

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ ПЛЕВЕН
КАТЕДРА „КАРДИОЛОГИЯ, ПУЛМОЛОГИЯ И ЕНДОКРИНОЛОГИЯ“

д-р Едуард Ованес Мекенян

**ПРОМЕНИ НА ЕЛАСТИНОВА И КОЛАГЕНОВА ОБМЯНА
ПРИ РАЗВИТИЕТО НА РАННИ СЪРДЕЧНОСЪДОВИ
УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МЕТАБОЛИТЕН
СИНДРОМ**

ПРОЕКТ ЗА АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд

за присъждане образователна и научна степен „доктор“ по научна
специалност „кардиология“, шифър 03.01.47

Научен ръководител: Доц. д-р Снежана Тишева дм

Официални рецензенти:

Проф. Д-р Светла Торбова

Доц. Д-р Димитър Карастатев

Плевен 2012г

Изследванията по дисертацията са извършени в Първа кардиологична Клиника и Катедра "Анатомия, хистология, цитология и биология" към МУ – гр. Плевен

Дисертационният труд съдържа 129 машинописни страници, 9 таблици и 43 фигури. Литературната справка включва 169 заглавия от които 6 на кирилица и 163 на латиница

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от разширен катедрен съвет на катедра "КАРДИОЛОГИЯ, ПУЛМОЛОГИЯ И ЕНДОКРИНОЛОГИЯ", Факултет медицина, Медицински Университет Плевен

Дисертантът работи като асистент в катедра "КАРДИОЛОГИЯ, ПУЛМОЛОГИЯ И ЕНДОКРИНОЛОГИЯ" на МУ – Плевен в Първа кардиологична клиника "УМБАЛ – Д-р Георги Странски" ЕАД гр. Плевен.

Има придобита основна специалност по вътрешни болести.

Публичната защита на дисертационният труд ще се състои наот часа в зала „Амброаз Парев“ МУ Плевен ул. "Св. Климент Охридски" 1

Материалите по защитата са на разположение на сайта на МУ – Плевен www.mu-pleven.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

| | | |
|--------------|---|-----------|
| I. | <u>Въведение</u> | 6 |
| II. | <u>Цел и задачи на проучването</u> | 8 |
| III. | <u>Материали</u> | 9 |
| IV. | <u>Методи на изследване</u> | 12 |
| V. | <u>Собствени резултати</u> | 18 |
| | 1. Характеристика на изследваните лица и имунолог. показатели | 18 |
| | 2. Сравнение на имунологичните маркери в обособените групи | 19 |
| | 2.1 Сравняване на имунологичните маркери при лица с метаболитен синдром (общо) и контролната група | 19 |
| | 2.2 Сравняване на имунологичните маркери при групата на лицата метаболически без ЗД и лицата метаболически със ЗД | 22 |
| | 2.3 Сравняване на имунологичните маркери при контролната група и групата метаболически без ЗД | 23 |
| | 2.4 Сравняване на имунологичните маркери при контролната група и групата метаболически със ЗД | 25 |
| | 3. Корелационни зависимости между имунологичните маркери и отделните рискови фактори | 27 |
| | 3.1. Корелационна зависимост между имунологичните маркери и отделните рискови фактори в общата група – метаболически и контроли | 27 |
| | 3.2 Корелационна зависимост между имунологичните маркери и отделните рискови фактори в групата на лицата с метаболитен синдром | 31 |
| | 3.3 Корелационна зависимост между имунологичните маркери и рисковите фактори в групата на лицата с метаболитен синдром без ЗД | 34 |
| | 4. Корелационната зависимост между имунологичните маркери и SCORE chart риска | 36 |
| VI. | <u>Обсъждане</u> | 39 |
| VII. | <u>Изводи</u> | 49 |
| VIII. | <u>Приноси</u> | 51 |
| IX. | <u>Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд</u> | 52 |

Използвани съкращения:

