



ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

Списанието се индексира от/The journal is indexed by:

- Elsevier Bibliographic Databases, (SCOPUS) Netherlands
- EMBASE
- Bulgarian Citation Index

Editorial Board/Редакционна колегия и съвет

Editor-in-Chief: Maria ORBETZOVA

Гл. редактор: Мария ОРБЕЦОВА

Honorary Editor-in-chief Bojan LOZANOV

Почетен главен редактор Боян ЛОЗАНОВ

Анелия Томова/Aneliya Tomova

Анна-Мария Борисова/

Anna-Maria Borissova

Атанаска Еленкова/Atanaska Elenkova

Владимир Христов/Vladimir Christov

Георги Кирилов/Georgi Kirilov

Драгомир Коев/Dragomir Koev

Живка Бонева /Zhivka Boneva

Жулиета Геренова/Julieta Gerenova

Здравко Каменов/Zdravko Kamenov

Иван Цинликов/Ivan Tzinlikov

Илиана Атанасова/Iliana Atanassova

Калинка Коприварова/Kalinka Koprivarova

Катя Тодорова/Katia Todorova

Кирил Христов/Kiril Hristozov

Лидия Коева/Lidia Koeva

Малина Петкова/Malina Petkova

Митко Митков/Mitko Mitkov

Михаил Боянов/Mihail Boyanov

Нарцис Калева/Nartsis Kaleva

Пламен Попиванов/Plamen Popivanov

Радка Савова/Radka Savova

Русанка Ковачева/Roussanka Kovatcheva

Сабина Захариева/Sabina Zacharieva

Филип Куманов/Philip Kumanov

Цветалина Танкова/Tsvetalina Tankova

International Scientific Board/ Международен научен съвет

A. Bulatov (Moscow) / А. Булатов (Москва)

M. Coculescu (Bucharest) / М. Кокулеску (Букурещ)

G. Erdogan (Ankara) / Г. Ердоган (Анкара)

J. Fovenyi (Budapest) / Й. Фьовени (Будапеща)

A. Isidori (Rome) / А. Изидори (Рим)

B. Karanfilski (Scopie) / Б. Каранфилски (Скопие)

P. Kendall-Taylor (Newcastle upon Tyne) / П. Кендъл-Тейлър (Нюкасл на Тайн)

G. Krassas (Thessaloniki) / Г. Красас (Солун)

P. Lauberg (Denmark) / П. Лауберг (Дания)

J. H. Lazarus (Cardiff) / Дж. Лазарус (Кардиф)

E. Nieschlag (Munster) / Е. Нишлаг (Мюнстер)

S. Refetoff (Chicago) / С. Рефетоф (Чикаго)

M. Serrano Rios (Madrid)/М. Серрано Риос (Мадрид)

Съдържание**Обзори**

- *Тодорова, Ани С.*
Диагностика и лечение на инфекции при диабетно стъпало 3
- *Сердарова, Мина С.*
Затлъстяване и кардио-метаболически риск при захарен диабет тип 1 - съвременни аспекти и терапевтични възможности 14
- *Бояджиева, Надка Ив., Варандинова, Мирослава Г., Методиева, Росица Д.*
Инсулинова резистентност, адипокини и ролята им при безплодие на жената 27

Оригинални статии

- *Иванова, Кони В., Александрова, Елина А., Игнатова, Мария Магдалена К., Влайкова, Татяна Ив., Динкова, Красимира Ил., Гълъбова, Мая В.*
Роля на GSTP1 Ile¹⁰⁵Val еднонуклеотидния полиморфизъм като рисков фактор за карцином на щитовидната жлеза 33
- *Левтерова, Боряна А., Орбецова, Мария М., Димитрова, Донка Д., Левтеров, Георги Е.*
Въздействие на усложненията върху свързано със здравето качество на живот при пациенти със захарен диабет тип 2 42

Указания за авторите

54

Journal ENDOCRINOLOGIA volume XXIII, number 1, 2018**Contents****Reviews**

- *Todorova, Ani S.*
Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections 3
- *Serdarova, Mina S.*
Obesity and Cardio-Metabolic Risk in Type 1 Diabetes - Modern Aspects and Therapeutic Opportunities 14
- *Boydjchieva, Nadka I., Varadinova, Miroslava G., Metodieva, Rositsa D.*
Insulin Resistance, Adipokines and Their Role in Female Infertility 27

Original articles

- *Ivanova, Koni V., Aleksandrova, Elina A., Ignatova, Maria Magdalena K., Vlaykova, Tatyana Iv., Dinkova, Krasimira Il., Gulubova, Maya V.*
Role of GSTP1 Ile¹⁰⁵Val Single Nucleotide Polymorphism as a Risk Factor for Thyroid Carcinoma 38
- *Levtterova, Boryana A., Orbetzova, Maria M., Dimitrova, Donka D., Levterov, Georgi E.*
Impact of Long-term Complications on Health-Related Quality of Life in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus 48

Instructions to authors

54



Диагностика и лечение на инфекции при диабетно стъпало

Тодорова, Ани С.

Клиника по Диабетология, Клиничен център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ),
Медицински университет, София

Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections

Todorova, Ani S.

Department of Diabetology, Clinical Centre of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

Резюме

Диабетното стъпало е едно от най-тежките и инвалидизиращи усложнения на захарния диабет. В развитите страни диабетът е най-честата причина за нетравматична ампутация. Годишната честота на новопоявили се улцерации сред пациентите с диабет възлиза на 2%.

Основната причина за неблагоприятен изход и ампутация при диабетно стъпало са инфекциите. 58% от пациентите с новопоявила се язва и посетили специализирано болнично заведение са с клинично инфектирана рана. Клиничната диагноза продължава да се основава на наличието на поне два от класическите локални белези на възпаление. Системен отговор, изразена левкоцитоза или тежки метаболитни отклонения са рядкост при инфектирано диабетно стъпало, което налага търсенето на нови надеждни диагностични маркери. Повечето инфекции при диабетно стъпало са полимикробни, с аеробни Грам (+) коки, и по-специално стафилококи, най-честите причинители.

Рани без доказателства за мекотъканна или костна инфекция не налагат антибиотично лечение. Първоначалната терапия при наличие на инфекция обикновено е емпирична.

Abstract

Diabetic foot is one of the most serious and debilitating complications of diabetes mellitus. In developed countries, diabetes is the most common cause of non-traumatic amputations. The annual incidence of new ulcerations among diabetic patients is around 2%.

The main causes of an unfavorable outcome and amputation in patients with diabetic foot are infections. 58% of patients attending a specialized foot clinic with a new ulcer have a clinically infected wound.

Clinical diagnosis is still based on the presence of at least two of the classical local signs of inflammation. Systemic symptoms, marked leukocytosis or major metabolic disturbances are uncommon in patients with diabetic foot infections which require searching for new reliable diagnostic markers. Most diabetic foot infections are polymicrobial, with aerobic gram-positive cocci, and especially staphylococci, the most common causative organisms.

Wounds without evidence of soft tissue or bone infection do not require antibiotic therapy. Initial therapy in the presence of infection is usually empirical. Severe, chronic and moderate infections require broad-spectrum antibiotics. In

Тежките, хронични и умерени инфекции изискват широкоспектърни антибиотици.

При тежки и животозастрашаващи инфекции, както и при неуспех на консервативната терапия, лечението е хирургично, вариращо от малка интервенция (дебридман) до голяма (резекция, ампутация).

В заключение, диабетното стъпало е трудно за лечение, но може да бъде превантивирано и излекувано при навременна диагноза и адекватно лечение.

Ключови думи:

усложнения при диабет; диабетно стъпало; инфекции при диабетно стъпало; захарен диабет

severe and life-threatening infections, as well as failure of conservative therapy, treatment is surgical, ranging from minor (debridement) to major (resection, amputation).

In conclusion – diabetic foot is difficult to treat, but it can be prevented and healed by on time diagnosis and adequate treatment.

Difficult to treat, but it can be prevented and healed by ontime diagnosis and adequate treatment.

Key words:

diabetes complications; diabetic foot; diabetic foot infections; diabetes

Въведение

Увеличаването на заболяемостта от захарен диабет в световен мащаб неизбежно води и до увеличаване на честотата на усложненията му. Едно от най-тежките и инвалидизиращи усложнения е диабетното стъпало, което понастоящем се разглежда като социално значим проблем. Установено е, че на всеки 30 секунди някъде по света човек губи крайник като следствие на усложнение на диабета (1). В развитите страни годишната честота на новопоявили се улцерации сред пациентите с диабет възлиза на 2%, там диабетът е най-честата причина за нетравматични ампутации. Средно 1% от пациентите с диабет стигат до ампутация на голем крайник (2,3).

Диабетно стъпало представлява всяка инфекция, улцерация или деструкция на тъканите на краката, асоциирана с невропатия и/или периферна артериална недостатъчност на големите крайници при пациенти с диабет (4). В зависимост от етиологията и клиничната картина, язвите при диабетно стъпало се разделят на: невропатни, невро-исхемични и „чисто“ исхемични.

Особено внимание трябва да се обърне върху инфекциите, които често са първопричина за усложнения, налагащи ампутация. Инфекциите при диабетно стъпало са често срещан проблем в клиничната практика. В допълнение, те са една от най-честите причини за хоспитализация на пациентите с диабет в световен мащаб. Инфекциите при диабетно стъпало ста-

ват основната причина за ампутация (5). При адекватно лечение повечето инфектирани лезии могат да бъдат излекувани. За съжаление, много пациенти биват подлагани на ненужна ампутация на голем крайник заради неадекватна диагноза и лечение. Предполага се, че до 85% от ампутациите могат да бъдат избегнати при ефективно лечение (6).

Определение за инфекция

Инфекцията се дефинира като инвазия и размножаване на микроорганизми в тъканите на гостоприемник, което предизвиква възпалителен отговор от негова страна, най-често последван от тъканна деструкция. За инфекция при диабетно стъпало може да се говори, когато се наблюдава гореописаният процес в меките тъкани или костите, дистално от малеолите. Обичайно процесът започва с нарушаване на защитната кожна обвивка в резултат на травма или разязвяване (7).

Епидемиология и рискови фактори

Според проучването EURODIALE 58% от пациентите с новопоявила се язва и посетили специализирано болнично заведение са имали клинично инфектирана рана (8). По подобен начин в едноцентрово американско проучване е установено, че около 56% от пациентите с изявено диабетно стъпало са имали клинични данни за инфекция. Повтарящи се инфекции на същото или

различно място, са наблюдавани при 23% от пациентите (9). Същото проучване показва, че рискът за хоспитализация и ампутация е съответно 56 и 155 пъти по-голям при пациенти с диабет и инфекция на долните крайници спрямо тези с диабет и без данни за инфекция. Повече от половината язви при диабетно стъпало се инфектират (10). Тази обезпокояваща статистика трябва да изостри вниманието на клиницистите към проблема и да подтикне към насочено търсене на признаци за инфекция при всеки пациент с невропатна или невро-исхемична язва. Освен това, ако тя се насложи върху персистираща хронична исхемия, рискът да се развие до некроза е голям. Според повечето класификации, пациентите с инфекция се причисляват към високорисковите за ампутация. Рисковите фактори, които със сигурност се асоциират с развитие на мекотъканна инфекция и дори остеомиелит, включват: язва, пенетрираща до кост /базирано на „позитивен“ или „негативен“ тест за пенетрация до кост, извършен чрез въвеждане на върха на стерилен инструмент в дълбочина на лезията до достигане на костна повърхност (11)/, язва с давност над 30 гена, анамнеза за рецидивиращи инфекции, язва с травматична етиология и периферна артериална недостатъчност на долните крайници, изразяваща се в липсващи периферни пулсации или отношение глезен: рамо (ABI) под 0,9.

Патофизиологични механизми за развитие на инфекция при захарен диабет

Повечето язви при диабетно стъпало са повърхностни при изявата си, но веднъж колонизирани, микроорганизмите могат да инвазират и подлежащите тъкани, включващи фасции, сухожилия, мускули, стави и кости. Анатомията на крака, състояща се от няколко ригидни, но свързани структури, потенцира проксималното разпространение на инфекцията (12). Възпалителният отговор може да предизвика повишено налягане върху капиллярите, последвано от исхемична тъканна некроза (12). Тъй като всяка кожна лезия може да бъде населена от микроорганизми, само наличието им (дори на патогени) не е доказателство за инфекция. Според някои автори наличието на голямо количество бактерии (обичайно >10⁵ колония-формиращи единици на един грам тъкан) е основание за поставяне на диагноза – инфекция (13), но към момента няма убедителни данни, подкрепящи тази теория, включително и при диабетно стъпало (14).

При изолиране на множество микроорганизми, особено от повърхностни язви, трудно може да се определи кои точно са патогените. В повечето центрове, *S. aureus* е най-често изолираният и може би най-вирулентен патоген, съществуващ самостоятелно или в комбинация с други. Различни групи стрептококи (β -хемолитични и други) също са важни патогени. Ентерококите са относително чести изолати, но обикновено имат второстепенно клинично значение (15).

Периферната невропатия (сензорна, но също и моторна и автономна) е основният фактор водещ до възникване на кожни лезии. Тези „отворени рани“ биват колонизирани, обичайно с кожна флора и като краен резултат – инфектирани. Друг важен фактор, касаещ колонизацията и инфекцията е фактът, че бактериите често формират биофилми. Патогените могат да бъдат „свободно плаващи“, но по-често се прикрепват към повърхности и образуват биофилм, т.е. композити от агрегирани клетки, обвити в извънклетъчен матрикс (16). Хроничните язви са идеална среда за развитие на биофилм (17), в повечето случаи полимикробен. Некротичните тъкани и отломките от тъкан позволяват бактериалното захващане и по този начин правят раните податливи на инфекция, чрез осигуряване на защита на микроорганизмите в биофилма, както от имунната система на гостоприемника, така и от антибиотици (18). Бактериите, обитаващи биофилма, притежават значително по-изразена резистентност към антибиотици, в сравнение със „свободните“ бактерии (19). Това до някъде обяснява неуспеха на антибиотичното лечение при хронични рани (16).

При захарен диабет съществуват редица допълнителни патофизиологични механизми, обуславящи по-високата честота на инфекции, включително такива на стъпалото. Според резултатите на колектив от Торонто, съпоставящ здравните застрахователни искове на кохорта от над 500 000 души с диабет с тези на кохорта от пациенти без диабет, е установено, че почти 50% от диабетниците са били хоспитализирани или са имали посещение при лекар по повод инфекция, в сравнение с 38% от кохортата недиабетици (20). Друго 12-месечно кохортно проучване при 7417 диабетници също доказва по-висока честота на пневмонии, уринарни и кожни инфекции (21). Тези данни ясно показват по-високия риск от инфекции при пациентите със захарен диабет. Какво точно става на патофизиологично ниво, не е съвсем изяснено. Изглежда, че хиперглицемията и нейната продължителност повлияват различни нива на имунната система.

Установено е, че при хипергликемия ендотелната дисфункция, водеща до нарушена синтеза на азотен оксид, довежда до вазоконстрикция, съответно хипоксия и нарушено отделяне на медиатори на възпаление от фагоцитите (22). Проинфламаторните фактори като тумор некротичен фактор алфа (TNF- α), интерлевкин (IL) 1- β , IL-6 и IL-18 са повишени при хипергликемия. Техните повишени нива загълбочават инсулиновата резистентност по няколко механизма – намаляване експресията на глюкозните транспортери, увеличаване на липолизата, повишаване нивата на стрес-хормоните от оста хипофиза-надбъбрек. В един порочен кръг повишената инсулинова резистентност поражда хипергликемия, съответно и продукцията на проинфламаторни цитокини (23). Фагоцитите стоят в основата на клетъчно медирания имунитет на тялото. Установено е, че хората с диабет имат нарушена функция на фагоцитите, изразяваща се в нарушен химиотаксис, адхеренция, фагоцитоза и вътреклетъчно елиминиране на микроорганизмите (22). Подозира се също и нарушена функция на Т-лимфоцитите. Наблюдава се гликиране на имуноглобулини G (IgG), което корелира с нивото на гликиран хемоглобин. Изглежда, че гликирането на антиген-свързващия фрагмент (Fab) на IgG нарушава молекулярното разпознаване между анти тяло и антиген (24).

На базата на гореизложените патофизиологични механизми може да е известна степен да се обясни фактът, че симптомите на системно възпаление като повишена температура, левкоцитоза, повишена скорост на утаяване на еритроцитите и повишен C-реактивен протеин не винаги са налице, дори при тежка инфекция. Поради това е уместно търсенето и въвеждането в ежедневната практика на допълнителни, по-чувствителни маркери на възпаление, които биха подобрили диагностичния и терапевтичния процес.

Клинична картина

Пациентите с диабетна невропатия често не усещат или имат намалена чувствителност за болка, което довежда до забавена изява и, съответно, диагноза на инфекцията (25). Трудно е да се дефинират стриктни критерии за инфекция, въпреки това са приети и се употребяват класическите белези и симптоми като хиперемия, оток, болка, зачервяване и нарушена функция на съответния крак. Информативни са и белези като пурулентна секреция, зловонна миризма и трудно зарастване на язвата. На базата на някои клинични и лабораторни белези като оток,

температура, еритем на кожата, болка, секреция, въвлчване в инфекциозния процес на по-гълбоко подлежащи тъкани, сърдечна честота, респираторна честота и левкоцитоза, Международната група за изучаване на диабетно стъпало е разработила класификация, според която една инфекция може да се определи като лека средна или тежка (5) (Табл. 1).

Клиничната диагноза се основава на наличието на поне два от локалните белези на възпаление: еритем, повишена температура (разлика в температурата на двата крайника $> 2^\circ$), болка, повишена чувствителност, оток или пурулентна секреция (26). Други, понякога наричани вторични белези, предполагащи наличието на инфекция, включват: некроза, слаби и обезцветени гранулации, секреция, неприятна миризма и незарастване на раната, въпреки адекватни мерки за лечение (27). Тези данни могат да бъдат полезни, когато локалните и системни инфламаторни белези не са налице заради наличието на периферна невропатия или исхемия (28).

Наличието на исхемия може допълнително да загълбочи и без това неадекватния възпалителен отговор към инфекцията и в същото време да доведе до липса на най-честите клинични белези като еритем и индурация. При пациенти с периферна невропатия, загубили своята термична и болкова чувствителност, липсата на еритем и индурация или оток може да доведе до забавено поставяне на диагноза (9).

Системен отговор (като фебрилитет, студени тръпки), изразена левкоцитоза или тежки метаболитни отклонения са рядкост при инфектирано диабетно стъпало, но наличието им е сигнал за авансиране на възпалителния процес и наличие на потенциално застрашаващо крайника или дори животозастрашаващо състояние. Ако диагнозата и адекватното лечение закъснеят, инфекцията може да прогресира бързо, особено при пациенти с диабетна невропатия (29). Тъй като прогресията на една инфекция може да бъде фатална, клиницистите трябва да поставят диагнозата методично и да действат агресивно (30). Всички язви трябва да бъдат внимателно прегледвани, да се осъществяват палпация и тестване за пенетрация до кост, както при изявата на лезията, така и при всяко нейно проследяване. Различни образни и лабораторни диагностични методи могат да допринесат за определяне степента на мекотъканна и костна ангажираност (5).

Дълбочината на язвата понякога е трудна за определяне, особено в случаите, когато е покритата с калус или некротична тъкан.

Таблица 1. Системите за класифициране и определяне на наличието и тежестта на инфекцията на стъпалото при лица с диабет, разработени от Института по инфекциозни болести в Америка (IDSA) и инфекциозната част от класификацията PEDIS на Международната работна група за изучаване на диабетно стъпало (5).

Table 1. The classification systems for defining the presence and severity of an infection of the foot in a person with diabetes developed by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the infection part of the PEDIS classification of the International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF).

Клинична класификация на инфекциите и дефиниции	IWGDF / IDSA класификация
Неинфектирана: без системни или локални симптоми или белези на инфекцията	1 (неинфектирана)
Инфектирана: - Поне два от следните белези са налице: <ul style="list-style-type: none"> • Локален оток или индурация • Еритем > 0,5 см* около раната • Локална повишена чувствителност или болка • Локална повишена температура • Гнойна секреция - Трябва да се изключат други причини за възпаление на кожата (травма, подагра, остра невро-остеоартропатия на Шарко, фрактура, тромбоза, венозна стаза) - Инфекция, ангажираща само кожата или подкожната тъкан (без да ангажира на по-дълбоките тъкани и без системна изява като описаната по-долу). - Всеки еритем, разпростиращ се на < 2 см* около язвата – без системни белези и симптоми на инфекцията	2 (лека инфекция)
- Инфекция, ангажираща структури по-дълбоко разположени от кожата и подкожната тъкан (кост, става, сухожилие, мускул) или еритем разпростиращ се >2 см* от ръба на язвата. - Без системни белези или симптоми на инфекцията	3 (Средно-тежка инфекция)
- Всяка инфекция на долен крайник със системен възпалителен отговор (SIRS), изявен с ≥ 2 от следните изяви: <ul style="list-style-type: none"> • Температура $>38^{\circ}\text{C}$ или $<36^{\circ}\text{C}$ • Сърдечна честота > 90 у/мин • Респираторна честота > 20 вдишвания/мин или $\text{PaCO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$ (32 mmHg) • Лейкоцити $>12,000$ или $<4,000/\text{mm}^3$, или $> 10\%$ незрели форми 	4 (Тежка инфекция)

Бележка: * Във всяка посока от ръба на язвата; Наличието на клинично значима исхемия на крайника прави диагнозата и лечението значително по-трудни.

За да се даде адекватна оценка, трябва да се осъществи навременен хирургичен дебридман на невропатните язви. Тази хирургична обработка би трябвало да се избягва при неинфектирани язви с белези на тежка исхемия. Обикновено при невропатните язви дебридман може да се осъществи без необходимост от локална анестезия (15).

Диагноза на инфекции при диабетно стъпало

Лабораторна диагностика

Въпреки че инфекциите при диабетно стъпало се диагностицират основно клинично, провеждането на стандартните изследвания за метаболитни отклонения е загължително. Биохимични изследвания като серумен креатинин, урея и изчислена гломерулна филтрация трябва да се вземат под внимание за подбор и дозиране на антимикробното лечение. За съжаление, няма кръвно изследване, което дефинитивно да постави диагноза инфекция. Повишени маркери на възпаление, в частност скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ), са в подкрепа на диагнозата, особено в случаите с остеомиелит. И все пак, те не са категорично доказателство за инфекция (31). Левкоцитозата не се докладва като надежден показател, дори в случаите с остеомиелит. В ретроспективно проучване при пациенти, хоспитализирани с остра инфекция и остеомиелит, левкоцитоза не е наблюдавана при приблизително половината от пациентите с остеомиелит (32).

Диагностично по-полезният показател, особено при остеомиелит е СУЕ. Стойност на СУЕ > 70 mm/h увеличава вероятността за остеомиелит (33).

Плазмените нива на С-реактивен протеин (CRP) и прокалцитонин много точно разграничават клинично неинфектирани язви от тези с лека или умерена инфекция и могат да бъдат предиктори за наличието на остеомиелит, но все пак трябва да се използват само като подкрепящи диагностични данни (34).

С-реактивен протеин (CRP) е важен диагностичен маркер на възпаление, утвърдил се в ежедневната практика и изследван рутинно при възпалителни процеси, включително и диабетно стъпало. CRP е острофазов белтък, цикличен пентамерен протеин, синтезиран в черния дроб, най-често в отговор на повишено ниво на IL-6. Нивото му се повишава не само в отговор на бактериална инфекция, но и в резултат на останалите видове възпаление (35). Свързва се с полизахаридите на патогените, като по този начин активира класическия път на системата на комплемента. Неговата способност да разпознава патогени и да медуира тяхната елиминация чрез активиране на системата на комплемента и фагоцитите го прави важен елемент от защитата на първа линия на организма. Допълнително, протеинът играе роля в елиминирането на клетките в процес на апоптоза и некроза, като по този начин допринася за възстановяване

функцията на органите (36).

Прокалцитонин е прекурсор на активния хормон калцитонин. Откакто е установено повишеното му ниво при пациенти с бактериални инфекции, прокалцитонинът се е утвърдил като важен маркер за откриването и диференциалната диагноза на възпалителните състояния (37). В организма класическата роля на калцитонина е свързана с калциево-фосфорната обмяна и нормализирането на калциевото ниво в случаи на хиперкалциемия. Синтезира се от С-клетките на щитовидната жлеза под влияние на повишаващите се калциеви нива от прекурсорната молекула прокалцитонин. При здрави прокалцитонин циркулира в плазмата в много малки количества – под 0,05 ng/ml (38). Прокалцитонинът, резултат от бактериална инвазия, не се синтезира от парафоликуларните С-клетки на щитовидната жлеза. Точният механизъм не е напълно ясен. Предполага се, че като цитокин той се произвежда от невроендокринните клетки на белия дроб и червата, както и от редица паренхимни клетки на черния дроб, бъбреците, моноцити, но не и левкоцити. При бактериална инвазия елементи на бактериалната клетъчна стена, както и техни ендо- и екзотоксини действат като мощен стимул за увеличаване производството и освобождаването му в кръвта. Нивото на прокалцитонин се покачва още на 3-4^ч час след бактериална инфекция, достига пик около 6-тия час и плато за над 24 часа. За разлика от това, CRP достига пикова концентрация след 12 до 18 часа. Важно е да се отбележи, че нивото на прокалцитонин се повишава селективно само при бактериални инфекции (37). Чрез въвеждането му в ежедневната практика може да се предотврати ненужното предписване на антибиотици и да се ограничи антибиотичната свръхупотреба и развитие на резистентност. Понастоящем прокалцитонин се смята за един от най-ранните и специфични маркери за сепсис. Серийните му измервания могат да служат за мониториране на лечението на бактериалните инфекции и оценка на хода на болестта. Според едно проучване, сравняващо прокалцитонин с традиционните маркери на възпаление, при пациенти с диабетно стъпало е доказано, че прокалцитонин има по-висока чувствителност и специфичност спрямо останалите маркери (39).

Нивата на прокалцитонин са повишени освен при инфектирано диабетно стъпало и при други системни бактериални инфекции. Поради това, при повишени нива на прокалцитонин, е уместно да се обмисли наличието и на други съпътстващи инфекциозни заболявания (40).

Микробиологично изследване

При клинично инфектираните язви е необходимо да се проведе микробиологично изследване на тъканна проба (по възможност оцветяване по Грам). Леките (повърхностни и ограничени) инфекции най-често са причинени от аеробни, Грам (+) коки, в частност *Staphylococcus aureus*. Хроничните и по-тежки инфекции често са полимикробни, с аеробни Грам (-) пръчици и анаероби, в комбинация с Грам (+) коки (15).

Микробиологичното изследване има за цел да идентифицира патогените и чувствителността им към антибиотици, което да позволи адекватен подбор на антимикробна терапия. Острите инфекции при нелекувани пациенти обичайно са предизвикани от аеробни Грам (+) коки (често мономикробна инфекция), но дълбоките или хронични рани често са заселени с полимикробна флора, включваща аеробни Грам (-) и облигатни анаероби. Кожни заболявания, фактори на околната среда и много често наскорошно антибиотично лечение могат да изиграят роля за развитие на необичайни или антибиотик-резистентни патогени.

Микробиологичното изследване е полезно при повечето инфекции при диабетно стъпало, но е трудно за провеждане в случаите с възпаление на меките тъкани без улцерация и не е необходимо при клинично неинфектирани язви. Изключение прави изследването на неинфектирани рани с цел търсене и доказване на колонизация с високо резистентни микроорганизми. Хемокултури са показани само при тежки инфекции, при които има признаци на системни прояви на сепсис (41). Когато се подозира остеомиелит ключовото решение е кога да се вземе костна проба за микробиология и хистопатология. Препоръчва се да се вземат проби за микробиологично изследване възможно най-бързо, но при пациенти, при които вече се провежда антибиотично лечение, е желателно то да бъде прекъснато (ако състоянието позволява) и да се изчака няколко дни преди вземането на пробата, за да се избегнат фалшиво-негативни резултати.

Повтаряне на изследването често не се налага, освен при липса на клинично подобрение в резултат от лечението или при съмнение за контаминация на първата проба (5). Въпреки че пробите взети от открити рани са лесни за изпълнение, няколко изследвания ясно показват, че културите, изолирани от тях, са по-малко чувствителни и специфични от тъканните проби. Асептично получените дълбоки тъканни проби обикновено съдържат само реалните патогени,

докато културите от повърхностни проби, често съдържат смес от патогени, колонизиращи организма микроорганизми и замърсители, както и често се пропускат факултативните и анаеробни микроорганизми (42). Кюретаж на гъното на язвата, пълно-биопсия или аспирация на секрет дават по-акуратни резултати спрямо микробиологията взета с тампон. Ако все пак вземането на проба с тампон е единствения възможен метод, то тя трябва да бъде взета само след дебридман и почистване на язвата (43).

Според едно проучване, изолирането на мултирезистентни щамове се свързва с по-голяма давност и размер на язвата (44).

Полезни, но по-малко застъпени в ежедневната практика са полимеразната верижна реакция (PCR) и real-time PCR. Тези технологии понастоящем са сравнително по-сложни от микробиологичните тестове, но тяхната чувствителност и специфичност са значително по-високи и могат да дадат резултати в рамките на часове (45).

Костна биопсия

Вземането на костен материал за изследване може да осигури хистопатологично и микробиологично доказателство за остеомиелит. Костната биопсия може да помогне за идентифициране на патогените и тяхната чувствителност към антибиотици (34).

Образни изследвания

Провеждане на образни изследвания не е необходимо при всеки пациент с инфекция. Рентгенографията е полезна за откриване на остеомиелит, чужди тела или газ в меките тъкани (46). В диференциално-диагностичен план костните изменения при остеомиелит могат да бъдат неразличими от картината, наблюдавана при стъпало на Шарко, 2 до 4 седмици след лечение (47). Когато обикновената рентгенография е „отрицателна“, но клинично се подозира наличие на остеомиелит, трябва да се пристъпи към по-детайлни изследвания като ядрено магнитен резонанс или радионуклидно сканиране (48).

Лечение на инфекции при диабетно стъпало

Антибиотично лечение

Препоръчва се избягване на антибиотично лечение при неинфектирани рани (49). При някои обстоятелства е трудно да се прецени дали една хронична язва е инфектирана, особено ако има насложена исхемия, ненормална оцветка на

Таблица 2. Препоръчителни емпирични режими на лечение (5).

Table 2. Recommended empirical treatment regimens.

