation Index and Endothelin-1 Level in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. World J Nucl Med. 2016;15(2):109–13.

251. Sharir T. Transient ischemic dilation: An old but not obsolete marker of extensive coronary artery disease. J Nucl Cardiol. 2018;25(3):738–41.

252. Harris AK, Hutchinson JR, Sachidanandam K, Johnson MH, Dorrance AM, Stepp DW, et al. Type 2 diabetes causes remodeling of cerebrovasculature via differential regulation of matrix metalloproteinases and collagen synthesis: role of endothelin-1. Diabetes. 2005;54(9):2638–44.

253. Widyantoro B, Emoto N, Nakayama K, Anggrahini DW, Adiarto S, Iwasa N, et al. Endothelial cell-derived endothelin-1 promotes cardiac fibrosis in diabetic hearts through stimulation of endothelial-to-mesenchymal transition. Circulation. 2010;121(22):2407–18.

254. Wang X, Guo Z, Ding Z, Khaidakov M, Lin J, Xu Z, et al. Endothelin-1 upregulation mediates aging-related cardiac fibrosis. J Mol Cell Cardiol. 2015;80:101–9.

255. Zhang C-L, Xie S, Qiao X, An Y-M, Zhang Y, Li L, et al. Plasma endothelin-1-related peptides as the prognostic biomarkers for heart failure: A PRISMA-compliant meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2017;96(50):e9342.

256. Leary PJ, Jenny NS, Bluemke DA, Kawut SM, Kronmal RA, Lima JA, et al. Endothelin-1, cardiac morphology, and heart failure: the MESA angiogenesis study. J Heart Lung Transplant. 2020;39(1):45–52.

257. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. Exp Mol Med. 2012;44(1):1–9.

258. Стратиева В. Плацентарна дисфункция – скринингов модел за оценка на риска. Дис. Варна. 2016

259. Autiero M, Luttun A, Tjwa M, Carmeliet P. Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. J Thromb Haemost. 2003;1(7):1356–70.

260. Dewerchin M, Carmeliet P. PlGF: a multitasking cytokine with disease-restricted activity. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2(8).

261. Khurana R, Moons L, Shafi S, Luttun A, Collen D, Martin JF, et al. Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. Circulation. 2005;111(21):2828–36.

262. Roncal C, Buysschaert I, Gerdes N, Georgiadou M, Ovchinnikova O, Fischer C, et al. Short-term delivery of anti-PlGF antibody delays progression of atherosclerotic plaques to vulnerable lesions. Cardiovasc Res. 2010;86(1):29–36.

263. Pervanidou P, Chouliaras G, Akalestos A, Bastaki D, Apostolakou F, Papassotiriou I, et al. Increased placental growth factor (PlGF) concentrations in children and adolescents with obesity and the metabolic syndrome. Hormones (Athens). 2014;13(3):369–74.

264. Pelisek J, Well G, Reeps C, Rudelius M, Kuehnl A, Culmes M, et al. Neovascularization and angiogenic factors in advanced human carotid artery stenosis. Circ J. 2012;76(5):1274–82.

265. Draker N, Torry DS, Torry RJ. Placenta growth factor and sFlt-1 as biomarkers in ischemic heart disease and heart failure: a review. Biomark Med. 2019;13(9):785–99.

266. Pilarczyk K, Sattler KJE, Galili O, Versari D, Olson ML, Meyer FB, et al. Placenta growth factor expression in human atherosclerotic carotid plaques is related to plaque destabilization. Atherosclerosis. 2008;196(1):333–40.

267. Cassidy A, Chiuve SE, Manson JE, Rexrode KM, Girman CJ, Rimm EB. Potential role for plasma placental growth factor in predicting coronary heart disease risk in women. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(1):134–9.

268. Santalahti K, Havulinna A, Maksimow M, Zeller T, Blankenberg S, Vehtari A, et al. Plasma levels of hepatocyte growth factor and placental growth factor predict mortality in a general population: a prospective cohort study. J Intern Med. 2017;282(4):340–52.

269. Matsui M, Uemura S, Takeda Y, Samejima K-I, Matsumoto T, Hasegawa A, et al. Placental Growth Factor as a Predictor of Cardiovascular Events in Patients with CKD from the NARA-CKD Study. J Am Soc Nephrol. 2015;26(11):2871–81.

270. Matsui M, Samejima K, Takeda Y, Tanabe K, Morimoto K, Okamoto K, et al. Prognostic Impact of Placental Growth Factor on Mortality and Cardiovascular Events in Dialysis Patients. Am J Nephrol. 2015;42(2):117–25.

271. Zakiyanov O, Kalousová M, Zima T, Tesař V. Placental growth factor in patients with decreased renal function. Ren Fail. 2011;33(3):291–7.

272. Rambod M, Heine GH, Seiler S, Dominic EA, Rogacev KS, Dwivedi R, et al. Association of vascular endothelial factors with cardiovascular outcome and mortality in chronic kidney disease patients: a 4-year cohort study. Atherosclerosis. 2014;236(2):360–5.

273. Marković M, Ignjatović S, Dajak M, Majkić-Singh N. Placental growth factor as short-term predicting biomarker in acute coronary syndrome patients with non-ST elevation myocardial infarction. South Med J. 2010;103(10):982–7.

274. Lenderink T, Heeschen C, Fichtlscherer S, Dimmeler S, Hamm CW, Zeiher AM, et al. Elevated placental growth factor levels are associated with adverse outcomes at four-year follow-up in patients with acute coronary syndromes. J Am Coll Cardiol. 2006;47(2):307–11.

275. Shevchenko AO, Shevchenko OP, Orlova OV, Tulikov MV. [Neoangiogenesis and coronary atherosclerosis: diagnostic value of a novel biochemical marker placenta growth factor in patients with ischemic heart disease]. Kardiologiia. 2006;46(11):9–15.

276. Lu H-Q, Liang C, He Z-Q, Fan M, Wu Z-G. Circulating miR-214 is associated with the severity of coronary artery disease. J Geriatr Cardiol. 2013;10(1):34–8.

277. Matsumoto T, Uemura S, Takeda Y, Matsui M, Okada S, Nishida T, et al. An elevated ratio of placental growth factor to soluble fms-like tyrosine kinase-1 predicts adverse outcomes in patients with stable coronary artery disease. Intern Med. 2013;52(10):1019–27.

278. Heeschen C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, Hamm CW, Berger J, Simoons ML, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. JAMA. 2004;291(4):435–41.

279. Bui AH, Bonaca MP, Sabatine MS, Ray KK, Rifai N, Cannon CP, et al. Elevated concentration of placental growth factor (PlGF) and long term risk in patients with acute coronary syndrome in the PROVE IT-TIMI 22 trial. J Thromb Thrombolysis. 2012;34(2):222–8.

280. Nguyen QD, De Falco S, Behar-Cohen F, Lam W-C, Li X, Reichhart N, et al. Placental growth factor and its potential role in diabetic retinopathy and other ocular neovascular diseases. Acta Ophthalmol. 2018;96(1):e1–9.

281. Theilade S, Lajer M, Jorsal A, Tarnow L, Parving H-H, Rossing P. Evaluation of placental growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in patients with Type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. Diabet Med. 2012;29(3):337–44.

282. Hölscher ME, Bode C, Bugger H. Diabetic Cardiomyopathy: Does the Type of Diabetes Matter? Int J Mol Sci. 2016;17(12).