LDL - нископлътни липопротеини

HDL - високоплътни липопротеини

VLDL – много нископлътни липопротеини

SCORE - Systematic Coronary Risk Evaluation

CVD - сърдечно съдови заболявания

АХ – артериална хипертония

АН – артериално налягане

ЗД – захарен диабет втори тип

ИБС – исхемична болест на сърцето

ЕВА – ранно съдово стрееене

ИР – инсулинова резистентност

МС – метаболитен синдром

СМК – свободни мастни киселини

CRP – С реактивен протеин

TNF- α – тумор некротичен фактор алфа

ДАН – диастолно артериално налягане

САН – систолно артериално налягане

PWV – скорост на пулсовата вълна

AP – augmentation pressure

AiX – augmentation index

ИМТ – дебелина интима медия

ММП – матриксна металопротеиназа

АЕАb IgG – антиеластинови антитела от клас IgG

АЕАb IgM – антиеластинови антитела от клас IgM

АТЕАb IgG – антитропоеластинови антитела от клас IgG

АТЕАb IgM – антитропоеластинови антитела от клас IgM

АСol IVAb IgG – антиколагенови тип IV антитела от клас IgG

АСol IVAb IgM – антиколагенови тип IV антитела от клас IgM

АGEsAb IgG – антитела срещу крайни гликирани продукти от клас IgG

АGEsAb IgM – антитела срещу крайни гликирани продукти от клас IgM

ЕЦМ – екстрацелуларен матрикс

EDP – еластин деградационни пептиди

БМ – базална мембрана

LSD – Fisher's least significant differences (най-малки значими разлики)

ЦАН – централно аортно налягане

I. Въведение

Сърдечносъдовите заболявания представляват основен дял от заболяванията на възрастното население във всички страни на света и са основна причина за смъртността през последните десетилетия. В България те предизвикват 62-65% от общата смъртност на населението. В основата на сърдечносъдовите болести е атеросклерозата, характеризираща се със съдовото стареене, увеличаване на артериалната ригидност и развитие на атеросклеротични плаки водещо до обтурация на съдовете. Атеросклерозата е хронично, прогресиращо заболяване, което засяга вътрешния слой на големите и средните артерии на организма.

За по-ранната ѝ изява и прогресия допринасят редица рискови фактори, компоненти на метаболитния синдром. По-ранната изява (в по-млада възраст) на метаболитния синдром в съвременната популация води и до по ранна изява на усложненията от ранното стареене на съдовете, а съчетаването на няколко рискови фактори води до ускоряване на процеса.

В структурата на съдовата стена важно място заемат фибрилерните белтъци еластин и колаген, а хемодинамичните свойства на съдовете са в пряка зависимост от състава и организацията на екстрацелуларния матрикс /ЕЦМ/ и промените в него под действието на рисковите фактори (захарен диабет, атерогенна дислипидемия, артериална хипертония, централен обезитет).

Основният механизъм за избягване усложненията на атеросклеротичния процес е профилактиката на рисковите фактори, с което се понижава риска от развитие на фатални и други сърдечносъдови инциденти. Причина за неадекватна профилактика е асимптомното протичане на процеса, водещо до negliжиране на проблема и неправилна стратификация на рисковия профил на индивидите.

За правилната стратификация на риска са необходими методи за ранна оценка на морфологични съдови промени преди настъпването на усложненията. Търси се констелация от маркери, които да имат достатъчна прогностична стойност за ранните етапи на атеросклеротичния процес.

В последните години, чрез имунологични методи, се проучват промените на еластиновата, колагеновата обмяна и крайните им гликирани продукти, като белег за съдово стареене при високорискови лица със сърдечносъдови усложнения.

В научната литература няма достатъчно проучвания, които да оценяват констелацията на тези промени при различните рискови фактори при лица метаболици без настъпили съдови усложнения. Оскъдни са данните за прогностичната им стойност в оценката на процеса на ранно съдово стареене. За да се внедрят имунологичните методи в клиничната практика са необходими по-нататъшни проучвания, които да докажат и точно да обяснят динамиката на по-горе посочените промени в хода на съдовото стареене и биха могли да покажат тяхната роля в подобряване на рисковата стратификация на пациентите.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Основната цел на настоящата дисертационна работа е:

Да проучим промените в някои от имунологичните маркери на еластиновата, колагеновата обмяна и крайните им гликирани продукти като маркер за съдово стареене при пациенти с метаболитен синдром.

