

РЕЦЕНЗИЯ

от

**Проф. д-р Красимира Илиева Икономова, дм
Началник Клинична лаборатория и имунология
Национална многопрофилна транспортна болница – София**

на

Дисертационния труд за придобиване образователно-научна степен „Доктор”

на

Д-р Гергана Младенова Чаушева

ЛАБОРАТОРНА ОЦЕНКА НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВ РИСК ПРИ ЛИЦА С ДЪЛГОГОДИШЕН ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП I- АДИПОКИНИ, ОСТЕОПРОТОГЕРИН, АСИМЕТРИЧЕН ДИМЕТИЛ-АРГИНИН

Научен ръководител:

Доц. Яна Димитрова Бочева, дм

Научна специалност – „Клинична лаборатория“

Област на висше образование „Здравеопазване и спорт“

Професионално направление 7.1. Медицина

Захарният диабет е социално-значимо заболяване, основно проявяващо се в две форми – диабет тип 1 (Т1Д) и диабет тип 2 (Т2Д). Честотата на Т1Д е приблизително 10%, а на Т2Д – 90% от пациентите. Оценката на ССР при пациенти с Т1Д най-често се основава на оценка на риска, присъща за диабет тип две. Поради съществените различия в патофизиологичните механизми за развитие на Т1Д и Т2Д, този подход не се приема от повечето изследователи.

Установено е, че ССЗ са по-чести и настъпват по-рано при пациенти с Т1Д, в сравнение с общата популация. Честотата на ССЗ при Т1Д варира значимо в зависимост от продължителността на диабета, възрастта и пола. Счита се, че при Т1Д атеросклеротичният процес започва развитието си още в млада възраст и в повечето случаи е с асимптомно протичане.

Най-често използваните модели за калкулиране на риска при Т1Д са Steno Type 1 Risk Score (ST1RE) и ESC от 2019 г. Те включват клинични и лабораторни маркери и класифицират и прогнозируют 10-годишен риск от развитие ССЗ.

За оптимизиране на лабораторната оценка за ССР при Т1Д е необходимо въвеждането на нови лабораторни биомаркери. Асиметричен диметиларгинин (ADMA), остеопротегерин (OPG), адипонектин (ADNC) и лептин (Lep) са биомаркери с висока информативна стойност за клиничната практика по отношение на стратификацията на ССР. Проследяването им ще допринесе за по-добро качество на живот и преживяемост на

пациентите с Т1Д. За валидиране на лабораторните показатели е оформен мултидисциплинарен екип от лабораторни специалисти и клиницисти, което е предпоставка за получаване на надеждни резултати.

В научната литература не са открити цялостни изследвания, свързани с анализа и възможностите на изброените биомаркери спрямо специфични скали за оценка на ССР при Т1Д. Това прави темата на дисертационния труд актуална, съвременна и значима.

Дисертационният труд е написан на 175 страници, включващи литературен обзор - 40 стр., цел и задачи – 2 стр., материал и метод – 6 стр., резултати - 67 стр., дискусия – 28 стр., изводи – 2 стр., приноси – 2 стр. Дисертацията е онагледена с 56 таблици и 52 фигури. Библиографията съдържа 307 литературни източника, от които 14 на кирилица и 293 на латиница.

Литературният обзор е съставен от 5 раздела и заключение. Най-напред са представени епидемиологични данни за диабет тип 1. Заболяването се среща по-често сред европейци и по-рядко сред азиатци. Честота на заболяемостта от Т1Д всяка година се увеличава с 3%. Една трета от риска за обща смъртност при Т1Д се асоциира с развитие на ССЗ.

Като най-разпространени модели за калкулиране на ССР при Т1Д се очертават – Steno Type 1 Risk Score (ST1RE) и насоки на ESC (европейско дружество по кардиология) от 2019 г. ST1RE включва 10 рискови фактора (възраст, пол, продължителност на диабета, HbA1C, систолично кръвно налягане, LDL-холестерол, скорост на гломерулна филтрация, албуминурия, тютюнопушене и физическа активност). Калкулаторът за ССР на ESC от 2019 г. включва 5 рискови фактора - възраст, пол, тютюнопушене, систолично кръвно налягане и общ холестерол.

Направен е задълбочен преглед на кандидат-биомаркерите - асиметричен диметил-аргинин (ADMA), остеопротегерин (OPG), лептин (Lep) и адипонектин (ADNC) за оценка на ССР при Т1Д. Констатирано е, че изследователският интерес към биомаркерите се е увеличил многократно през последните години. През 1990 г. са регистрирани 21 клинични проучвания за кардиоваскуларни биомаркери, докато през 2010 г. броят им нараства до 2032.