283. Poornima Indu G., Parikh Pratik, Shannon Richard P. Diabetic Cardiomyopathy. Circ Res. 2006;98(5):596–605.

284. Fontes-Carvalho R, Ladeiras-Lopes R, Bettencourt P, Leite-Moreira A, Azevedo A. Diastolic dysfunction in the diabetic continuum: association with insulin resistance, metabolic syndrome and type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2015;14:4.

285. Yoneyama K, Venkatesh BA, Wu CO, Mewton N, Gjesdal O, Kishi S, et al. Diabetes mellitus and insulin resistance associate with left ventricular shape and torsion by cardiovascular magnetic resonance imaging in asymptomatic individuals from the multi-ethnic study of atherosclerosis. J Cardiovasc Magn Reson. 2018;20(1):53.

286. Cauwenberghs N, Knez J, Thijs L, Haddad F, Vanassche T, Yang W-Y, et al. Relation of Insulin Resistance to Longitudinal Changes in Left Ventricular Structure and Function in a General Population. J Am Heart Assoc. 2018;7(7).

287. Hwang Y-C, Jee JH, Kang M, Rhee E-J, Sung J, Lee M-K. Metabolic syndrome and insulin resistance are associated with abnormal left ventricular diastolic function and structure independent of blood pressure and fasting plasma glucose level. Int J Cardiol. 2012;159(2):107–11.

288. Seferović PM, Paulus WJ. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes. Eur Heart J. 2015;36(27):1718–27.

289. An D, Rodrigues B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006;291(4):H1489-1506.

290. Tan Y, Zhang Z, Zheng C, Wintergerst KA, Keller BB, Cai L. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. Nat Rev Cardiol. 2020;

291. von Bibra H, St John Sutton M. Diastolic dysfunction in diabetes and the metabolic syndrome: promising potential for diagnosis and prognosis. Diabetologia. 2010;53(6):1033–45.

292. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. J Am Soc Echocardiogr. 2015;28(1):1-39.e14.

293. Dokainish H. Left ventricular diastolic function and dysfunction: Central role of echocardiography. Glob Cardiol Sci Pract. 2015;2015:3.

294. Wan S-H, Vogel MW, Chen HH. Pre-clinical diastolic dysfunction. J Am Coll Cardiol. 2014;63(5):407–16.

295. Кундурджиев А. Кардиоренален синдром. София: Екселсиор ООД, 2019.

296. Khouri SJ, Maly GT, Suh DD, Walsh TE. A practical approach to the echocardiographic evaluation of diastolic function. J Am Soc Echocardiogr. 2004;17(3):290–7.

297. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, Miller FA, Oh JK, Redfield MM, et al. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular

filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. Circulation. 2000;102(15):1788–94.

298. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. J Am Soc Echocardiogr. 2016;29(4):277–314.

299. Sharifov OF, Schiros CG, Aban I, Denney TS, Gupta H. Diagnostic Accuracy of Tissue Doppler Index E/e' for Evaluating Left Ventricular Filling Pressure and Diastolic Dysfunction/Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Am Heart Assoc. 2016;5(1).

300. Boyer JK, Thanigaraj S, Schechtman KB, Pérez JE. Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive patients with diabetes mellitus. Am J Cardiol. 2004;93(7):870–5.

301. Zahiti BF, Gorani DR, Gashi FB, Gjoka SB, Zahiti LB, Haxhiu BS, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic type 2 diabetic patients: detection and evaluation by tissue Doppler imaging. Acta Inform Med. 2013;21(2):120–3.

302. Halley CM, Houghtaling PL, Khalil MK, Thomas JD, Jaber WA. Mortality Rate in Patients With Diastolic Dysfunction and Normal Systolic Function. Arch Intern Med. 2011;171(12):1082–7.

303. Pilz S, Edelmann F, Meinitzer A, Gelbrich G, Döner U, Düngen H-D, et al. Associations of methylarginines and homoarginine with diastolic dysfunction and cardiovascular risk factors in patients with preserved left ventricular ejection fraction. J Card Fail. 2014;20(12):923–30.

304. Patil VC, Patil HV, Shah KB, Vasani JD, Shetty P. Diastolic dysfunction in asymptomatic type 2 diabetes mellitus with normal systolic function. J Cardiovasc Dis Res. 2011;2(4):213–22.

305. Zoppini G, Bergamini C, Mantovani A, Dauriz M, Targher G, Rossi A, et al. The E/e' ratio difference between subjects with type 2 diabetes and controls. A meta-analysis of clinical studies. PLoS ONE. 2018;13(12):e0209794.

306. Maiello M, Zito A, Cecere A, Ciccone MM, Palmiero P. Left ventricular diastolic dysfunction in normotensive postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. Cardiol J. 2017;24(1):51–6.

307. Cosson S, Kevorkian J-P, Virally M-L, Henry P, Laloi-Michelin M, Meas T, et al. No evidence for left ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic normotensive type 2 diabetic patients: a case-control study with new echocardiographic techniques. Diabetes Metab. 2007;33(1):61–7.

308. Joseph TP, Kotecha NS, Kumar H B C, Jain N, Kapoor A, Kumar S, et al. Coronary artery calcification, carotid intima-media thickness and cardiac dysfunction in young adults with type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Complicat. 2020;34(8):107609.

309. Zoppini G, Bonapace S, Bergamini C, Rossi A, Trombetta M, Lanzoni L, et al. Evidence of left atrial remodeling and left ventricular diastolic dysfunction in type 2 diabetes mellitus with preserved systolic function. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2016;26(11):1026–32.

310. Shrestha NR, Sharma SK, Karki P, Shrestha NK, Acharya P. Echocardiographic evaluation of diastolic function in asymptomatic type 2 diabetes. JNMA J Nepal Med Assoc. 2009;48(173):20–3.

311. Nishi T, Kobayashi Y, Christle JW, Cauwenberghs N, Boralkar K, Moneghetti K, et al. Incremental value of diastolic stress test in identifying subclinical heart failure in patients with diabetes mellitus. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2020;21(8):876–84.

312. From AM, Scott CG, Chen HH. The development of heart failure in patients with diabetes mellitus and pre-clinical diastolic dysfunction a population-based study. J Am Coll Cardiol. 2010;55(4):300–5.

313. Chaudhary AK, Aneja GK, Shukla S, Razi SM. Study on Diastolic Dysfunction in Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus and its Correlation with Glycosylated Haemoglobin (HbA1C). J Clin Diagn Res. 2015;9(8):OC20-22.

314. Bouthoorn S, Valstar GB, Gohar A, den Ruijter HM, Reitsma HB, Hoes AW, et al. The prevalence of left ventricular diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction in men and women with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. Diab Vasc Dis Res. 2018;15(6):477–93.

315. Randhawa FA, Hussnain MT, Nazir S, Masud F. Frequency of diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive type-2 diabetic patients. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2014;26(1):35–7.

316. Saraiva RM, Duarte DM, Duarte MPC, Martins AF, Poltronieri AVG, Ferreira ME, et al. Tissue Doppler imaging identifies asymptomatic normotensive diabetics with diastolic dysfunction and reduced exercise tolerance. Echocardiography. 2005;22(7):561–70.

317. Zhao Z, Hou C, Ye X, Cheng J. Echocardiographic Changes in Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus Patients with and without Hypertension. Med Sci Monit. 2020;26:e918972.

318. Dinh W, Lankisch M, Nickl W, Scheyer D, Scheffold T, Kramer F, et al. Insulin resistance and glycemic abnormalities are associated with deterioration of left ventricular diastolic function: a cross-sectional study. Cardiovasc Diabetol. 2010;9:63.