Реализирането на основната цел изисква изпълнението на следните задачи:

1. Да се проведе сравнителен анализ на някои от имунологичните показатели на еластиновата и тропоеластиновата обмяна между различните групи лица

2. Да проведе сравнителен анализ на някои от имунологичните маркери на еластиновата и тропоеластиновата обмяна при различните групи лица.

3. Да се направи сравнителен анализ на някои от имунологичните показатели на колагеновата обмяна между различните групи лица.

4. Да се проведе сравнителен анализ на антителата срещу AGEs между различните групи лица.

5. Да се проучат корелативните връзки между нивата на имунологичните показатели на еластиновата, колагеновата обмяна и AGEs с рисковите фактори, характеризиращи метаболитния синдром.

6. Да се проведе сравнителен анализ на констелацията от имунологични показатели и SCORE chart риска и да се оцени прогностичната им стойност в рисковата стратификация на лицата.

III. МАТЕРИАЛИ

За решаване на поставените в дисертационния труд задачи бяха използвани следните материали:

Клиничен контингент

За периода март - 2009г. до януари 2011г. при провеждане на профилактични прегледи сред работещата популация на град Плевен бяха прегледани 327 души. От тях бяха подбрани 62 лица отговарящи на включващите и без изключващи критерии. Избрана бе и контролна група състояща се от 42 лица. Доброволното участие на всички изследвани лица е удостоверено с писмено информирано съгласие. Подбраните лица от основната група спазват следните включващи и изключващи критерии:

Включващи критерии:

- Възраст от 18г до 65г
- Наличие на метаболитен синдром по критериите на Международната Диабетна Федерация (IDF) от 2005г:
 - **Централно затлъстяване** (задължителен компонент) – за европеидната раса – обиколка на талията ≥ 94 cm при мъжете и ≥ 80 cm при жените
 - **Атерогенна дислипидемия:**
 - повишени нива на триглицериди ≥ 1.7 mmol/l (≥ 150 mg/dl) или специфично лечение поради това липидно нарушение
 - нисък HDL-холестерол (HDLC) ≤ 1.04 mmol/l (40 mg/dl) при мъжете и ≤ 1.29 mmol/l (50 mg/dl) при жените или специфично лечение поради това липидно нарушение

- **Повишено артериално налягане (АН)** – систолно АН ≥ 130 mm Hg или диастолно АН ≥ 85 mm Hg, или лечение на диагностицирана преди това хипертензия
- **Хипергликемия на гладно** – стойност на кръвната глюкоза на гладно ≥ 5.6 mmol/l (100mg/dl) или диагностициран преди това диабет тип 2; при измерване на стойност ≥ 5.6 mmol/l (100mg/dl) силно се препоръчва провеждането на орално обременяване с глюкоза (ОГТТ), но това не е задължително за потвърждаване на синдрома
- Лица без установени съдови заболявания и късен дегенеративен синдром
- Подписано информирано съгласие одобрено от Етичната комисия към УМБАЛ „Г.Странски“ и МУ Плевен

Исключващи критерии:

- Активен възпалителен процес
- Доказани сърдечно-съдови усложнения
- Доказана неоплазма
- Бременност
- Вторична артериална хипертония
- Други ендокринологични нарушения
- Бъбречна недостатъчност
- Чернодробна недостатъчност
- Алкохолна и наркотична зависимост
- Отказ да подпише информирано съгласие

Критерии за подбора на контролната група: Всички лица на възраст от 18 до 65г, подписали информирано съгласие без метаболитен синдром и нямащи изключващи критерии.

Лицата от основната група са разпределени в две подгрупи: Метаболитен синдром с диагностициран захарен диабет 2-ри тип – 30 лица и метаболитен синдром без диагностициран захарен диабет 2-ри тип – 32 лица.

Всички лица са стратифицирани спрямо рисковия си профил като такива с нисък, интермедиерен и висок риск според SCORE системата за оценка на 10г риск от смърт поради сърдечно-съдов инцидент.

IV. МЕТОДИ

1. Клиничен метод-анамнеза и физикален статус

На всички лица бе снета подробна анамнеза за наличието на субективни оплаквания, сърдечно-съдови рискови фактори, придружаващи заболявания и наличие на съпътстваща терапия. Осъществен бе анализ на наличната съпътстваща медицинска документация.