Цефалоспорици	Cephalexin – перорално; Cefoxitin, Ceftizoxime, Ceftibiprole, Ceftriaxone – парентерално
Пеницилин/бета-лактамазен инхибитор	Amoxicillin/Clavulanate-перорално; Ampicillin/Sulbactam, Piperacillin/Tazobactam, Ticarcillin/Clavulanate – парентерално
Карбапенеми	Imipenem/Cilastatin и Ertapenem – парентерално
Флуорхинолони	Ciprofloxacin, Levofloxacin и Moxifloxacin, всичките могат да бъдат прилагани перорално и парентерално
Други	Clindamycin (перорално и парентерално); Linezolid (перорално и парентерално); Daptomycin (парентерално); Tigecycline (парентерално) и Vancomycin (парентерално)

кожата, неприятна миризма, слаби и ронливи granulации, неочаквана болка или слабост или при липса на отговор на адекватно провеждано лечение. В тези комплицирани ситуации кратък курс насочена антибиотична терапия може да се окаже уместен (50). Изборът на антибиотичен режим от начало изисква да се вземе решение за начина на приложение, спектъра на микроорганизмите, които трябва да бъдат обхванати, а по-късно избор на дефинитивен режим и продължителност на лечение. Първоначалната терапия обикновено е емпирична и трябва да се основава на тежестта на инфекцията и на наличните микробиологични данни. При тежки и хронични инфекции, както и при умерени инфекции е най-безопасно да се започне терапия с широкоспектрни агенти. Те трябва да имат активност срещу грам-положителни коки (включително MRSA - Methicillin - резистентен Staphylococcus aureus, на места, където този патоген е често срещан), както и грам-отрицателни и облигатни анаероби. За да се осигури адекватно и бързо натрупване на необходимата тъканна концентрация, терапията трябва да се приложи парентерално, поне в началото на лечението (49). Въпреки че някои автори предполагат широкоспектрна емпирична терапия за повечето инфекции, повечето леки и много умерени инфекции могат да бъдат лекувани с антимикробни агенти със сравнително тесен спектър, като например тези, които покриват само аеробни Грам (+) коки (51). Въпреки че анаеробни организми са изолирани при много тежки инфекции, те са редки. При леките до умерените инфекции почти липсват доказателства в подкрепа на необходимостта от антианаеробна терапия (52). (Табл. 2, Табл. 3).

Оптималната продължителност на антибиотичната терапия не е добре документирана. За леки до умерени инфекции, 1-2-седмичен курс обикновено е ефективен, докато при по-тежки инфекции се препоръчва 3-седмичен курс на лечение (15). По-продължително лечение може да се наложи при имунокомпроментирани пациенти, язви със слаба перфузия, такива с голяма дълбочина и размер, при остеомиелит или при пациенти с имплантирано чуждо тяло в мястото на инфекцията (34).

След успешно лечение на инфекция при диабетно стъпало, възникване на следващ епизод на такава е твърде вероятен. История за вече преживяна инфекция на язва не е надежден предиктивен маркер за изолване на резистентен към антибиотик микроорганизъм. Поради това, според някои автори, не се налага разширяване спектъра на емпиричната антибиотична терапия за повтарящи се епизоди на инфекции при диабетно стъпало (53).

Хирургично лечение

Хирургична намеса трябва да се обмисли рано при пациенти със средна по тежест или тежка инфекция. Тя може да варира от дебридман на некротични тъкани, дренаж на абсцес, отваряне на инфектираните структури до голяма ампутация. Инфектираните тъкани, усложнени с газ-гангрена, абсцес и некротизиращ фасциит изискват спешна хирургична намеса (54). Обширна гангрена, продължителен неуспешен курс на лечение, животозастрашаваща инфекция на меките тъкани и обширен остеомиелит са индикации за ампутация на долен крайник. Когато ампутацията е належаща, се цели тя да бъде макси-

Таблица 3. Емпирично антимикробно лечение на инфекции при диабетно стъпало (25)

Table 3. Empirical antimicrobial treatment of diabetic foot infections

Тежест	Приложение	Антибиотик на първа линия	Антибиотик първа линия при пеницилинова алергия	Алтернативи при алергия или непоносимост	Продължителност
Лека	per os	Flucloxacillin 1g (на 6 ч.)	Дохусуcline 200 mg (на 24 ч.)	Clindamycin 300 mg (на 6 ч.)	14 дни
Средна	per os или i v	Flucloxacillin 1g (на 6 ч.) и Ciprofloxacin 500 mg (на 12 ч.) и Metronidazole 400 mg (на 8 ч.) След консултация с микробиолог Ertapenem 1g (на 24 ч.) и Teicoplanin 400 mg (на 12 ч.) за 1 ден, последван от 600 mg (на 24 ч.)	Дохусуcline 200 mg (на 24 ч.) и Ciprofloxacin 500 mg (на 12 ч.) и Metronidazole 400 mg (на 8 ч.) Да се обсъди с микробиолог	Linezolid 600 mg (на 12 ч.) и Ciprofloxacin 500 mg (на 12 ч.) и Metronidazole 400 mg (на 8 ч.) Да се обсъди с микробиолог	Вариабилна 14 дни Да се проследи на 1-вата седмица за резултат. При хоспитализирани и изписани пациенти – не повече от 14 дни след микробиология
Тежка	i v	Tazocin 4,5 g (на 8 ч.) и Vancomycin 1 g (на 12 ч.) Консултация с хирург при необходимост	Meropenem 500 mg (на 6 ч.) и Vancomycin 1g (на 12 ч.) Консултация с хирург при необходимост	Да се обсъди с микробиолог	Вариабилна 14 дни и периодично проследяване от специалист Ако се налага продължително лечение (над 14 дни) да с проведе микробиология.

мално дистална, така че да осигури както оздравяване, така и съхраняване функцията на крайника. По-гратични ампутации би трябвало да се избягват, освен ако крайникът е нежизнеспособен, функционално безполезен или засегнат от живото-застрашаваща инфекция (газ-гангрена или некротизиращ фасциит) (55).

Други видове лечение

Терапия с ларви, гранулоцитен колония-стимулиращ фактор и хипербарна оксигенация също са прилагани за лечение на инфектирано диабетно стъпало, но не се препоръчват за рутинно употреба поради недостатъчни доказателства за ефективност (56). Лечението на инфекциите при диабетно стъпало цели унищожаване на клиничните доказателства за инфекция и избягване

загуба на меки тъкани и ампутация (49).

В заключение, може да се каже, че диабетното стъпало е трудно за лечение, но може да бъде превантирано и излекувано при навременна диагноза и адекватно лечение (57). Проблемите на долните крайници са източник на големи страдания и разходи за пациента, и също така поставят значителна финансова тежест върху здравните грижи и обществото като цяло (15). Диабетното стъпало представлява сериозно усложнение на захарния диабет, свързано със значими медицински, социални и икономически последици. Основно значение за намаляване на честотата му, както при всички усложнения на захарния диабет, има превенцията, а при наличие на вече развито диабетно стъпало – навременното и комплексно лечение, включващо консервативни и хирургични методи.

1. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. *Lancet* 2005; 366(9498): 1719-1724.
2. Lazzarini PA, Hum SE, Fernando ME, Jen SD, Kuys SS, Kamp MC, et al. Prevalence of foot disease and risk factors in general inpatient populations: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2015; 5(11): e008544.
3. Bobirc F, Mihalache O, Georgescu D, Prtraecu T. The New Prognostic-Therapeutic Index for Diabetic Foot Surgery - Extended Analysis. *Diabetologia* 2016; 111(2): 151-155.
4. Bus SA, Netten JJ, Lavery LA, Monteiro-Soares M, Rasmussen A, Jubiz Y et al. Definitions and criteria for diabetic foot. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2016; 32(1): 186-194
5. Bus SA, van Netten JJ, Lavery LA, Monteiro-Soares M, Rasmussen A, Jubiz Y et al. IWGDF Guidance on the prevention of foot ulcers in at-risk patients with diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016;32 (1): 16-24.
6. Pecoraro RE, Reiber GE, Burgess EM. Pathways to diabetic limb amputation: Basis for prevention. *Diabetes Care* 1990; 13(5): 513-521.
7. Peters EJG, Lipsky BA. Diagnosis and management of infection in the diabetic foot. *Med Clin North Am* 2013; 97(5): 912-946.
8. Prompers L, Schaper N, Apelqvist J, Edmonds M, Jude E, Mauricio D, et al. Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: Focus on the differences between individuals with and without peripheral arterial disease. *The EURODIALE Study. Diabetologia* 2008; 51(5): 747-755.
9. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Mohler MJ, Wendel CS, Lipsky BA. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29(6):1288-1293.
10. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude E, Piaggese A, Bakker K, et al. High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. *Diabetologia* 2007; 50(1): 18-25.
11. Aragon-Sánchez J, Lipsky BA, Lózar-Martínez JL. Diagnosing diabetic foot osteomyelitis: Is the combination of probe-to-bone test and plain radiography sufficient for high-risk inpatients? *Diabet Med* 2011; 28(2):191-194.
12. Maharaj D, Bahadursingh S, Shah D, Chang BB, Darling RC. Sepsis and the scalpel: Anatomic compartments and the diabetic foot. *Vasc Endovascular Surg* 2005; 39(5): 421-423.
13. Manuscript A, Load M. NIH Public Access. *Biol Res* 2010;11(2):119-128.
14. Kallstrom G. Are quantitative bacterial wound cultures useful? *J Clin Microbiol* 2014; 52(8): 2753-2760.
15. Bakker K, Apelqvist J, Lipsky BA, Van Netten JJ. The 2015 IWGDF Guidance documents on prevention and management of foot problems in diabetes: development of an evidence-based global consensus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016 Jan; 32(1): 2-6.
16. Zhao G, Usui ML, Lippman SI, James GA, Stewart PS, Fleckman P, et al. Biofilms and Inflammation in Chronic Wounds. *Adv Wound Care [Internet]* 2013; 2(7): 389-399. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/wound.2012.0381>
17. Vatan A, Saltoglu N, Yemisen M, Balkan II, Surme S, Demiray T, et al. Association between biofilm and multi/extensive drug resistance in diabetic foot infection. *Int J Clin Pract [Internet]* 2018; (August 2017):e13060. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29381248%0Ahttp://doi.wiley.com/10.1111/ijcp.13060>
18. Wolcott RD, Rhoads DD, Dowd SE. Biofilms and chronic wound inflammation. *J Wound Care* 2008; 17(8): 333-341.
19. Pichu S, Patel BM, Apparsundaram S, Goyal RK. Role of biomarkers in predicting diabetes complications with special reference to diabetic foot ulcers. *Biomark Med*. 2017; 11(4): 377-388.
20. Shah BR, Hux JE. Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(2): 510-513.
21. Muller LM, Gorter KJ, Hak E, Goudzwaard WL, Schellevis FG, Hoepelman IM, et al. Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis [Internet]* 2005; 41(3): 281-288. Available from: http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2s2.0254447848_9&partnerID=40&md5=316b664025fe7538a547e07550e6612.
22. Kim SH, Park KW, Kim YS, Oh S, Chae IH, Kim HS, et al. Effects of acute hyperglycemia on endothelium-dependent vasodilation in patients with diabetes mellitus or impaired glucose metabolism. *Endothelium* 2003; 10(1062-3329 (Print)): 65-70.
23. Joshi MB, Lad A, Bharath Prasad AS, Balakrishnan A, Ramachandra L, Satyamoorthy K. High glucose modulates IL-6 mediated immune homeostasis through impeding neutrophil extracellular trap formation. *FEBS Lett [Internet]* 2013; 587(14): 2241-2246. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2013.05.053>.
24. Lapolla A, Tonani R, Fedele D, Garboglio M, Senesi A, Seraglia R, et al. Non-enzymatic glycation of IgG: An in vivo study. *Horm Metab Res* 2002; 34(5): 260-264.
25. Committee G, Kong M. Antimicrobial Guidelines for the Empirical Management of Diabetic Foot Infections. *UHL Policies and Guidelines Committee* 2013; 1: 1-5.
26. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJG, Armstrong DG, et al. 2012 infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012; 54(12): 73-132.
27. Cutting KF, White R. Defined and refined: criteria for identifying wound infection revisited. *Br J Community Nurs* 2004; 9: 6-15.
28. Armstrong DG, Perales T, Murff RT, Edelson GW, Welchon JG. Value of white blood cell count with differential in the acute diabetic foot infection. *J Am Podiatr Med Assoc [Internet]* 1996; 86(5): 224-227. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8776158>.
29. Lavery LA, Armstrong DG, Murdoch DP, Peters EJG, Lipsky BA. Validation of the Infectious Diseases Society of America's Diabetic Foot Infection Classification System. *Clin Infect Dis [Internet]* 2007; 44(4): 562-565. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/511036>.
30. Aragon-Sanchez J, Lazaro-Martinez JL, Pulido-Duque J, Maynar M. From the diabetic foot ulcer and beyond: how do foot infections spread in patients with diabetes? *Diabet Foot Ankle* 2012; 3(0): 1-7.
31. Lavety LA, Armstrong DG, Quebedeaux TL, Walker SC, Antonio S. Puncture Wounds?: Normal Laboratory Values in the Face of Severe Infection in Diabetics and Non-Diabetics. *Am J Med*. 1996; 101(5): 521-525.
32. Armstrong DG, Lavery LA. Leukocytosis is a Poor Indicator of Acute Osteomyelitis of the Foot in Diabetes. *J Foot Ankle Surg [Internet]* 1996; 35(4): 280-283.
33. Butalia S, Palda VA, Sargeant RJ, Detsky SA, Mourad O. Does This Patient With Diabetes Have Osteomyelitis of the Lower Extremity? *JAMA*. 2013; 299(7): 806-813.
34. Grigoriopoulou P, Eleftheriadou I, Jude EB, Tentolouris N. Diabetic Foot Infections?: an Update in Diagnosis and Management. *Curr Diab Rep [Internet]* 2017; 17(3): 1-12
35. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3): 363-369.
36. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*. 2001; 38(2): 189-197.
37. Maruna P, Nedeljkovic K, Grljic R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol. Res*. 2000; 49: 57-61.
38. Miteva D, Radkov Y, Ivanova L, Chervenkov T, Kostadinova V. Role of procalcitonin in the diagnosis and prognosis of community-acquired pneumonia. *Thoracic medicine* 2016; 8(2): 38-47. (Митева Д, Рагков Й, Иванова Л, Червенков Т, Костадинова В. Роля на прокалцитонин в диагностиката и прогнозата на пневмония придобита в обществото. *Торакална медицина* 2016; 8(2): 38-47) (In Bulgarian).
39. Umapathy D, Dornadula S, Rajagopalan A, Murthy N, Mariappanadar V, Kesavan R, et al. Potential of circulatory procalcitonin as a biomarker reflecting inflammation among South Indian diabetic foot ulcers. *J Vasc Surg [Internet]* 2017; 7: 1-12

40. **Park JH, Suh DH, Kim HJ, Lee YI, Kwak IH, Choi GW.** Role of procalcitonin in infected diabetic foot ulcer. *Diabetes Res Clin Pract [Internet]* 2017; 128: 51-57.
41. **Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJJ, Armstrong DG, et al.** Executive summary: 2012 infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012; 54(12): 1679-1684.
42. **Pellizzer G, Strazzabosco M, Presi S, Furlan F, Lora L, Benedetti P, et al.** Deep tissue biopsy vs. superficial swab culture monitoring in the microbiological assessment of limb-threatening diabetic foot infection. *Diabet Med* 2001; 18(10): 822-827.
43. **Andrea Nelson E, Backhouse MR, Bhogal MS, Wright-Hughes A, Lipsky BA, Nixon J, et al.** Concordance in diabetic foot ulcer infection. *BMJ Open* 2013; 3(1): 1-8.
44. **Noor S, Borse AG, Ozair M, Raghav A, Parwez I, Ahmad J.** Inflammatory markers as risk factors for infection with multidrug-resistant microbes in diabetic foot subjects. *Foot [Internet]*. 2017; 32: 44-48.
45. **Lavigne J-P, Sotto A, Dunyach-Remy C, Lipsky BA.** New Molecular Techniques to Study the Skin Microbiota of Diabetic Foot Ulcers. *Adv Wound Care [Internet]* 2015; 4(1): 38-49.
46. **Bader MS.** Diabetic foot infection. *Am Fam Physician* 2008; 78(1): 9-71.
47. **Pineda C, Vargas A, Rodriguez AV.** Imaging of Osteomyelitis: Current Concepts. *Infect Dis Clin North Am* 2006; 20(4): 789-825.
48. **Kapoor A, Page S, LaValley M, Gale DR, Felson DT.** Magnetic resonance imaging for diagnosing foot osteomyelitis: A meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007; 167(2): 125-132.
49. **Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW et al.** Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 885-910.
50. **Schultz GS, Sibbald RG, Falanga V, Ayello EA, Dowsett C, Harding K, et al.** Wound bed preparation: A systematic approach to wound management. *Wound Repair Regen* 2003; 11 (1): 1-28.
51. **Lipsky BA, Pecoraro RE, Larson SA, Hanley ME, Ahroni JH.** Outpatient management of uncomplicated lower-extremity infections in diabetic patients. *Arch Intern Med* 1990; 150(4): 790-797.
52. **Lipsky BA.** Evidence-based antibiotic therapy of diabetic foot infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1999; 26: 267-276
53. **Lebowitz D, Gariani K, Kressmann B, Dach E von, Huttner B, Bartolone P, et al.** Are antibiotic-resistant pathogens more common in subsequent episodes of diabetic foot infection? *Int J Infect Dis [Internet]* 2017; 59: 61-64.
54. **Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJJ, Armstrong DG, et al.** 2012 infectious diseases society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012; 54(12): 132-173.
55. **Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, et al.** Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(7): 212-238.
56. **Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, et al.** Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Plast Reconstr Surg [Internet]* 2006; 117(7): 212-238.
57. **Xu Z, Ran X.** Diabetic foot care in China: Challenges and strategy. *Lancet Diabetes Endocrinol [Internet]* 2016; 4(4): 297-298.

Address for correspondence:

Ани Стефанова Тодорова,

Клиника по Диабетология, Клиничен център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ), Медицински университет, София
Ул. „Здраве“ 2, София 1431, България
email: annie_todorova@icloud.com

Ani Stefanova Todorova

Department of Diabetology, Clinical Centre of Endocrinology and Gerontology, MU, Sofia
Zdrave str. № 2, Sofia 1431, Bulgaria
email: annie_todorova@icloud.com

Затлъстяване и кардио-метаболически риск при захарен диабет тип 1 – съвременни аспекти и терапевтични възможности

Сердарова, Мина С.

Клиника по Диабетология, Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ), Медицински университет, София

Obesity and Cardio-Metabolic Risk in Type 1 Diabetes – Modern Aspects and Therapeutic Opportunities

Serdarova, Mina S.

Department of Diabetology, Clinical Centre of Endocrinology and Gerontology (CCEG), Medical University, Sofia

Резюме

Захарен диабет тип 1 е аутоимунно заболяване, за което данните от големите епидемиологични проучвания и национални регистри в последните години показват ръст в заболяемостта. Наред с това се задълбочава пандемията от затлъстяване в световен мащаб, която засяга както общата популация, така и различни субпопулации, включително пациентите със захарен диабет тип 1. Наблюдава се трайна тенденция към прогресивно покачване на процента на наднормено тегло и затлъстяване и на метаболически синдром при пациенти със захарен диабет тип 1, като честотата е висока още към момента на диагностициране на заболяването и нараства с възрастта. Като основен подлежащ патогенетичен механизъм се приема наличието на инсулинова резистентност, във връзка с което е въведено понятието двоен диабет – съчетание от захарен диабет тип 1 и захарен диабет тип 2. Други вероятни причини за затлъстяване при тази група пациенти са приложението на екзоген инсулин, прекомерният прием на бързорезорбиращи се въглехидрати за овладяване на хипогликемиите и в рамките на гъвкавия инсулинов режим с инсулинови аналози, съвременният стил на живот с консумация на нездравословна висококалорийна храна и намалена физическа активност. Комбинацията от захарен

Abstract

Type 1 diabetes is an autoimmune disease for which major epidemiologic studies and national registries in recent years have provided data showing an increase in morbidity. Furthermore, the obesity pandemic, which affects both the general population and different subpopulations including patients with type 1 diabetes, is becoming a growing problem worldwide. There is a sustained trend towards a progressively increasing prevalence of overweight, obesity and metabolic syndrome in patients with type 1 diabetes and the incidence is high even at the onset of diabetes and increases with age. It is assumed that the main underlying pathogenic mechanism is the presence of insulin resistance, hence the concept of „double diabetes“ has been introduced – a combination of type 1 and type 2 diabetes. Other possible causes of obesity in this group of patients are exogenous insulin administration, overconsumption of fast absorbing carbohydrates in order to control hypoglycemia and, within a flexible insulin regimen with insulin analogues, modern lifestyle with consumption of unhealthy high caloric food and physical inactivity. The combination of type 1 diabetes mellitus and obesity in one and the same individual is of particular scientific interest given

диабет тип 1 и затлъстяване при един и същи индивид е от особен научен интерес предвид неблагоприятния кардио-метаболически профил, свързан с повишен сърдечно-съдов риск при тези пациенти. В ход са различни клинични проучвания, насочени към търсене на допълнителна терапия към инсулиновото лечение при аутоимунен захарен диабет, с които да се постигне достатъчно стабилен гликемичен контрол при липса на негативен ефект върху телесното тегло.

Към утвърдените терапевтични средства, като напр. метформин, в комбинация с промяна в стила на живот, има данни за благоприятни ефекти и при приложение на GLP-1 рецепторни агонисти и SGLT2 инхибитори, но за сметка на неблагоприятни странични ефекти.

Ключови думи:

захарен диабет тип 1, инсулинова резистентност, двоен диабет, затлъстяване, кардио-метаболически риск

Въведение

Захарният диабет е метаболитно заболяване с хронично-прогресиращ ход, което се характеризира с хипергликемия на базата на инсулинов дефицит и/или инсулинова резистентност. Подлежащият патогенетичен дефект при захарен диабет тип 1 е абсолютният инсулинов дефицит, който при 90% от случаите се дължи на аутоимунен процес, и в около 10% от случаите е идиопатичен (1).

Към настоящия момент в литературата широко се дискутира въпросът съществува ли проблемът затлъстяване при пациентите със захарен диабет тип 1, съществува ли причинно-следствена връзка между двете състояния, какви са основните рискови фактори за затлъстяване и какви са основните рискове от наличието на затлъстяване; както и с какви терапевтични средства разполагаме при тази група пациенти.

Епидемиология

Пандемията захарен диабет продължава да нараства в световен мащаб. В подкрепа на това са данните от последното издание на Атласа на Международната Диабетна Федерация, според което хората със захарен диабет към 2017 г. са почти 425 млн. в света и се очаква тази цифра

the adverse cardio-metabolic profile associated with increased cardiovascular risk in these patients. Various clinical studies are currently underway and seek adjunctive therapy to insulin treatment in autoimmune diabetes mellitus, by means of which to achieve stable glycemic control in the absence of a negative effect on body weight. In addition to the established therapeutic agents, such as metformin in combination with lifestyle modifications, there is evidence of beneficial effects when administering GLP-1 receptor agonists and SGLT2 inhibitors but at the expense of unfavorable side effects.

Key words:

type 1 diabetes, insulin resistance, double diabetes, obesity, cardio-metabolic risk

прогресивно да нараства до 629 млн. през 2045 г., или честотата да се покачи от 8,8% на 9,9%. Честота на захарен диабет тип 1 варира в различните региони в диапазона 7-12% от всички случаи на диабет, като се регистрират над 130 хиляди нови случая годишно. Захарният диабет е сред 10-те основни причини за преждевременна смърт и заедно със сърдечно-съдовите, респираторните заболявания и злокачествените заболявания е отговорен за около 80% от тази смъртност (2).

От друга страна, големите епидемиологични проучвания и национални регистри отчитат висока честота на наднормено тегло и затлъстяване при захарен диабет тип 1 – до 50%, и до 40% на оформен метаболитен синдром (3,4). Данните при деца в САЩ от регистъра T1D Exchange Clinic Registry, който обхваща популация от 5 529 деца със ЗД тип 1, показват честота на наднормено тегло 23%, и на затлъстяване – 13% (5, 6), като тенденцията е за прогресивно нарастване на този процент (7). Друг Европейски регистър (German/Austrian DPV Registry), анализиращ 12 774 деца със ЗД тип 1, докладва честота на наднормено тегло 13%, и на затлъстяване – 3% (8). Честотата на наднормено тегло и затлъстяване е висока още към момента на диагностициране на захарен диабет тип 1, като варира в диапазона 8-21% (9, 10), а според анализ на база данни на медицинска документация на кли-

ницисти за американска популация, обхващаща периода 2009-2011 година, тази цифра е 48% (11). Епидемиологичните данни са сходни и при възрастната популация пациенти със захарен диабет тип 1, като при млади възрастни честотата на наднормено тегло и затлъстяване варира според различните проучвания между 13-33% (12-15), докато във възрастовата група над 60 години достига до 35% (16).

Освен че данните са категорични в насока пандемията от затлъстяване, както в общата популация, така и в специфични субпопулации, включително при пациентите със захарен диабет тип 1, големи проспективни проучвания показват задълбочаване на този проблем и трайна тенденция към прогресивно покачване на процента на затлъстяване при захарен диабет тип 1. В проучването Pittsburgh EDC, обхващащо 20-годишен период (1987-2007), се установява увеличаване на наднорменото телесно тегло с 47% и 7-кратно покачване на процента на затлъстяване при тези пациенти (17). Друго проучване със 6-годишно проследяване също потвърждава тази тенденция, като демонстрира покачване на процента на наднормено тегло от 7,9 на 15,6%, и на затлъстяване – от 3 на 6,5% (18). Честотата на затлъстяването нараства и с напредване на възрастта (19).

Патогенеза

Смята се, че основният патогенетичен механизъм за патологично покачване на телесно тегло при захарен диабет тип 1 е наличието на инсулинова резистентност. Посредством използване на хиперинсулинемична еугликемична кламп техника, която се приема за златен стандарт за оценка на инсулинова чувствителност, редица проучвания доказват наличие на инсулинова резистентност при пациенти със захарен диабет тип 1 при сравнение със съответни по възраст, пол и индекс на телесна маса здрави контроли (20-24). Още през 1991 г. Теуре и сътр. въвеждат понятието двоен диабет, дефинирано като съчетание от захарен диабет тип 1 и захарен диабет тип 2 при един и същи индивид (25). Като основен механизъм за развитие на двоен диабет се посочва наличието на инсулинова резистентност, резултат от комбинация на различни рискови фактори при тези пациенти – наличие на захарен диабет тип 1, фамилност за захарен диабет тип 2 и стил на живот (26). Според данните от регистъра Diabetes-Verlaufs-Dokumentation Registry, анализиращ 31 119 пациенти със захарен диабет тип 1, честотата на двоен диабет достига 25,5% (27).

През 2009 г. Wilkin и сътр. изказват друга теория за комбинацията на захарен диабет тип 1 и захарен диабет тип 2, според която двете състояния представляват континуум, като автоимунният процес се активира от наличието на подлежаща инсулинова резистентност и затлъстяване. Те определят захарен диабет тип 1 и захарен диабет тип 2 като едно и също нарушение на инсулиновата чувствителност, което се изявява на фона на различен генотип. По същество не се отрича наличието на автоимунен процес, но се поставя под въпрос неговата първична роля, като се приема, че автоимунният процес разграничава захарен диабет тип 1 и захарен диабет тип 2 само по бързината на изява на заболяването. Взаимодействието между инсулиновата резистентност и генетичния отговор определя възрастта, при която загубата на бета-клетки става критична (28).

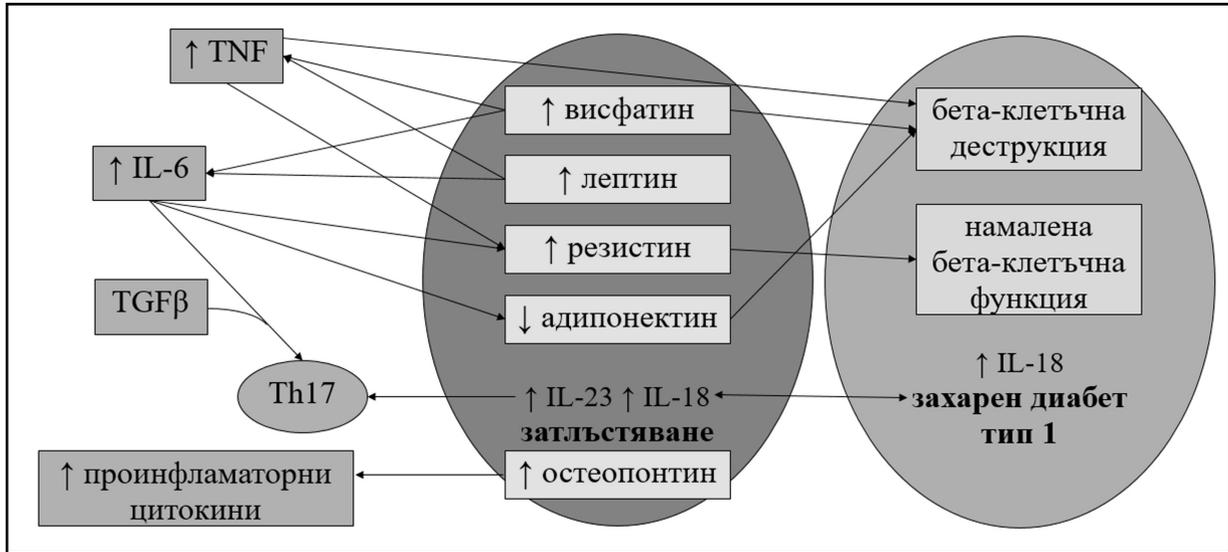
В подкрепа на тази теория са някои изследвания, които показват, че по-високият индекс на телесна маса на 5-годишна възраст се свързва с по-висок риск за развитие на захарен диабет тип 1 по-късно в детството. Децата със захарен диабет тип 1 са по-тежки от техните здрави връстници в годината на диагностициране на заболяването. Установено е, че повишената честота на захарен диабет тип 1 корелира със следните фактори: по-високо телесно тегло, прехранване на децата в ранна възраст, физически (инфекциозни и възпалителни процеси) и психологически стрес. Всички тези фактори правят бета-клетките на панкреаса по-чувствителни към имунна увреда с последваща апоптоза и изява на автоимунен захарен диабет (29, 30).

Активирането на проинфламаторния процес и патологичното действие на адипоцитокините върху функцията и морфологията на бета-клетката при двоен диабет са показани на *Фигура 1*. Връзката между хипергликемията, хормоналната регулация и нискостепенното възпаление при пациенти със затлъстяване и захарен диабет тип 1 е илюстрирана на *Фигура 2*.