319. Yokota S, Tanaka H, Mochizuki Y, Soga F, Yamashita K, Tanaka Y, et al. Association of glycemic variability with left ventricular diastolic function in type 2 diabetes mellitus. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):166.

320. Tang X, Zhong J, Zhang H, Luo Y, Liu X, Peng L, et al. Visit-to-visit fasting plasma glucose variability is an important risk factor for long-term changes in left cardiac structure and function in patients with type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):50.

321. Li S, Zheng Z, Tang X, Zhong J, Liu X, Zhao Y, et al. Impact of HbA1c variability on subclinical left ventricular remodeling and dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. Clin Chim Acta. 2020;502:159–66.

322. Patil MB, Burji NPA. Echocardiographic evaluation of diastolic dysfunction in asymptomatic type 2 diabetes mellitus. J Assoc Physicians India. 2012;60:23–6.

323. Kozakova M, Morizzo C, Fraser AG, Palombo C. Impact of glycemic control on aortic stiffness, left ventricular mass and diastolic longitudinal function in type 2 diabetes mellitus. Cardiovasc Diabetol. 2017;16(1):78.

324. Reis JP, Allen NB, Bancks MP, Carr JJ, Lewis CE, Lima JA, et al. Duration of Diabetes and Prediabetes During Adulthood and Subclinical Atherosclerosis and Cardiac Dysfunction in Middle Age: The CARDIA Study. Diabetes Care. 2018;41(4):731–8.

325. Chen X, Guo H, Yang Q, Fang J, Kang X. Quantitative evaluation of subclinical left ventricular dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus by three-dimensional echocardiography. Int J Cardiovasc Imaging. 2020;36(7):1311–9.

326. From AM, Scott CG, Chen HH. Changes in diastolic dysfunction in diabetes mellitus over time. Am J Cardiol. 2009;103(10):1463–6.

327. Blomstrand P, Engvall M, Festin K, Lindström T, Länne T, Maret E, et al. Left ventricular diastolic function, assessed by echocardiography and tissue Doppler imaging, is a strong predictor of cardiovascular events, superior to global left ventricular longitudinal strain, in patients with type 2 diabetes. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2015;16(9):1000–7.

328. Mansour MJ, Chammas E, Hamoui O, Honeine W, AlJaroudi W. Association between left ventricular diastolic dysfunction and subclinical coronary artery calcification. Echocardiography. 2020;37(2):253–9.

329. Poulsen MK, Henriksen JE, Dahl J, Johansen A, Gerke O, Vach W, et al. Left ventricular diastolic function in type 2 diabetes mellitus: prevalence and association with myocardial and vascular disease. Circ Cardiovasc Imaging. 2010;3(1):24–31.

330. Poręba R, Gać P, Poręba M, Derkacz A, Chachaj A, Mazur G, et al. Left ventricular diastolic dysfunction and plasma asymmetric dimethylarginine concentration in persons with essential hypertension. Arch Med Sci. 2015;11(3):521–9.

331. Peng T, Li X, Hu Z, Yang X, Ma C. Predictive role of endothelin in left ventricular remodeling of chronic kidney disease. Ren Fail. 2018;40(1):183–6.

332. van den Oord SCH, Sijbrands EJG, ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AFW, et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis. Atherosclerosis. 2013;228(1):1–11.

333. Polak JF, O'Leary DH. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and Predictor of CVD. Glob Heart. 2016;11(3):295-312.e3.

334. Negi SI, Nambi V. The role of carotid intimal thickness and plaque imaging in risk stratification for coronary heart disease. Curr Atheroscler Rep. 2012;14(2):115–23.

335. Naqvi TZ, Lee M-S. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. JACC Cardiovasc Imaging. 2014;7(10):1025–38.

336. Baldassarre D, Hamsten A, Veglia F, de Faire U, Humphries SE, Smit AJ, et al. Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events: results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMT] and IMT-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) study. J Am Coll Cardiol. 2012;60(16):1489–99.

337. Cohen GI, Aboufakher R, Bess R, Frank J, Othman M, Doan D, et al. Relationship between carotid disease on ultrasound and coronary disease on CT angiography. JACC Cardiovasc Imaging. 2013;6(11):1160–7.

338. Jeevarethinam A, Venuraju S, Dumo A, Ruano S, Mehta VS, Rosenthal M, et al. Relationship between carotid atherosclerosis and coronary artery calcification in asymptomatic diabetic patients: A prospective multicenter study. Clin Cardiol. 2017;40(9):752–8.

339. Tahmasebpour HR, Buckley AR, Cooperberg PL, Fix CH. Sonographic examination of the carotid arteries. Radiographics. 2005;25(6):1561–75.

340. Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. Cerebrovasc Dis. 2012;34(4):290–6.

341. Lundby-Christensen L, Almdal TP, Carstensen B, Tarnow L, Wiinberg N. Carotid intima-media thickness in individuals with and without type 2 diabetes: a reproducibility study. Cardiovasc Diabetol. 2010;9:40.

342. Robertson CM, Gerry F, Fowkes R, Price JF. Carotid intima-media thickness and the prediction of vascular events. Vasc Med. 2012;17(4):239–48.

343. Ray A, Huisman MV, Rabelink TJ. Can and should carotid ultrasound be used in cardiovascular risk assessment?: the internist's perspective. Eur J Intern Med. 2015;26(2):112–7.

344. Polak JF, Pencina MJ, Meisner A, Pencina KM, Brown LS, Wolf PA, et al. Associations of carotid artery intima-media thickness (IMT) with risk factors and prevalent cardiovascular disease: comparison of mean common carotid artery IMT with maximum internal carotid artery IMT. J Ultrasound Med. 2010;29(12):1759–68.

345. Zhao XX, Liu J, Zhao H, Zhou Y, Li L, Wang H. The effect of cardiovascular risk factors on the carotid intima-media thickness in an old-aged cohort with hypertension: a longitudinal evolution with 4-year follow-up of a random clinical trial. Clin Exp Hypertens. 2019;41(1):49–57.

346. Jeevarethinam A, Venuraju S, Weymouth M, Atwal S, Lahiri A. Carotid intimal thickness and plaque predict prevalence and severity of coronary atherosclerosis: a pilot study. Angiology. 2015;66(1):65–9.

347. Eikendal ALM, Groenewegen KA, Anderson TJ, Britton AR, Engström G, Evans GW, et al. Common carotid intima-media thickness relates to cardiovascular events in adults aged <45 years. Hypertension. 2015;65(4):707–13.

348. Peters SAE, den Ruijter HM, Bots ML, Moons KGM. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. Heart. 2012;98(3):177–84.

349. Greenland P, Alpert J, Beller G, Benjamin E, Budoff M, Fayad Z et al. 2010 ACCF/AHA Guideline for Assessment of Cardiovascular Risk in Asymptomatic Adults: Executive Summary. Circulation. 2010;122(25):2748-64.

350. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur Heart J. 2012;33(13):1635-701.

351. Bulut A, Avci B. Carotid intima-media thickness values are significantly higher in patients with prediabetes compared to normal glucose metabolism. Medicine (Baltimore). 2019;98(44):e17805.

352. Brohall G, Odén A, Fagerberg B. Carotid artery intima-media thickness in patients with Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systematic review. Diabet Med. 2006;23(6):609–16.

353. Djaberi R, Schuijf JD, Jukema JW, Rabelink TJ, Stokkel MP, Smit JW, et al. Increased carotid intima-media thickness as a predictor of the presence and extent of abnormal myocardial perfusion in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2010;33(2):372–4.