Изтъкнато е, че научната база данни дава информация предимно за изследвания в областта на етиологията, развитието и лечението на ССЗ при Т1Д.

Понастоящем, ЗД се определя като еквивалент на ССЗ и затова повечето от биомаркерите, характерни за съпътстващите го макро- и микроваскуларни усложнения, са потенциални маркери за оценка на ССР. Докато СС усложнения при Т2Д в повечето случаи са налице още при поставяне на диагнозата, то при Т1Д те се изявяват средно 5-10 години след диагностицирането му. Ето защо изборът на подходящи биомаркери за оценка на ССР може значително да подобри скрининга, диагнозата и прогнозата на ССЗ при Т1Д.

Целта на настоящата разработка е да се анализира прогностичната стойност на: ADMA, OPG, ADNC и Lep спрямо специфични инструменти за оценка на ССР - ST1RE и ESC 2019 г. и спрямо хематологични показатели при лица с дългогодишен Т1Д.

Логично са изведени 6 задачи. Те включват оценка на прогностична стойност на ADMA, OPG, ADNC и Lep спрямо специфични за Т1Д инструменти за оценка на ССР. От

особено значение е анализът на зависимости между серумни нива на ADMA, OPG ADNC, Lep и хематологични показатели при Т1Д.

Материал и методи. Проучването е проведено в УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна за периода 2018-2020 година. Дисертационният труд е изготвен като част от научен проект „Сърдечно-съдов и метаболитен риск, свързан с висцералната мастна тъкан, при пациенти с тип 1 захарен диабет“, подкрепен от Фонд „Научни изследвания“ към Министерство на образованието и науката. Проектът е интердисциплинарен с участието на ендокринолози, интернисти, педиатри, специалисти по лабораторна медицина, образна диагностика, социална медицина.

Обект на изследване са 59 здрави доброволци и 124 пациенти с Т1Д. Пациентите и здравите контроли са подбрани по установени включващи и изключващи критерии. Всички участници са попълнили протокол за информирано съгласие. На пациентите са проведени антропометрични, клинични, лабораторни и образни изследвания. Всеки участник е попълнил анкетна карта, включваща демографски данни, диабетен контрол, инсулинов режим и социално-икономически статус.

Лабораторните методи включват проследяване на хематоморфологични показатели, изследвани 5-diff хематологичен анализатор Sysmex XN 1000. Биохимичните показатели CRP, HbA1C, AlbU са изследвани на последно поколение биохимични анализатори (ADVIA chemistry 1800, Olimpus AU600). ADMA, OPG, ADNC и Lep са определяни по метода ELISA с китове на утвърдени европейски производители.

Калкулаторът за оценка на CCP STENO Type 1 Risk Engine (STIRE) изчислява 10-годишен риск от нефатално и фатално ССЗ (ИБС, инсулт, периферен съдово заболяване). Възприемат се следните категории на риска: *нисък (<10%)*; *умерено повишен (10-20%)* и *висок CCP (>20%)*.

Калкулаторът на ESC от 2019 г. класифицира пациентите с Т1Д като такива с *умерен риск (между 1% и 5%)*, *висок риск (между 5% и 10%)*, *много висок риск (над 10%)*.

Калкулаторът за оценката на CCP Risk Factor 3 е комбинация от утвърдени в клиничната практика рискови фактори (РФ) за развитие на ССЗ при ЗД: *HbA1C, CRP и AlbU*. Пациентите са определени в следните групи: *група 0* – без наличие на РФ. *група 1* - с налична 1 РФ; *група 2* - с наличие на 2 РФ и *група 3* - с налична 3 РФ.

За статистическа обработка на данните е използван статистическият пакет SPSS 19, като са приложени следните методи – дескриптивна статистика, корелационен анализ, линеен регресионен анализ, факторен анализ, непараметрични статистически методи за номинални данни, бинарна логистична регресия, ROC анализ, табличен и графичен метод за представяне на данните. Статистическите методи са напълно подходящи за изпълнение на поставените задачи.

Резултати. Според калкулатора STIRE 38,7% от изследваните пациенти попадат в категорията нисък CCP; 28,2% - с умерен риск и 33,1% с висок CCP.

Съгласно критериите на ESC от 2019 г. 30,6% от пациентите имат висок CCP, а 69,4% много висок CCP. Сравнявайки клинично-лабораторни показатели на контролната група здрави и пациентите с дългогодишен Т1Д е установено, че при пациенти с Т1Д се наблюдават значимо по-високи стойности за HbA1C%, AlbU и ADNC.