Друга вероятна причина за затлъстяване при тази група пациенти е заместителната терапия с екзогенен инсулин, като се имат предвид неговите анаболни ефекти, стимулирането на апетита, както и прекомерният прием на бързорезорбиращи се въглехидрати за овладяване на хипогликемиите. При трайно подобряване на гликемичния контрол на фона на лечение с инсулин намалява глюкозурията и загубата на калории, което също е в основата на покачването на телесното тегло (35-37). Установена е позитивна корелация между индекса на телесна маса

Фигура 1. Патогенетични механизми при пациенти със захарен диабет тип 1 и затлъстяване.

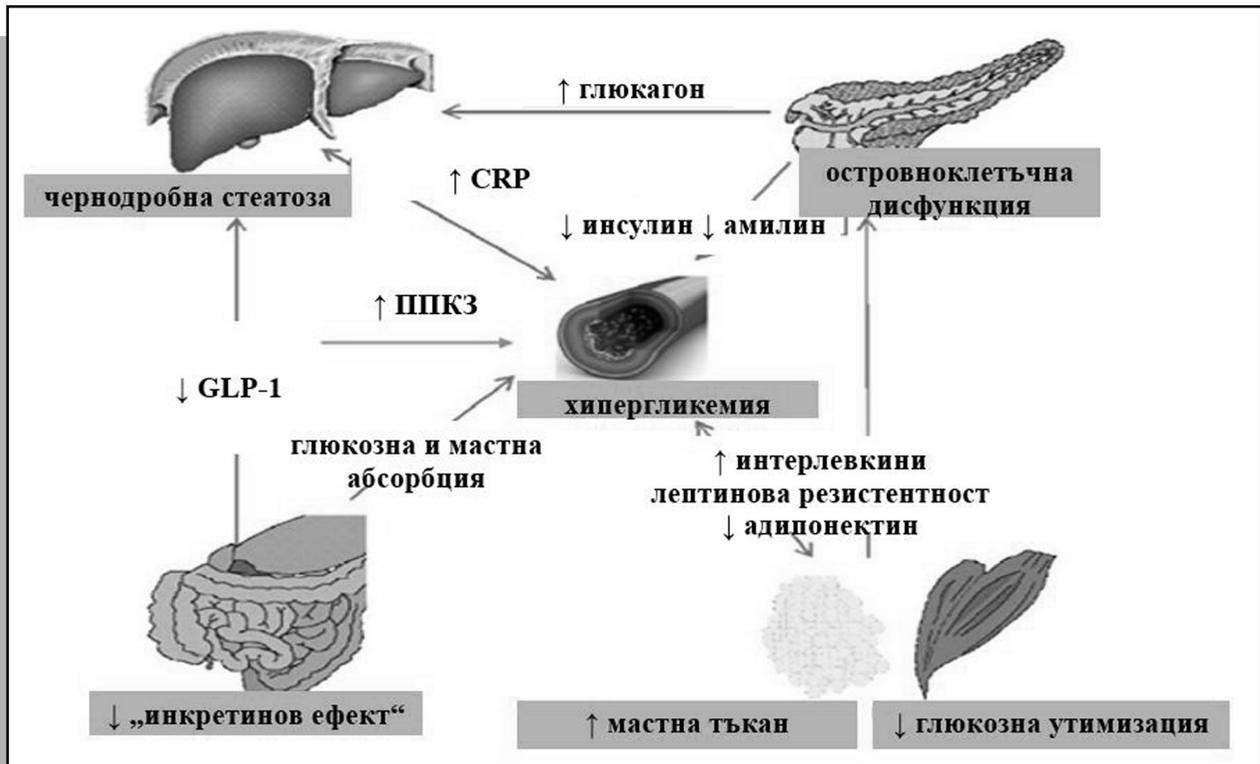
Figure 1. Pathogenetic mechanisms in patients with type 1 diabetes and obesity.



Адаптирано по Granata M. Pathobiology 2017; 84(2): 71-79. Gomez-Ambrosi J. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(9): 3719-3727. Barchetta I. Euro J Endo/ European Federation of Endocrine Societies. 2016; 174(2): 187-192. (31-33).

Фигура 2. Връзка между хипергликемията, хормоналната регулация и нискостепенното възпаление при пациенти със затлъстяване и захарен диабет тип 1

Figure 2. Relationship between hyperglycemia, hormone regulation and low-grade inflammation in patients with obesity and type 1 diabetes.



Адаптирано по Rizvi AA. Integer Obes Diabetes 2016; 2(2): 195-199 (34).

и инсулиновата доза на кг тегло (38), като покачването на инсулиновата доза е свързано с трикратно увеличение на риска за наднормено тегло (OR 3,38 (95%CI: 1,55-7,39), $p=0,002$) (39). Различните терапевтични схеми на приложение на инсулин са с различен ефект по отношение на телесното тегло. Големите епидемиологични проучвания – DCCT/EDIC с 5-годишно проследяване и Stockholm Diabetes Intervention Study със 7,5-годишно проследяване, сравняват интензифициран спрямо конвенционален режим на лечение при пациенти със захарен диабет тип 1 и установяват покачване на теглото съответно с 4,6 кг спрямо 3,7 кг и на затлъстяването с 33% спрямо 19% в DCCT/EDIC (40, 41) и покачване на теглото съответно с 4,4 кг спрямо 1,8 кг при Stockholm Diabetes Intervention Study (42). Интензифицираният режим на лечение е свързан със 73% по-висок риск от наднормено тегло в тази популация (40, 41). Сходни са данните и по отношение на честотата на метаболитен синдром. В интензифицираното рамо на DCCT/EDIC процентът на пациентите с метаболитен синдром нараства от 25,6% на 61,0% в рамките на 9-годишно проследяване спрямо покачване от 27,9% на 45,0% при конвенционалното лечение (43). Начинът на доставка на инсулина също се обсъжда като вероятна причина за покачване на теглото при тези пациенти. Подкожното аплициране води до нефизиологично разпределение на инсулина в циркулацията с хиперинсулинемия в периферното кръвообращение и хипоинсулинемия в порталната вена. Периферната хиперинсулинемия е причина за намалена липолиза, намалена периферна глюкозна утилизация и повишена липогенеза, докато релативно по-ниските нива на инсулин в порталното кръвообращение е свързано с повишена ендогенна глюкозна продукция, нарушена негативна обратна връзка на регулация на инсулиновата секреция, както и намалени нива на циркулиращ IGF-1. Понижените нива на серумен IGF-1 в комбинация с повишен растежен хормон и свързващ протеин за IGF (IGF-BP) са една от причините за периферна инсулинова резистентност (44).

Съвременният стил на живот също е основен рисков фактор за наднормено тегло не само при захарен диабет тип 2, но и при захарен диабет тип 1. Проучванията за хранене при захарен диабет тип 1 са ограничени. Характерно за част от пациентите е спазване на хранителен режим с повишен прием на мазнини и намален прием на въглехидрати, което води до изкуствено подгържане на релативно по-ниски дози на инжектирания инсулин. От друга страна, наред с пре-

гимствата, които имат новите инсулинови аналози, гъвкавият инсулинов режим е свързан с по-честа консумация на нездравословна висококалорийна храна с ниско съдържание на фибри и микроелементи, което води до прием на голямо количество „празни“ калории и последващо покачване на телесното тегло. Тези пациенти обичайно са с намалена физическа активност, поради страх от хипогликемии на фона на лечение с инсулин, както и при наличие на хронични усложнения на заболяването с ограничени възможности за физически натоварвания с голям интензитет (37, 45, 46).

Други вероятни рискови фактори за затлъстяване при захарен диабет тип 1 са женски пол, давност на захарния диабет, изява на заболяването през пубертета, както и хипергликемичните екскурзии, наблюдавани в хода на продължително глюкозно мониториране (47, 48). Някои генетични фактори също са ангажирани в патогенезата на затлъстяването. Има данни, че деца с FTO ген, rs9939609 алелен вариант (хомозиготен=AA или хетерозиготен=AT) са предразположени към наднормено тегло (8).

Кардио-метаболитен риск

Известно е, че затлъстяването е свързано с повишен сърдечно-съдов риск, като остава дискуссионен въпросът дали общотелесното или висцералното натрупване на мастна тъкан е водещата причина за неблагоприятния кардио-метаболитен профил при тези лица. От друга страна, общата и сърдечно-съдовата смъртност са по-високи при пациентите със захарен диабет тип 1 в сравнение с общата популация (49), като сърдечно-съдовите заболявания са водеща причина за смъртност при тези пациенти (3). Ето защо, комбинацията от захарен диабет тип 1 и затлъстяване при един и същи индивид вероятно е в основата на повишения сърдечно-съдов риск при тази субпопулация пациенти и представлява особен научен интерес през последните години.

Липиден профил

При проследяване на пациентите на интензифициран режим в проучването DCCT/EDIC се установява позитивна корелация между прогресивното покачване на индекса на телесна маса и покачването на LDL холестерола и систолното артериално налягане и понижаването на HDL-холестерола (50). При проследяване на интензифицираното рамо пациенти в друго голямо про-

учване EURODIAB покачването на телесното тегло с над 5 кг корелира с по-голяма обиколка на талията, по-високи стойности на систолното и диастолното артериално налягане и влошаване на липидните показатели – по-високи LDL-холестерол и триглицериди и по-нисък HDL-холестерол (51). Данните показват над 3 пъти по-висок риск за артериална хипертония – OR 3,5 (99%CI: 2,0-6,1) и над 2 пъти по-висок риск за повишен LDL-холестерол – OR 2,2 (99 %CI: 1,6-3,1) при пациенти със захарен диабет тип 1 и затлъстяване спрямо тези със захарен диабет тип 1 и нормално телесно тегло (6, 26, 52).

Липидните отклонения не винаги са пряко свързани с наличието на затлъстяване при пациентите със захарен диабет тип 1. При трайно влошен гликемичен контрол може да се наблюдава повишение на плазмените триглицериди и LDL-холестерола при нормално телесно тегло. Дори при оптимален метаболитен контрол, може да се наблюдават някои особености в липидния профил на пациентите, като напр. повишено отношение общ холестерол/триглицериди в липопротеините с много ниска плътност, променен качествен състав на периферния слой на липопротеините, гликиране на аполипопротеини, повишено окисление на LDL-холестерола. Тези качествени промени в липидните частици вероятно са свързани с промяна и в тяхната функция (53).

Съществуват ограничени данни относно характеристиките на липидния профил при пациенти със захарен диабет тип 1 с различна давност на заболяването и особено в субпопулацията със съпътстващо затлъстяване и други метаболитни отклонения. Класическият пациент със захарен диабет тип 1 традиционно се представя с нормални липидни нива при изследване на стандартните показатели (54, 55). Повишената сърдечно-съдова смъртност при захарен диабет тип 1, въпреки относително нормалните стойности на стандартно използваните в клиничната практика липидни показатели, показва необходимостта от по-задълбочена качествена и количествена оценка на липидния профил при тези пациенти независимо от индекса на телесна маса.

Характеристиката на липопротеиновите съставки и тяхната роля в общия атерогенен процес са обект на редица проучвания. През 2016 г. Vaid и сътр. анализират наличието и предиктивните фактори за отклонения в липидния профил при 607 деца със захарен диабет тип 1 и откриват положителна връзка между индекса на телесна маса и серумните нива на триглицериди, аполипопротеин В и non-HDL-холестерол (56).

Липопротеин (а) е от атерогенното семейство на липопротеините и се състои от LDL и аполипопротеин, свързан с аполипопротеин В, носител на LDL-частица. Въпреки ненапълно изяснената му физиологична роля, съществуват проучвания утвърждаващи значението му като независим сърдечно-съдов рисков фактор (57). Плазмените нива на липопротеин (а) се определят от размера на различните му изоформи, което обяснява вариабилността при различни популации и етнически групи. Множество големи популационни проучвания доказват силна независима връзка между повишените нива на липопротеин (а) и сърдечно-съдовата заболеваемост. Мета-анализ, обхващащ 126 634 участници от 36 проспективни проучвания, публикуван през 2009 г., демонстрира, че трикратното увеличение на липопротеин (а) се асоциира с 13% по-висок риск за исхемична болест на сърцето и с 10% по-висок риск за остър миокарден инфаркт (58). Някои проучвания показват повишени нива на липопротеин (а) при захарен диабет тип 1 (58)(59), докато при други не е намерена сигнификантна разлика спрямо лица с нормален глюкозен толеранс (60). Противоречиви са и данните относно връзката между нивата на липопротеин (а), от една страна, и дългосрочният гликемичен контрол и наличието на затлъстяване, от друга.

Друг липопротеин с атерогенно действие е аполипопротеин В, който се синтезира в черния дроб и се свързва с всяка от циркулиращите проатерогенни частици (VLDL, IDL, LDL). В шведско кохортно проучване Stettler и сътр. доказват връзка между нивата на аполипопротеин В и общата смъртност и смъртността в резултат на сърдечно-съдово заболяване при пациенти със захарен диабет тип 1 (61).

Неалкохолна стеатозна чернодробна болест

С нарастващата пандемия от затлъстяване, нараства и честотата на неалкохолна стеатозна болест в общата популация, достигайки до 20-35%. При захарен диабет тип 2, където подлежащи са инсулиновата резистентност и затлъстяването, тази цифра достига до 70-90%, като при тях се увеличава риска от прогресия на заболяването до неалкохолна стеатозен хепатит и цироза (62). Наличието на диабет и съчетанието на инсулинова резистентност с инсулинов дефицит, засилва вниманието през последните години в търсенето на неалкохолна стеатозна болест като чернодробна проява на метаболитния синдром при пациенти със захарен

диабет тип 1.

Формулирани са няколко хипотези относно развитието на чернодробна стеатоза при пациенти със захарен диабет тип 1, дори когато липсват данни за наличие на инсулинова резистентност и затлъстяване – загуба на инсулинов градиент между системното и портално кръвообращение при подкожно приложение на инсулин, наличие на промени в качествения състав на липопротеините и на техните функции, провокирано от хипергликемията, активиране на транскрипционни фактори ChREBP и SREBP1c, промотиращи липогенеза в черния дроб (63).

Няколко проучвания анализират наличието на стеатоза на черния дроб, използвайки сонографски метод за диагностика при предварително изключване на алкохолна консумация, съпътстващи вирусни хепатити, прием на хепатотоксични медикаменти, автоимунни заболявания. В едно от тях при изследване на 106 деца със захарен диабет тип 1, на възраст между 8 месеца и 15 години, чернодробна стеатоза е регистрирана при 11,3% от пациентите, като тя показва силна положителна корелация с наличието на влошен гликемичен контрол (средна стойност на гликиран хемоглобин при пациентите със стеатоза 12,14%) (64). В друго проучване в египетска популация от 692 деца със захарен диабет тип 1, на средна възраст $9,65 \pm 4,8$ години, е наблюдавана повишена хиперехогенност и/или хепатомегалия при 4,5% (65).

За разлика от посочените проучвания, Киттер и сътр. не доказват сигнификантна разлика между честотата на стеатоза при група от 93 деца със захарен диабет тип 1 спрямо случайна група от 223 деца със захарен диабет тип 1, отговарящи по пол, възраст, метаболитен контрол и дневна инсулинова доза, като обясняват получените резултати с разлика в терапевтичния режим, гликемичен контрол и честота на инфекциозни чернодробни заболявания между популация от западноевропейски деца и деца от Близкия изток (66).

Някои проучвания при възрастни пациенти със захарен диабет тип 1 показват значително по-висок процент на честотата на чернодробна стеатоза в сравнение с този при деца, като предполагаеми причини са повишеният индекс на телесна маса и по-голямата давност на захарния диабет. В кохортно проучване на 202 пациенти със захарен диабет тип 1 Targher и сътр. докладват честота на неалкохолна стеатозна болест достигаща до 44,4%, като установяват позитивна корелация с възраст, мъжки пол, гликиран хемоглобин, давност на захарния диабет,

албуминурия, както и наличие на оформен метаболитен синдром или отделни негови компоненти, и негативна корелация с бъбречната функция, оценена посредством гломерулна филтрация (67). Две години по-късно същият авторски колектив докладва още по-висока честота на чернодробна стеатоза – 53,1% в кохорта от 343 пациенти със захарен диабет тип 1 (68).

Противоречиви са данните въобще за наличие на чернодробна стеатоза в популацията пациенти с автоимунен захарен диабет. В проучване, използващо магнитен резонанс като метод на избор за диагностика на чернодробната стеатоза, е посочено наличие на мастно натрупване в над 5,5% от чернодробните клетки. Авторите не установяват повишена честота на чернодробно мастно натрупване при 128 лица със захарен диабет тип 1 спрямо 67 здрави контроли, като правят извод, че вероятно разликата в резултатите се дължи на използваните образни методи и преобладаване на гликогенна хепатопатия, която може да доведе до хипердиагностика на неалкохолната стеатозна болест (69). Claudio и сътр. дори изказват становище, че пациенти със захарен диабет тип 1 и затлъстяване са протектирани от развитие на чернодробна стеатоза и инсулинова резистентност поради липса на градиент на инсулиновата концентрация между порталната и периферната циркулация спрямо лицата без захарен диабет, при които това води до чернодробна липогенеза и натрупване на мастни депозити (70).

Данните за повишена честота на неалкохолна стеатозна болест при деца и възрастни със захарен диабет тип 1 са противоречиви, тъй като зависят от изследваната популация и използваната методика за оценка. До настоящия момент няма препоръки за скрининг за неалкохолна стеатозна чернодробна болест при всички пациенти със захарен диабет тип 1. През последните години се разработват скринингови методи за неинвазивна диагностика на чернодробна стеатоза и фиброза, както и индиректни индекси за прогностика на заболяването (71).

Противоречиви са данните и по отношение на връзката между неалкохолна стеатозна болест и увеличената дебелина на интима медия на каротидната артерия, като маркер за преклинична атеросклероза (69, 72). При изследване на 2 кохорти пациенти със захарен диабет тип 1 е установена положителна корелация на неалкохолната стеатозна болест с честотата на коронарна (10,8% спрямо 1,1%), мозъчно-съдова (37,5% спрямо 5,5%), и периферно-съдова

(24,5% спрямо 2,5%) болест спрямо съответни по възраст и пол пациенти със захарен диабет тип 1 без данни за чернодробна стеатоза. Авторите определят неалкохолната стеатозна болест като независим рисков фактор за развитие на диабетна макроангиопатия (67) и диабетна микроангиопатия (73), извън установените традиционни рискови фактори.

Метаболитен синдром

При метаболитен синдром, независимо от наличието на аутоимунен захарен диабет, абдоминалното затлъстяване, атерогенната дислипидемия (хипертриглицеридемия и понижени нива на HDL-холестерол), повишеното артериално налягане и инсулиновата резистентност (и/или нарушената глюкозна обмяна) са ключови фактори за съдовото ремоделиране (74, 75).

Нагрупуват се доказателства за по-висока честота на хронични усложнения при пациентите със захарен диабет тип 1 и затлъстяване. При пациентите със захарен диабет тип 1 и метаболитен синдром е налице по-висока честота на диабетна макроангиопатия – ИБС в 8,0% спрямо 3,0%, инсулт 3,6% спрямо 1,6% и ХАНК 5,5% спрямо 2,1%; и диабетна микроангиопатия: диабетна ретинопатия 32,4% спрямо 21,7% и диабетна нефропатия 28,3% спрямо 17,8% при пациенти без метаболитен синдром (27).

Настоящи терапевтични възможности и бъдещи перспективи

Инсулин

Предвид водещия патогенетичен механизъм при всички пациенти със захарен диабет тип 1 в дългосрочен план се налага доживотно заместване с инсулин в базално-болусен режим или посредством продължителна подкожна инсулинова инфузия, като най-физиологични подходи, имитиращи ендогенната инсулинова секреция. С въвеждането в рутинната клинична практика на аналоговите инсулинови препарати честотата на хипогликемиите при пациентите със захарен диабет тип 1 драстично намалява, както е видно от 20-годишното проследяване в проучването DCCT и EDIC (76). Друго предимство на новата генерация базални инсулинови аналози - гларжин U300 и деглудек, е по-благоприятният ефект върху телесното тегло, като данните показват сигнификантно по-малко покачване на тегло при 6-месечно лечение спрямо гларжин U100 (77)(78)(79). Въпреки тези оптимистични резултати, честотата на затлъстяване

при тези пациенти остава висока и е с възходяща тенденция. Дори лечението с продължителна подкожна инсулинова инфузия, което се характеризира с релативно по-ниска доза на инфузирания инсулин на кг тегло, не показва сигнификантно намаляване на затлъстяването при тези пациенти (80).

Всички терапевтични средства извън инсулиновото лечение са допълнителна терапия при захарен диабет тип 1 и следва да се прилагат заедно с лечението с инсулин.

Амилинов аналог

Прамлинтид е амилинов аналог, който в някои страни се използва рутинно в клиничната практика успоредно със субституиращата терапия с инсулин при пациентите със захарен диабет тип 1. Мета-анализ на 13 проучвания показва, че добавянето на прамлинтид към лечението с инсулин при пациенти със захарен диабет тип 1 води до значимо понижение на нивото на HbA_{1c}, общата и прандиалната инсулинова доза, като ефектът е дозо-зависим. Благоприятен дозо-зависим ефект извън гликемията се отчита и по отношение на телесното тегло – редукция между 0,8 и 3,2 кг. По отношение на страничните ефекти, които също са дозо-зависими, се отчита увеличаване на горно-диспептичните прояви и честотата на хипогликемиите (81).

Промяна в стила на живот

Промяната в начина на живот, включваща хранителен режим, базиран на индивидуалния метаболитен статус с намален калориен прием и умерена по интензивност ежедневна физическа активност стои на първа линия като подход при пациенти с наднормено тегло и затлъстяване и при двата типа захарен диабет (82).

Метформин

Първото съобщение за приложение на метформин и благоприятния му ефект върху инсулиновата резистентност при захарен диабет тип 1 датира от 1985 г. (83). Две години по-късно в друго проучване не се потвърждават тези резултати (84). Данните от последващи изследвания, които обхващат периода 2000-2016 г. при прилагане на оптимална доза метформин към лечението с инсулин и краткосрочно проследяване на пациентите за период между 3 и 12 месеца, са еднопосочни по отношение на липсата на ефект върху теглото при тези пациенти. Данните показват, че метформин намалява дневната инсулинова доза с 0-5,7 U и HbA_{1c} 0-0,7% в рамките на периода на проследяване. Мета-анализ публикуван наскоро потвърждава тези данни като заключава, че липсват доказателства

метформин да подобрява гликемичния контрол при тези пациенти, като приемът му е свързан с намаляване на общата дневна инсулинова доза с 0,15 U/kg и малка редукция на тегло – намалява индекса на телесна маса с 1,46 kg/m² (85). REMOVAL е последното голямо дългосрочно проучване с прием на метформин 2000 mg дневно, което включва 428 пациенти със захарен диабет тип 1 с 3-годишно проследяване. По отношение на гликемичния контрол се отчита по-голяма редукция на HbA_{1c} на 3-ти месец от лечението – намаляване с 0,24% спрямо плацебо, като разликата остава сигнификантна до края на проучването и на 3-тата година от проследяването е с 0,13% по-нисък в рамките на метформин.

Приемът на метформин е свързан и с малка, но статистически значима редукция на телесното тегло – с 1,17 kg спрямо рамото с плацебо (86). Резултатите от REMOVAL оставят дискуссионен въпроса за дългосрочните ползи от приема на метформин при пациенти със захарен диабет тип 1.

Към настоящия момент метформин е одобрен за приложение при захарен диабет тип 1. Според критериите на NICE от 2015 г. метформин може да бъде добавен към терапията с инсулин при пациенти със захарен диабет тип 1 и индекс на телесна маса >25 kg/m² с цел подобряване на гликемичния контрол и намаляване на ефективната инсулинова доза (87). В препоръките на Американската Диабетна Асоциация метформин може да бъде добавен при пациенти със захарен диабет тип 1 с индекс на телесна маса >25 kg/m² и лош гликемичен контрол за намаляване на инсулиновите нужди и подобряване на метаболитния контрол (82).

В етап на проучване по отношение на полза/риск при пациенти със захарен диабет тип 1 са и други терапевтични средства, утвърдени в клиничната практика при лечение на захарен диабет тип 2.

GLP-1 рецепторни агонисти

Лираглутид

В теоретичен план комбинираното лечение с инсулин и лираглутид би имало предимства пред монотерапията с инсулин – подобряване качеството на живот на пациентите чрез оптимизиране на гликемичния контрол, редукция на общата дневна инсулинова доза предимно за сметка на прандиален инсулин, редукция на телесното тегло чрез ограничаване калорийния прием с потискане на апетита и редукция на постпрандиалната глюкагонова секреция и глюкозните флуктуации чрез забавяне на изпразването на стомашно съдържимо. Всички проведе-

ни до момента рандомизирани клинични проучвания посочват редукция на телесното тегло с 2 до 7% или с 1,8 до 5,8 kg като ефектът е дозозависим и по-добър при пациенти с малка давност на захарния диабет и наличие на измерим С-пептид. Повечето проучвания показват несигнификантно понижение на нивата на гликиран хемоглобин, докато други все пак установяват дозозависима значима редукция на HbA_{1c} с 0,4-0,9%. По отношение на неблагоприятните ефекти, които също са дозозависими, се отчита повишена честота на хипергликемии с кетоацидоз, симптоматични хипогликемии и гастроинтестинални прояви. Необходими са повече проучвания, които да оправдаят избора на лираглутид като допълнително средство за подобряване на гликемичния контрол и редукция на телесно тегло при захарен диабет тип 1, като се анализира неговата ефикасност, безопасност и икономическа рентабилност при тази група пациенти (88-90).

Екзенатид

Механизмите, по които екзенатид се погржда сред обещаващите медикаменти с допълнителни ползи при захарен диабет тип 1 са повлияване на постпрандиалните хипергликемии, повишаване на инсулиновата чувствителност и редукция на телесно тегло, варираща в диапазона от 1,7 до 4,5 kg (91).

SGLT-2 инхибитори и двоен SGLT-1u SGLT-2 инхибитор

Проучването EASE-1 показва положителни резултати по отношение редукция на телесното тегло при 75 участници със захарен диабет тип 1 при добавяне на емпаглифлозин към инсулиновата терапия за период от 4 седмици. Ефектът е дозозависим като данните са за редукция с 1,4 kg, 1,6 kg и 1,7 kg съответно с емпаглифлозин 2,5 mg, 10 mg и 25 mg, при липса на повишен риск от хипогликемии спрямо плацебо (92).

Приложението на канаглифлозин в 18-седмично проучване в дозови режими 100 mg и 300 mg дневно показват редукция на телесното тегло съответно с 3,4% и 5,3%, понижение в гликиран хемоглобин съответно с 0,29% и 0,25% и редукция на общата дневна инсулинова доза съответно с 4,1 IU/дневно и 7,6 IU/дневно спрямо плацебо. По отношение на профила на безопасност се отчита повишен риск от кетоацидоз (93).

Сходни резултати демонстрира 24-седмичното проучване DEPICT-1 с дапаглифлозин – редукция на телесното тегло в края на изследвания период съответно с 2,84 kg и 3,60 kg при комбинация на инсулин с дапаглифлозин съответно в доза 5mg и 10 mg спрямо плацебо (94).

През 2017 г. се докладват и данните за първия двоен SGLT-1 и SGLT-2 инхибитор сомаглифлозин, който е във фаза на проучване и се изследва като допълнителна терапия при пациенти със захарен диабет тип 1. В края на 24-седмичен период проучването inTandem3, в хода на което се прилага сомаглифлозин в доза 400 мг дневно, се отчита снижение на гликирания хемоглобин с 0,46% и редукция на телесно тегло с 2,98 кг при тези пациенти (95).

Медикаменти за редукция на тегло

Одобрените медикаменти за редукция на тегло към настоящия момент в Европа са орлистат, налтрексон/бупропион и лираглутид, като не са налични проучвания с тези лекарствени средства по отношение на тяхната ефективност при захарен диабет тип 1 (96, 97).

Бариатрична хирургия

Доказани са благоприятните ефекти на бариатричната хирургия при пациентите със захарен диабет тип 2, при които редукцията на мастна тъкан води до намаляване на инсулиновата резистентност и трайно подобряване на гликемичния контрол. Към момента няма консенсус за използването и индикациите за бариатрична хирургия при пациенти със захарен диабет тип 1 и

затлъстяване. В литературата са налични ограничени данни от ретроспективни и обсервационни проучвания на хетерогенни по своя характер групи с малък брой пациенти със захарен диабет тип 1 и затлъстяване, които показват значима дългосрочна редукция на тегло, при липса на ефект и дори влошаване на гликемичния контрол с непригвидими постпрандиални глюкозни флукутации и увеличаване на хипогликемичните епизоди в дългосрочен план (98). Трябва да се имат предвид и общите късни постоперативни усложнения като малабсорбция и възможен дефицит на микронутриенти, рецидив на затлъстяването и поведенчески промени (99). Въпреки противоречивите данни по отношение на постигане на стабилен метаболитен контрол при пациенти със захарен диабет тип 1 и повишения оперативен риск, постоперативно се докладва подобрене на съпътстващите метаболитни отклонения като артериална хипертония и дислипидемия, с което се редуцира общия сърдечно-съдов риск при тази популация (100).

Необходим е индивидуален подход и мултидисциплинарен екип при избор на хирургично лечение при всеки пациент, както и допълнителни проспективни проучвания за оценка на влиянието на бариатричната хирургия върху качеството на живот и удовлетвореността от лечението при захарен диабет тип 1.