354. Rassi CHRE, Churchill TW, Tavares CAF, Fahel MG, Rassi FPO, Uchida AH, et al. Use of imaging and clinical data to screen for cardiovascular disease in asymptomatic diabetics. Cardiovasc Diabetol. 2016;15:28.

355. Cardoso CRL, Salles GC, Leite NC, Salles GF. Prognostic impact of carotid intima-media thickness and carotid plaques on the development of micro- and macrovascular complications in individuals with type 2 diabetes: the Rio de Janeiro type 2 diabetes cohort study. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):2.

356. Lorenz MW, Price JF, Robertson C, Bots ML, Polak JF, Poppert H, et al. Carotid intima-media thickness progression and risk of vascular events in people with diabetes: results from the PROG-IMT collaboration. Diabetes Care. 2015;38(10):1921–9.

357. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. J Am Coll Cardiol. 2010;55(15):1600–7.

358. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med. 1999;340(1):14–22.

359. Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction; The Rotterdam Study. Eur Heart J. 2002;23(12):934–40.

360. Den Ruijter HM, Peters SAE, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. JAMA. 2012;308(8):796–803.

361. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis. Atherosclerosis. 2012;220(1):128–33.

362. den Ruijter HM, Peters S a. E, Groenewegen KA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, et al. Common carotid intima-media thickness does not add to Framingham risk score in individuals with diabetes mellitus: the USE-IMT initiative. Diabetologia. 2013;56(7):1494–502.

363. Baber U, Mehran R, Sartori S, Schoos MM, Sillesen H, Muntendam P, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: the BioImage study. J Am Coll Cardiol. 2015;65(11):1065–74.

364. Sillesen H, Muntendam P, Adourian A, Entrekin R, Garcia M, Falk E, et al. Carotid plaque burden as a measure of subclinical atherosclerosis: comparison with other tests for subclinical arterial disease in the High Risk Plaque BioImage study. JACC Cardiovasc Imaging. 2012;5(7):681–9.

365. Watanabe I, Shintani Y, Terada S, Fujii T, Kiuchi S, Nakanishi R, et al. A Clinical Association between an Increasing Renal Resistive Index and the Atherosclerotic Burden in Patients with a Preserved Renal Function. Intern Med. 2020;59(7):909–16.

366. Aboyans V, Ricco J-B, Bartelink M-LEL, Björck M, Brodmann M, Cohnert T, et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS); Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteriesEndorsed by: the European Stroke Organization (ESO)The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). Eur Heart J. 2018;39(9):763–816.

367. Viazzi F, Leoncini G, Derchi LE, Pontremoli R. Ultrasound Doppler renal resistive index: a useful tool for the management of the hypertensive patient. J Hypertens. 2014;32(1):149–53.

368. Boddi M, Natucci F, Ciani E. The internist and the renal resistive index: truths and doubts. Intern Emerg Med. 2015;10(8):893–905.

369. Radermacher J, Ellis S, Haller H. Renal resistance index and progression of renal disease. Hypertension. 2002;39(2 Pt 2):699–703.

370. Miyoshi K, Okura T, Tanino A, Kukida M, Nagao T, Higaki J. Usefulness of the renal resistive index to predict an increase in urinary albumin excretion in patients with essential hypertension. J Hum Hypertens. 2017;31(1):66–9.

371. Boddi M. Renal Ultrasound (and Doppler Sonography) in Hypertension: An Update. Adv Exp Med Biol. 2017;956:191–208.

372. Nosadini R, Velussi M, Brocco E, Abaterusso C, Carraro A, Piarulli F, et al. Increased renal arterial resistance predicts the course of renal function in type 2 diabetes with microalbuminuria. Diabetes. 2006;55(1):234–9.

373. Bude RO, Rubin JM. Relationship between the resistive index and vascular compliance and resistance. Radiology. 1999;211(2):411–7.

374. Tublin ME, Tessler FN, Murphy ME. Correlation between renal vascular resistance, pulse pressure, and the resistive index in isolated perfused rabbit kidneys. Radiology. 1999;213(1):258–64.

375. Hashimoto J, Ito S. Central pulse pressure and aortic stiffness determine renal hemodynamics: pathophysiological implication for microalbuminuria in hypertension. Hypertension. 2011;58(5):839–46.

376. Calabia J, Torguet P, Garcia I, Martin N, Mate G, Marin A, et al. The relationship between renal resistive index, arterial stiffness, and atherosclerotic burden: the link between macrocirculation and microcirculation. J Clin Hypertens (Greenwich). 2014;16(3):186–91.

377. Akgul A, Sasak G, Basaran C, Colak T, Ozdemir FN, Haberal M. Relationship of renal resistive index and cardiovascular disease in renal transplant recipients. Transplant Proc. 2009;41(7):2835–7.

378. Naesens M, Heylen L, Lerut E, Claes K, De Wever L, Claus F, et al. Intrarenal resistive index after renal transplantation. N Engl J Med. 2013;369(19):1797–806.

379. Seiler S, Colbus SM, Lucisano G, Rogacev KS, Gerhart MK, Ziegler M, et al. Ultrasound renal resistive index is not an organ-specific predictor of allograft outcome. Nephrol Dial Transplant. 2012;27(8):3315–20.

380. Heine GH, Reichart B, Ulrich C, Köhler H, Girndt M. Do ultrasound renal resistance indices reflect systemic rather than renal vascular damage in chronic kidney disease? Nephrol Dial Transplant. 2007;22(1):163–70.

381. Lehmann ED, Hopkins KD, Gosling RG. Aortic compliance measurements using Doppler ultrasound: in vivo biochemical correlates. Ultrasound Med Biol. 1993;19(9):683–710.

382. Di Nicolò P, Granata A. Renal intraparenchymal resistive index: the ultrasonographic answer to many clinical questions. J Nephrol. 2019;32(4):527–38.

383. Ștefan G, Florescu C, Sabo A-A, Stancu S, Mircescu G. Intrarenal resistive index conundrum: systemic atherosclerosis versus renal arteriolosclerosis. Ren Fail. 2019;41(1):930–6.

384. Morreale M, Mulè G, Ferrante A, D'ignoto F, Cottone S. Association of Renal Resistive Index with Markers of Extrarenal Vascular Changes in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Ultrasound Med Biol. 2016;42(5):1103–10.

385. Quisi A, Kurt IH, Şahin DY, Kaypaklı O, Söker G, Kaya Ö, et al. Evaluation of the relationship between renal resistive index and extent and complexity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome. Kardiol Pol. 2017;75(11):1199–207.

386. Ciccone MM, Iacoviello M, Gesualdo L, Puzzovivo A, Antoncecchi V, Doronzo A, et al. The renal arterial resistance index: a marker of renal function with an independent and incremental role in predicting heart failure progression. Eur J Heart Fail. 2014;16(2):210–6.

387. Ennezat PV, Maréchaux S, Six-Carpentier M, Pinçon C, Sediri I, Delsart P, et al. Renal resistance index and its prognostic significance in patients with heart failure with preserved ejection fraction. Nephrol Dial Transplant. 2011;26(12):3908–13.

388. Komuro K, Yokoyama N, Shibuya M, Soutome K, Hirose M, Yonezawa K, et al. Associations between increased renal resistive index and cardiovascular events. J Med Ultrason (2001). 2016;43(2):263–70.

389. Kuznetsova T, Cauwenberghs N, Knez J, Thijs L, Liu Y-P, Gu Y-M, et al. Doppler indexes of left ventricular systolic and diastolic flow and central pulse pressure in relation to renal resistive index. Am J Hypertens. 2015;28(4):535–45.