Анамнестични данни за наличие на захарен диабет: тип на захарния диабет, давност, провеждано лечение, контрол на кръвната захар. Наличието на захарен диабет е определено по критериите на СЗО от 2006г [12].

Анамнестични данни за наличие на атерогенна дислипидемия, давност, максимално установявани стойности на липидните показатели провеждано лечение. За наличие на дислипидемия съдим по един или повече от следните лабораторни показатели:

- Стойности на общ холестерол $\geq 5\text{mmol/L}$
- Стойности на LDL холестерола $\geq 3,5\text{ mmol/L}$
- Стойности на HDL-C холестерол $\leq 1.29\text{ mmol/L}$ за жени и $\leq 1.02\text{mmol/L}$ за мъже
- Стойности на триглицеридите \geq от $1,7\text{mmol/L}$

Или провеждана терапия за този рисков фактор

Осъществен бе физикален преглед състоящ се в:

- Измерване на ръста с ръстомер
- Измерване на теглото с медицинска теглилка
- Измерване обиколка на талия – със стандартен сантиметър при стоеж с ръце отведени встрани. Сантиметърът минава през пъпа, гребена на хълбочната кост и петия лумбален прешлен Мускулите са в покой.

- Измерване на ханш – при прав стоеж, ръцете са леко отведени встрани. Мери се на най-голямото място. Метърът е хоризонтално разположен спрямо пода
- Изчисляван бе hip/waist ratio.
 - Измервано бе артериалното налягане според препоръките на Световната Здравна Организация (СЗО) след десетминутен покой в седнало положение с маншет на мишницата Използува се стандартен ръчен сфигмоманометър. Направени са 3 измервания с 2 минутен интервал между тях. За референтна се взима средната стойност. Измерванията се правят на двете ръце, като за референтна се приема по-високата стойност.

Данните от снетите анамнеза и статус бяха въведени в анкетна карта създадена специално за целта.

2.Лабораторни методи

На всички изследвания лица подписали информирано съгласие, съгласно изискванията на Комисията по етика на научно-изследователската дейност при МУ-Плевен бе взета венозна кръв в два стерилни охладени вакутейнери от по10мл. Кръвта за изследване е взета в сутрешните часове (8 - 9,30ч.), 12 часа след последното хранене.

Венозната кръв от единия вакутейнер бе използвана за осъществяване на стандартни биохимични лабораторни изследвания - нива на серумна глюкоза, общ холестерол, триглицериди, HDL-C, пикочна киселина. Изследванията са извършвани в "Медицински Център - *Екзакта Медика*" АД.

Кръвта от другия вакутейнер бе използван за извършване на лабораторните изследвания за целта на проучването в Катедра Биология, като за целта след едночасов престой кръвта е центрофугирана на бавни обороти и отделеният серум е разпределен за трикратно изследване в

химически чисти шишенца, добре затворени и съхранявани при - 50°C до изследването им чрез ELISA. Изследвани бяха:

- антиеластинови антитела от клас IgG (AEAb IgG) и клас IgM (AEAb IgM)
- антитропоеластинови антитела от клас IgG (ATEAb IgG) и клас IgM (ATEAb IgM)
- анти колаген тип IV антитела от клас IgG (ACollIVAb IgG) и клас IgM (ACollIVAb IgM)
- антитела срещу крайни гликирани продукти от клас IgG (AGEsAb IgG) и IgM (AGEsAb IgM)

Метод за тестиране на антителата от клас IgG и IgM

Микротитърните плаки (Microton U-bottom, high binding, Greiner Bio One, Frickenhausen Germany) бяха сенсibiliзирани със съответния на тестираните антитела антиген (еластин или тропоеластин от Elastin Product Company, USA, колаген тип IV от Sigma, USA, в концентрация 10 µg/ml и гликиран хемоцианин от Sigma, USA в концентрация 2,5 µg/ml, в карбонатен буфер с рН 9.6, по 100 µl в кладенче. След инкубация за 2 ч на 37°C и една нощ на 4°C, кладенчетата бяха блокирани с 0.1% говежди серумен албумин и инкубирани за 1 ч на 37°C. Тестираните серуми, разредени 1:40 в PBS-Tween, бяха накапани по 100 µl в кладенче и инкубирани за 1 ч на 37°C. Последва накапване на анти-човешки IgG или IgM пероксидазен конюгат (БулБио, София, България) в разреждане съответно 1:3 200 и 1:6 000 и инкубация за 1 ч на 37°C. Като колориметричен субстрат беше използван 0,8 µg/ml О-фенилендиамин (Sigma, USA), разтворен в 0.05 М цитратен буфер (рН 5.0) с 0,01% H₂O₂.