References

1. Tankova Tz. Diabetes mellitus. First edition. *Paradigma*. Sofia 2013. p. 56-74. (Танкова Цв. Захарен диабет. Първо издание. *Парадигма София 2013*. p. 56-74) (In Bulgarian).
2. IDF. **International Diabetes Federation**. IDF Diabetes Atlas, Eighth edition 2017. 2017.
3. Chillaryn JJ, Flores Le-Roux JA, Benaiges D, Pedro-Botet J. Type 1 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Metabolism* 2014; 63(2): 181-187.
4. Leroux C, Brazeau AS, Gingras V, Desjardins K, Strychar I, Rabasa-Lhoret R. Lifestyle and cardiometabolic risk in adults with type 1 diabetes: A review. *Can J Diabetes* 2014; 38(1): 62-69.
5. Minges KE, Whittemore R, Weinzimer SA, Irwin ML, Redeker NS, Grey M. Prevalence of cardiovascular risk factors in 5529 adolescents with type 1 diabetes: The T1D Exchange Clinic Registry. *Diabetes Res Clin Pract* 2017; 126: 68-78.
6. Redondo MJ, Foster NC, Libman IM, Mehta SN, Hathway JM, Bethin KE, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors in youth with type 1 diabetes and elevated body mass index. *Acta Diabetol* 2016; 53(2): 271-277.
7. van Vliet M, Van der Heyden JC, Diamant M, Von Rosenstiel IA, Schindhelm RK, Aanstoot HJ, et al. Overweight Is Highly Prevalent In Children with Type 1 Diabetes And Associates with Cardiometabolic Risk. *J Pediatr* 2010; 156(6): 923-929.
8. Frohlich-Reiterer EE, Rosenbauer J, Bechtold-Dalla Pozza S, Hofer SE, Schober E, Holl RW. Predictors of increasing BMI during the course of diabetes in children and adolescents with type 1 diabetes: data from the German/Austrian DPV multicentre survey. *Arch Dis Child* 2014; 99(8): 738-743.
9. Manyanga T, Sellers EA, Wicklow BA, Doupe M, Fransoo R. Not as skinny as we used to think: Body mass index in children and adolescents at diagnosis of type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2016; 30(2): 292-294.
10. Kaminski BM, Klingensmith GJ, Beck RW, Tamborlane W V., Lee J, Hassan K, et al. Body mass index at the time of diagnosis of autoimmune type 1 diabetes in children. *J Pediatr* 2013; 162(4): 736-740.e1.
11. Bae JP, Lage MJ, Mo D, Nelson DR, Hoogwerf BJ. Obesity and glycemic control in patients with diabetes mellitus: Analysis of physician electronic health records in the US from 2009-2011. *J Diabetes Complications* 2016; 30(2): 212-220.
12. Minges KE, Whittemore R, Chao AM, Jefferson V, Murphy KM, Grey M. Clinical, Psychosocial, and Demographic Factors Are Associated With Overweight and Obesity in Early Adolescent Girls With Type 1 Diabetes. *Diabetes Educ* 2016; 42(5): 538-548.
13. Швербы NC, Margeisdottir HD, Brunborg C, Dahl-Jurgensen K, Andersen LF, Bjerknes R, et al. Sweets, snacking habits,

- and skipping meals in children and adolescents on intensive insulin treatment. *Pediatr Diabetes* 2008; 9(4 PART 2): 393-400.
14. **Ilverby NC, Margeirsdottir HD, Brunborg C, Anderssen SA, Andersen LF, Dahl-Jurgensen K.** Physical activity and overweight in children and adolescents using intensified insulin treatment. *Pediatr Diabetes* 2009; 10(2): 135-141.
 15. **Semiz S, Bilgin UO, Bundak R, Bircan I.** Summer camps for diabetic children: An experience in Antalya, Turkey. *Acta Diabetol* 2000; 37(4): 197-200.
 16. **Weinstock RS, Schütz-Fuhrmann I, Connor CG, Hermann JM, Maahs DM, Schött M, et al.** Type 1 diabetes in older adults: Comparing treatments and chronic complications in the United States T1D Exchange and the German/Austrian DPV registries. *Diabetes Res Clin Pract* 2016; 122: 28-37.
 17. **Conway B, Miller RG, Costacou T, Fried L, Kelsey S, Evans RW, et al.** Adiposity and mortality in type 1 diabetes. *Int J Obes* 2009; 33(7): 796-805.
 18. **De Vries L, Bar-Niv M, Lebenthal Y, Tenenbaum A, Shalitin S, Lazar L, et al.** Changes in weight and BMI following the diagnosis of type 1 diabetes in children and adolescents. *Acta Diabetol* 2014; 51(3): 395-402.
 19. **Miller KM, Foster NC, Beck RW, Bergensta RM, DuBose SN, DiMeglio LA, et al.** Current state of type 1 diabetes treatment in the U.S.: Updated data from the T1D exchange clinic registry. *Diabetes Care* 2015; 38(6): 971-978.
 20. **Williams K.V, Erbey JR, Becker D, Arslanian S, Orchard TJ.** Can clinical factors estimate insulin resistance in type 1 diabetes? *Diabetes* 2000;49(4):626-632 7p.
 21. **Makimattila S, Virkamäki A, Malmström R, Utriainen T, Yki-Jarvinen H.** Insulin Resistance in Type 1 Diabetes Mellitus: A Major Role for Reduced Glucose Extraction. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81(2): 707-712.
 22. **Yip J, Mattock MB, Morocutti A, Sethi M, Trevisan R, Viberti G.** Insulin resistance in insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *The Lancet* 1993; 342: 883-887.
 23. **Maahs DM, Nadeau K, Snell-Bergeon JK, Schauer J, Bergman B, West NA, et al.** Association of insulin sensitivity to lipids across the lifespan in people with Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2011; 28(2): 148-155.
 24. **Schauer IE, Snell-Bergeon JK, Bergman BC, Maahs DM, Kretowski A, Eckel RH, et al.** Insulin resistance, defective insulin-mediated fatty acid suppression, and coronary artery calcification in subjects with and without Type 1 diabetes. *Diabetes* 2011; 60 (January): 306-314.
 25. **Teupe B, Bergis K.** Epidemiological evidence for „double diabetes.“ *Lancet* 1991; 337(8737): 361-362.
 26. **Cleland SJ, Fisher BM, Colhoun HM, Sattar N, Petrie JR.** Insulin resistance in type 1 diabetes: What is „double diabetes“ and what are the risks? *Diabetologia* 2013; 56(7): 1462-1470.
 27. **Merger SR, Kerner W, Stadler M, Zeyfang A, Jehle P, Müller-Korbsch M, et al.** Prevalence and comorbidities of double diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2016; 119: 48-56.
 28. **Wilkin TJ.** The accelerator hypothesis: A review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. *Int J Obes* 2009; 33(7): 716-726.
 29. **Ljungkrantz M, Ludvigsson J, Samuelsson U.** Type 1 diabetes: Increased height and weight gains in early childhood. *Pediatr Diabetes* 2008; 9(3 PART 2): 50-56.
 30. **Dahlquist G.** Can we slow the rising incidence of childhood-onset autoimmune diabetes? The overload hypothesis. *Diabetologia* 2006; 49(1): 20-24.
 31. **Granata M, Skarmoutsou E, Trovato C, Rossi GA, Mazarino MC, D'Amico F.** Obesity, Type 1 Diabetes, and Psoriasis: An Autoimmune Triple Flip. *Pathobiology* 2017; 84(2): 71-79.
 32. **Gymez-Ambrosi J, Catalón V, Ramirez B, Rodriguez A, Colina I, Silva C, et al.** Plasma osteopontin levels and expression in adipose tissue are increased in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(9): 3719-3727.
 33. **Barchetta I, Alessandri C, Bertocchini L, Cimini FA, Taverniti L, Di Franco M, et al.** Increased circulating osteopontin levels in adult patients with type 1 diabetes mellitus and association with dysmetabolic profile. *Euro J Endocrinol/ European Federation of Endocrine Societies.* 2016; 174(2): 187-192.
 34. **Rizvi AA.** The evolving role of bariatric surgery in patients with type 1 diabetes and obesity. *Integr Obes diabetes* 2016; 2(2): 195-199.
 35. **Wiegand S, Raile K, Reinehr T, Hofer S, Nake A, Rabl W, et al.** Daily insulin requirement of children and adolescents with type 1 diabetes: Effect of age, gender, body mass index and mode of therapy. *Eur J Endocrinol* 2008;158 (4): 543-549.
 36. **Mottalib A, Kasetty M, Mar JY, Elseaidy T, Ashrafzadeh S, Hamdy O.** Weight Management in Patients with Type 1 Diabetes and Obesity. *Curr Diab Rep* 2017; 17(10).
 37. **Francescato MP, Stel G, Stenner E, Geat M.** Prolonged exercise in type 1 diabetes: Performance of a customizable algorithm to estimate the carbohydrate supplements to minimize glycemic imbalances. *PLoS One* 2015; 10(4): 1-14.
 38. **Reinehr T, Holl RW, Roth CL, Wiesel T, Stachow R, Wabitsch M, et al.** Insulin resistance in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: relation to obesity. *Pediatr Diabetes* 2005; 6(1): 5-12.
 39. **da Costa VM, de Carvalho Padilha P, de Lima GCF, Ferreira AA, Luescher JL, Porto L, et al.** Overweight among children and adolescent with type I diabetes mellitus: prevalence and associated factors. *Diabetol Metab Syndr* 2016; 8(1): 39.
 40. **The DCCT Research Group.** *Diabetes Care.* 1995; 18(11):1415-1427.
 41. **The DCCT Research Group.** 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): 977-986.
 42. **Reichard P, Pihl M.** Mortality and treatment side-effects during long-term intensified conventional insulin treatment in the Stockholm Diabetes Intervention Study. *Diabetes* 1994; 43(2): 313-317.
 43. **Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL.** Insulin resistance, the metabolic syndrome, and complication risk in type 1 diabetes: „Double diabetes“ in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2007; 30(3): 707-712.
 44. **Taylor AM, Dungan DB, Grant DB, Preece MA.** Somatomedin-C/IGF-1 measured by radioimmunoassay and somatomedin bioactivity in adolescents with insulin dependent diabetes compared with puberty matched controls. *Diabetes Res.* 1988; 9(4):177-181.
 45. **Meissner T, Wolf J, Kersting M, Frühlich-Reiterer E, Flechtner-Mors M, Salgin B, et al.** Carbohydrate intake in relation to BMI, HbA_{1c} and lipid profile in children and adolescents with type 1 diabetes. *Clin Nutr* 2014; 33(1):75-78.
 46. **Metha SN, Haynie DL, Higgins LA, Bucey NN, Rovner AJ, Volkening LK, et al.** Emphasis on carbohydrates may negatively influence dietary patterns in youth with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32(12): 2174-2176 3p.
 47. **Balducci S, Sacchetti M, Haxhi J, Orlando G, D'Errico V, Fallucca S, et al.** Physical Exercise as therapy for type II diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2014; 32(30): 13-23.
 48. **Lipsky LM, Gee B, Liu A, Nansel TR.** Glycemic control and variability in association with body mass index and body composition over 18 months in youth with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2016; 120: 97-103.
 49. **Rawshani A, Rawshani A, Franzin 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): 1407-1418.
 50. **Purnell JQ, Hokanson JE, Marcovina SM, Steffes MW, Cleary PA, Brunzell JD.** Effect of excessive weight gain with intensive therapy of type 1 diabetes on lipid levels and blood pressure: results from the DCCT. *Diabetes Control and Complications Trial.* *JAMA* 1998; 280(2): 140-146.
 51. **Ferriss JB, Webb D, Chaturvedi N, Fuller JH, Idzior-Walus B.** Weight gain is associated with improved glycaemic control but with adverse changes in plasma lipids and blood pressure in Type.

- 1 diabetes. *Diabet Med* 2006; 23(5): 557-564.
52. Liu LL, Lawrence JM, Davis C, Liese AD, Pettitt DJ, Pihoker C, et al. Prevalence of overweight and obesity in youth with diabetes in USA: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatr Diabetes* 2010; 11(1): 4-11
53. Vergus B. Lipid disorders in type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 2009; 35(5): 353-360.
54. Guy J, Ogden L, Wadwa RP, Hamman RF, Mayer-Davis EJ, Liese AD, et al. Lipid and lipoprotein profiles in youth with and without type 1 diabetes: The SEARCH for diabetes in youth case-control study. *Diabetes Care* 2009; 32(3): 416-420.
55. Miettinen TA, Gylling H, Tuominen J, Simonen P, Koivisto A, White IR, et al. Lipoprotein (a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009; 302(4): 412-423.
56. Vaid S, Hanks L, Griffin R, Ashraf AP. Body mass index and glycemic control influence lipoproteins in children with type 1 diabetes. *J Clin Lipidol* 2016; 10(5):1240-1247.
57. Qi Q, Qi Lu. Lipoprotein (a) and cardiovascular disease in diabetic patients. *Clin Lipidol* 2012; 7(4): 397-407.
58. Erquo S, Kaptoge S, Perry PL, Di Angelantonio E, Thompson A, White IR, et al. Lipoprotein (a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009; 302(4): 412-423.
59. Bruckert E, Davidoff P, Grimaldi A, Truffert J, Giral P, Doumith R, et al. Increased serum levels of lipoprotein(a) in diabetes mellitus and their reduction with glycemic control. *JAMA* 1990; 263(1):35-36.
60. Heller FR, Jamart J, Honore P, Derue G, Novik V, Galanti L, et al. Serum Lipoprotein(a) in Patients With Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1993; 16 (5):819-823.
61. Stettler C, Suter Y, Allemann S, Zwahlen M, Christ ER, Diem P. Apolipoprotein B as a long-term predictor of mortality in type 1 diabetes mellitus: A 15-year follow up. *J Intern Med* 2006; 260(3): 272-280.
62. Kotronen A, Yki-Jarvinen H. Fatty Liver: A Novel Component of the Metabolic Syndrome Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. *Journal of the American Heart Association* 2008; 28: 27-38.
63. Regnell SE, Lernmark A. Hepatic Steatosis in Type 1 Diabetes. *Rev Diabet Stud* 2011; 8(4): 454-467.
64. Al-Hussaini AA, Sulaiman NM, Alzahrani MD, Alenizi AS, Khan M. Prevalence of hepatopathy in type 1 diabetic children. *BMC Pediatr* 2012; 12: 1-8.
65. El-Karakasy HM, Anwar G, Esmat G, Mansour S, Sabry M, Helmy H, et al. Prevalence of hepatic abnormalities in a cohort of Egyptian children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2010; 11(7): 462-470.
66. Kummer S, Klee D, Kircheis G, Friedt M, Schaper J, Hüssinger D, et al. Screening for non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a cross-sectional analysis. *Eur J Pediatr* 2017; 176(4): 529-536.
67. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Zoppini G, Pichiri I, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *J Hepatol* 2010; 53(4): 713-718.
68. Targher G, Pichiri I, Zoppini G, Trombetta M, Bonora E. Increased prevalence of chronic kidney disease in patients with Type 1 diabetes and non-alcoholic fatty liver. *Diabet Med* 2012; 29(2): 220-226.
69. Petit JM, Pedro L, Guiu B, Duviillard L, Bouillet B, Jooste V, et al. Type 1 diabetes is not associated with an increased prevalence of hepatic steatosis. *Diabet Med* 2015; 32(12): 1648-1651.
70. Llaurady G, Sevastianova K, Sydevirta S, Hakkarainen A, Lundbom N, Orho-Melander M, et al. Liver Fat Content and Hepatic Insulin Sensitivity in Overweight Patients With Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(2): 607-616.
71. Sviklne L, Olmane E, Dzdrve Z, Kupcs K, Ruds V V, Sokolovska J. Fatty liver index and hepatic steatosis index predict non-alcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 33(1):270-276.
72. Sookoian S, Pirola CJ. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: A systematic review. *J Hepatol* 2008; 49(4): 600-607.
73. Targher G, Bertolini L, Chonchol M, Rodella S, Zoppini G, Lippi G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased prevalence of chronic kidney disease and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2010; 53(7): 1341-1348.
74. Shao JS, Cai J, Towler DA. Molecular mechanisms of vascular calcification: Lessons learned from the aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(7): 1423-1430.
75. Sangiorgi G, Rumberger JA, Severson A, Edwards WD, Gregoire J, Fitzpatrick LA, et al. Arterial calcification and not lumen stenosis is highly correlated with atherosclerotic plaque burden in humans: A histologic study of 723 coronary artery segments using noncalcifying methodology. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(1): 126-133.
76. Gubitosi-Klug RA, Braffett BH, White NH, Sherwin RS, Service FJ, Lachin JM, et al. Risk of severe hypoglycemia in type 1 diabetes over 30 years of follow-up in the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care* 2017; 40(8): 1010-1016.
77. Home PD, Bergenstal RM, Bolli GB, Ziemer M, Rojeski M, Espinasse M, et al. New insulin glargine 300Units/mL versus glargine 100 Units/mL in people with type 1 diabetes: A randomized, phase 3a, open-label clinical trial (EDITION 4). *Diabetes Care* 2015; 38(12): 2217-2225.
78. Mathieu C, Hollander P, Miranda-Palma B, Cooper J, Franek E, Russell-Jones D, et al. Efficacy and safety of insulin degludec in a flexible dosing regimen vs insulin glargine in patients with type 1 diabetes (BEGIN: Flex T1): A 26-week randomized, treat-to-target trial with a 26-week extension. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(3): 1154-1162.
79. Garber AJ, King AB, Del Prato S, Sreenan S, Balci MK, Munoz-Torres M, et al. Insulin degludec, an ultra-longacting basal insulin, versus insulin glargine in basal-bolus treatment with mealtime insulin aspart in type 2 diabetes (BEGIN Basal-Bolus Type 2): A phase 3, randomised, open-label, treat-to-target non-inferiority trial. *Lancet* 2012; 379(9825):1498-1507.
80. Luczynski W, Szybowska A, Glowinska-Olszewska B, Bossowski A. Overweight, obesity and features of metabolic syndrome in children with diabetes treated with insulin pump therapy. *Eur J Pediatr* 2011; 170(7): 891-898.
81. Qiao YC, Ling W, Pan YH, Chen YL, Zhou D, Huang YM, et al. Efficacy and safety of pramlintide injection adjunct to insulin therapy in patients with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8(39): 66504-66515.
82. American Diabetes Association (ADA). Standard of medical care in diabetes - 2017. *Diabetes Care* 2017;40 (sup 1) (January): s4-128.
83. Gin H, Messerchmitt C, Brottier E, Aubertin J. Metformin improved insulin resistance in type I, insulin-dependent, diabetic patients. *Metabolism* 1985; 34(10): 923-925.
84. Keen H, Collins ACG, Bending JJ. Metformin increases response to insulin in type-1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1987;30:A:538.
85. Al Khalifah RA, Alnhdi A, Alghar H, Alanazi M, Florez ID. The effect of adding metformin to insulin therapy for type 1 diabetes mellitus children: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Diabetes* 2017; 18(7): 664-673.
86. Petrie JR, Chaturvedi N, Ford I, Brouwers MCGJ, Greenlaw N, Tillin T, et al. Cardiovascular and metabolic effects of metformin in patients with type 1 diabetes (REMOVAL): a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017; 5(8): 597-609.
87. NICE (National Institute for Health and Care Excellence). Type 1 diabetes in adults: diagnosis and management (NICE guideline). *NICE Guidel [NG17]* 2015; (August 2015): 1-87.
88. Dejgaard TF, Frandsen CS, Holst JJ, Madsbad S. Liraglutide for treating type 1 diabetes. *Expert Opin Biol Ther* 2016; 16(4): 579-590.

89. **Mathieu C, Zinman B, Hemmingsson JU, Woo V, Colman P, Christiansen E, et al.** Efficacy and safety of liraglutide added to insulin treatment in type 1 diabetes: The adjunct one treatment-target randomized trial. *Diabetes Care* 2016; 39(10): 1702-1710.
90. **Ahren B, Hirsch IB, Pieber TR, Mathieu C, Gomez-Peralta F, Hansen TK, et al.** Efficacy and safety of liraglutide added to capped insulin treatment in subjects with type 1 diabetes: The adjunct two randomized trial. *Diabetes Care* 2016; 39(10): 1693-1701.
91. **Janzen KM, Steuber TD, Nisly SA.** GLP-1 Agonists in Type 1 Diabetes Mellitus. *Ann Pharmacother* 2016; 50(8): 656-665.
92. **Pieber TR, Famulla S, Eilbracht J, Cescutti J, Soleymanlou N, Johansen OE, et al.** Empagliflozin as adjunct to insulin in patients with type 1 diabetes: A 4-week, randomized, placebo-controlled trial (EASE-1). *Diabetes, Obes Metab* 2015; 17(10): 928-935.
93. **Henry RR, Thakkar P, Tong C, Polidori D, Alba M.** Efficacy and safety of canagliflozin, a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, as add-on to insulin in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2015; 38(12): 2258-2265.
94. **Dandona P, Mathieu C, Phillip M, Hansen L, Griffen SC, Tschupe D, et al.** Efficacy and safety of dapagliflozin in patients with inadequately controlled type 1 diabetes (DEPICT-1): 24 week results from a multicentre, double-blind, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017; 5(11): 864-876.
95. **Garg SK, Henry RR, Banks P, Buse JB, Davies MJ, Fulcher GR, et al.** Effects of Sotagliflozin Added to Insulin in Patients with Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2017; NEJMoa1708337.
96. **Daneschvar HL, Aronson MD, Smetana GW.** FDA-Approved Anti-Obesity Drugs in the United States. *Am J Med* 2016; 129(8): 879.e1-879.e6.
97. **American Diabetes Association.** *Diabetes Care* 2017; 40 (Supplement 1): S57-S63.
98. **Faucher P, Poitou C, Carette C, Tezenas du Montcel S, Barsamian C, Touati E, et al.** Bariatric Surgery in Obese Patients with Type 1 Diabetes: Effects on Weight Loss and Metabolic Control. *Obes Surg* 2016; 26(10): 2370-2378.
99. **Heber D, Greenway FL, Kaplan LM, Livingston E, Salvador J, Still C.** Endocrine and nutritional management of the post-bariatric surgery patient: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(11): 4823-4843.
100. **Vilarrasa N, Rubio MA, Minambres I, Flores L, Caixas A, Ciudin A, et al.** Long-Term Outcomes in Patients with Morbid Obesity and Type 1 Diabetes Undergoing Bariatric Surgery. *Obes Surg* 2017; 27(4): 856-863.

Address for correspondence:

Д-р Мина Сердарова,

Клиника по Диабетология, Клиничен Център
по Ендокринология и Геронтология,
Ул. „Здраве“ № 2, София 1431, България
e-mail: minaserdarova@abv.bg

Dr. Mina Serdarova,

Department of Diabetology, Clinical Centre of
Endocrinology and Gerontology,
2, Zdrave Str., Sofia 1431, Bulgaria
e-mail: minaserdarova@abv.bg

Инсулинова резистентност, адипокини и ролята им при безплодие на жената

Бояджиева, Надка Ив., Варадинова, Мирослава Г., Методиева, Росица Д.

Катедра по Фармакология и Токсикология, Медицински Факултет, МУ, София

Insulin Resistance, Adipokines and Their Role in Female Infertility

Boyadjieva, Nadka I., Varadinova, Miroslava G., Metodieva, Rositsa D.

Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, MU, Sofia

Резюме

През последните десетилетия връзката между затлъстяването и развитието на инсулинова резистентност е добре документирана. Също така, широко се дискутира, че мастната тъкан функционира като важен хомеостатичен орган и участва в регулирането на ендокринните, паракринните и други жизненоважни физиологични процеси, включително на ниво хипоталамус, мозъчен ствол и кортекс. Мастната тъкан произвежда адипокини, цитокини и хемокини, за които е известно, че участват в регулирането на хипоталамо-хипофизно-гонадната (ХХГ) ос както централно, така и периферно. Все повече доказателства показват, че мастната тъкан има важна роля в контрола на функциите на ХХГ и женския фертилитет.

Настоящият обзор демонстрира ефектите от инсулиновата резистентност и факторите на мастната тъкан като лептин, адипонектин и резистин върху механизмите, повлияващи фертилитета на различни нива. Бъдещи проучвания би трябвало да изследват подробно механизмите, включени в тези процеси и да се съсредоточат върху начините за предотвратяване на неблагоприятните ефекти от затлъстяването и инсулиновата резистентност върху функциите на ХХГ и женския фертилитет.

Abstract

In recent decades the link between obesity and the development of insulin resistance has been well documented. It has been also widely discussed that adipose tissue functions as an important homeostatic organ and is involved in the regulation of endocrine, paracrine and other vital physiological processes, including those of the hypothalamus, the brain stem and the cortex.

Adipose tissue is known to produce adipokines, cytokines and chemokines which are shown to participate in the regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis both centrally and peripherally. There is accumulating evidence that adipose tissue has an important role in the control of HPG functions and female fertility.

The present review demonstrates the effects of insulin resistance and adipose tissue factors like leptin, adiponectin and resistin on mechanisms affecting fertility at different levels. Future studies should provide more detailed mechanisms involved in these processes and should focus on ways of preventing the adverse effects of obesity and insulin resistance on HPG functions and female fertility.

Ключови думи:

адипокини, инсулинова резистентност, женско безплодие, ХХГ ос

Key words:

adipokines, insulin resistance, female infertility, HPG axis

Въведение

Инсулиновата резистентност се отчита при пациенти със затлъстяване, предиабет или захарен диабет тип 2 (ЗД2). В резултат от хипертрофия на адипоцитите и разрастване на ектопична мастна тъкан около вътрешните органи на тези пациенти се наблюдава развитие на висцерално затлъстяване. Редица изследвания демонстрират корелация между висцералното затлъстяване, инсулиновата резистентност и безплодието при някои жени (1, 2). Документирани са факти за репродуктивни нарушения при жени със затлъстяване и инсулинова резистентност като нарушение в менструалния цикъл, липса на овулация, спонтанни аборти (3) и др. Инсулиновата резистентност при затлъстели индивиди се свързва с прекомерното натрупване на мастна тъкан, която освобождава повишени количества неестерифицирани мастни киселини, хормони, провъзпалителни цитокини и други фактори.

През последните години е добре установено, че мастната тъкан функционира като важен хомеостатичен и метаболитно-активен ендокринен орган и участва в регулацията на ендокринни, паракринни и други жизненоважни физиологични процеси, включително на ниво хипоталамус, мозъчен ствол и кортекс. В допълнение, настоящите данни в литературата демонстрират значението на мастната тъкан в хипоталамо-хипофизно-гонадна ос (ХХГ).

Различни адипокини, цитокини и хемокини медицират ролята на мастната тъкан в регулацията на ХХГ. Съвременни изследвания коментират ролята на лептин, адипонектин, резистин, проинфламаторни и други фактори от мастната тъкан, които участват в регулацията на женски репродуктивни функции (4). Настоящият литературен анализ представя най-нови факти върху ролята на адипоцитокините и инсулиновата резистентност в патологични процеси на репродуктивната функция на жени.

Лептин, затлъстяване и репродуктивни функции

Лептин е протеин, който се образува в мастната тъкан и има важен анорексигенен ефект, като регулира апетит, хранене и енерге-

тични механизми на обмяната (5). Лептин се свързва с рецептори в хипоталамус и чрез тях регулира секрецията на орексигенните невротрофици (NPY) и агути-свързан протеин (AgRP) и същевременно повишава активността на анорексигенния проопимеланокортин (POMC), с което се регулират апетитът и хранителният прием. Редица данни посочват важна физиологична роля на т.нар. „адипо-инсуларна“ ос в регулацията на секрецията на инсулин и продукцията на лептин (6). При индивиди с наднормено тегло и нарушена регулация по оста се наблюдава развитие на инсулинова резистентност и затлъбяване на лептиновата резистентност, което се асоциира с развитие на диабет тип 2. Значителен обем от изследвания са натрупани в литературата за ролята на лептин и неговите рецептори и в метаболизма на масти. Изследванията показват, че лептин участва в модулиране на генната експресия в мастна тъкан като активатор на транскрипционни фактори (STAT₁, STAT₃ и AP-1) (7).

С водещо значение за ролята на лептин във фертилната функция е фактът, че един от основните му физиологични ефекти е свързан със стимулирането на ХХГ функция. Установено е, че серумните нива на лептин по време на пубертета се увеличават, както при някои експериментални женски животни, така и при жени (8; 9). Ниските нива на лептин са свързани със сексуална незрялост и в допълнение е документирано, че приложението на лептин предизвиква появата на менархе при девойки с ендогенен дефицит на лептин и хипогонадотропен хипогонадизъм (10). Повишените нива на лептин по време на пубертет се дължат на активиране на ХХГ в началото на пубертета. Централната роля на лептин в регулацията на фертилитета е свързана със стимулиране на експресията на хипоталамусния гонадотропин рилийзинг хормон (GnRH) и по този начин на хипофизните – лутенизиращ (LH) и фоликулостимулиращ (FSH) хормони (11). При гладуване се намаляват плазмените концентрации на лептин и на LH. И обратно – при въвеждане на екзогенен лептин се увеличава както апетитът, така и плазмената концентрация на LH (12).

Директното действие на лептин върху хипоталамусни и хипофизни репродуктивни хор-

мони е доказано както върху експериментални животни и клетъчни култури, така и при хора. Лептин стимулира освобождаването на GnRH от хипоталамусни клетки и секрецията на LH и FSH от клетки в първична клетъчна култура на хипофиза (13). Посочените факти посочват важна роля на лептин в регулацията на репродуктивните хормони. При изследване на мишки със затлъстяване и генетичен дефицит на лептин (*ob/ob*) се наблюдава липса на фертилна функция поради нарушена продукция на GnRH, LH, FSH и съответно на естрадиол от яйчниците (14).

При затлъстяване и инсулинова резистентност често се индуцира резистентност към лептин, която е важен фактор за обяснение на дисрегулацията в ХХГ ос, нарушенията в овулаторната функция на жената и последващо безплодие. Нарушен фертилитет и лептинова резистентност са документирани при проведени клинични изследвания от различни колективи (15; 16). Установеното безплодие в резултат на нарушена яйчникова функция корелира с намалена експресия на лептиновите рецептори и увеличени нива на NPY в хипоталамуса и намалена пулсативна активност на GnRH. Взети заедно, експерименталните и клинични изследвания убедително документират ролята на лептин в нарушената репродуктивност, включително и безплодие при жени със затлъстяване.

Адипонектин

Адипонектин е протеин, който се образува и секретира от адипоцитите и има най-високи нива на циркулация в плазмата от всички адипокини (17). Генът за адипонектин се намира върху хромозома 3q27. Определени са и рецепторите за адипонектин, с водещо значение на AdipoR1 и AdipoR2 (18). За разлика от повечето адипокини, производството на адипонектин се потиска при затлъстяване и инсулинова резистентност, а нивата на циркулация на адипонектин са в обратна корелация с обема на висцералната мастна тъкан и ИТМ. Адипонектин функционира като инсулин-сензитизиращо вещество, което намалява продукцията на глюкоза и стимулира действието на инсулин в черния гроб (19). Изследванията документират и влиянието на адипонектин върху различни ензими, включени в метаболизма на глюкозата и мастните киселини (20). Взети заедно, изследванията на различни колективи дават основание да се направи заключението, че адипонектин регулира както мастната, така и въглехидратната обмяна и участва в контрола на активността на инсулиновите рецептори и тяхната сензитивност.