390. Tedesco MA, Natale F, Mocerino R, Tassinario G, Calabrò R. Renal resistive index and cardiovascular organ damage in a large population of hypertensive patients. J Hum Hypertens. 2007;21(4):291–6.

391. Doi Y, Iwashima Y, Yoshihara F, Kamide K, Hayashi S, Kubota Y, et al. Renal resistive index and cardiovascular and renal outcomes in essential hypertension. Hypertension. 2012;60(3):770–7.

392. Toledo Clarisse, Thomas George, Schold Jesse D., Arrigain Susana, Gornik Heather L., Nally Joseph V., et al. Renal Resistive Index and Mortality in Chronic Kidney Disease. Hypertension. 2015;66(2):382–8.

393. Wybraniec MT, Bożentowicz-Wikarek M, Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J, Mizia-Stec K. Renal resistive index and long-term outcome in patients with coronary artery disease. BMC Cardiovasc Disord. 2020;20(1):322.

394. Youssef DM, Fawzy FM. Value of renal resistive index as an early marker of diabetic nephropathy in children with type-1 diabetes mellitus. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2012;23(5):985.

395. Masulli M, Mancini M, Liuzzi R, Daniele S, Mainenti PP, Vergara E, et al. Measurement of the intrarenal arterial resistance index for the identification and prediction of diabetic nephropathy. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2009;19(5):358–64.

396. Hamano K, Nitta A, Ohtake T, Kobayashi S. Associations of Renal Vascular Resistance With Albuminuria and Other Macroangiopathy in Type 2 Diabetic Patients. Diabetes Care. 2008;31(9):1853–7.

397. Liu KH, Chu WCW, Kong APS, Ko GTC, Ma RCW, Chan JWS, et al. Intrarenal arterial resistance is associated with microvascular complications in Chinese type 2 diabetic patients. Nephrol Dial Transplant. 2013;28(3):651–8.

398. Kawai T, Kamide K, Onishi M, Yamamoto-Hanasaki H, Baba Y, Hongyo K, et al. Usefulness of the resistive index in renal Doppler ultrasonography as an indicator of vascular damage in patients with risks of atherosclerosis. Nephrol Dial Transplant. 2011;26(10):3256–62.

399. Bruno RM, Daghini E, Landini L, Versari D, Salvati A, Santini E, et al. Dynamic evaluation of renal resistive index in normoalbuminuric patients with newly diagnosed hypertension or type 2 diabetes. Diabetologia. 2011;54(9):2430–9.

400. Afsar B, Elsurer R, Sezer S, Ozdemir FN. Insulin resistance is associated with increased renal resistive index independent of other factors in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus and hypertensive patients. Metabolism. 2010;59(2):279–84.

401. Afsar B, Elsurer R. Increased renal resistive index in type 2 diabetes: Clinical relevance, mechanisms and future directions. Diabetes Metab Syndr. 2017;11(4):291–6.

402. Frauchiger B, Schmid HP, Roedel C, Moosmann P, Staub D. Comparison of carotid arterial resistive indices with intima-media thickness as sonographic markers of atherosclerosis. Stroke. 2001;32(4):836–41.

403. Uthoff H, Staub D, Meyerhans A, Hochuli M, Bundi B, Schmid HP, et al. Intima-media thickness and carotid resistive index: progression over 6 years and predictive value for cardiovascular events. Ultraschall Med. 2008;29(6):604–10.

404. Ozari HO, Oktenli C, Celik S, Tangi F, Ipcioglu O, Terekeci HM, et al. Are increased carotid artery pulsatility and resistance indexes early signs of vascular abnormalities in young obese males? J Clin Ultrasound. 2012;40(6):335–40.

405. Gancheva RN, Kundurdjiev AI, Ivanova MG, Kundurzhiev TG, Rashkov RK, Kolarov ZG. Ultrasonographic measurement of carotid artery resistive index and diastolic function of the heart in gout patients. Rheumatol Int. 2015;35(8):1369–75.

406. Nakatou T, Nakata K, Nakamura A, Itoshima T. Carotid haemodynamic parameters as risk factors for cerebral infarction in Type 2 diabetic patients. Diabet Med. 2004;21(3):223–9.

407. Sung S-H, Liao J-N, Yu W-C, Cheng H-M, Chen C-H. Common Carotid Artery Stiffness Is Associated with Left Ventricular Structure and Function and Predicts First Hospitalization for Acute Heart Failure. PLS. 2014;2(1–4):18–28.

408. Jiang YN, Kohara K, Hiwada K. Alteration of carotid circulation in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. J Hum Hypertens. 1998;12(3):173–9.

409. World Helath Organization. Consultation on Obesity (1999: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. (2000). Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330

410. World Helath Organization. Waist circumference and waist–hip ratio: report of a WHO expert consultation; 2008 Dec 8-11; Geneva, Switzerland.

411. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertensionThe Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). Eur Heart J. 2018;39(33):3021–104.

412. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. Am J Clin Nutr. 2000;72(3):694–701.

413. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular riskThe Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). Eur Heart J. 2020;41(1):111–88.

414. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetes Care. 2018;

415. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med. 1999;130(6):461–70.

416. Шиповенска Е, Георгиева В, Генчев Г. Профилактика на заболяванията. Приложна епидемиология и медицина базирана на доказателства. София: Делфи 2002, 121-138.

417. McGurnaghan S, Blackbourn LAK, Mocevic E, Haagen Panton U, McCrimmon RJ, Sattar N, et al. Cardiovascular disease prevalence and risk factor prevalence in Type 2 diabetes: a contemporary analysis. Diabet Med. 2019;36(6):718–25.

418. Strain WD, Paldánius PM. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation. Cardiovasc Diabetol. 2018;17.

419. Yao M-F, He J, Sun X, Ji X-L, Ding Y, Zhao Y-M, et al. Gender Differences in Risks of Coronary Heart Disease and Stroke in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Their Association with Metabolic Syndrome in China. Int J Endocrinol. 2016;2016.

420. Wu Y-T, Chien C-L, Wang S-Y, Yang W-S, Wu Y-W. Gender Differences in Myocardial Perfusion Defect in Asymptomatic Postmenopausal Women and Men With and Without Diabetes Mellitus. J Womens Health (Larchmt). 2013;22(5):439–44.

421. Strom Williams JL, Lynch CP, Winchester R, Thomas L, Keith B, Egede LE. Gender differences in composite control of cardiovascular risk factors among patients with type 2 diabetes. Diabetes Technol Ther. 2014;16(7):421–7.

422. Franch-Nadal J, Mata-Cases M, Vinagre I, Patitucci F, Hermosilla E, Casellas A, et al. Differences in the Cardiometabolic Control in Type 2 Diabetes according to Gender and the Presence of Cardiovascular Disease: Results from the eControl Study. Int J Endocrinol. 2014;2014:131709.

423. Schroeder EB, Bayliss EA, Daugherty SL, Steiner JF. Gender differences in cardiovascular risk factors in incident diabetes. Womens Health Issues. 2014;24(1):e61-68.

424. Yew SQ, Chia YC, Theodorakis M. Assessing 10-Year Cardiovascular Disease Risk in Malaysians With Type 2 Diabetes Mellitus: Framingham Cardiovascular Versus United Kingdom Prospective Diabetes Study Equations. Asia Pac J Public Health. 2019;31(7):622–32.