Кладенчетата бяха промивани трикратно с PBS-Tween 20 след всеки етап на тестирането. Реакцията беше спряна с добавяне на 50 μl H_2SO_4 (8N) и абсорбцията измерена на автоматичен микро-ELISA ридер (Coulter), при дължина на вълната 490 nm. Използвахме следните контроли: (1) субстратна контрола: в сенсibiliзираните с антиген кладенчета беше добавен само буфер за разтваряне на пробите и колориметричен субстрат; (2) конюгатна контрола: пероксидаза-конюгираното антитяло беше добавено директно към сенсibiliзираните с антиген кладенчета; (3) отрицателна контрола за оценка на специфичността на реакцията: антигенът беше заместен с разтвор на човешки серумен албумин (4) положителна контрола: тестираните серуми бяха заместени със съответното на антигена поликлонално антитяло, разрежено в буфер за серуми. Всички серуми бяха тестирани трикратно и беше пресметната средна аритметична стойност \pm SE.

3. Статистически методи

Данните от проучването са обработени с пакета статистически компютърни програми Statgraphics Plus for Windows и EXCEL.

Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови величини /проценти, коефициенти, средни величини, стандартно отклонение и др./.

Оценката на статистическата достоверност в проучваните групи се осъществява посредством стойността на p за намереното значение на хи-квадрат или точния критерий на Фишер, като за значими се приемат разликите при ниво на значимост $p < 0.05$.

1. Описание на качествени променливи величини

За описателната характеристика на качествени променливи се използват два основни вида статистически показатели: пропорции и коефициенти за честота. Те се отнасят към т.нар. относителни величини и се получават

чрез прилагане на елементарно аритметично действие деление на две абсолютни числа. Чрез тях е изучена структурата /състава, разпределението/ на разновидностите на променливите величини, характеризиращи дадено явление.

2. Описание на количествени променливи величини

Принципният проблем при работа с живи организми е присъщата им вариабилност. В същото време, въпреки индивидуалните различия, при разглеждане на стойностите на количествените променливи в определена съвкупност се установява определена централна тенденция. За измерването на централната тенденция са използвани два основни вида средни величини – алгебрични средни величини /средна аритметична/ и позиционни средни величини /медиана, мода, квартили, персенти/.

3. Вариационен анализ

За измерване на варирането са използвани следните описателни числови характеристики: размах /обсег/ на вариационния ред - разликата между екстремалните стойности /максималната и минималната/; стандартно отклонение - средното отклонение на резултатите от средната аритметична.

4. Параметрични методи за проверка на хипотези – приложими само при количествени величини при нормално или близко до нормалното разпределение.

- ✓ t-критерий на Стюдент – използван е за сравняване на средни величини, коефициенти и пропорции.
- ✓ Дисперсионен анализ – еднофакторен и многофакторен дисперсионен анализ е използван за изучаване на значимите различия между резултатите в групите чрез метода на проверка F-критерий на Fisher.

5. Непараметрични методи за проверка на хипотези – приложими при количествени и качествени променливи независимо от формата на

разпределението. Използвани са критерият на Пирсон /хи-квадрат/ и критерият на Kruskal-Wallis.