Адипонектин се асоциира с ефект върху действието на ХХГ на различни нива. Установена е експресия на рецептори за адипонектин в хипоталамични, LH-, FSH-, TSH-продуциращи клетки, гранулозни клетки на яйчника и др. (21). Тези данни допускат роля на адипонектин в репродуктивните функции периферно – върху яйчници, централно – върху хипоталамус и хипофиза, и директни ефекти върху ембриона по време на бременност. През пубертетния период в зависимост от теглото на момичето са отчитани различни концентрации на адипонектин. Пубертетът е важен период, през който нарушените концентрации на адипонектин и други адипокини могат да доведат до репродуктивни ранни нарушения, които по-късно да се затлъбчат и да се диагностицира нарушена функция на яйчници с намалена или липсваща овулация.

Скорошни изследвания сочат, че абнормните нива на адипонектин се асоциират със затлъстяване и поликистозен синдром на яйчника (ПКСЯ) при пациентки с нарушена фертилност (22). Cheng и сътр., 2016 демонстрират, че мишки с дефицит на адипонектин имат нарушен естрогенен цикъл, повишен брой атретични фоликули и нарушена късна фоликулогенеза (23). Освен това се наблюдава значително понижаване на E2 и FSH, и увеличение на LH и тестостерон в проеструс. В допълнение се дискутира промяна в ХХГ със значително намаляване на експресията на рецептори за LH, както и на броя на GnRH имунореактивните неврони.

Данни от груго проучване показват, че в гранулозни клетки на жени с ПКСЯ се наблюдава по-ниска експресия на адипонектин и неговите рецептори в сравнение с нормовулаторни пациентки (24). Допуска се и водеща роля на значително ниските нива на адипонектин във фоликулната течност и в серума на пациентките с ПКСЯ за нарушеното развитие на фоликулите и регистрираната овулаторна дисфункция при тях. Dehghan и сътр. подкрепят тези данни, като документират редуцирана експресия на системата за адипонектин (адипонектин, AdipoRs) в човешки гранулозни клетки (25).

Интерес представляват и резултатите от приложение на адипонектин при мишки с ПКСЯ, които показват директен ефект на адипонектин за понижаване на хиперандрогенемията и броя на инсулиновите рецептори в яйчниците на експерименталните животни (26). Тези данни дават основание да се допусне значителна роля на адипонектин в терапията на нарушен фертилитет и при хора.

Резистин

Резистинът е протеин, който се произвежда от мастната тъкани, но се идентифицира и в други периферни тъкани при различните животински видове. Най-висока е експресията му в адипоцити на мишки, докато при хора той се експресира предимно в макрофаги.

В последните години често се дискутира ролята на резистин във взаимовръзката между затлъстяване и инсулинова резистентност или диабет тип 2. Доказано е, че при гризачи приложението на резистин води до понижена реакция към инсулин. От друга страна, при хора по-често се коментира ролята на резистин като проинфламаторен цитокин, чиято активност е повишена при затлъстяване и инсулинова резистентност.

Все още не са изяснени ефектите на резистин в регулацията на функциите на ХХГ ос. Идентифицират се нива на резистин в човешка церебрална течност (27). Докладвана е и експресия на резистин в хипоталамус на гризачи (28). Въпреки това, механизмите на участието му в регулацията на нивата на GnRH остава да бъдат изяснени.

Съществуват доказателства, че подобно на адипонектин, резистинът се експресира в клетките на яйчниците и засяга овариалната стероидогенеза. Резистират се нива на резистин в човешки гранулозни и текални клетки, което предполага ролята му в развитието на фоликулите (29). Има данни, че гонадотропин и гонадните стероиди стимулират производството на яйчников резистин, докато инсулиноподобният растежен фактор (IGF) го потиска (30). В допълнение, Spicer и колеги демонстрират, че резистинът стимулира FSH и производството на естрадиол, но няма ефект върху IGF1 или инсулин-индуцираното производство на прогестерон (31). *In vitro*, третирането на гранулозни клетки с резистин води до понижена базална секреция на естрадиол (30).

Тези противоречиви сведения се обясняват с наличието на различни изоформи на резистин, което води до функционалното му разнообразие при различни животински видове и човек. От друга страна, рецепторите за резистин също не са добре проучени, поради което не е изяснена ролята на резистин в механизмите на овариална стероидогенеза. Посочените факти демонстрират участието на резистин в процесите на регулация на яйчниковата функция. Установена е положителна корелация между нивата на резистин и ИТМ при жени с ПКСЯ (32). Взети заедно, тези данни предполагат значението на

резистин в механизмите на инсулинова резистентност и свързаните с тях нарушена яйчничкова функция и инфертилитет.

Лептин и адипонектин повлияват узряването на яйцеклетките и ранното развитие на ембриона

През 1997 г. колектив на Cioffi и сътр. (33) съобщава за експресия на лептин в човешки зрели яйцеклетки и допускат, че лептин регулира узряването на яйцеклетките и ранното развитие на ембриона. По-късни изследвания подкрепят посоченото и го допълват с откриване на рецептори за лептин в яйцеклетките и в ранно развиващия се ембрион (34; 35). Експресия на лептин е доказана в бластоцити от експериментални животни (36). Въпреки дискусиата за противоречия между отделните изследователски колективи относно ролята на лептин в узряване на яйцеклетките при различни видове животни и човек, в литературата се оформя становището, че лептин чрез своите рецептори регулира узряването на яйцеклетките и преимплантацията на ембриони, както и ранното им развитие. При затлъстяване е нарушена посочената роля на лептин и е възможно това да се отрази на яйчниковата функция и ранното ембрионално развитие, т.е. да се отчетат намалена овулация, липса на овулация или ранна резорбция на ембриона.

Рецептори за адипонектин се експресират в яйчници на експериментални животни и контролират яйчниковата функция, включително узряването на яйцеклетките (37). В допълнение е регистрирана експресия както на рецептори за адипонектин, така и за лептин в развиващата се плацента (38). Посоченото допълва механизмите, които допускат, че при затлъстяване се нарушава ранното развитие на ембриона чрез участие на лептин и адипонектин на ниво на плацента и ембрионално развитие.

Инсулинова резистентност и репродуктивни функции при жени

По-горе посочихме, че инсулинова резистентност се развива често при хора със затлъстяване и в нейните механизми участват адипоцитокени (адипонектин, лептин и др.) (39; 40). Резултати от експериментални и клинични проучвания документират, че при инсулинова резистентност се установяват по-често нарушения в стероидогенезата, менструалния цикъл и овулацията при жени, както и ПКСЯ, които се свързват с репродуктивна дисфункция и/или безплодие (41; 42). Отчитайки ролята на лептин и ади-

покини в механизмите на развитие на инсулинова резистентност и в механизмите на нарушение на репродуктивните функции при жени, допускате че при инсулинова резистентност има риск за завършване на процесите на узряване на яйцеклетките и имплантация на оплодените яйцеклетки и развитие на ембриона. Както посочихме по-горе, при инсулинова резистентност се отчитат промени и в нивата и функцията на резистин, което допълва механизмите на нарушения на репродуктивност при жени със затлъстяване (43; 44). Макар и ограничени изследванията върху резистин документират неговата роля в плацентата и функцията на яйчниците и допълват механизмите, чрез които се нарушава фертилитета при жени със затлъстяване и инсулинова резистентност.

Заклучение

Затлъстяването се свързва с метаболитни нарушения и развитие на инсулинова резистентност. Маснатата тъкан произвежда адипо-

кини и цитокини, които участват в регулацията на функцията на инсулиновите рецептори, в контрола на ХХГ оста и репродуктивните функции при жени. Лептин повлиява централните механизми на репродуктивна функция чрез регулиране синтеза и секрецията на хипоталамусни и хипофизни полови хормони. Лептин също регулира периферно яйчниковата функция и ендометриума. Адипонектин има роля в регулация на инсулинова резистентност и репродуктивни централни и периферни функции. Установено е, че при затлъстяване се променя физиологичната роля на адипоцитокени, което повлиява инсулиновите рецептори и репродуктивността при жени. Почесто се срещат нарушения на яйчниковата функция и менструалния цикъл, включително го липса на овулация при жени със затлъстяване в репродуктивна възраст. Установено е, че лептин, адипонектин и резистин имат важно значение при нарушен фертилитет при жени, чиито детайлни механизми предстоят да бъдат проучени.

References

1. Norman RJ, Clark AM. Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod, Fertil Dev* 1998; 10: 55-63.
2. Al-Jefout M, Alnawaiseh N, Al-Qatait A. Insulin resistance and obesity among infertile women with different polycystic ovary syndrome phenotypes. *Sci Rep* 2017 13;7(1):5339.
3. Wang JX, Davies MJ, Norman RJ. Obesity increases the risk of spontaneous abortion during infertility treatment. *Obes Res* 2002; 10: 551-554.
4. Koleva DI, Orbetzova MM, Nyagolova PV. Serum levels of the adipocytokines TNF- α and IL-6 in polycystic ovary syndrome. *Endokrinologia* 2017; 22 (3):140-146.
5. Bjorbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 305-331.
6. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes* 53; 2004; Suppl 1 S152-S158.
7. Bendinelli P, Maroni P, Pecori G, Giraldo F, Piccoletti R. Leptin activates Stat3, Stat1 and AP-1 in mouse adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 168: 11-20.
8. Matkovic V, Ilich JZ, Skugor M, Badenhop NE, Goel P, Clairmont A, et al. Leptin is inversely related to age at menarche in human females. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3239-3245.
9. Garcia MR, Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler DH, et al. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *J Anim Sci* 2002; 80: 2158-2167.
10. von Schnurbein J, Moss A, Nagel SA, Muehleider H, Debatin KM, Farooqi IS, Wabitsch M. Leptin substitution results in the induction of menstrual cycles in an adolescent with leptin deficiency and hypogonadotropic hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2014; 77: 127-133.
11. Nagatani S, Guthikonda P, Thompson RC, Tsukamura H, Maeda KI, Foster DL. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology* 1998; 67: 370-376.
12. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 38 (2): 250-252.
13. Amstalden M, Harms PG, Welsh TH Jr, Randel RD, Williams GL. Effects of leptin on gonadotropin-releasing hormone release from hypothalamic-infundibular explants and gonadotropin release from adenohypophyseal primary cell cultures: further evidence that fully nourished cattle are resistant to leptin. *Anim Reprod Sci* 2005; 85: 41-52.
14. Farooqi IS. Leptin and the onset of puberty: insights from rodent and human genetics. *Semin Reprod Med* 2002; 20: 139-144.
15. Namavar Jahromi B, Dabaghmanesh MH, Parsanezhad ME, Fatehpour F. Association of leptin and insulin resistance in PCOS: A case-controlled study. *Int J Reprod Biomed* 2017; 15(7): 423-428.
16. Zheng SH, Du DF, Li XL. Leptin Levels in Women With Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and a Meta-Analysis. *Reprod Sci* 2017 May; 24(5):656-670
17. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 26746-26749.
18. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate anti-diabetic metabolic effects. *Nature* 2003; 423: 762-769.
19. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M. Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001; 7: 947-953.
20. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8: 1288-1295.
21. Tsatsanis C, Dermitzaki E, Avgoustinaki P, Malliaraki N, Mytaras V, Margioris AN. The impact of adipose tissue-derived fac-

- tors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. *Hormones (Athens)* 2015;14(4):549-62.
22. **Garcia V, Orostica L, Poblete C, Rosas C, Astorga I, Romero C, et al.** Endometria from obese PCOS women with hyperinsulinemia exhibit altered adiponectin signaling. *Horm Metab Res* 2015; 47:901-909.
23. **Cheng L, Shi H, Jin Y, Li X, Pan J, Lai Y, Lin Y, Jin Y, Roy G, Zhao A et al.** Adiponectin deficiency leads to female subfertility and ovarian dysfunctions in mice. *Endocrinology* 2016; 157: 4875-4887.
24. **Artimani T, Saidijam M, Aflatoonian R, et al.** Downregulation of adiponectin system in granulosa cells and low levels of HMW adiponectin in PCOS. *J Assist Reprod Genet* 2016; 33(1):101-110.
25. **Dehghan R, Saidijam M, Mehdizade M, Shabab N, Yavangi M & Artimani T.** Evidence for decreased expression of APPL1 associated with reduced insulin and adiponectin receptors expression in PCOS patients. *J Endocrinol Invest* 2016; 39: 1075-1082.
26. **Singh A, Bora P, Krishna A.** Direct action of adiponectin ameliorates increased androgen synthesis and reduces insulin receptor expression in the polycystic ovary. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 488(3): 509-515.
27. **Kos K, Harte AL, da Silva NF, Tonchev A, Chaldakov G, James S, et al.** Adiponectin and resistin in human cerebrospinal fluid and expression of adiponectin receptors in the human hypothalamus. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1129-1133.
28. **Morash BA, Wilkinson D, Ur E, Wilkinson M.** Resistin expression and regulation in mouse pituitary. *FEBS Letters* 2002; 526: 26-30.
29. **Niles LP, Lobb DK, Kang NH, Armstrong KJ.** Resistin expression in human granulosa cells. *Endocrine* 2012; 42 (3): 742-5.
30. **Rak A, Drwal E, Karpeta A, Gregoraszczyk EL.** Regulatory Role of Gonadotropins and Local Factors Produced by Ovarian Follicles on In Vitro Resistin Expression and Action on Porcine Follicular Steroidogenesis. *Biol Reprod* 2015; 92: 142.
31. **Spicer LJ, Schreiber NB, Lagaly DV, Aad PY, Douthitt LB, Grado-Ahuir JA.** Effect of resistin on granulosa and theca cell function in cattle. *Anim Reprod Sci* 2011; 124: 19-27.
32. **Chu Y, Cui Q, Feng G, Song Z, Jiang X.** The expression of resistin in adipose tissues of patients with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 642-645.
33. **Cioffi JA, Van Blerkom J, Antczak M, Shafer A, Wittmer S, Snodgrass HR.** The expression of leptin and its receptors in preovulatory human follicles. *Molecular Hum Reprod* 1997; 3: 467-472.
34. **Kawamura K, Sato N, Fukuda J, Kodama H, Kumagai J, Tanikawa H. et al.** Leptin promotes the development of mouse preimplantation embryos in vitro. *Endocrinology* 2002; 143: 1922-1931.
35. **Craig JA, Zhu H, Dyce PW, Wen L, Li J.** Leptin enhances porcine preimplantation embryo development in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 229: 141-147.
36. **Ryan NK, Woodhouse CM, Van der Hoek KH, Gilchrist RB, Armstrong DT, et al.** Expression of leptin and its receptor in the murine ovary: possible role in the regulation of oocyte maturation. *Biol Reprod* 2002; 66: 1548-1554.
37. **Lord E, Ledoux S, Murphy BD, Beaudry D, Palin MF.** Expression of adiponectin and its receptors in swine. *J Anim Sci* 2005; 83: 565-578.
38. **Caminos JE, Nogueiras R, Gallego R, Bravo S, Tovar S, Garcia-Caballero T. et al.** Expression and Regulation of Adiponectin and Receptor in Human and Rat Placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4276-4286.
39. **Greenfield JR, Campbell LV.** Insulin resistance and obesity. *Clin Dermatol* 2004; 22: 289-295.
40. **Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ.** The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365: 1415-1428.
41. **Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb R.** Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83: 461-477.
42. **Koleva DI, Orbetzova MM, Nyagolova PV, Konsoulova PS, Atanassova IB.** Resistin and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Endokrinologiya* 2016; 21 (4): 217-222.
43. **Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM. et al.** The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312.
44. **Lee JH, Bullen JW Jr, Stoyneva VL, Mantzoros CS.** Circulating resistin in lean, obese, and insulin-resistant mouse models: lack of association with insulinemia and glycemia. *Am J Physiol: Endocrinol Metab* 2005; 288: E625-E632.

Address for correspondence:

гоц. г-р Мирослава Варадинова, гм,

ул. Здраве 2, София 1431
Категра по Фармакология и Токсикология,
Медицински Факултет, МУ, София
e-mail: miria@abv.bg

Assoc. Prof. Miroslava Varadinova, MD, PhD,

2 Zdrave St, Sofia 1431
Department of Pharmacology and Toxicology,
Medical Faculty, MU, Sofia
e-mail: miria@abv.bg

Роля на GSTP1 Ile¹⁰⁵Val еднонуклеотидния полиморфизъм като рисков фактор за карцином на щитовидната жлеза

Иванова, Кони В.¹, Александрова, Елина А.^{1,2}, Игнатова, Мария Магдалена К.³, Влайкова, Татяна Ив.², Динкова, Красимира Ил.¹, Гълъбова, Мая В.¹

¹Катедра по Обща и Клинична Патология, Медицински Факултет, Тракийски Университет, Стара Загора

²Катедра по Химия и Биохимия, Медицински Факултет, Тракийски Университет, Стара Загора

³Студент, Медицински Факултет, Тракийски Университет, Стара Загора

Адрес за кореспонденция:

г-р Кони Иванова, дм

Катедра по Обща и клинична патология, Медицински Факултет, Тракийски Университет, Ул. Армийска 11; Стара Загора 6000

e-mail:koni_ivanova@yahoo.com

Резюме

Тиреоидният карцином (ТК) е един от най-честите малигнени заболявания в България. Механизмът на карциногенезата на щитовидната жлеза все още не е напълно изяснен, тъй като излагането на йонизиращо лъчение остава единственият ясен рисков фактор за това заболяване. Тъй като излагането на йонизиращо лъчение може да продуцира генетоксини, потенциално детоксикирани от глутатион S-трансферази, ние проведохме проучване тип случай-контрол за изследване ролята на еднонуклеотидния полиморфизъм (SNP) Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) при рак на щитовидната жлеза. Съответно, си поставихме за цел да анализираме ролята на еднонуклеотидния полиморфизъм в гена за GSTP1-Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) за риска от развитие на ТК.

Генотипирахме 49 пациенти с ТК и 133 контролни индивиди, които не са засегнати от ТК, използвайки метода PCR-RFLP. Установихме, че честотата на генотипа и алелите се различава значително между пациентите с ТК и контролните индивиди ($p < 0,0001$). Разпределението на генотипа определя 10,56 пъти по-висок риск (OR = 1,56, 95% CI: 4,05-27,40, $p < 0,0001$) на развиващи се тиреоидни карциноми в носители на генотипове вариант G алел (AG + GG) в сравнение с тези с AA генотип. По подобен начин, вариантите G алел е свързан с 2,60 пъти по-висок риск от ТК, отколкото по-често срещания алел A.

Нашите резултати показват, че GSTP1 може да увеличи податливостта към риска от заболяване и може да действа като рисков фактор за карцином на щитовидната жлеза.

Ключови думи: тиреоиден карцином, GSTP, полиморфизъм

Въведение

Карциномът на щитовидната жлеза е най-честото малигнено заболяване на органите на ендокринната система. Честотата на този тип тумори варира в широки граници според географското си разпространение и проследяването му през различни периоди. Тиреоидният карцином (ТК) представлява 1% от всички злокачествени заболявания и е един от десетте най-често срещани карциноми при жените. В Бълга-

рия обхваща около 2% от новодиагностицираните тумори (1).

Със задълбочаване познанията върху туморната биология, през последните няколко години все по-често се срещат убедителни доказателства, открити с помощта на имунохистохимични, електронномикроскопски, флуоресцентни, конфокални, както и молекулярно биологични анализи, за ролята на неоплазмено-асоциираните гени и кодираните от тях протеини в канцерогенезата. Обсъждат се различни патогенетични

механизми, лежащи в основата на канцерогенезата, както и различни фактори, които в резултат на експериментални и популационни изследвания се считат за повлияващи процеса. Полиморфизмите в гени, кодиращи структурата на ензими, участващи в биотрансформацията на канцерогени, са асоциирани с риска от развитие на тумори и следователно имат значение от гледна точка на общественото здравеопазване. Един от потенциалните гени, който може да повишава риска от канцерогенеза, е генът, кодиращ синтеза на ензима глутатион S-трансфераза- (GST- 1) (2-4). Полиморфизми в този ген водят до замяна на една аминокиселина с друга в състава на белтъчната молекула, а това се отразява на функционалността ѝ (5,6). Добре известна е ключовата роля на щитовидната жлеза в контрола на нивото на оксидативния стрес чрез ефектите на секретираниите от клетките ѝ хормони (3,7-9). В тази връзка вниманието на изследователите се фокусира върху гена, кодиращ структурата на GSTP1 изоензима.

В светлината на гореизложеното ние си поставихме за цел да анализираме ролята на еднонуклеотидния полиморфизъм в гена за GSTP1-Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) за риска от развитие на ТК.

Пациенти и методи

В периода 1998-2017 г. бяха изследвани общо 112 пациенти с карцином на щитовидната жлеза в лабораторията по Молекулярна патология на Катедрата по Обща и клинична патология, Съдебна медицина и Деонтология – Тракийски Университет, Медицински Факултет, Стара Загора. Геномна ДНК от пациентите беше екстрахирана след обработка на парафинови срези от биопсичния материал на 49 пациенти (средна възраст 53,28±12,764 г.) от изследваната група.

В контролната група участваха 133 индивиди, които не са засегнати от болестта от региона на Стара Загора, България. Една група от тях са с други заболявания: 36 пациента със артериална хипертония, 4 – с вибрационна болест, 5 – с исхемична болест на сърцето, 2 – с подагра и 10 – с хиперхолестеролемиа. Контролната група се състои от 79 мъже (59,4%) и 54 жени (40,6%) на средна възраст 48,47±16,1 г., като се започне от 18, до 85 години. Геномна ДНК от контролната група беше екстрахирана от кръв с търговски кит на принципа на колонната екстракция (Табл. 1).

Получените резултати бяха подложени на статистически анализ, извършен с помощта на статистическата програма SPSS for Windows Version 16 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). За всички използвани анализи, статистически достоверни различия бяха приети при ниво на значимост $p < 0,05$ и ниво на гаранционна вероятност 0,95.

При изготвянето на графичните изображения и таблици използвахме софтуерните продукти Microsoft Excel XP Microsoft и Word XP (Microsoft Corp., 2010, USA).

Генотипен анализ

Екстрахирана беше геномна ДНК от биопсична туморна тъкан от 49 пациенти с ТК, включени в парафин с помощта на ДНК кит за изолиране (GeneJet Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific). Екстрахираната ДНК е съхранявана при температура -200С до момента на използването ѝ. Концентрацията на получената ДНК е определена спектрофотометрично, използвайки NanoVue™ Spectrophotometer (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). Съотношението на абсорбциите при 260 nm срещу 280 nm се изчислява за оценка чистотата на ДНК пробите. Генотипирането по еднонуклеотидния полиморфизъм Ile¹⁰⁵Val (A313G) в GSTP1 (rs1695) беше проведено чрез прилагане на PCR-RFLP техника, описана от Harries et al. 1997.

Изследваните проби бяха генотипирани по еднонуклеотидния полиморфизъм Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) в GSTP1(rs1695). Анализът за определяне на генотиповете беше проведен чрез прилагане на PCR-RFLP техника, описана от (3). Като резултат от транзицията A?G в позиция 1578 в гена за GSTP1, във вариантния алел се появява рестрикционно място на ензима Alw261, което води до получаване на два фрагмента с големина съответно 91 и 85 нг. Хомозиготите по дивия тип GSTP1 алел (A/A) биват идентифицирани с една ивица с големина 176 нг, при хетерозиготите (A/G) се наблюдават три ивици – 176, 91 и 85 нг, а хомозиготите по вариантния алел (G/G) се идентифицират с две ивици от 91 и 85 нг, посочено на Фиг. 2. Специфичните праймери, P105F и P105R, амплифицират район от геномната ДНК с големина 176 нуклеотидни двойки (4).

Резултати

От проведените анализи установихме, че генотипните и алелните честоти се различават значително между пациентите с рак на щитовидната жлеза и контролните индивиди ($p < 0,0001$ и за двете) (Фиг. 1; Табл. 2). Разпределението на генотипа определя 10,56 пъти по-висок риск (OR = 1,56, 95% CI: 4,05 – 27,40, $p < 0,0001$) от развитие на рак на щитовидната жлеза в носители на вариантния G алел, съдържащ генотипове (AG + GG) в сравнение с хомозиготите по другия алел – AA генотип. Също така, вариантният G алел е свързан с 2,60 пъти по-висок риск за това злокачествено заболяване от по-често срещания A алел. При анализ на клинично-морфологични данни на пациентите с рак на щитовидната жлеза и генотипното разпре-

Таблица 1. Контролна група на пациенти участващи в изследването

Контролна група % (n=133)	
Доброволци	36 (27,07%)
Профилактични прегледи	40 (30,08%)
Артериална хипертония	36 (27,07%)
Вибрационна болест	4 (3,06%)
ИБС	5 (3,72%)
Подагра	2 (1,5%)
Хиперхолестеролемия	10 (7,5%)
Възраст	
средна възраст	48,47±16,1г.; min. 18г., max. 85г.
Пол	
Мъже	79 (59,4%)
Жени	54 (40,6%)

деление не се установи статистически значима корелация с клиничните характеристики и преживяемостта на пациентите.

Обсъждане

Резултатите от настоящото проучване сочат, че разпределението на генотипните и алелните честоти се различават значително между пациентите с рак на щитовидната жлеза и контролните индивиди ($p < 0,0001$). Генотипи-

те, съдържащи вариантния G алел (AG + GG), носят 10,56 пъти по-висок риск (OR = 1,56, 95% CI: 4,05 - 27,40, $p < 0,0001$) от развитие на рак на щитовидната жлеза, в сравнение с хомозиготите по другия алел- AA генотип. Също така, вариантният G алел е свързан с 2,60 пъти по-висок риск за това злокачествено заболяване от по-често срещания A алел.

Подобни резултати докладват Marciniak и съавт. през 2006 г. Авторите са изследвали група от 103 пациента с тиреоиден карцином и 53 здрави контроли, като не откриват статистически значима зависимост между разглеждания полиморфизъм и предразположеността към ТК (10-12). Сравнявайки, обаче, алелната честота между контролите и пациентите по отношение на възрастта, на която се отключва заболяването, авторите откриват, че при носителите на 105Val/Val генотипа е налице по-ранна възраст на заболяване ($p=0,05$), като средната възраст за този генотип е 41,1 г. (10,13). В друго проучване, Gaspar и съавт. също докладват за връзка между носителство на вариантния алел 105/Val с по-ранно отключване на заболяването ($p < 0,05$). Авторите (14-17) проучват влиянието на полиморфизми в гените за три изоформи на GST- GSTM1, GSTT1 и GSTP1 върху риска от ТК и установяват, че наличието на три рискови алела (нулевите GSTM1 и GSTT1, както и 105 Иле/Иле GSTP1) е свързано с 2,91 пъти по-висок риск от развитие на ТК и с 3,64 пъти по-висок риск от развитие на папилиферен ТК (18).

Фигура 1. Процентно съотношение между различните генотипи при пациентите и контролите.

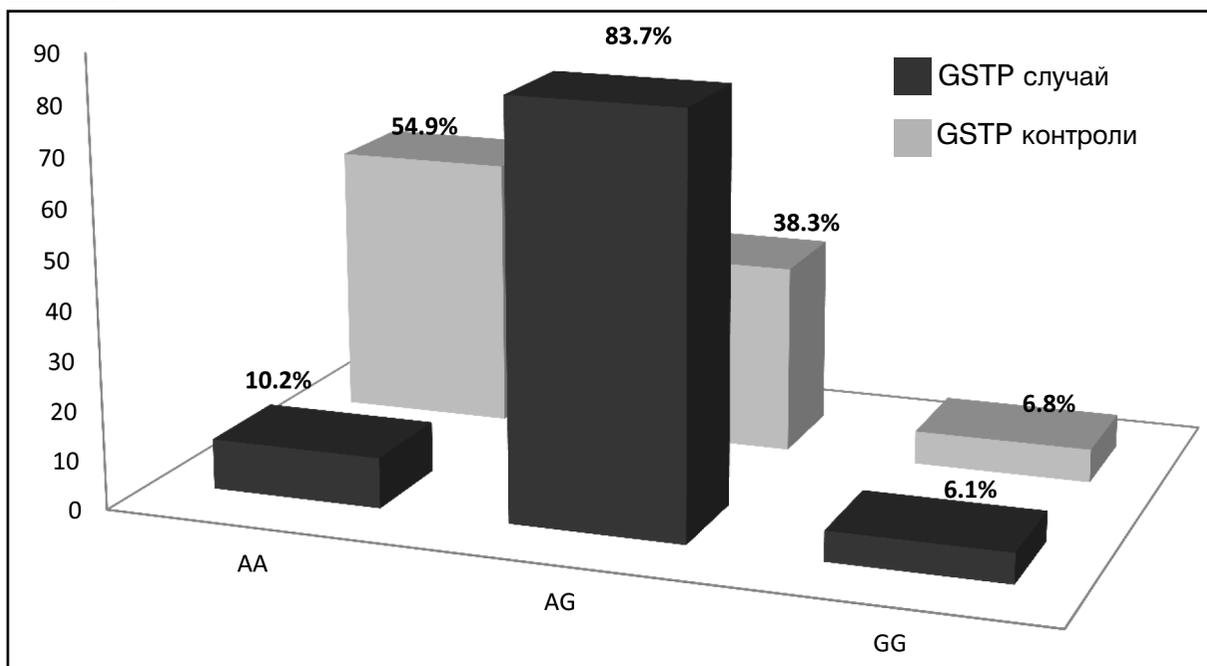
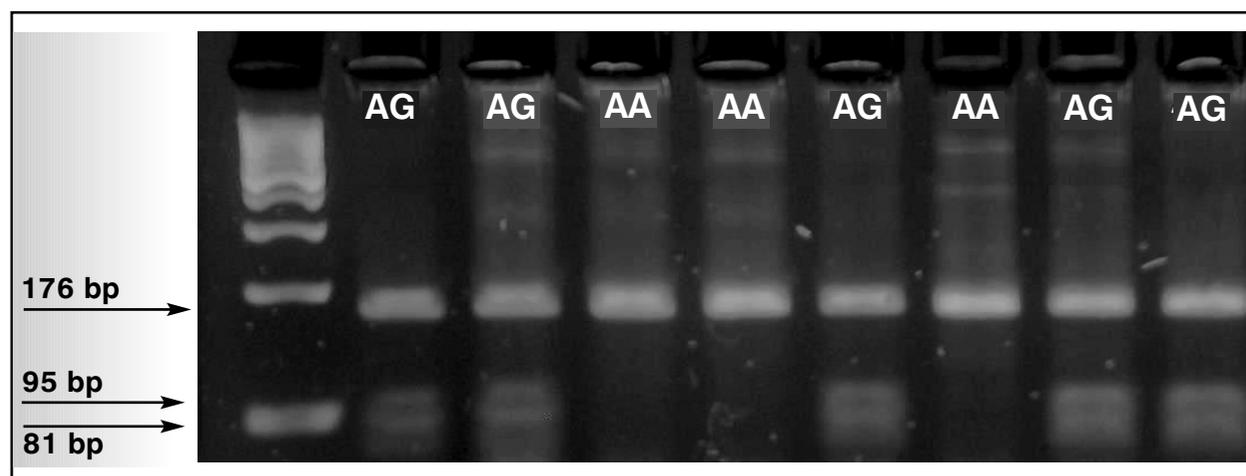


Таблица 2. Генотип и алелна честота на GSTP1 полиморфизъм между пациентите и контролите.