425. Agarwala A, Virani S, Couper D, Chambless L, Boerwinkle E, Astor BC, et al. Biomarkers and degree of atherosclerosis are independently associated with incident atherosclerotic cardiovascular disease in a primary prevention cohort: The ARIC study. Atherosclerosis. 2016;253:156–63.

426. van der Leeuw J, Beulens JWJ, van Dieren S, Schalkwijk CG, Glatz JFC, Hofker MH, et al. Novel Biomarkers to Improve the Prediction of Cardiovascular Event Risk in Type 2 Diabetes Mellitus. J Am Heart Assoc. 2016;5(6).

427. Tavares CAF, Wajchjenberg BL, Rochitte C, Lerario AC, Tavares CAF, Wajchjenberg BL, et al. Screening for asymptomatic coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. Arch Endocrinol Metab. 2016;60(2):143–51.

428. Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, et al. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. Circulation. 2009;120(22):2177–87.

429. Llombart V, Antolin-Fontes A, Bustamante A, Giralt D, Rost NS, Furie K, et al. B-Type Natriuretic Peptides Help in Cardioembolic Stroke Diagnosis: Pooled Data Meta-Analysis. Stroke. 2015;46(5):1187–95.

430. Di Castelnuovo Augusto, Veronesi Giovanni, Costanzo Simona, Zeller Tanja, Schnabel Renate B., de Curtis Amalia, et al. NT-proBNP (N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide) and the Risk of Stroke. Stroke. 2019;50(3):610–7.

431. Spannella F, Giulietti F, Bordicchia M, Burnett JC, Sarzani R. Association Between Cardiac Natriuretic Peptides and Lipid Profile: a Systematic Review and Meta-Analysis. Sci Rep. 2019;9.

432. Bordicchia M, Spannella F, Ferretti G, Bacchetti T, Vignini A, Di Pentima C, et al. PCSK9 is Expressed in Human Visceral Adipose Tissue and Regulated by Insulin and Cardiac Natriuretic Peptides. Int J Mol Sci. 2019;20(2).

433. Musani SK, Vasan RS, Bidulescu A, Liu J, Xanthakis V, Sims M, et al. Aldosterone, C-reactive protein, and plasma B-type natriuretic peptide are associated with the development of metabolic syndrome and longitudinal changes in metabolic syndrome components: findings from the Jackson Heart Study. Diabetes Care. 2013;36(10):3084–92.

434. Ganz T, Wainstein J, Gilad S, Limor R, Boaz M, Stern N. Serum asymmetric dimethylarginine and arginine levels predict microvascular and macrovascular complications in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab Res Rev. 2017;33(2).

435. Tsai C-M, Kuo H-C, Hsu C-N, Huang L-T, Tain Y-L. Metformin reduces asymmetric dimethylarginine and prevents hypertension in spontaneously hypertensive rats. Transl Res. 2014;164(6):452–9.

436. Ozgurtas T, Oktenli C, Dede M, Tapan S, Kenar L, Sanisoglu SY, et al. Metformin and oral contraceptive treatments reduced circulating asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). Atherosclerosis. 2008;200(2):336–44.

437. Levine AB, Punihaole D, Levine TB. Characterization of the role of nitric oxide and its clinical applications. Cardiology. 2012;122(1):55–68.

438. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010;107(9):1058–70.

439. Niemann B, Rohrbach S, Catar RA, Muller G, Barton M, Morawietz H. Native and oxidized low-density lipoproteins stimulate endothelin-converting enzyme-1 expression in human endothelial cells. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2005;334(3):747–53.

440. Testa R, Bonfigli AR, Prattichizzo F, La Sala L, De Nigris V, Ceriello A. The 'Metabolic Memory' Theory and the Early Treatment of Hyperglycemia in Prevention of Diabetic Complications. Nutrients. 2017;9(5).

441. Olivier A, Girerd N, Michel JB, Ketelslegers JM, Fay R, Vincent J, et al. Combined baseline and one-month changes in big endothelin-1 and brain natriuretic peptide plasma concentrations predict clinical outcomes in patients with left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: Insights from the Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) study. Int J Cardiol. 2017;241:344–50.

442. Gaggin HK, Truong QA, Gandhi PU, Motiwala SR, Belcher AM, Weiner RB, et al. Systematic Evaluation of Endothelin 1 Measurement Relative to Traditional and Modern Biomarkers for Clinical Assessment and Prognosis in Patients With Chronic Systolic Heart Failure: Serial Measurement and Multimarker Testing. Am J Clin Pathol. 2017;147(5):461–72.

443. Gottlieb SS, Harris K, Todd J, Estis J, Christenson RH, Torres V, et al. Prognostic significance of active and modified forms of endothelin 1 in patients with heart failure with reduced ejection fraction. Clin Biochem. 2015;48(4–5):292–6.

444. Ergul A. Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature. Pharmacol Res. 2011;63(6):477–82.

445. Ohkita M, Tawa M, Kitada K, Matsumura Y. Pathophysiological roles of endothelin receptors in cardiovascular diseases. J Pharmacol Sci. 2012;119(4):302–13.

446. Barbato E, Rubattu S, Bartunek J, Berni A, Sarno G, Vanderheyden M, et al. Human coronary atherosclerosis modulates cardiac natriuretic peptide release. Atherosclerosis. 2009;206(1):258–64.

447. Duran Edward K., Cook Nancy R., Bobadilla Maria, Kim Eunjung, Manson JoAnn E., Buring Julie E., et al. Plasma Placental Growth Factor Concentrations Are Elevated Well in Advance of

Type 2 Diabetes Mellitus Onset: Prospective Data From the WHS. J Am Heart Assoc. 2019;8(15):e012790.

448. Sundaresan A, Mehta SK, Schlegel ToddT, Russomano T, Pierson DL, Mann V, et al. Placental Growth Factor Levels in Populations with High Versus Low Risk for Cardiovascular Disease and Stressful Physiological Environments such as Microgravity: A Pilot Study. Microgravity Sci Technol. 2017;29(1):145–9.

449. Somaratne JB, Whalley GA, Poppe KK, ter Bals MM, Wadams G, Pearl A, et al. Screening for left ventricular hypertrophy in patients with type 2 diabetes mellitus in the community. Cardiovasc Diabetol. 2011;10:29.

450. Palmieri V, Bella JN, Arnett DK, Liu JE, Oberman A, Schuck MY, et al. Effect of type 2 diabetes mellitus on left ventricular geometry and systolic function in hypertensive subjects: Hypertension Genetic Epidemiology Network (HyperGEN) study. Circulation. 2001;103(1):102–7.

451. Nguyen MT, Cosson E, Valensi P, Poignard P, Nitenberg A, Pham I. Transthoracic echocardiographic abnormalities in asymptomatic diabetic patients: association with microalbuminuria and silent coronary artery disease. Diabetes Metab. 2011;37(4):343–50.

452. D L, Rj G, Dd S, Wb K, Wp C. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study [Internet]. Vol. 322, The New England journal of medicine. N Engl J Med; 1990. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2139921/

453. Verdecchia P, Reboldi G, Gattobigio R, Bentivoglio M, Borgioni C, Angeli F, et al. Atrial fibrillation in hypertension: predictors and outcome. Hypertension. 2003;41(2):218–23.

454. Turitto G, Pedalino RP, Soliman S, Togay V, El-Sherif N. Left Ventricular Hypertrophy: A Neglected Risk Factor for Sudden Cardiac Death? In: Raviele A, editor. Cardiac Arrhythmias 2001. Milano: Springer Milan; 2002. p. 219–27.