6. Корелационен анализ е използван за изучаване на връзката между измененията в зависимата променлива и съответните изменения в проучваните фактори. При наличие на действителна връзка, тя е представена чрез коефициента на корелация r , който има числена стойност и знак $+/$ или $-/$. Числената стойност характеризира силата на корелационната зависимост, а знакът пред числото показва направлението на връзката – при знак $+/$ е налице положителна корелационна зависимост, а при знак $-/$ - отрицателна. При качествени алтернативни е използван коефициентът на корелация на Пирсон и специален критерий за факторно влияние като мярка за силата на връзката между един фактор и прогнозата на СН, наречен отношение на шансовете /OR – odds ratio/. Отношението на шансовете се използва като приблизителна мярка на рисковото отношение за изход от заболяването в зависимост от определен рисков фактор или определена група рискови фактори. При количествени променливи величини е използван коефициентът на Пирсон, а при категорийни променливи, представени в ординална скала, количествени променливи и при една количествена и една качествена променлива, е използван ранговият коефициент на корелация на Спирман.

Корелационните зависимости са оценени със следните коефициенти на корелация:

- Много слаба или липсваща <0.1
- Слаба $0.1-0.3$
- Умерена $0.3-0.5$
- Силна $0.5-1.0$

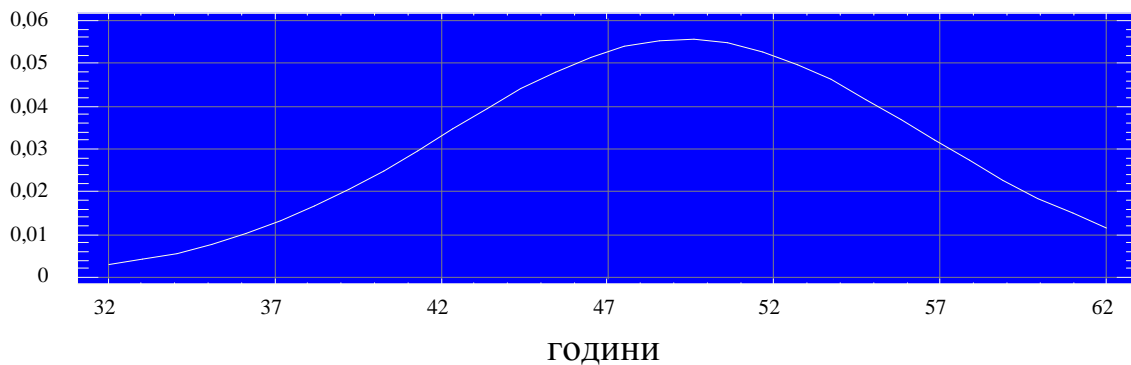
V. РЕЗУЛТАТИ

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЛИЦА И ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЛИЦА И КОНТРОЛНАТА ГРУПА

От отговарящите на критериите прегледани лица – 104 подписаха информирано съгласие. От тях 49 са мъже, което представлява 47% от извадката. Средната възраст за всички пациенти $49,33 \pm 7,16$ години /средна стойност $\pm S$ / и варира от 32 до 62 години. Доверителният интервал за средната стойност при доверителна вероятност 0.95 е $49,33 \pm 1,53$ /47,79 – 50,86/. Честотното разпределение по възраст е близко до нормалното и е представено на фиг.1

Брой лица



Фиг.1 Честотно разпределение по възраст

Контролната група не се различава по възраст от групата на лицата с метаболитен синдром, като възрастовите характеристики са представени в Табл.1

Табл.1 Разпределение на изследваните лица по възраст в групата на метаболици и контролната група

| Групи | Метаболици | | | Контролна | | | p |
|----------------|------------|-----|-----------|-----------|-----|-----------|------|
| величини | min | Max | \bar{X} | min | max | \bar{X} | |
| Възраст (год.) | 32 | 60 | 48,4 | 35 | 62 | 50,3 | 0,23 |