GSTP1 Генотип	Случаи		Контроли		OR (95% CI), p-value
	n	Честота	n	честота	
	n = 49		n = 133		
Честота на генотипа					
AA	5	0,27	73		1,0 (referent)
AG	41	0,49	51		11,737(4,066-36,437), p<0,0001
GG	3	0,23	9		4,867 (0759-30079), p=0,070
AG+GG	44	0,72	60		10,707(3,753-32,888), p<0,0001
Алелна честота					
A	51	0,52	197		1,0 (referent)
G	47	0,48	69		2,631 (1,580-4,385), p<0,0001

Получените резултати от честотата на генотипа при сравнение на туморите с контролите не е в еквилибриум на Харди-Вайнберг.

Фигура 2. Агарозна електрофореза на рестрикционните продукти при генотипиране на индивиди по отношение на A³¹³G (Ile¹⁰⁵Val) SNP в GST.



Публикуваните данни за асоциацията на този полиморфизъм с риска от развитие на ТК все пак са противоречиви, доколкото цитираните по-горе автори докладват за повишен риск от тиреоиден карцином, а в други проучвания (19-21) се съобщават напълно противоположни резултати.

За ролята на GST- ρ в развитието на злокачествени тумори с различен хистологичен произход сочат редица проучвания, установяващи повишена експресия и активност на ензима в резултат на генетични вариации (10-13). Експериментални проучвания показват, че високата експресия на GSTs в клетъчни култури повишава резистентността към различни цитогени лекарства (14,15). Подобни резултати сочат и някои клинични проучвания, доказващи асоциация-

та между нивото на експресия на GSTP и ефикасността или токсичността на противотуморната терапия (8, 16, 17). Високата активност и експресията на GST изоензимите, особено на GSTP, се оказва важен прогностичен фактор за туморната резистентност, за по-кратък безрецидивен период и по-кратка преживяемост при проучвания на онкологично болни с глиом, рак на стомаха, плоскоклетъчен карцином на шията, рак на щитовидната жлеза (22, 23).

Заклучение

Нашите резултати показват, че GSTP1 може да увеличи податливостта към риска от заболяване и може да действа като рисков фактор за карцином на щитовидната жлеза при лица от района на Стара Загора, България.

Role of GSTP1 Ile¹⁰⁵Val Single Nucleotide Polymorphism as a Risk Factor for Thyroid Carcinoma

Ivanova, Koni V.¹, Aleksandrova, Elina A.^{1,2}, Ignatova, Maria Magdalena K.³, Vlaykova, Tatyana Iv.², Dinkova, Krasimira Il.¹, Gulubova, Maya V.¹

¹Department of General and Clinical Pathology, Trakia University, Medical Faculty, Stara Zagora, Bulgaria

²Department of Chemistry and Biochemistry, Trakia University, Medical Faculty, Stara Zagora, Bulgaria

³Undergraduate students, Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagoragaria

Address for correspondence:

Koni Ivanova, MD, PhD

Department of General and Clinical Pathology, Medical Faculty, Trakia University,

Str. Armeiska 11, Stara Zagora 6000

e-mail: koni_ivanova@yahoo.com

Abstract

Thyroid carcinoma (TC) is one of the most frequently occurring endocrine malignancies in Bulgaria. The mechanism of thyroid carcinogenesis is still not fully elucidated, as the exposure to ionizing radiation remains the only clear risk factor for these diseases. Since exposure to ionizing radiation may produce genotoxins, potentially detoxified by glutathione S-transferases, we conducted a case-control study to explore the possible role of Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) GSTP1 single nucleotide polymorphism (SNP) in thyroid cancers. GSTP1 is a cytoplasm isoenzyme from the large family of phase II detoxifying enzymes which are able to bind reduced glutathione to a variety of exogenous and endogenous electrophilic compounds thus increasing their water-solubility and facilitating the elimination of the toxic compounds.

Accordingly, we conducted a case-control study to explore the possible role of a SNP in the GSTP1 gene - Ile¹⁰⁵Val (+315A>G) in a group of patients with TC. We have successfully genotyped 49 patients with TC and 133 non-affected by the disease controls from the region of Stara Zagora, Bulgaria using the PCR-RFLP method.

We found that the genotype and allele frequencies differed significantly between patients with TC and the control individuals ($p < 0,0001$). The genotype distribution determined a 10,56-fold higher risk (OR=1,56, 95% CI: 4,05 - 27,40, $p < 0,0001$) of developing thyroid cancers in carriers of variant G allele containing genotypes (AG+GG) compared to those with AA genotype. Similarly, the variant G allele was associated with a 2,60-fold higher risk for this malignancy than the more common A allele. The genotype distribution was not associated with clinical characteristics and survival of the patients with TC.

Our results suggest that the studied polymorphism in the GSTP1 gene could increase disease risk susceptibility and could act as a risk factor for thyroid carcinoma in individuals from the region of Stara Zagora, Bulgaria.

Key words: thyroid cancers, GSTP1, polymorphism, susceptibility

Introduction

Cancers of the thyroid gland occur with the highest frequency among all endocrine malignancies. The distribution of the disease varies according to the geographic location and the timespan of the patients' surveillance. TC accounts for around 1% of all other tumors and is among the ten most diagnosed tumors

among women. In Bulgaria TC comprises about 2% of newly diagnosed tumors (1).

As increasing amount of recent evidence in the field of tumor biology applying immunohistochemical, electron microscopic, fluorescence, confocal and molecular biology assays suggest a role of cancer associated genes and their encoded proteins in the processes involved in neoplastic transformation.

Various pathogenetic mechanisms underlying carcinogenesis are discussed, as well as various factors that, as a result of experimental and population research, are considered to be influencing the process. Polymorphisms in genes coding for the structure of enzymes involved in the biotransformation of carcinogens are associated with the risk of tumors and are therefore important from a public health point of view.

One of the potential genes that may modulate the risk of carcinogenesis is the gene coding for the enzyme glutathione S-transferase (GST-p1) (2-4). Polymorphisms in this gene result in substitution of one amino acid with another in the protein molecule, and this affects its functionality (5,6). The key role of the thyroid gland in controlling the level of oxidative stress is well known through the effects of hormone-secreted hormones (3,7-9). In this regard, the researchers' attention focuses on the gene coding for the structure of the GST-p1 isoenzyme.

Patients and methods

A total of 49 cases with TC diagnosed between 1998 and 2017 were studied at the Laboratory of Molecular Pathology at the Department of General and Clinical Pathology, Forensic Medicine and Deontology, Trakia University, Medical Faculty – Stara Zagora, Bulgaria. Genomic DNA was extracted from formalin-fixed paraffin embedded biopsy tissue with a commercially available DNA extraction kit. The control group consisted of 133 individuals unaffected by TC, although several other conditions were observed among the controls: 36 individuals had arterial hypertension, 4 – vibration disease, 5 – ischemic heart disease, 2 gout and 10 had hypercholesterolemia. The control group consisted of 79 men (59,4%) and 54 (40,6%) women with a mean age of $48,47 \pm 16,1$, ranging from 18 to 85 years. Genomic DNA from the control group was extracted from blood with a commercially available DNA extraction kit (Table 1).

The results obtained were subjected to a statistical analysis performed via statistical software SPSS for Windows Version 16 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). For all analyzes statistically significant differences were assumed at a significance level of $P < 0,05$ and a confidence interval of 0,95. We used Microsoft Excel XP and Microsoft Word XP (Microsoft Corp., 2010, USA) software products to draw graphical images and tables.

Genotyping

Genomic DNA was extracted from formalin-fixed paraffin embedded biopsy tumor tissue from 49 TC patients using a commercially available kit (GeneJet Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific). Extracted DNA was stored at -20°C until used. The concentration of DNA obtained was determined spectrophotometrically on a NanoVue™ Spectropho-

tometer (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). The absorbance ratio at 260 nm versus 280 nm was calculated to assess the purity of the DNA samples.

Genotyping of the Ile105Val (A313G) single nucleotide polymorphism in GSTP1 (rs1695) was performed via the PCR-RFLP technique as previously described by Harries et al. (3). The specific primers, P105F and P105R, amplified a genomic DNA region of 176 nucleotide pairs (4). As a result of the $A \rightarrow G$ transition at position 1578 in the GSTP1 gene, a restriction site of Alw26I enzyme appears in the presence of the variant G-allele, resulting in two fragments of 91 and 85 bp. The homozygotes for the wild-type GSTP1 allele (A/A) were identified by 91 bp and 85 bp and the homozygotes of the variant allele (G/G) were identified by two bands of 91 bp and 85 bp.

Results

We found that genotype and allelic frequencies differed significantly between patients with thyroid cancer and control subjects ($P < 0,0001$ for both) (Fig. 1, Table 2). The genotype distribution determines a 10,56-fold higher risk ($OR = 1,56$, 95% CI: 4,05-27,40, $P < 0,0001$) of thyroid cancer for the carriers of the variant G allele (AG + GG genotypes) compared to homozygotes for the other allele-AA genotype. Also, the variant G allele was associated with a 2,60-fold higher risk for this malignancy than the more common A allele. There was no statistically significant correlation with the clinical characteristics and survival of patients.

Discussion

Our results indicate that the distribution of genotype and allelic frequencies differed significantly between TC patients and control subjects ($P < 0,0001$). Genotypes containing the variant G allele (AG + GG) carry a 10,56-fold higher risk ($OR = 1,56$, 95% CI: 4,05-27,40, $P < 0,0001$) of thyroid cancer compared to the homozygotes for the other allele-AA genotype. Also, the variant G allele is associated with a 2,60-fold higher risk for this malignancy than the more common A allele.

Similar results were reported by Marciniak et al. in 2006 (10). The authors studied a group of 103 patients with thyroid carcinoma and 53 healthy controls but did not reach a statistically significant association between the studied polymorphism and the risk for the development of TC (10-12). However, the distribution of allele frequencies revealed that the 105 Val / Val genotype carriers had an earlier age of disease onset ($P = 0,05$), with the mean age for that genotype being 41,1 years (10-13). Another study by Gaspar et al. also reported association between the carriers of 105 / Val allele and earlier disease onset ($P < 0,05$). The authors (14-17) studied the effect of polymorphisms in the genes for three isoforms of GST-GSTM1, GSTT1

Table 1.

Control group of patients participating in the study

Control group % (n=133)	
Volunteers	36 (27,07%)
Prophylactic examinations	40 (30,08%)
Arterial hypertension	36 (27,07%)
Vibrational disease	4 (3,06%)
IHD	5 (3,72%)
Gout	2 (1,5%)
Hypercholesterolemia	10 (7,5%)
Age	
Median age	48,47±16,1 years; min. 18y., max. 85y.
Gender	
Male	79 (59,4%)
Female	54 (40,6%)

and GSTP1 with respect to the risk of TC and found that the presence of three alleles (zero-GSTM1 and GSTT1, as well as 105 Ile / Ile GSTP1) was associated with a 2,91-fold higher risk for TC and a 3,64-fold higher risk for developing papillary TC (18).

Published data on the association of this polymorphism with the risk of developing TC are still controversial as the authors cited above report an increased risk of thyroid carcinoma, and other studies (19-21) reported completely opposite results.

The role of GST-pi in the development of malignant tumors of different histological origins is indicated by a number of studies that demonstrate increased expression and activity of the enzyme as a result of genetic variations (10-13). Higher expression of GSTs in cell cultures was shown to increase the resistance to various drug cytogens (14,15). Similar results have been shown in some clinical trials demonstrating the association between the level of expression of GSTP and the efficacy or toxicity of antitumor therapy (8, 16, 17). The high activity and expression of GST isoenzymes, especially GSTP, appears to be an important prognostic factor for tumor resistance, for shorter period of lack of recidivisms and shorter survival in studies involving patients with glioma, stomach cancer, squamous cell carcinoma of the neck, thyroid cancer (22,23).

Conclusion

In conclusion, the results of our study indicate that GSTP1 might be a risk factor for the development of TC for subjects from the region of Stara Zagora, Bulgaria.

Figure.1. Percentage ratio of different genotypes in patients and controls

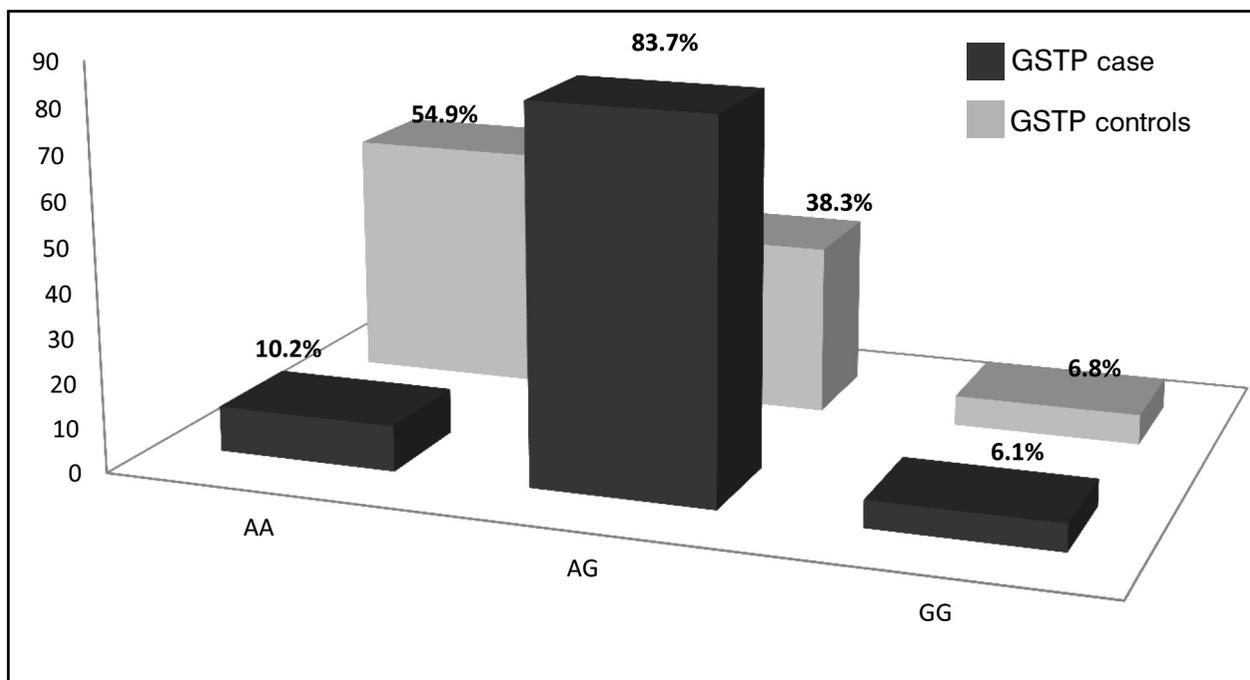
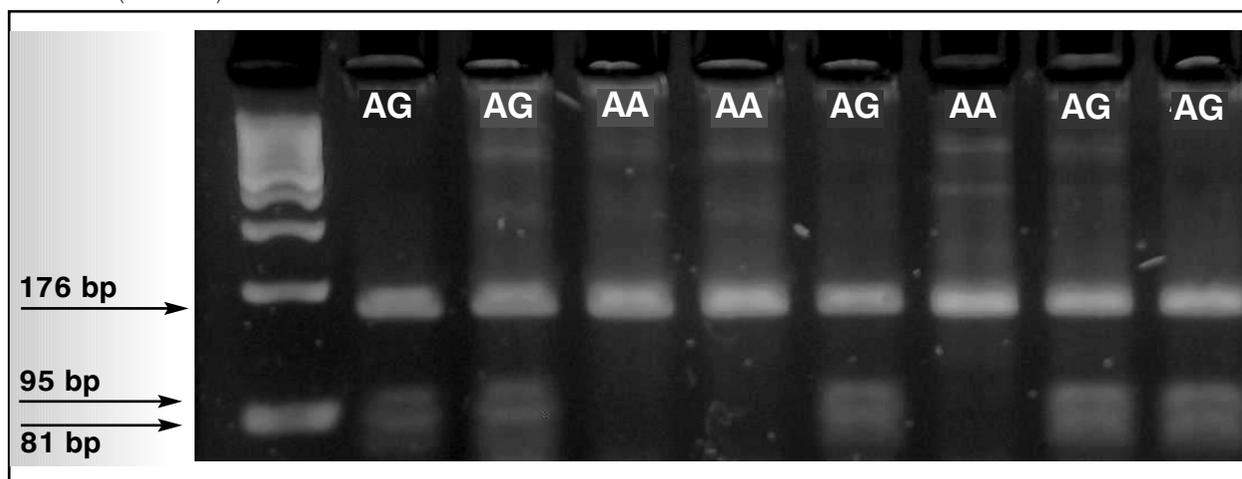


Table 2. Genotype and allele frequency of GSTP1 polymorphism between patients and controls.

GSTP1 Genotype	Case		Control		OR (95% CI), p-value
	n	Frequency	n	Frequency	
	n = 49		n = 133		
Frequency of genotype					
AA	5	0,27	73	1,0 (referent)	
AG	41	0,49	51	11,737(4,066-36,437), p<0,0001	
GG	3	0,23	9	4,867 (0759-30079), p=0,070	
AG+GG	44	0,72	60	10,707(3,753-32,888), p<0,0001	
Allele frequency					
A	51	0,52	197	1,0 (referent)	
G	47	0,48	69	2,631 (1,580-4,385), p<0,0001	

The results obtained from the frequency of the genotype in comparison with the tumors and controls are not in equilibrium of Hardy-Weinberg.

Figure 2. Agarose electrophoresis of restriction products in genotyping individuals with respect to A313G (Ile¹⁰⁵Val) SNP in GST.

References

- Petkov R, Mikhailov N, Todorov G, Mladenovski V, Goranov N. Retrospective analysis of the results of surgical treatment of 407 patients with differential thyroid gland cancer over a period of 23 years. *Khirurgija* 2004; 60(2):18-21.
- Siraj AK, Ibrahim M, Al-Rasheed M, Abubaker J, Bu R, Siddiqui SU, et al., Polymorphisms of selected xenobiotic genes contribute to the development of papillary thyroid cancer susceptibility in Middle Eastern population. *BMC Med Genet* 2008; 9:61. doi: 10.1186/1471-2350-9-61.
- Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GC, Wolf CR. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997; 18: 641-644.
- Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45:51-88. DOI:10.1146/annurev.pharmtox.45.120.403.095857.
- Dimov D, Vlaykova T. Polymorphisms of genes encoding antioxidant- and xenobiotic-metabolizing enzymes in Bronchial asthma and COPD - Part I. *Allergy and hypersensitivity, asthma* 2009; 6(1): 22-30 (Димов Д, Влайкова Т. Полиморфизми на гени кодиращи антиоксидантни ензими и метаболизма на ксенобиотиците при бронхиална астма и ХОББ - част I. Алергия и хиперсензитивност, астма 2009; 6(1):22-30) (In Bulgarian).
- Vlaykova T, Gulubova M, Yovchev Y, Dimov D, Vlaykova D, Chilingirov P, et al. Glutathione-S-Transferases in Development, Progression and Therapy of Colorectal Cancer, Colorectal Cancer Biology - From Genes to Tumor. InTech 2012: 81-106. *Rajunor Ettarh (Ed.)*, ISBN: 978-953-51-0062-1.
- McIlwain CC, Townsend DM, Tew KD. Glutathione S-transferase polymorphisms: cancer incidence and therapy. *Oncogene* 2006; 25(11): 1639-1648. DOI:10.1038/sj.onc.1209373.

8. **Laborde E.** Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. *Cell Death Differ* 2010; 17, 1373-1380. DOI:10.1038/cdd.2010.80.
9. **Vasieva O.** The many faces of glutathione transferase pi. *Curr Mol Med* 2011; 11: 129-139.
10. **Marciniak P, Drobnik K, Ziemnicka K, Gut P, Slomski R, Sowinski J.** Transferase S-glutathione class pi gene (GSTP1) polymorphism in thyroid cancer patients. *Endokrynol Pol* 2006; 57(5): 509-515.
11. **Harshbarger W, Gondi S, Ficarro SB, Hunter J, Udayakumar D, Gurbani D, et al.** Structural and Biochemical Analyses Reveal the Mechanism of Glutathione S-Transferase Pi 1 Inhibition by the Anti-cancer Compound Piperlongumine. *J Biol Chem* 2017; 292(1): 112-120. doi: 10.1074/jbc.M116.750299.
12. **Sau A, Pellizzari Tregno F, Valentino F, Federici G, Caccuri AM.** Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Arch Biochem Biophys* 2010; 500:116-122.
13. **Townsend DM, Manevich Y, He L, Hutchens S, Pazoles CJ, Tew KD.** Novel role for glutathione S-transferase pi. Regulator of protein S-Glutathionylation following oxidative and nitrosative stress. *J Biol Chem* 2009; 284: 436-445. DOI:10.1074/jbc.M805586200.
14. **Economopoulos KP & Sergentanis TN.** GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and colorectal cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Eur J Cancer* 2010; 46, 1617-1631. DOI:10.1016/j.ejca.2010.02.009.
15. **Mergani A, Mansour AA, Askar T, Zahran RN, Mustafa AM, Mohammed MA, et al.** Glutathione S-Transferase P-Ile 105 Val Polymorphism and Susceptibility to T2DM in Population from Turabah Region of Saudi Arabia. *Biochem Genet* 2016; 54(4):544-551. doi: 10.1007/s10528-016-9740-2.
16. **Siegel R, Naishadham D, Jemal A.** Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62(1):10-29. doi: 10.3322/caac.20138.
17. **Ron E, Lubin JH, Shore RE, Mabuchi K, Modan B, Pottern LM, et al.** Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies. *Radiat Res* 2012; 178(2):AV43-60.
18. **Gaspar J, Rodrigues S, Gil OM, Chang DZ, Abbruzzese JL, Evans DB, et al.** Combined effects of glutathione S-transferase polymorphisms and thyroid cancer risk. *Cancer Genet Cytogenet* 2004; 151: 60-67.
19. **Hayes JD, Pulford DJ.** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995; 30(6): 445-600.
20. **Ozerkan K, Atalay MA, Yakut T, Doster Y, Yilmaz E, Karkucak M.** Polymorphisms of glutathione-s-transferase M1, T1, and P1 genes in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2013; 34(1): 42-47.
21. **Halkova T, Dvorakova S, Sykorova V, Vaclavikova E, Vcelak J, Vlcek P, et al.** Polymorphisms in selected DNA repair genes and cell cycle regulating genes involved in the risk of papillary thyroid carcinoma. *Cancer Biomark* 2016; 17(1): 97-106. doi: 10.32 33/CBM-160622.
22. **Vodusek AL, Goricar K, Gazic B, Dolzan V, Jazbec J.** Antioxidant defence-related genetic variants are not associated with higher risk of secondary thyroid cancer after treatment of malignancy in childhood or adolescence. *Radiol Oncol* 2016; 50(1): 80-86.
23. **Reban M, Reban A.** Molecular genetics of thyroid cancer. *Genet Res (Camb)* 2016; 98:e7. doi: 10.1017/S001 667231 6000057.

www.endotext.org

- ✓ Свободно достъпен сайт, предлагащ изчерпателна информация във всички области на клиничната ендокринология, предоставена от екип водещи световни специалисти ръководен от Prof. Leslie De Groot (САЩ).
- ✓ Поместваните материали, текущо актуализирани, са съобразени със съвременните международни стандарти за диагностика и лечение на ендокринните заболявания

Въздействие на усложненията върху свързано със здравето качество на живот при пациенти със захарен диабет тип 2

Левтерова, Боряна А.¹, Орбецова, Мария М.², Димитрова, Донка Д.¹, Левтеров, Георги Е.³

¹ Катедра по Здравен мениджмънт и икономика на здравеопазването, Факултет по обществено здраве, МУ, Пловдив

² Клиника/Секция по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Георги“, Медицински факултет, МУ, Пловдив

³ АСИП МДЦ „Каспела“, УМБАЛ „Каспела“

Адрес за кореспонденция:

Д-р Боряна А. Левтерова,

Катедра по Здравен мениджмънт и икономика на здравеопазването, Факултет по обществено здраве, МУ, Пловдив

Пловдив - 4000, ул. „Васил Априлов“ №15А,

e-mail: boriana_levterova@abv.bg

Резюме

Захарният диабет тип 2 (ЗДТ2) е хронично метаболитно заболяване и заедно с неговите усложнения представлява сериозен медицински, социален и икономически проблем. Целта на настоящото проучване е да измери въздействието на усложненията и прилаганата терапия върху качеството на живот, свързано със здравето, при пациенти със ЗДТ2.

Материали и методи: Проведе се срезово анкетно проучване сред 540 пациенти със ЗДТ2. Качеството на живот се оцени с българската версия на Одит на зависимостта от диабета качество на живот.

Резултати: ЗДТ2 оказва отрицателно въздействие върху „настоящото“ качество на живот при 36,7% от участниците. Общо 95,5% вярват, че качеството им на живот би било по-добро, ако нямат диабет. Пациентите с дългосрочни усложнения съобщават за по-лошо „настоящо“ качество на живот (по-голямо отрицателно въздействие) от тези без усложнения ($p = 1,13$, $p = 0,007$). Пациентите на инсулин отчитат по-силно негативно въздействие в домейна „качество на живот без диабет“ ($p = 0,98$, $p = 0,048$).

Заклучение: Присъствието на дългосрочни усложнения се свързва с понижени резултати във всички аспекти на качеството на живот при пациентите със ЗДТ2. Пациентите с голяма давност на заболяването, с дългосрочни усложнения и на терапия с инсулин се нуждаят от персонализиран подход и подкрепа, предоставяни от мултидисциплинарен екип, за да управляват оптимално своето състояние. Правилното управление на диабета е един от основните начини за повишаване качеството на живот на тези пациенти.

Ключови думи: захарен диабет тип 2, усложнения, Свързано със здравето качество на живот, Одит на зависимостта от диабета качество на живот

Въведение

Захарният диабет тип 2 (ЗДТ2) е хронично метаболитно заболяване и заедно с неговите усложнения представлява сериозен медицински, социален и икономически проблем. Според Меж-

дународната Диабетна Федерация (International Diabetes Federation, IDF) над 425 мил. души по света са със захарен диабет, като се очаква броят им да достигне 629 милиона през 2045 г. (1). Около 91% от тези пациенти са със ЗДТ2. Основни причини за повишената заболеваемост се отнасят до нездравословно хранене, ниска физическа

активност, увеличаване честотата на наднорменото телесно тегло и затлъстяване (2-4).

В дългосрочен план диабетът причинява микроваскуларни усложнения (ретинопатия и невропатия) и макроваскуларни усложнения (в т.ч. инфаркт на миокарда, ангина пекторис, инсулт). В допълнение към усложненията, свързани с диабета, епизодите на хипогликемия, страхът от хипогликемия, промяната в начина на живот и страхът от дългосрочни последици могат да доведат до намаляване на качеството на живот, свързано със здравето (Health-related quality of life, HRQoL). Хората с диабет съобщават за по-лошо качество на живот в сравнение с тези без диабет от същата възрастова група в общата популация (5), както и в сравнение с лицата с други хронични заболявания (6). Качеството на живот, свързано със здравето, намалява още повече при наличие на диабетни усложнения (7-9). Проучванията показват, че диабетът има отрицателно въздействие върху общата самооценка за здравен статус и качество на живот и води до редица нежелани резултати, включително повишена смъртност (10, 11).

Качеството на живот свързано със здравето „обхваща широка гама от физически и психологични характеристики и ограничения, които описват индивидуалната способност на човек да функционира и получава задоволство от това“, т.е. това, което стеснява обхвата само до аспектите от функционирането, директно свързани със заболяването и/или медицинското лечение (12). HRQoL е понятие с измерим изход и представлява важен показател за прогнозиране на преживяемостта, резултата от лечението или изхода от различни здравни интервенции.

Съществуват 3 основни подхода за описание и измерване на качеството на живот, свързано със здравето: *специфични за заболяването инструменти, генерични (общи) инструменти и мерки за полезност (utility)*. Използваните методи за оценка най-често включват преки анкети, преки наблюдения, интервюта при използване на въпросници за самооценка. Създадени са и се използват многобройни специфични въпросници за измерване HRQoL при диабет (6,13-15). Индикаторите за качество на живот помагат да се оцени въздействието на болестта и нейното лечение върху физическото и психологическото здраве, социални и соматични области на функциониране и благополучие. Измерването на HRQoL при захарен диабет може да идентифицира подгрупи лица с по-лоша самооценка за здравето и да помогне за насочване на интервенциите за подобряване на положението им и предотвратяване на по-сериозни последици. Ма-

кар медицинската наука да позволява измерването на много физически, физиологични или биохимични показатели, тя не е в състояние да предостави цялата информация относно заболяването или назначеното лечение. Тези данни могат да бъдат получени само от пациента (16).

Пациент-центрираният подход придобива все по-широко разпространение в медицинската практика и клиницистите/изследователите се нуждаят от начин за подпомагане вземането на информирани решения за оказваните здравни услуги. Оценката на пациента за ефекта от здравната интервенция има по-голямо значение за бъдещото управление на болестта, отколкото всички други резултати, както клинични, така и физиологични, или съобщени от лекуващите клинични екипи (6).

Целта на настоящото проучване е да измери въздействието на усложненията и прилаганата терапия върху качеството на живот, свързано със здравето, при пациенти със ЗДТ2.

Материал и методи

Проучването е одобрено от Комисията по Научна Етика на Медицински университет - Пловдив. Всички поканени лица са дали своето писмено съгласие, преди да се включат в проучването. При необходимост от помощ за попълване на въпросника, последната е предоставяна от лекарите, които са обучени да използват въпросника.

Подходящите участници са избрани на случаен принцип от общия брой пациенти с диагностициран ЗДТ2 в 9 специализирани практики, намиращи се в област Пловдив, България. Лицата, които отговарят на критериите за включване и изключване, са поканени за участие в проучването (Таблица 1).

В проведеното срезово анкетно проучване са включени 540 участници с клинично доказан ЗДТ2 (17, 18). Основна демографска информация, социално-демографски характеристики, медицинска история и давност на ЗДТ2, гликемичен контрол и съществуващи усложнения са получени от медицинската документация и оригиналната анкетна карта.