455. Milani RV, Drazner MH, Lavie CJ, Morin DP, Ventura HO. Progression from concentric left ventricular hypertrophy and normal ejection fraction to left ventricular dysfunction. Am J Cardiol. 2011;108(7):992–6.

456. Lindman BR, Dávila-Román VG, Mann DL, McNulty S, Semigran MJ, Lewis GD, et al. Cardiovascular phenotype in HFpEF patients with or without diabetes: a RELAX trial ancillary study. J Am Coll Cardiol. 2014;64(6):541–9.

457. Mohammed SF, Borlaug BA, Roger VL, Mirzoyev SA, Rodeheffer RJ, Chirinos JA, et al. Comorbidity and Ventricular and Vascular Structure and Function in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Community Based Study. Circ Heart Fail. 2012;5(6):710–9.

458. Heckbert SR, Post W, Pearson GDN, Arnett DK, Gomes AS, Jerosch-Herold M, et al. Traditional cardiovascular risk factors in relation to left ventricular mass, volume, and systolic function by cardiac magnetic resonance imaging: the Multiethnic Study of Atherosclerosis. J Am Coll Cardiol. 2006;48(11):2285–92.

459. Stewart MH, Lavie CJ, Shah S, Englert J, Gilliland Y, Qamruddin S, et al. Prognostic Implications of Left Ventricular Hypertrophy. Prog Cardiovasc Dis. 2018;61(5):446–55.

460. Krishnamoorthy A, Brown T, Ayers CR, Gupta S, Rame JE, Patel PC, et al. Progression from normal to reduced left ventricular ejection fraction in patients with concentric left ventricular hypertrophy after long-term follow-up. Am J Cardiol. 2011;108(7):997–1001.

461. Rame JE, Ramilo M, Spencer N, Blewett C, Mehta SK, Dries DL, et al. Development of a depressed left ventricular ejection fraction in patients with left ventricular hypertrophy and a normal ejection fraction. Am J Cardiol. 2004;93(2):234–7.

462. Chahal NS, Lim TK, Jain P, Chambers JC, Kooner JS, Senior R. The distinct relationships of carotid plaque disease and carotid intima-media thickness with left ventricular function. J Am Soc Echocardiogr. 2010;23(12):1303–9.

463. Rantner B, Pohlhammer J, Stadler M, Peric S, Hammerer-Lercher A, Klein-Weigel P, et al. Left ventricular ejection fraction is associated with prevalent and incident cardiovascular disease in patients with intermittent claudication – results from the CAVASIC Study. Atherosclerosis. 2015;239(2):428–35.

464. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. J Am Soc Echocardiogr. 2009;22(2):107–33.

465. Poirier P, Bogaty P, Garneau C, Marois L, Dumesnil JG. Diastolic dysfunction in normotensive men with well-controlled type 2 diabetes: importance of maneuvers in echocardiographic screening for preclinical diabetic cardiomyopathy. Diabetes Care. 2001;24(1):5–10.

466. Whalley GA, Bagg W, Doughty RN, Gamble G, Braatvedt G, Sharpe N. Pseudonormal Diastolic Filling Unmasked With Glyceryl Trinitrate in Patients With Type 2 Diabetes With Poor Metabolic Control. Diabetes Care. 2001;24(7):1307–8.

467. Colucci Wilson S. Myocardial Endothelin. Circulation. 1996;93(6):1069–72.

468. Eren M, Gorgulu S, Uslu N, Celik S, Dagdeviren B, Tezel T. Relation between aortic stiffness and left ventricular diastolic function in patients with hypertension, diabetes, or both. Heart. 2004;90(1):37–43.

469. Cho I-J, Shim CY, Moon S-H, Lee H-J, Hong G-R, Chung N, et al. Deceleration time of left ventricular outflow tract flow as a simple surrogate marker for central haemodynamics at rest and as well as during exercise. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2017;18(5):568–75.

470. Cooper KM, Barrett T, McBride CA, Badger GJ, Steiner J, LeWinter MM, et al. Subclinical cardiac stiffness is associated with arterial stiffness in healthy young nulligravid women: Potential links to preeclampsia. Pregnancy Hypertens. 2019;18:49–54.

471. Wang M, Yip G, Yu C-M, Zhang Q, Zhang Y, Tse D, et al. Independent and incremental prognostic value of early mitral annulus velocity in patients with impaired left ventricular systolic function. J Am Coll Cardiol. 2005;45(2):272–7.

472. Wang M, Yip GWK, Wang AYM, Zhang Y, Ho PY, Tse MK, et al. Peak early diastolic mitral annulus velocity by tissue Doppler imaging adds independent and incremental prognostic value. J Am Coll Cardiol. 2003;41(5):820–6.

473. Romano S, Di Mauro M, Fratini S, Guarracini L, Guarracini F, Poccia G, et al. Early diagnosis of left ventricular diastolic dysfunction in diabetic patients: a possible role for natriuretic peptides. Cardiovasc Diabetol. 2010;9:89.

474. Mogelvang R, Goetze JP, Pedersen SA, Olsen NT, Marott JL, Schnohr P, et al. Preclinical systolic and diastolic dysfunction assessed by tissue Doppler imaging is associated with elevated plasma pro-B-type natriuretic peptide concentrations. J Card Fail. 2009;15(6):489–95.

475. Tate S, Griem A, Durbin-Johnson B, Watt C, Schaefer S. Marked elevation of B-type natriuretic peptide in patients with heart failure and preserved ejection fraction. J Biomed Res. 2014;28(4):255–61.

476. Mueller C, McDonald K, Boer RA de, Maisel A, Cleland JGF, Kozhuharov N, et al. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations. Eur J Heart Fail. 2019;21(6):715–31.

477. Sarzani R, Dessì-Fulgheri P, Paci VM, Espinosa E, Rappelli A. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. J Endocrinol Invest. 1996;19(9):581–5.

478. Kalaitzidis RG, Karasavvidou DP, Tatsioni A, Pappas K, Katatsis G, Liontos A, et al. Albuminuria as a marker of arterial stiffness in chronic kidney disease patients. World J Nephrol. 2015;4(3):406–14.

479. Choi S-W, Yun W-J, Kim H-Y, Lee Y-H, Kweon S-S, Rhee J-A, et al. Association between Albuminuria, Carotid Atherosclerosis, Arterial Stiffness, and Peripheral Arterial Disease in Korean Type 2 Diabetic Patients. Kidney Blood Press Res. 2010;33(2):111–8.

480. Yoon HE, Kim ES, Mo EY, Shin SJ, Moon SD, Han JH. High normal albuminuria is associated with arterial stiffness and carotid atherosclerosis in Korean patients with type 2 diabetes. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2015;25(8):787–94.

481. Zhan W-W, Chen Y-H, Zhang Y-F, Zhu Y, Lin Y-Y, Ren X-P, et al. Carotid stiffness and microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. Endocrine. 2009;35(3):409–13.

482. Fangel MV, Nielsen PB, Kristensen JK, Larsen TB, Overvad TF, Lip GY, et al. Albuminuria and Risk of Cardiovascular Events and Mortality in a General Population of Patients with Type 2 Diabetes Without Cardiovascular Disease: A Danish Cohort Study. Am J Med. 2020;133(6):e269–79.

483. Ninomiya T, Perkovic V, de Galan BE, Zoungas S, Pillai A, Jardine M, et al. Albuminuria and kidney function independently predict cardiovascular and renal outcomes in diabetes. J Am Soc Nephrol. 2009;20(8):1813–21.