При установяване прогностична стойност на показателите за оценка на ССР (ADMA, OPG, ADNC, Lер) е използван следният алгоритъм. Най-напред се оценява влияние на пол, възраст и давност на диабета върху съответния параметър. Следва оценка на връзката на показателя с калкулаторите ST1RE, ESC от 2019 г и с Risk Factor 3. Най-накрая се извършат ROC анализи за извеждане на прагови стойности на показателя при T1Д.

ADMA При пациентите с T1Д се установява значима положителна корелация между стойността на AlbU и серумните нива на ADMA. В комбинация с определяне на HbA1C, AlbU прогнозира 15% от концентрацията на ADMA при изследваните лица с T1Д. ADMA като самостоятелен биомаркер няма достатъчно добра диагностична ефективност в отдиференциране на пациенти с много висок ССР, съгласно критериите на утвърдени модели като ST1RE и ESC от 2019 г.

OPG има добра прогностична стойност (приблизително 70%) за мъже и жени спрямо ST1RE при отдиференциране на лица с висок ССР. При ESC от 2019 г. OPG има добра прогностична стойност при отдиференциране на жени с много висок ССР - приблизително 65%. Прагови стойности на OPG >5,075 pmol/l за мъже и >5,355 pmol/l за жени спрямо ST1RE и >5,025 pmol/l за жени спрямо ESC от 2019 г. насочват към много висок ССР и налагат неотложни превантивни мерки. Възрастта на пациентите, давността на диабета и наличието на микро/макроалбуминурия са значими положителни детерминанти за серумните нива на OPG при лица с дългогодишен T1Д.

ADNC като самостоятелен биомаркер няма достатъчно добра диагностична ефективност в отдиференциране на пациенти с много висок ССР съгласно критериите на специфични за T1Д инструменти за оценка на ССР - ST1RE и ESC от 2019 г. При жени с T1Д се установява отрицателна корелационна връзка между ADNC и CRP, а при здравите жени - 58,6% от дисперсията в измерените концентрации на AlbU се асоциират с дисперсия в резултатите за ADNC.

Lер При мъжете от двете изследвани групи се наблюдава тенденция за увеличаване на концентрацията на Lер с напредване на възрастта. При мъжете с T1Д, независимо положително влияние върху серумните нива на Lер има и стойността на AlbU - 11,9%. При жените значими положителни детерминанти за серумните нива на Lер са AlbU и CRP. Посочените променливи прогнозира 23,8% от измененията в серумната концентрация на Lер при жени с дългогодишен T1Д и 29,4% при здрави жени. Lер има много добра диагностична ефективност при отдиференциране на мъже с много висок ССР спрямо ST1RE (приблизително 80%) и ESC от 2019 г. (приблизително 70%). Изведените прагови стойности са съответно >2,28 ng/ml и >1,38 ng/ml. Всяко увеличение на концентрацията на Lер с 1 ng/ml води до увеличение на шанса при мъжете да попаднат в категория на много висок ССР с 1,7 пъти според ST1RE и с 1,404 пъти спрямо ESC от 2019 г. При жените Lер има достатъчна диагностична ефективност спрямо ESC от 2019 г. (приблизително 60%) при прагова стойност >5,475 ng/ml.

При лицата с дългогодишен T1Д се наблюдава положителна асоциация между серумните нива на OPG, ADNC, Lер и тенденция за микроцитна, хипохромна анемия. При мъжете с дългогодишен T1Д и изчислен много висок ССР, според утвърдени модели ST1RE и ESC от 2019 г., рискът от развитие на анемия е по-голям от този при жените с T1Д.

По отношение на левкоцитните променливи адипокините оказват противоположно действие: ADNC е отрицателен регулатор, а Lер - положителен.

Значима находка в настоящото проучване е хиперреактивността на тромбоцитите при лицата с дългогодишен Т1Д, която кореспондира със серумните нива на Lер и ADMA.

Получените резултати покриват поставените цел и задачи на труда и показват способността на дисертантката за изграждане на научна хипотеза и критичен анализ на получените данни.

В обсъждането проличава умението на авторката обективно да сравнява и съпоставя своите данни със световните резултати. Много прецизно са разгледани патогенетичните механизми, с които всеки от изследваните показатели покачва сърдечно-съдовия риск. Старателно са подбрани и статистическите методи, чрез които се утвърждават или отхвърлят определени хипотези. По този начин се извеждат препоръки за включването на определен биомаркер за проследяване на пациентите с Т1Д.