С лицата, отговарящи на включващи и изключващи критерии, е осъществен личен контакт и са поканени да участват в проучването. Пациентите, изявили желание да участват, са информирани от лекаря си за целите, съдържанието и поверителността, свързани с участието им в проучването, и са предоставили своето писмено информирано съгласие.

Участниците са помолени да попълнят българската версия на ADDQoL-19 и анкета с допъл-

нителни социално-демографски въпроси. Данни относно терапия, съпътстващи заболявания и лабораторни резултати са взети от медицинската документация. HRQoL е измерено чрез специфичен инструмент *Одит на зависимо от диабета качество на живот (Audit of Diabetes Dependent QoL, ADDQoL-19)* – валидирана версия за България. Одит на зависимо от диабета качество на живот е създаден и развит от проф. Брадли и колеги през 1999 (13). Този въпросник има за цел изчерпателно да измери специфичното за диабета качество на живот, като оцени как индивидите възприемат своето заболяване и как то влияе на благополучието им в различни аспекти на живота (14). ADDQoL започва с 2 въпроса, оценяващи „настоящо качество на живот“ и „диабет-зависимо качество на живот QoL“. Първият въпрос оценява общо качеството на живот – „Като цяло, качеството ми на живот в момента е“: (отлично/много добро/добро/нито добро, нито лошо/лошо/много лошо/изключително лошо). Оценява се по скала от +3 (отлично) до -3 (изключително лошо). Вторият въпрос изследва глобалното въздействие на диабета върху качеството на живот (диабет-зависимо качество на живот) – „Ако нямах диабет, моето качество на живот щеше да бъде“: (значително по-добро/много добро/малко по-добро/същото/по-лошо). Този домейн се оценява от +1 (максимален позитивен ефект от ЗД) до -3 (максимално негативно въздействие на ЗД). Двата елемента се оценяват отделно. Следват 19-те специфични области, които изследват:

а) как диабетът засяга тази област и

б) колко е важна тази област за качеството на живот.

Индивидуалните въпроси са формулирани така: „Ако нямах диабет, (конкретна област от живота) щеше да бъде“: (значително по-добро/много по-добро/малко по-добро/същата/по-лоша). Въздействието за всяка област се оценява по 5-точкова скала на въздействие от -3 (максимално отрицателно въздействие на диабета) до +1 (максимално положително въздействие на диабета). След това респондентът посочва колко е важна тази област за него (много важна, важна, доста важна или не е важна изобщо (+3 до 0)). От тези 19 области 5 имат опцията „неприложимо“, т.е. пациентът може да посочи дали дадена област е приложима към неговото състояние или не. Претегленият резултат за всеки домейн се изчислява, като се умножи оценката на въздействието (рейтинг на въздействие) по оценката за важността (рейтинг на важност). Оценката за средно претегления показател (AWI) се получава чрез добавяне на тези претеглени оценки за всяка област и се разделя на броя на

приложимите домейни. AWI варира от -9 (максимално отрицателно въздействие) до +3 (максимално положително въздействие). Накрая, средно претегленият резултат (ADDQoL скор) се изчислява за цялата скала във всички приложими области. По-нисък резултат съответства на по-лошо качество на живот (13,19,20). ADDQoL-19 оценява индивидуалните възприятия на пациента за въздействието на диабета върху различни области от качество му на живот (13).

Българската версия на въпросника показва добри психометрични свойства (21) и е достъпна на сайта на авторите (<http://www.healthpsychologyresearch.com/find-a-questionnaire/audit-diabetes-dependent-quality-life-39>).

Обработката и анализът на данните са извършени със статистически пакет SPSS версия 17,0 (Chicago, IL, USA). Данните са показани като средна аритметична и стандартно отклонение (SD), освен ако не е посочено друго. Използвани са методи на описателната статистика, параметричен и непараметричен анализ. За ниво на значимост е прието $p < 0,05$, при интервал на доверителност 95%.

Резултати

Набрани са 540 лица със ЗДТ2. От тях 423 върнаха попълнени анкетни карти и след като бяха изключени картите с непълни данни, в крайния анализ са включени общо 411 пациенти. Демографските и клиничните характеристики на изследваната популация са представени в Таблица 2. Средната възраст на участниците е 59,92 ± 11,60 г.; 52,60 % (N=216) са мъже.

Продължителността на диабета на участниците е средно 10,3 ± 3,8 г., средната стойност на HbA_{1c} е 8,1 ± 0,85%, а индексът на телесна маса (ИТМ) е 30,9 ± 5,50 кг/м². Близко 61,3% от участниците в проучването са на перорално антидиабетно лечение, други 11,19% са на лечение с инсулин. По отношение на усложненията на диабета: 45,7% имат ИБС, 28,7% – мозъчно-съдово заболяване, 14,4% – ретинопатия, 92% – невропатия и 8% – нефропатия (Табл. 2).

ЗДТ2 оказва отрицателно въздействие върху настоящото качество на живот при 36,7% от участниците. Общо 95,5% вярват, че качеството им на живот би било по-добро, ако нямат диабет. Пациентите с „5 и повече години“ давност на заболяването имат по-ниска оценка за настоящо качество на живот от тези с по-малка давност. Участниците, които аплицират инсулин, тези с диабетни усложнения и с наднормено тегло/затлъстяване имат по-ниски показатели за качество на живот от участниците на перорална терапия, тези без диабетни усложнения и с нормално тегло. Само в групата

Таблица 1.

Критерии за включване и изключване в проучването

Критерии за включване	Критерии за изключване
Над 18-годишна възраст Диагностициран захарен диабет тип 2 (МКБ-10: E11-E14)	Тежки остри психични разстройства и геменция Злокачествени неоплазми и текуща химиотерапия или лъчетерапия Непреодолими езикови и комуникационни проблеми Спешни случаи

Таблица 2. Извадкови характеристики на участниците в проучването (N=411)

Социо-демографски променливи		
Възраст (SD)	59,92	11,60
Пол (мъжки) (%)	216	52,55
Населено място (град) (%)	292	71,05
Семейно положение (семеен/а) (%)	271	65,94
Медицински аспекти		
Фамилна обремененост (га) (%)	230	55,96
Тютюнопушене (га) (%)	99	24,09
Давност на диабета (≥ 5 г.) (%)	244	59,37
BMI (kg/m ²) (SD)	30,86	5,50
HbA _{1c} (%) (SD)	8,08	0,85
Инсулин (га) (%)	46	11,19
Усложнения (га) (%)	379	92,21
Диабетна ретинопатия (га) (%)	59	14,36
Диабетна невропатия (га) (%)	378	91,97
Диабетна нефропатия (га) (%)	33	8,03
Диабетно стъпало (га) (%)	15	3,65
Сърдечно-съдово заболяване (га) (%)	188	45,74
Мозъчно-съдова болест (га) (%)	118	28,71

*BMI = Индекс на Телесна Маса;

**HbA_{1c} = Хемоглобин A_{1c} (Гликиран хемоглобин)

на участниците с наднормено тегло/затлъстяване резултатите не са статистически значими.

Установена е обратна корелация между наличието на диабетни усложнения и оценката за „настоящо качество на живот“. Пациентите с налични усложнения съобщават за по-лошо настоящо качество на живот (по-голямо отрицателно въздействие) от тези без усложнения ($\rho = -1,13$, $\rho = 0,007$). Пациентите на лечение с инсулин съобщават за по-голямо отрицателно въздействие върху домейна „качество на живот без диабет“ ($\rho = -0,98$, $\rho = ,048$).

Оценката на въздействието на ЗДТ2 върху домейните

„настоящо качество на живот“, „качество на живот без диабет“ и средно претеглена оценка на въздействие „AWI-показател“ при пациентите с усложнения и без усложнения, са показани на *Фигура 1*.

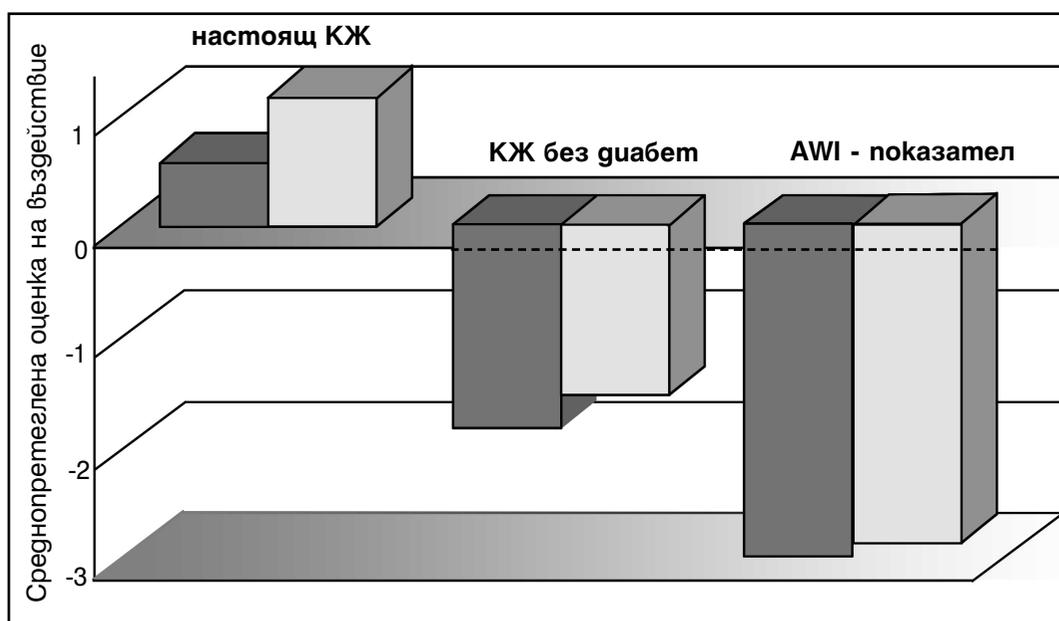
Когато средната претеглена оценка на въздействие е взета под внимание има статистически значима обратна корелация между качеството на живот и наличие на диабетни усложнения ($\rho < 0,01$). Пациентите с усложнения отчитат по-ниско качество на живот във всички 19 изследвани области, като разликата е статистически значима за 4 от домейните, а именно „работен живот“ ($\rho < 0,05$), „физически сили“ ($\rho < 0,05$), „усещане за бъдещето“ ($\rho < 0,05$) и „независимост (нужда от чужда помощ)“ ($\rho < 0,001$).

На *Фигура 2* е показано въздействието на диабета при пациенти, лекувани с инсулин и тези без инсулинотерапия. Установява се по-силно негативно въздействие в 17 от 19-те изследвани области, като разликата е статистически значима за 5 от елементите – „свободно време“, „физически сили“, „приятелства и социален живот“, „свобода на хранене“ и „свобода на пиене“ ($\rho < 0,05$). Пациентите на терапия с инсулин имат по-нисък AWI показател (-3,08), в сравнение с тези на перорална терапия.

Обсъждане:

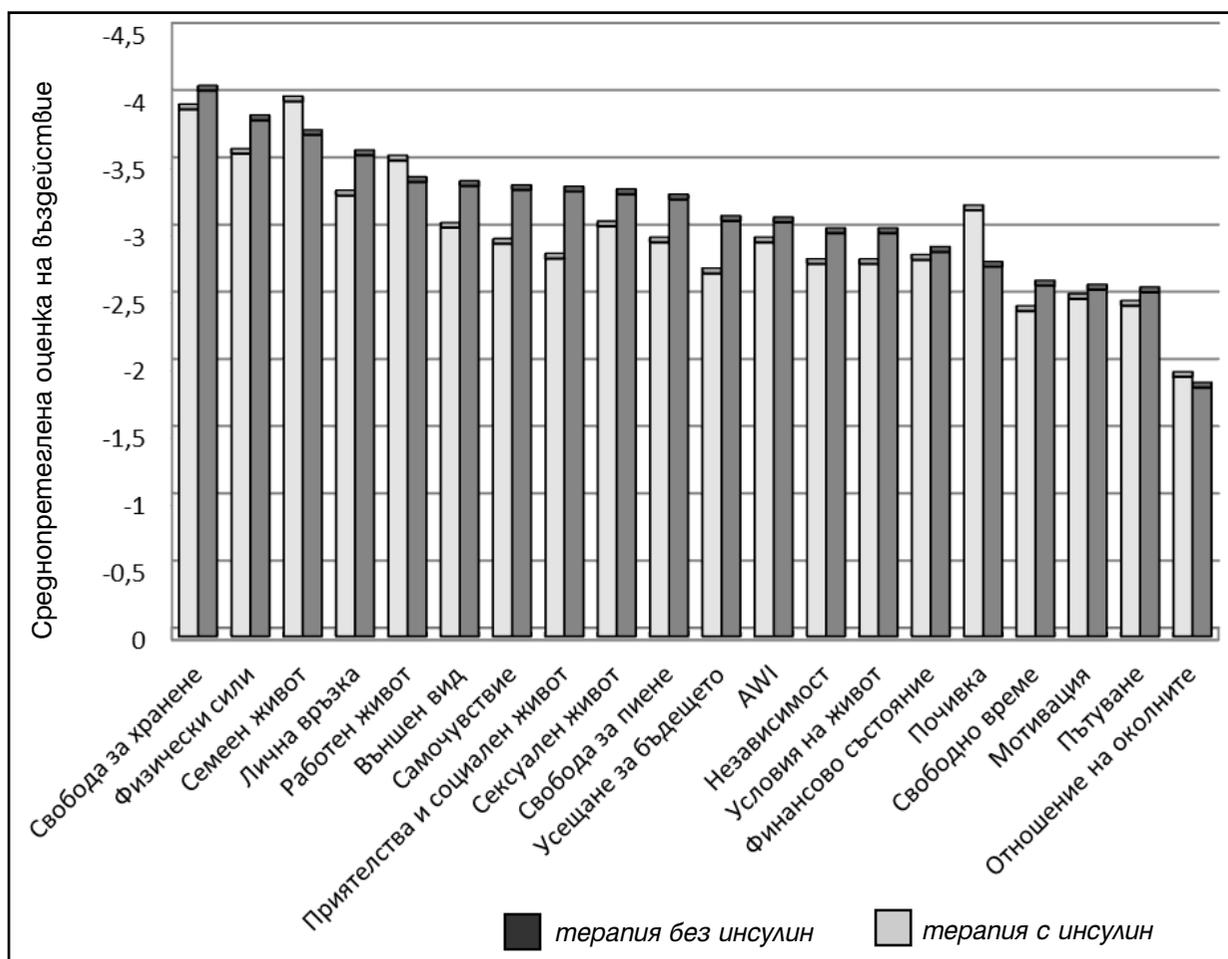
Въпреки че е известно, че захарният диабет налага сериозна тежест върху пациентите и системата на обществено здравеопазване, в нашата страна има оскъдни проучвания, които оценяват въздействието на заболяването върху качеството на живот на пациентите. Целта на това проучване е да предостави данни за въздействието на усложненията и прилаганата терапия върху качеството на живот, свързано със здравето, при български пациенти със ЗДТ2.

Резултатите от настоящото проучване доказват, че захарният диабет има негативно въздействие върху качеството на живот на пациентите. Според Testa и сътр. влиянието на диабета върху качеството на живот се състои от 2 взаимосвързани аспекта: *последствията, преписвани на стресови*



Фигура 1.

Въздействие на захарния диабет в зависимост от наличието или отсъствието на диабетни усложнения



Фигура 2. Влияние на диабета върху качеството на живот на пациентите според вида терапия.

фактори, свързани със заболяването и тежестта от спазване на стриктен режим и терапия (22).

Отрицателните стойности отразяват общото негативно въздействие на диабета върху всички 19 изследвани области от качеството на живот на пациентите. В съответствие с други проучвания установяваме, че по-ниско качество на живот, свързано със здравето имат пациентите с по-голяма давност на ЗДТ2, най-значимо в групата с продължителност „над 5 и повече години (6, 9); пациентите лекувани с инсулин (23, 24); тези с дългосрочни усложнения на диабета (25, 26), но не и тези с наднормено тегло/затлъстяване. Redekop и сътр. съобщават, че качеството на живот при пациентите, дори без усложнения, е по-ниско от това на възрастните лица в общата популация (27).

Wexler и сътр. доказват, че пациентите със симптоматични съпътстващи заболявания като микроваскуларни усложнения имат значително намалено качество на живот, в сравнение с тези без усложнения (28). Наличието на диабет-асоциирани усложнения като полиневропатия, сърдечно-съдови заболявания или краен стадий на бъбречно заболяване се свързва с по-ниски резултати във всички области от качеството на живот от много автори (6, 9). Диабетните усложнения водят до ограничаване на движението и физическата издръжливост, а това затруднява извършването на ежедневните дейности и може да доведе до инвалидност. Тези данни се потвърждават и в нашето проучване, като най-значимо въздействие оказват усложненията върху областите „физически сили“ и „независимост (нужда от чужда помощ)“, а в активна възраст това силно влияе както на професионалния живот, така и на плановете за бъдещето.

Правилното управление на диабета чрез поддържане на оптимален гликемичен контрол намалява риска от развитие на дългосрочни диабетни усложнения. Наличието на дори леки диабетни усложнения има значително влияние върху качеството на живот на пациентите. Ранната диагноза и лечението са от съществено значе-

ние за предотвратяване на влошаването на HRQOL при тези пациенти (29). Доказано е, че един от ключовите елементи за успеха в постигане на добър гликемичен контрол, е помощта, предоставяна от мултидисциплинарен екип (30).

Пациентите, лекувани с инсулин докладват за по-ниско качество на живот в сравнение с тези на терапия с перорални средства и/или диета. Тенденцията към по-голямо отрицателно въздействие на заболяването върху „диабет-зависимото качество на живот“ (въпрос II) на лекуваните с инсулин пациенти е в съответствие с публикуваните преди това проучвания (19, 20). Най-голямо въздействие вида на терапията оказва върху области „свободно време“, „физически сили“, „приятелства и социален живот“, „свобода на хранене“ и „свобода на пиене“. Тези констатации предполагат, че управлението на заболяването засяга важни аспекти от ежедневието на пациентите и те често отчитат по-голямата тежест от лечението, а не от симптомите на болестта. Причините могат да се търсят в необходимостта от по-стриктен контрол и хранителните ограничения. Прилагането на по-гъвкав диетичен режим може да бъде ефективен начин за подобряване качеството на живот при тези пациенти (31).

Заключение

Присъствието на дългосрочни усложнения се свързва с понижени резултати във всички области от качеството на живот на пациентите със ЗДТ2. Пациентите с голяма давност на заболяването, с дългосрочни усложнения и на терапия с инсулин съобщават за по-ниско качество на живот, свързано със здравето. Тези констатации показват, че пациентите със ЗДТ2, които попадат в горепосочените групи се нуждаят от персонализиран подход и подкрепа, предоставяни от мултидисциплинарен екип, за да управляват оптимално своето състояние. Правилното управление на диабета е един от основните начини за повишаване качеството на живот на тези пациенти.

Impact of Long-term Complications on Health-Related Quality of Life in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Levterova, Boryana A.¹, Orbetzova, Maria M.², Dimitrova, Donka D.¹, Levterov, Georgi E.³

¹ Department of Health Management and Healthcare Economics, Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

² Clinic/Department of Endocrinology and metabolic diseases, „Sv. Georgy“ University Hospital, Medical Faculty, Medical University of Plovdiv

³ „Kaspela“ University Hospital

Адрес за кореспонденция:

Levterova, Boryana A.

Department of Health Management and Healthcare Economics, Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv, 15 A Vassil Aprilov Str. Plovdiv 4000

e-mail: boriana_levterova@abv.bg

Summary

Introduction: Diabetes mellitus type 2 (DMT2) is a chronic metabolic disease and together with its complications represents a serious medical, social and economic problem. The purpose of the present study is to measure the impact of diabetic complications and the therapy applied over the health-related quality of life in patients with diabetes mellitus type 2.

Materials and methods: A cross-sectional study of 540 patients with DMT2 was carried out. The quality of life was evaluated based on the Bulgarian version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life.

Results: Diabetes mellitus type 2 has a negative impact on the „present“ quality of life in 36,7% of the participants. Overall 95,5% of the respondents believe that they would have a better quality of life without diabetes. The patients with long-term complications report worse „present“ quality of life (higher negative impact) compared to those without complications ($p=1,13$, $p=0,007$). The patients on insulin therapy report a stronger negative impact in the domain „quality of life without diabetes“ ($p=0,98$, $p=0,048$).

Conclusion: The presence of long-term complications is related to lower results in all quality of life domains of the patients with DMT2. The patients with a long duration of the disease, with long-term complications and on insulin therapy require a personalized approach and support, provided by a multi-disciplinary team in order to manage their state in an optimum manner. Proper diabetes management is one of the major means of quality of life improvement for those patients.

Keywords: Diabetes Mellitus Type 2, complications, therapy, Health-Related Quality of Life, Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life

Introduction

Diabetes mellitus type 2 (DMT2) is a chronic metabolic disease and together with its complications represents a serious medical, social and economic problem. According to the International Diabetes Federation (IDF) more than 425 million people around the world are diagnosed with diabetes and it is expected to reach 629 million in the year 2045 (1). About 91% of those patients are with diabetes mellitus type 2 (DMT2). Among the main causes of the increased

incidence of diabetes are unhealthy eating and low physical activity, raising the frequency of being overweight and obesity (2-4).

In the long term, diabetes causes micro-vascular complications (for example retinopathy and neuropathy) and macro-vascular complications (for example myocardial infarction, angina pectoris and stroke). In addition to diabetes-related complications, hypoglycemic episodes, fear of hypoglycemia, changes in lifestyle and fear of long-term consequences can lead to a lowering of Health-Related Quality of Life (HRQoL). Peo-

ple with diabetes report a worse quality of life in comparison to their peers without diabetes in the total population (5) as well as in comparison with patients with other chronic diseases (6). Health-related quality of life is reduced even more in the presence of diabetic complications (7-9). Studies show that diabetes has a negative impact on the general self-assessment of health status and quality of life and leads to a number of undesirable results, including increased mortality (10, 11).

Health-Related Quality of Life „incorporates a wide range of physical and psychological characteristics and limitations, which describe the individual capability of a person to function and receive satisfaction of that fact“, i.e. what narrows the scope only to the aspects of functioning, directly related to the disease and/or the medical treatment (12). HRQoL is a term with a measurable outcome and it is an important indicator of the forecasting of the survival and treatment results or the outcome of various health interventions.

There are three major approaches used for the description and measurement of health-related quality of life: disease specific tools, generic (common) instruments and utility measures. The evaluation methods most commonly used include direct surveys and observations, interviews with the use of questionnaires for self-assessment. A number of specific questionnaires for HRQoL with diabetes have been created and are in use. (6, 13-15). The quality of life indicators help the evaluation of the impact of the disease and its treatment over the physical and psychological health, social and somatic areas of functioning and wellbeing.

The measurement of HRQoL in patients with diabetes can identify sub-groups of individuals with worse self-assessment of their health and to assist in the direction of the interventions for improvement of their status and for the prevention of more serious consequences. In spite of the fact that medical science allows the measurement of numerous physical, physiological and biochemical indicators it cannot present the overall information about the disease or the treatment assigned. Such data can be acquired only from the patient (16).

A patient-centered approach is becoming more widely utilised in medical practice and clinicians and researchers require a method for making informed decisions for the provision of healthcare services. The evaluation of the patient for the effect of the health intervention is of greater importance for future disease management than all the other results, both clinical and physiological or reported by clinicians (6).

The purpose of the present study is to measure the impact of the complications and the therapy applied over Health-Related Quality of Life in patients with diabetes mellitus type 2.

Materials and methods

The study was approved by the Commission of science ethics of the Medical University, Plovdiv. All invited individuals provided their written consent

before they were included in the study. When assistance for filling of the questionnaire was required, such assistance was provided by physicians, trained to use the questionnaire.

The suitable candidates were randomly selected from the total number of patients, diagnosed with diabetes type 2 in 9 specialized practices located in the region of Plovdiv, Bulgaria. The individuals, who met the criteria for inclusion and exclusion, were invited to participate in the study (Table 1).

540 participants with clinically diagnosed diabetes mellitus type 2 participated in the cross-sectional study (17, 18). Basic demographic information, socio-demographic characteristics, medical history and duration of the diabetes, glycemic control and existing complications were collected from the medical documentation and the original questionnaire.

The individuals, who met the inclusion and exclusion criteria, were contacted and invited to participate in the study. Patients who wished to participate were informed by their physician about the purposes, content and confidentiality related to their participation in the study and they gave their written informed consent.

The participants were asked to fill in the Bulgarian version of ADDQoL-19 and a questionnaire with additional socio-demographic questions. The data about the therapy, accompanying diseases and laboratory results were collected from the medical documentation. HRQoL is measured through a specific instrument – Audit of Diabetes Dependent QoL (ADD QoL-19) – a validated version for Bulgaria. The Audit of Diabetes Dependent QoL was created and developed by Bradley et al. in 1999 (13). The purpose of this questionnaire is to provide a comprehensive measurement of the diabetes specific quality of life by evaluating the way the individuals perceive their disease and how the disease impacts on their wellbeing in various life domains (14). ADDQoL starts with two questions, evaluating the „present Quality of Life“ and the „Diabetes-dependent QoL“. The first question evaluates the general quality of life – „In general, my present quality of life is“ (excellent - very good - good - neither good nor bad - bad - very bad - extremely bad). The evaluation scale is from +3 (excellent) to -3 (extremely bad). The second question examines the global impact of diabetes over the quality of life (diabetes-dependent quality of life) – „If I did not have diabetes, my quality of life would be“ (very much better - much better - a little better - the same - worse). This domain is evaluated by a scale from +1 (maximum positive effect of the diabetes) to -3 (maximum negative impact of the diabetes).

The two elements are evaluated separately. 19 specific aspects of life follow and they examine: a) how diabetes affects this aspect and b) how important this aspect is for the patients' quality of life. The individual questions are formed in the following manner: „If I did not have diabetes, (specific aspects of life)

Table 1. Criteria for inclusion and exclusion of potential participants

Inclusion criteria	Exclusion criteria
<ul style="list-style-type: none"> • over 18 years of age • diabetes mellitus type 2 (ICD-10: E11-E14) 	<ul style="list-style-type: none"> • severe acute psychiatric disorders and dementia • malignant neoplasms and ongoing chemotherapy or radiotherapy • insuperable linguistic and communication issues • emergency cases

Table 2. Sampling characteristics of participants (N = 411)

Socio-demographic variables		
Age (SD)	59,92	11,60
Gender (Male) (%)	216	52,55
Residence (city) (%)	292	71,05
Marital status (Married) (%)	271	65,94
Medical aspects		
Family history of T2DM (yes) (%)	230	55,96
Smoking (yes) (%)	99	24,09
Duration of DM (≥ 5 years) (%)	244	59,37
BMI (kg/m ²) (SD)	30,86	5,50
HbA _{1c} (%) (SD)	8,08	0,85
Insulin only (%)	46	11,19
Diabetic - related complications (yes) (%)	379	92,21
Diabetic Retinopathy (yes) (%)	59	14,36
Diabetic Neuropathy (yes) (%)	378	91,97
Diabetic Nephropathy (yes) (%)	33	8,03
Diabetic foot (yes) (%)	15	3,65
Cardiovascular disease (yes) (%)	188	45,74
Stroke (yes) (%)	118	28,71

*BMI = Body Mass Index;

**HbA_{1c} = Haemoglobin A_{1c} (Glycosylated Haemoglobin)

would be“: (very much better - much better - a little better - the same - worse). The impact for each domain is evaluated based on the 5-points Likert scale, from -3 (maximum negative impact of the diabetes) to +1 (maximum positive impact of the diabetes). Then the respondent states how important this aspect is to his/her life: very important - important - somewhat important - not at all important (+3 to 0). Out of these 19 domains, five have the option for an answer as not applicable, i.e. the patient can mark whether a given area is applicable to his/her state or not.

The weighted result for each domain is calculated by the multiplication of the evaluation of the impact (impact rating) to the evaluation of importance (importance rating). The evaluation of the Average Weighted Impact (AWI) is acquired by adding the weighted evaluation for each area and is divided by the number of

applicable domains. AWI varies from -9 (maximum negative impact) to +3 (maximum positive impact). Finally, the average weighted result (ADDQOL score) is calculated for the entire scale in all applicable domains. The lower result corresponds to a worse quality of life (13, 19, 20). ADDQoL-19 evaluates the individual perceptions of the patient of the impact of diabetes over various spheres of his/her quality of life (13). The Bulgarian version of the questionnaire shows good psychometric properties (21) and it is available at the web site of the authors (<http://www.healthpsychologyresearch.com/find-a-questionnaire/audit-diabetes-dependent-quality-life-39>).

Data processing and analysis were performed with the statistical package SPSS version 17,0 (Chicago, IL, USA). The data are presented as a mean and standard deviation (SD), unless it is stated otherwise. The methods of descriptive statistics, parametric and non-parametric analysis were used; p<0,05 was taken as a level of significance with confidence interval of 95%.

Results

540 individuals with diabetes mellitus type 2 were recruited. 423 returned filled in questionnaires and after the exclusion of the cards with incomplete data, 411 patients participated in the final analysis. The demographic and clinical characteristics of the examined population are presented in Table 2.

The average age of the participants was 59,92 years (SD 11,60), where 52,60 % (N = 216) were males and 11,19% (N = 46) were on insulin therapy.

The duration of diabetes among the participants is on average 10,3 years (SD 3,8), the average HbA_{1c} value is 8,1% (SD 0,85), and the Body Mass Index (BMI) is 30,9 kg/m² (SD 5,50). Almost 61,3 % of the participants in the study are on oral anti-diabetic treatment, another 11,2% are on insulin therapy. In relation to diabetes complications: 45,7% have ischemic heart disease, 28,7% cerebrovascular disease, 14,4% retinopathy, 92% neuropathy and 8% nephropathy (Table 2).