484. Mykkänen Leena, Zaccaro Daniel J., O'Leary Daniel H., Howard George, Robbins David C., Haffner Steven M. Microalbuminuria and Carotid Artery Intima-Media Thickness in Nondiabetic and NIDDM Subjects. Stroke. 1997;28(9):1710–6.

485. Park HE, Heo NJ, Kim M, Choi S-Y. Significance of Microalbuminuria in Relation to Subclinical Coronary Atherosclerosis in Asymptomatic Nonhypertensive, Nondiabetic Subjects. J Korean Med Sci. 2013;28(3):409–14.

486. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HAW. 10-Year Follow-up of Intensive Glucose Control in Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2008;359(15):1577–89.

487. Ray KK, Seshasai SRK, Wijesuriya S, Sivakumaran R, Nethercott S, Preiss D, et al. Effect of intensive control of glucose on cardiovascular outcomes and death in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet. 2009;373(9677):1765–72.

488. Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, Basile J, Calles J, Cohen RM, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. Lancet. 2010;376(9739):419–30.

489. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. N Engl J Med. 2015;373(22):2103–16.

490. Rudolf H, Mügge A, Trampisch HJ, Scharnagl H, März W, Kara K. NT-proBNP for risk prediction of cardiovascular events and all-cause mortality: The getABI-study. Int J Cardiol Heart Vasc. 2020;29:100553.

491. Doi Y, Ninomiya T, Hata J, Hirakawa Y, Mukai N, Ikeda F, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide and Risk of Cardiovascular Events in a Japanese Community: The Hisayama Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011;31(12):2997–3003.

492. Oluleye OW, Folsom AR, Nambi V, Lutsey PL, Ballantyne CM, ARIC Study Investigators. Troponin T, B-type natriuretic peptide, C-reactive protein, and cause-specific mortality. Ann Epidemiol. 2013;23(2):66–73.

493. Stevens RJ, Coleman RL, Holman RR. Framingham risk equations underestimate coronary heart disease risk in diabetes. Diabetic Medicine. 2005;22(2):228–228.

494. Echouffo-Tcheugui J-B, Kengne AP. Comparative performance of diabetes-specific and general population-based cardiovascular risk assessment models in people with diabetes mellitus. Diabetes Metab. 2013;39(5):389–96.

Приноси

Оригинални:

1. За първи път в международен план се прави сравнение между изчисления с калкулатори сърдечно-съдов риск и биомаркери за атеросклероза/ендотелна дисфункция *(научно-теоретичен принос)*
2. За първи път в международен план се предлага примерен алгоритъм за рутинно приложение на изчисления с калкулатори сърдечно-съдов риск и биомаркерите за атеросклероза/ендотелна дисфункция при стратифициране на риска *(научно-практически принос)*
3. За първи път у нас се търси корелация на изчисления сърдечно-съдов риск с обективни показатели от ехокардиография, тъканен Доплер и комплексно ултразвуково изследване на каротидни и бъбречни артерии *(научно-теоретичен принос)*
4. За първи път у нас в една и съща група лица се прилагат няколко калкулатора на риска *(научно-практически)*
5. За първи път у нас се прави средносрочно проследяване на кохорта лица със захарен диабет тип 2 с цел оценка представянето на калкулаторите на риска и биомаркерите при идентифициране на риска от фатални и нефатални сърдечно- и мозъчно-съдови събития *(научно-практически принос)*

Потвърдителни:

6. Потвърждава се наличието на повишени нива на биомаркерите за атеросклероза/ ендотелна дисфункция още в ранните стадии на захарния диабет тип 2 *(научно-теоретичен принос)*
7. Потвърждават се ранните изменения в някои ултразвукови показатели на сърцето и големите съдове още в ранните стадии на захарния диабет тип 2 *(научно-практически принос)*

Публикации по темата на дисертацията

Оригинални статии в чужди списания с импакт-фактор

1. **Markova A,** Boyanov M, Bakalov D, Kundurdjiev A, Tsakova A. Cardiovascular Biomarkers and Calculated Cardiovascular Risk in Orally Treated Type 2 Diabetes Patients: Is There a Link? Horm Metab Res. 2021 Jan;53(1):41-48. doi: 10.1055/a-1199-2378. Epub 2020 Jul 6. PMID: 32629516. IF=2,562

2. **Markova A,** Boyanov M, Bakalov D, Tsakova A. Body Composition Indices and Cardiovascular Risk in Type 2 Diabetes. CV Biomarkers are not Related to Body Composition. Open Med (Wars). 2020 Apr 17;15:309-316. doi: 10.1515/med-2020-0043. PMID: 32337369; PMCID: PMC7175638. IF=1,204

Статии в български списания

3. **Маркова А.** Роля на асиметричния диметиларгинин, NT-proBNP, ендотелин-1 и плацентарния растежен фактор като маркери за субклинична атеросклероза при пациенти със захарен диабет тип 2 - Ендокринни заболявания, 46, 2017, № 2, 15-24.

4. Kundurdzhiev A., **Markova A.** Methods for ultrasound screening of cardiovascular diseases in type 2 diabetic patients. Acta Medica Bulgarica. 45, 2018, № 1, 50-54. (реферирано в SCOPUS).

Участия в научни форуми

1. **Дончева А,** Бакалов Д, Цакова А, Боянов М. "Серумни нива на NT-proBNP и асиметричен диметиларгинин при тип 2 диабетици- корелация с изчисления сърдечно-съдов риск, Национален конгрес по ендокринология, Пловдив, 8-11 октомври 2015г, стр. 118-119; (постер 16)
2. **Markova A,** Bakalov D, Boyanov M, Tsakova A, Correlations of Serum Calcium, Phosphates and 25 (OH) Vitamin D Levels with NT-proBNP, Assymmetric Dimethylarginine, Placental Growth Factor 1 in Type 2 Diabetes Patients on Oral Antidiabetic Treatment, World Congress of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases, 19-21 April 2018, Krakow, Poland, Poster 636

3. Bakalov D, **Markova A,** Boyanov M, Tsakova A, Correlation of Serum MID-Osteocalcin with NT-proBNP, Assymmetric Dimethylarginine, Placental Growth Factor 1 in Type 2 Diabetes Patients on Oral Antidiabetic Treatment, Donau Symposium 2018, Krakow, Poland, 14-16 June 2018, Poster 14;
4. **Markova A**, Boyanov M, Bakalov D, Tsakova A, Cardiovascular biomarkers and calculated risk – an association study, ECE 2019, 21st European Congress of Endocrinology, Lyon, France, 18-21 May 2019, Poster GP35, *Endocrine Abstracts* (2019) **63** GP35 | DOI: 10.1530/endoabs.63.GP35.
5. **Markova A,** Boyanov M, Bakalov D, Tsakova A. Anthropometric and body composition indices are not predictive of cardiovascular biomarkers and estimated risk in patients with type 2 diabetes on oral antidiabetic treatment. 22nd European Congress of Endocrinology Sep 2020 e-Poster 129. Endocrine abstracts, vol. 70, pg. 477.

Участия в научни проекти по темата на дисертацията

1. Проект Млад изследовател- 2014, Медицински университет – София, ДОГОВОР № 7-Д/2014 г., ПРОЕКТ № 19-Д с вх. № 379/16.01.2014 г.; "Сърдечно-съдов риск при захарен диабет тип 2"

2. Проект Млад изследовател - 2015, Медицински университет – София, ДОГОВОР № 14-Д/2015 г., ПРОЕКТ вх. № 257/14.01.2015 г.; "Биохимични маркери и образни методи за ранна диагностика на сърдечни-съдови усложнения при пациенти със захарен диабет тип 2"