Изтъкнато е участието на OPG в развитието на ендотелната дисфункция и оформянето на атеросклеротичната плака. Разгледана е ролята на висцералната мастна тъкан като източник на адипокини и възпалителни цитокини. Подчертана е ролята на екзогенно внесения инсулин, статините, антихипертензивните медикаменти и отношението им към изследваните параметри.

Очетена е ролята на автоимунните процеси в стомаха за развитие на анемия при пациенти с Т1Д. Тенденцията за левкоцитоза при лица с дългогодишен Т1Д се свързва с хроничния нискостепенен възпалителен процес, който допринася за атеросклеротична прогресия и ССЗ. По-високият тромбоцитен брой и тромбоцитни индекси при лица с Т1Д се дължат на тромбоцитна дисфункция и тромбоцитна хиперактивност. Колкото по-висок е MPV, толкова по-вероятно е образуването на тромби и увреждането на съдовия ендотел. Хиперреактивният фенотип на тромбоцитите може да е причина за неадекватен отговор към антиагреганти при пациенти със Т1Д.

Възможността да се определи категорията на ССР въз основа серумните нива на определени биомаркери би могла да осигури огромна полза при стратифицирането на риска, централизиране на ресурсите и елиминиране необходимостта от допълнителни изследвания при голям сегмент от пациенти.

Изводите на дисертационния труд са **12 на брой**. Те са ясно и точно дефинирани. Произтичат от резултатите и отговарят на поставените цел и задачи.

Изтъкнати са **9 приноса** - 4 с оригинален и 5 с потвърдителен характер. *Приноси с оригинален характер*

-За първи път в България се оцени прогностична стойност на ADMA, OPG, ADNC и Lер спрямо специфични инструменти за оценка на ССР: ST1RE и ESC от 2019 г. при лица с дългогодишен Т1Д.

-За първи път в България се оцени прогностична стойност на ADMA, OPG, ADNC, Lер и показателите от кръвната картина спрямо конструиран модел - комбинация от утвърдени в клиничната практика РФ за развитие на ССЗ при ЗД (RiskFactor3: HbA1C>7%, CRP >3 mg/l и AlbU >30 mg/l).

-За първи път в България се оцени влиянието на хаматоморфологични показатели върху серумните нива на ADMA, OPG, ADNC и Lер и връзката им със ST1RE и ESC от 2019 г. при лица с дългогодишен Т1Д.

-За първи път в България се анализираха хематологични промени при лица с Т1Д с голяма давност и незадоволителен контрол.

-Потвърдено е значението на OPG като прогностичен фактор, влияещ на риска от ССЗ при лица с дългогодишен Т1Д.

-Потвърдено е значението на Lер като прогностичен фактор, влияещ на риска от ССЗ при лица с дългогодишен Т1Д.

-Потвърдено е значението на AlbU като независима променлива върху серумните нивана ADMA, OPG, ADNC и Lер.

-Потвърдено е значението на ИТМ и СRР върху серумните нива на адипокините.

-Потвърдена е регулаторната на роля на адипокините върху хематопоезата при лица с дългогодишен Т1Д и здрави контроли.

-Потвърдена е нуждата от извеждане на полово-зависими референтни стойности за тромбоцитните индекси (MPV, PLC-R, PDW, PCT) и имплементирането им в рутинната клинично-лабораторна практика.

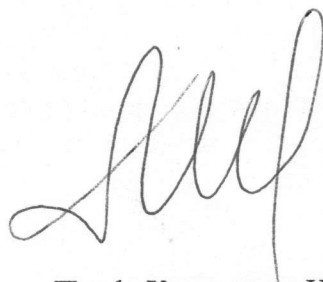
Споделям приносите на труда, които има както научно-теоритичен, така и научно-приложен характер. Те са с ценна научна и практическа стойност.

Публикациите във връзка с дисертационния труд са 2 в реферирани медицински списания . Представени са и 4 доклада от научни форуми.

Авторефератът отговаря на изискванията. Отразява в синтезиран вид най-съществените моменти от дисертационния труд във всичките му раздели.

В заключение, въз основа на представения ми материал, считам че дисертантката е изпълнила планираните задачи точно и систематично. Считам, че дисертационният труд по обем, съдържание и актуалност отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в република България и препоръчвам на уважаемото Научно жури да присъди на Д-р Гергана Младенова Чаушева образователна и научна степен „Доктор” по професионално направление 7.1 Медицина, научна специалност 03.01.12 „Клинична лаборатория”.

03.02.2023



Проф. Красимира Икономова, дм