Diabetes mellitus type 2 has a negative impact over the „present quality of life“ among 36,7% of the participants. In total 95,5% of the respondents believe that they would have better quality of life without diabetes. The patients with a duration of the disease of „5 and more years“ have a lower evaluation of their present

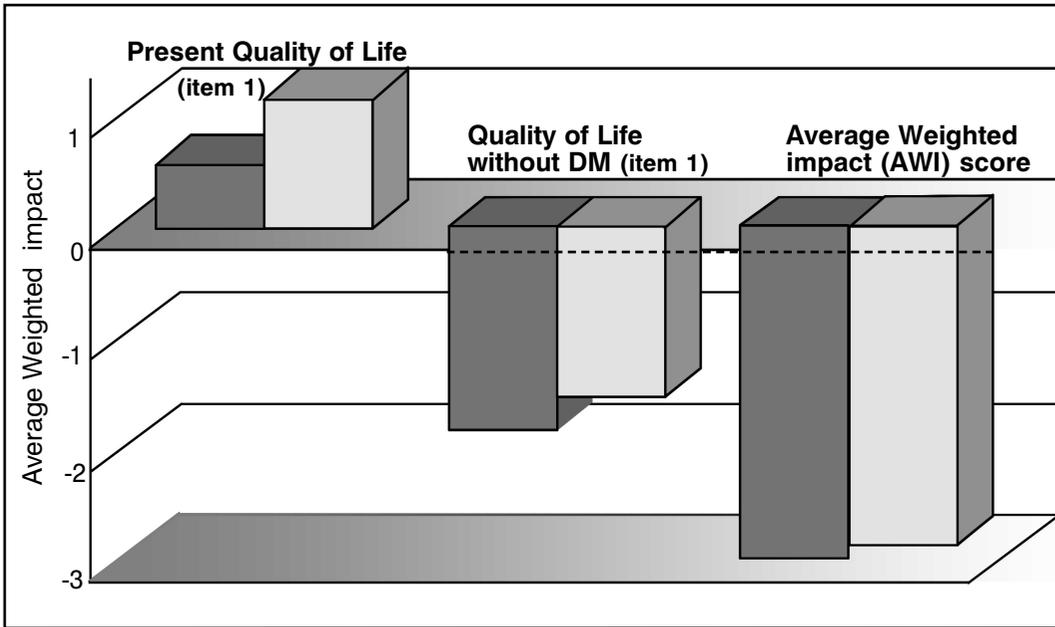


Figure 1.

Diabetes impact on QoL on the presence or absence of diabetic complications

■ with diabetic complications
 □ without diabetic complications

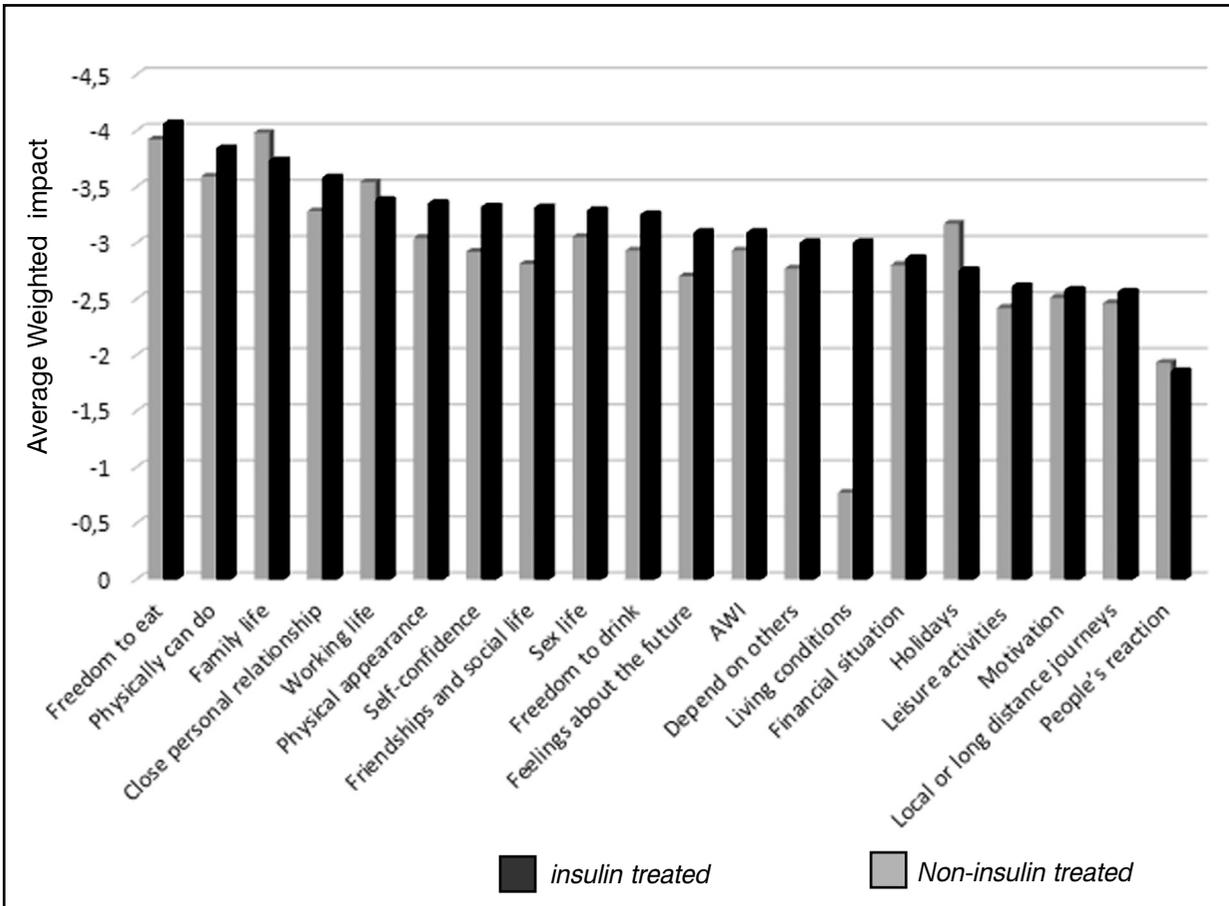


Figure 1. Diabetes impact on QoL by treatment subgroup

quality of life compared to patients with a shorter duration of the disease. The participants, on insulin therapy, those with diabetic complications and with overweight/obesity have lower indicators for quality of life, compared to the participants on oral therapy, those without diabetic complications and with normal weight. Only in the group of the participants with overweight/obesity, do the results have no statistical significance.

A reverse correlation between the presence of diabetic complication and the evaluation of the present Quality of Life was established. The patients with existing complications report worse „present quality of life“ (higher negative impact) compared to those without complications ($p = -1,13$, $p=0,007$). The patients on insulin therapy report a stronger negative impact in the domain „quality of life without diabetes“ ($p = -0,98$, $p=0,048$).

The evaluation of the impact of diabetes mellitus type 2 over the domains „present quality of life“, „quality of life without diabetes“ and the Average Weighted Impact (AWI) for patients with complications and without complications are presented on *Figure 1*.

When the average weighted impact evaluation is taken in consideration, there is a statistically significant reverse correlation between quality of life and the presence of diabetic complications ($p<0,01$). The patients with complications report a lower quality of life in all 19 examined domains and the difference has statistical significance for 4 of the domains, namely „working life“ ($p<0,05$), „physically can do“ ($p<0,05$), „feelings about the future“ ($p<0,05$) and „depend on others“ ($p<0,001$).

Figure 2 shows the impact of diabetes on patients on insulin therapy and the individuals without insulin therapy. A strong negative impact in 17 of 19 examined domains was established and the difference has statistical significance for 5 ($p<0,05$) of the elements – „leisure activities“, „physically can do“, „friendships and social life“, „freedom of eat“ and „freedom of drink“. The patients on insulin therapy have a lower AWI score (-3,08) compared to the patients on oral therapy.

Discussion

Despite the fact that diabetes mellitus imposes a serious burden on the patients and the public health-care system, there are only few studies which evaluate the impact of the disease on the quality of life of the patients in our country. The purpose of the present study is to present data about the impact of the complications and the therapy applied over the health-related quality of life in Bulgarian patients with diabetes mellitus type 2.

The results of the present study prove that diabetes mellitus has a negative impact on the quality of life of the patients. According to Testa et al., the influence of diabetes over the quality of life consists of two interconnected aspects: consequences, attributed to

stress factors, related to the diseases and the difficulty in following a strict regimen and therapy (22).

The negative values reflect the general negative impact of the diabetes over all 19 examined aspects of the quality of life of the patients. In accordance with other studies, we established that the patients with a longer duration of the disease have a lower health-related quality of life, most significantly in the group with duration of „above 5 and more years“ (6,9); patients on insulin therapy (23, 24); those with long term diabetic complications (25, 26), but not those with overweight/obesity. Redekop et al. reported that the quality of life of patients even without complications is lower compared to the one of adult individuals in the general population (27). Wexler et al. prove that patients with symptomatic accompanying diseases like micro-vascular complications have significantly reduced QoL, compared to patients without complications (28). The existence of diabetes related complications, like polyneuropathy, cardiovascular diseases or end stage renal disease is related to lower results in all domains of quality of life by many authors (6, 9). The diabetic complications lead to limitation of movement and physical endurance and these factors hinder the performance of daily activities and can result in disability. These data are confirmed in our study as well and the complications have the most significant impact over the domains „physically can do“ and „depend on others“ and in active age such complications influence the professional life and the plans for the future. The proper management of diabetes through the maintenance of the optimal glycemic control reduces the risk of the development of long term diabetic complications. The presence of even incipient diabetic complications has a significant impact over the quality of life of the patients. Early diagnosis and treatment are essential for the prevention of the worsening of the HRQoL of those patients (29). It is proven that one of the key elements for success in the achievement of good glycemic control is the assistance provided by a multi-disciplinary team (30).

The patients on insulin therapy report a lower quality of life compared to those on oral therapy and/or diet. The tendency towards a higher negative impact of the disease over the „diabetes-dependent quality of life“ (question 2) of the patients on insulin therapy corresponds to previously published studies (19, 20). The therapy type has the most significant impact over the domains „leisure activities“, „physically can do“, „friendships and social life“, „freedom of eat“ and „freedom of drink“. Those ascertainments suggest that the management of the disease impacts important aspects of the daily life of the patients and they frequently report a higher burden from the treatment and not from the symptoms of the disease. The reasons can be attributed to the requirement for more stringent control and eating limitations. The application of a more

flexible dietary regiment can be an effective option for improvement of the quality of life of those patients (31).

Conclusion

The presence of long-term complications is related to lower results in all quality of life domains of the patients with DM2. The patients with a long duration

of the disease, with long term complications and on insulin therapy report a lower health-related quality of life. These findings show that the patients with diabetes mellitus type 2, which fall in the above described groups, require a personalized approach and support, provided by multidisciplinary teams, in order to optimally manage their condition. Proper diabetes management is one of the major means for quality of life improvement for those patients.

References

1. **International Diabetes Federation.** IDF Diabetes Atlas, 8th edn. Brussels, Belgium: *International Diabetes Federation*, 2017. <http://www.diabetesatlas.org>.
2. **Препоръки за Добра Клинична Практика при Захарен Диабет.** Българско Дружество по Ендокринология, 2016 г. (**Recommendations for Good Clinical Practice for Diabetes Mellitus.** *Bulgarian Society of Endocrinology*, 2016. (In Bulgarian).
3. **Paulweber B, Valensi P, Lindström J, Lalic NM, Greaves CJ, McKee M, et al.** A European evidence-based guideline for the prevention of type 2 diabetes. *Horm Metab Res* 2010; 42(S 01): S3-S36.
4. **Tankova T, Chakarova N, Atanassova I, Dakovska L.** Evaluation of the Finnish Diabetes Risk Score as a screening tool for impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and undetected diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 92(1): 46-52.
5. **Holmes J, McGill S, Kind P, Bottomley J, Gillam S, Murphy M.** Health-related quality of life in type 2 diabetes (T2ARDIS2). *Value Health* 2000; 3(s1): 47-51.
6. **Rubin RR, Peyrot M.** Quality of life and diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15: 205-218.
7. **Koopmanscha M.** Coping with Type II diabetes: the patient's perspective. *Diabetologia* 2002; 45(1): S21-S22.
8. **Sparring V, Nyström L, Wahlström R, Jonsson PM, Ustman J, Burström K.** Diabetes duration and health-related quality of life in individuals with onset of diabetes in the age group 15-34 years—a Swedish population-based study using EQ-5D. *BMC Public Health* 2013; 13(1): 377.
9. **Glasgow RE, Ruggiero L, Eakin EG, Dryfoos J, Chobanian L.** Quality of life and associated characteristics in large national sample of adults with diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 562-567.
10. **U.K. Prospective Diabetes Study Group.** Quality of life in type 2 diabetic patients is affected by complications but not by intensive policies to improve blood glucose or blood pressure control (UKPDS 37). *Diabetes Care* 1999; 22(7):1125-1136.
11. **Landman GW, Van Hateren KJ, Kleefstra N, Groenier KH, Gans RO, Bilo HJ.** Health-related quality of life and mortality in a general and elderly population of patients with type 2 diabetes (ZODIAC-18). *Diabetes care* 2010; 33(11): 2378-2382.
12. **CDC.** Measuring healthy days: Population assessment of health-related quality of life. Atlanta, GA: *Centres for Disease Control and Prevention*; 2000.
13. **Bradley C, Todd C, Gorton T, Symonds E, Martin A, Plowright R.** The development of an individualized questionnaire measure of perceived impact of diabetes on quality of life: the ADDQoL. *Qual Life Res* 1999; 8(1-2): 79-91.
14. **Levterova BA, Dimitrova DD, Levterov GE, Dragova EA.** Instruments for Disease-Specific Quality-of-Life Measurement in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus—A Systematic Review. *Folia Med (Plovdiv)* 2013; 55(1): 83-92.
15. **Speight J, Reaney MD, Barnard KD.** Not all roads lead to Rome—a review of quality of life measurement in adults with diabetes. *Diabet Med* 2009; 26(4): 315-327.
16. **Guyatt GH, Feeny DH, Patrick DL.** Measuring health-related quality of life. *Ann Intern Med* 1993; 118(8): 622-629.
17. **Alberti KG MM, Zimmet PF.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15(7): 539-553.
18. **Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al.** Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: 3160-3167.
19. **Bradley C, Speight J.** Patient perceptions of diabetes and diabetes therapy: assessing quality of life. *Diabetes Metab Res* 2002; 18(S3): S64-S69.
20. **Speight J, Sinclair AJ, Browne JL, Woodcock A, Bradley C.** Assessing the impact of diabetes on the quality of life of older adults living in a care home: validation of the ADDQoL Senior. *Diabet Med* 2013; 30(1):74-80.
21. **Levterova BA, Levterov GE, Dragova EA, Grudeva TS, Kostourkov YL.** Bulgarian version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL-19). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2017; 31(3): 581-587.
22. **Testa MA, Simonson DC.** Assessment of quality-of-life outcomes. *N Engl J Med* 1996; 334(13): 835-840.
23. **Pichon-Riviere A, Irazola V, Beratarrechea A, Alcaraz A, Carrara C.** Quality of life in type 2 diabetes mellitus patients requiring insulin treatment in Buenos Aires, Argentina: a cross-sectional study. *Int J Health Policy Manag* 2015; 4(7): 475-480.
24. **Costa FA, Guerreiro JP, Duggan C.** An audit of diabetes dependent quality of life (ADDQoL) for Portugal: exploring validity and reliability. *Pharm Pract (Granada)* 2006; 4(3): 123-128.
25. **Avramopoulos I, Moulis A, Nikas N.** Glycaemic control, treatment satisfaction and quality of life in type 2 diabetes patients in Greece: The PANORAMA study Greek results. *World J Diabetes* 2015; 6(1): 208-216.
26. **Trikkalinou A, Papazafiropoulou AK, Melidonis A.** Type 2 diabetes and quality of life. *World J Diabetes* 2017; 8(4):120-129.
27. **Redekop WK, Koopmanschap MA, Stolk RP, Rutten GE, Wolfenbittel BH, Niessen, LW.** Health-related quality of life and treatment satisfaction in Dutch patients with type 2 diabetes. *Diabetes care* 2002; 25(3): 458-463.
28. **Wexler DJ, Grant RW, Wittenberg E, Bosch JL, Cagliero E, Delahanty L, Meigs JB.** Correlates of health-related quality of life in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2006; 49(7): 1489-1497.
29. **Lloyd A, Sawyer W, Hopkinson P.** Impact of long-term complications on quality of life in patients with type 2 diabetes not using insulin. *Value Health* 2001; 4(5): 392-400.
30. **van Dam HA, van der Horst FG, Knoops L, Ryckman RM, Crebolder HF, van den Borne BH.** Social support in diabetes: a systematic review of controlled intervention studies. *Patient Educ Couns* 2005; 59(1): 1-12.
31. **Collins MM, O'Sullivan T, Harkins V, Perry IJ.** Quality of life and quality of care in patients with diabetes experiencing different models of care. *Diabetes Care* 2009; 32:603-605.

Българско дружество по ендокринология *Bulgarian Society of Endocrinology*

Списание
ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ISSN 1310-8131

Journal
ENDOCRINOLOGIA ISSN 1310-8131

Адрес на редакционната колегия:

Клиничен център – УСБАЛЕ
„Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431
София;
Проф. Мария Обецова, *Главен редактор*
тел. (032) 602486;
Мобилен: 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg

Editorial Board address for correspondence:

Clinical Center of Endocrinology
„Acad. Iv. Penchev“, University Hospital 2,
Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Prof. Maria Orbetzova, *Editor in Chief*
Tel (+359) 32602486;
Mobile (+359) 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg

Списание „Ендокринология“, издание на Българското дружество по ендокринология, излиза в 4 книжки годишно. В него се отпечатват оригинални научни статии, описания на клинични случаи, обзори, рецензии, информация за проведени и предстоящи научни събития и други материали в сферата на клиничната ендокринология. Обзорните материали от български автори излизат на български език с резюме на български и английски език. Оригиначните статии и казуси се отпечатват едновременно на български и английски език. По усмотрение на авторските колективи и преценка на редакционната колегия въз основа характера на материала, някои оригинални статии могат да бъдат публикувани само на български език. Материалите, предоставени от чужди автори, се поместват на английски език с цялостен или подбран превод на български език по преценка на редакционната колегия.

Материалите се изпращат на български език в електронен вид с шрифт Times New Roman, размер 12 на e-mail на главния редактор

The journal of the Bulgarian Society of Endocrinology „Endocrinologia“ is published in 4 issues per year. It accepts for publication original research papers, case reports, short communications, reviews, opinions on new medical books, commentaries and announcements for past of future scientific events (congresses, symposia, etc.) in all fields of clinical Endocrinology.

The reviews are published in Bulgarian language with an abstract both in Bulgarian and English. The original papers and case reports are published also in both languages. Some original research papers may be published in Bulgarian only, depending on the content and the decision of the authors and the editors. Papers of non-Bulgarian authors are published in English with full of partial translation into Bulgarian, provided by the Editorial board.

The manuscripts should be submitted initially in Bulgarian (for materials from abroad – in English) as MS Word.doc files, formatted in 12 pt. Times New Roman typeface. The manuscript is then checked for compliance with the edition's requirements and sent to the reviewers. If accepted for publication after the review, the authors are

(за чуждестранните материали – на английски език). След рецензиране и приемане за печат в срок до 3 седмици окончателният вариант се представя с превод на английски език (с изключение на обзорите) на e-mail на главния редактор с придружително писмо на адреса на редакцията, подписано от авторите, с което потвърждават съгласието си за участие и декларират, че материалът не е отпечатван в други научни списания, освен като резюме на съобщение, изнесено на научен форум.

Обемът на представените материали не трябва да превишава 10 стандартни (по 1800 знака) страници за оригиналните статии, 14 страници за обзорните статии, 4 страници за казусите, 2 страници за информацията относно научни прояви и научни дискусии, 1 страница за рецензии на монографии, учебници и пр. В посочения обем не се включват титулната страница и резюмето.

Структурата на статиите трябва да отговаря на следните изисквания:

Титулна страница

а) заглавие, имена на авторите, месторабота, научна организация. При повече авторски звена с арабска цифра се маркират кореспондиращите им автори.

б) същите данни на английски език се изписват под българския текст. При статии от чужди автори българският текст следва английския.

в) адрес за кореспонденция – съдържа данните на автора за кореспонденция на български и английски език – име, месторабота, пощенски и електронен адрес.

Резюме

Резюмето се представя на отделна страница в обем до 250 думи. То трябва да бъде структурирано както следва: цел, материали и методи, резултати и заключения. Тази структура не важи за обзорните статии. Посочват се до 5 ключови думи.

Основен текст

Оригиналните статии трябва да са структурирани както следва: въведение, материал и методи, резултати, обсъждане, заключение и/или изводи. В текста се допускат само официално приети международни съкращения, останалите трябва да бъдат

required to submit within 3 weeks the corrected version together with the English language translation (not applicable for review articles). A cover letter, signed by all authors is mailed to the editors, stating any conflicts of interest and that the manuscript in full or any part of it has not been published elsewhere or simultaneously submitted for publication, except as an abstract of congress participation.

The size of each paper should not exceed 10 standard pages (1800 characters) for original research articles, 14 pages for reviews, 4 pages for case reports, 2 pages for short communications, discussions or scientific events announcements or comments and 1 page on medical book reviews. The manuscripts should be structured as follows:

Title page

a. Title, names of the authors (family name followed by given name), affiliation. If more than one affiliation, they should be designated by Arabic numbers in Bulgarian and English languages.

b. A short title up to 8 words should be provided

c. Address of the corresponding author name, postal address (business or home as preferred), phone number, fax number, email address.

Abstract

The abstract should occupy the next page of the manuscript and not exceed 250 words. The abstracts of original research papers should be clearly structured with Aim; Materials and methods; Results; Conclusions. Abstracts of review papers may not follow that structure. Up to five key words should be written after the abstract.

Main text

Original papers should be structured as follows: Introduction; Aim; Materials and methods; Results; Discussion; Conclusions. Any abbreviation that is not commonly accepted should be written in full followed by the abbreviation in parentheses at first mention in the text. The International System of Units (SI) should be used for all measurement units. Citations in the text are designated by their bibliography sequential numbers in parentheses.

Tables and figures

Each table should be on a separate page after the bibliography with the table caption preceding it. All illustrations should be submitted as separate

пояснени в текста при първата им поява. За мерните единици е задължителна международната система SI. Цитатите вътре в текста се отбелязват само с номерата им в книгописа, оградени с малки скоби.

Таблицы и илюстрации

Всяка таблица се представя на отделна страница след книгописа. Заглавията на таблиците се изписват над тях. Илюстрациите се представят на отделни файлове. Графики и диаграми се предоставят във форми .xls (MS Excel), .ppt (MS PowerPoint), .eps (encapsulated postscript), които позволяват редактиране. Снимки (собствени), както и репродукциите на ползвани от чужди източници от Интернет да бъдат представяни с добро качество във формат JPEG и резолюция 300 dpi. Текстът към илюстрациите се представя в края на основния текст, след таблиците. Номерацията на таблиците и илюстрациите е с арабски цифри и се посочва в основния текст. При използване на чужд илюстративен материал, последният трябва да бъде придружен със съответно съгласие за възпроизвеждане от носителя на авторските права. Това се указва в текста към илюстрацията.

Книгопис

Книгописът се представя на отделна страница. Броят на цитираните източници е препоръчително да не надхвърля 25 (за обзорните статии 40) като следва да включва актуални източници от последните 5 години, както и публикации от български автори, работили по съответния проблем. Подреждането на източниците да става по реда на поява в текста. Книгописът се оформя съгласно Унифицираните изисквания за публикации в областта на биологията и медицината и е опростена версия на стил Ванкувър (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>). Всички автори се отбелязват с фамилно име, последвано от инициалите. При повече от шест автори, след шестия се поставя et al. Следва цялото заглавие на цитираната статия (с главна буква е само началната дума), название на списанието изписано съкратено според Index Medicus, година, том, брой на книжката в малки скоби (незадължителен при издания с непрекъснато

files. Diagrams and graphs should be prepared in .XLS (MS Excel), PPT (MS PowerPoint), EPS (encapsulated postscript) file formats that permit further processing. Bitmap images (photographs etc.) should be submitted in JPEG format and resolution 300 dpi. The figure captions are added to the main article document after the tables. All tables and figures are numbered sequentially and should be referred to in the text. If illustrations from other sources are used, the latter should be accompanied by the relevant permission for reproduction with a reference in the figure caption.

References

The references should be presented on a separate page at the end of the manuscript. It is recommended that the number of references should not exceed 25 titles for original research articles and 40 titles for the reviews. It is advisable that sources on the topic from the recent five years be used. The references are listed in their order of first appearance in the text. They should follow the Vancouver format and the Uniform requirements (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>). All authors should be listed for papers with up to six authors; for papers with more than six authors, the first six only should be listed, followed by et al. The authors are followed by the full title of the paper (Only the first word is capitalized). The journal title is abbreviated in conformity with the latest edition of Index Medicus, followed by year, volume, issue in parentheses (not necessary for periodicals with a continuous pagination throughout the volume) and full first and last page. Chapters of books are cited in the same way, the full name of the chapter first, followed by „In:“, full title of the book, editors, publisher, town, year, first and last pages of the cited chapter.

Examples

Reference to a journal article:

1. **McLachlan S, Prumel MF, Rapoport B.** Cell Mediated or Humoral immunity in Graves' ophthalmopathy? *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78 (5): 1070-1074.

If the original cited paper is in Bulgarian:

2. **Christov V, Gocheva N, Petkova M, Zacharieva S, Tankova Tz, Orbetzova M, et al.** A consensus of the Bulgarian Institute Metabolic Syndrome on the metabolic syndrome. *Nauka Endocrinologia*. 2010; 2: 53-70 (in Bulgarian)

номериране на страниците в тома), пълни начална и крайна страница. Глави (раздели) от книги се изписват по аналогичен начин, като след автора и заглавието на главата (раздела) се отбелязват имената на редакторите, пълното заглавие на книгата, издателството, градът и годината на издаване, началната и крайната страница. Източниците на кирилица следва да бъдат представени и с оригиналния им превод на английски или транслитерация (ако източникът няма оригинален превод на заглавието и резюме на английски) и със забележка в скоби (in Bulgarian). Книгописът на оригиналните статии се отпечатва след английския текст.

Примери:

Статия от списание:

1. **McLachlan S, Prumel MF, Rapoport B.** Cell Mediated or Humoral immunity in Graves' ophthalmopathy? *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78 (5): 1070-1074.

2. **Christov VI, Gocheva N, Petkova M, Zacharieva S, Tankova Tz, Orbetzova M, et al.** A consensus of the Bulgarian Institute Metabolic Syndrome on the metabolic syndrome. *Nauka Endocrinologia*. 2010; 2: 53-70 (in Bulgarian) (Христов Вл, Гочева Н, Петкова М, Захариева С, Орбецова М и съавт. Консенсус на Българския институт „Метаболитен синдром“ за поведение при метаболически синдром. *Наука Ендокринология* 2010; 2: 53-70).

Глава (раздел) от книга:

1. **Delange F.** Endemic Cretenism. In: Brave-man L, Utiger R, editors. *The Thyroid*. 9-th ed. Philadelphia: Lippincott Co; 1991. p. 942-955.

Материалите трябва да са написани на правилен български, респективно английски език при спазване на съвременните правила за правопис и пунктуация. Препоръчително е авторите да консултират английския текст с филолог или англоговорящ. Редакцията може да насочи към квалифицирани преводачи за превод или редактиране на материалите на английски език срещу заплащане. Материали, които не отговарят на изискванията на списанието, се връщат на авторите за корекции преди да бъдат предадени за рецензиране.

(Христов Вл, Гочева Н, Петкова М, Захариева С, Орбецова М и съавт. Консенсус на Българския институт „Метаболитен синдром“ за поведение при метаболически синдром. *Наука Ендокринология* 2010; 2: 53-70).

References to a book chapter:

1. Delange F. Endemic Cretenism. In: Brave-man L, Utiger R, editors. *The Thyroid*. 9-th ed. Philadelphia: Lippincott Co; 1991. p. 942-955.

The manuscripts should be prepared in good contemporary language with correct spelling, grammar and punctuation. Non-native English authors are advised to consult the text with a native speaker or a philologist. On demand, the editors might recommend paid qualified translators for text translation or language proof-reading. Manuscripts that do not comply with the requirements of the journal will be returned to the authors for corrections before being forwarded to the reviewers.

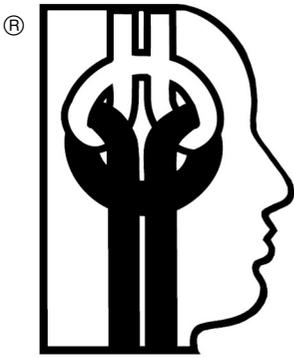
Address for sending the manuscripts and other editorial correspondence

Editorial Board Address for Correspondence:

Clinical Center of Endocrinology,
„Acad. Iv. Penchev“, University Hospital, 2
Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Prof. Maria Orbetzova, *Editor in Chief*
Tel (+359) 32 60 24 86;
Mobile (+359) 887771322
E-mail: morbetzova@abv.bg

Адрес на редакционната колегия:

Клиничен център – УСБАЛЕ,
„Акад. Иван Пенчев“
ул. „Здраве“ №2, 1431 София;
Проф. Мария Орбецова, *Главен редактор*
тел. (032) 602486;
Мобилен: 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg



ЕНДОКРИНОЛОГИЯ

ENDOCRINOLOGIA

**Списание
на Българското дружество
по ендокринология
към СНМД в България**

**Journal
of the Bulgarian Society
of Endocrinology (BSE)**

Главен редактор
Проф. д-р Мария ОРБЕЦОВА, гм

Редактор на английския текст

Джеф ТОМАС

Отговорен редактор

Румен НИНОВ

© Първа корица и графичен дизайн

Румен НИНОВ

Editor-in-chief

Prof. Maria ORBETZOVA, MD PhD

English language editor

Jeff THOMAS

Art director Rumen NINOV

© Cover&Design Rumen NINOV

**Институции-партньори, получаващи
сп. Ендокринология
Institution/Partners Receiving „Endocrinologia“**

- SCOPUS Elsevier Bibliographic Databases, Netherlands
- National Library of Medicine, Bethesda
- The Librarian Royal Society of Medicine, London
- WHO Health Organization Library, Geneva
- Academic National de medicine Bibliotheque, Paris
- Canadian Institute for Scientific and Technical Information, Ottawa
- ВИНТИ/РАН-МИННАУКЕ РОССИИ, Москва
- ДЕРЖАВНА НАУКОВА МЕДИЧНА БИБЛИОТЕКА, Киев

Списание „Ендокринология“
се индексира в следните
база-данни/ The journal
„Endocrinologia“ is indexed by:

- SCOPUS Elsevier
Bibliographic Databases
(since 2001)
- EMBASE
- Bulgarian Citation Index
(since 1996)

Адрес на редакционната колегия: Клиничен център –
УСБАЛЕ, „Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431 София;
Мобилен: 0887771322 (проф. Орбецова), email: morbetzova@abv.bg,

Editorial Board: Clinical Center of Endocrinology „Acad. Iv. Penchev“ University
Hospital 2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Mobile (+359) 0887771322 (Prof. Maria Orbetzova); email: morbetzova@abv.bg,