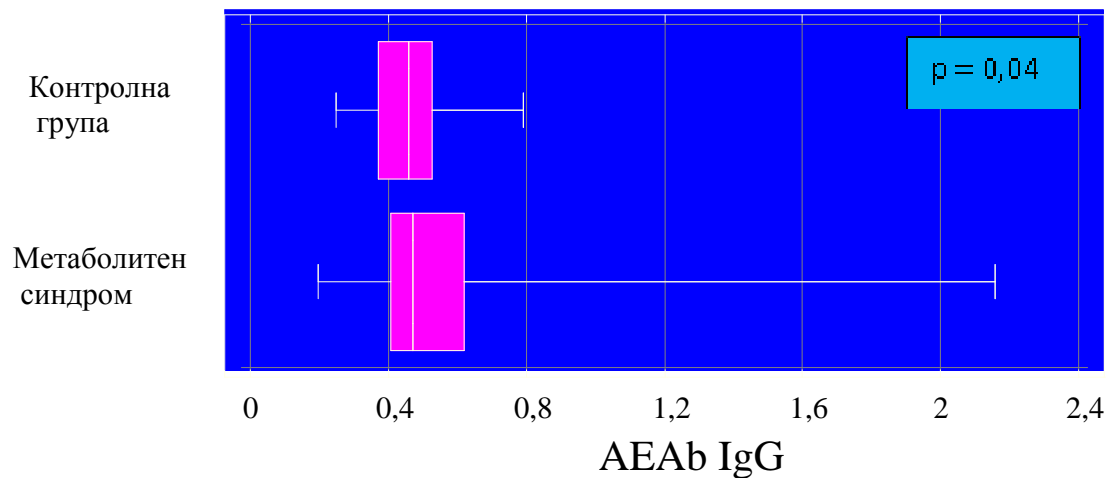
min – минимална възраст, max – максимална възраст, \bar{X} – средна възраст; p – интервал на доверителност

В контролната група 15 (36%) са мъже, а в групата на лицата с метаболически синдром 34 (55%) са мъже, $p > 0,05$. Разпределението на лицата по пол е еднакво в двете групи.

2. СРАВНЕНИЕ НА ИМУНОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ ПРИ ЛИЦАТА В ОБОСОБЕНИТЕ ГРУПИ

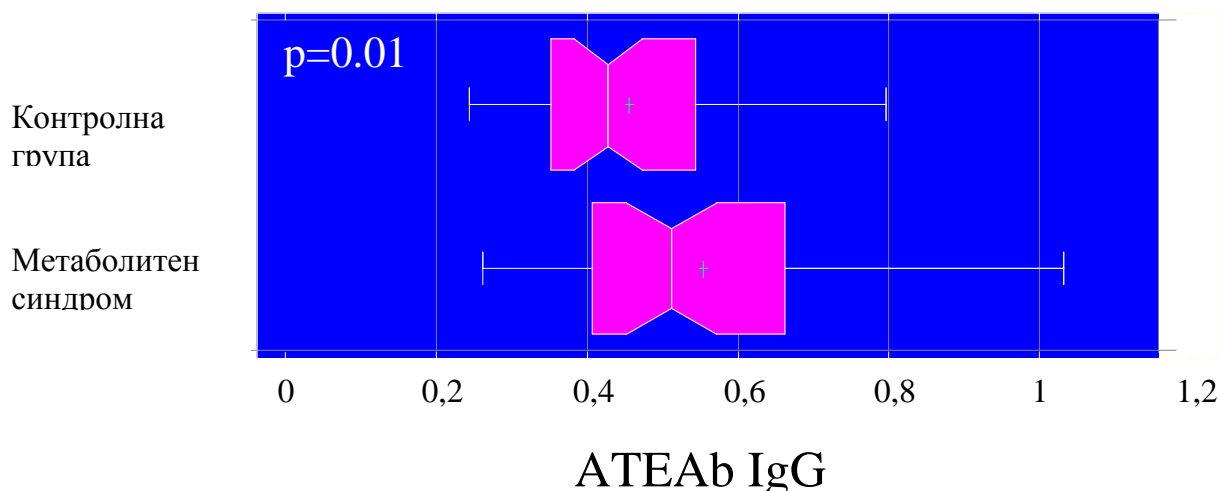
2.1 СРАВНЯВАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ЛИЦАТА С МЕТАБОЛИЧЕСКИ СИНДРОМ И КОНТРОЛНАТА ГРУПА

При сравнение на средните стойности на АЕАб IgG в групата на контролите и на лицата с метаболически синдром (съответно 0,45 +/- 0,11 и 0,54 +/- 0,29) се наблюдава статистически значимо по-високи средни стойности на АЕАб IgG в групата с метаболически синдром, $t = -1,85$, $p = 0,03$, (фиг.2)



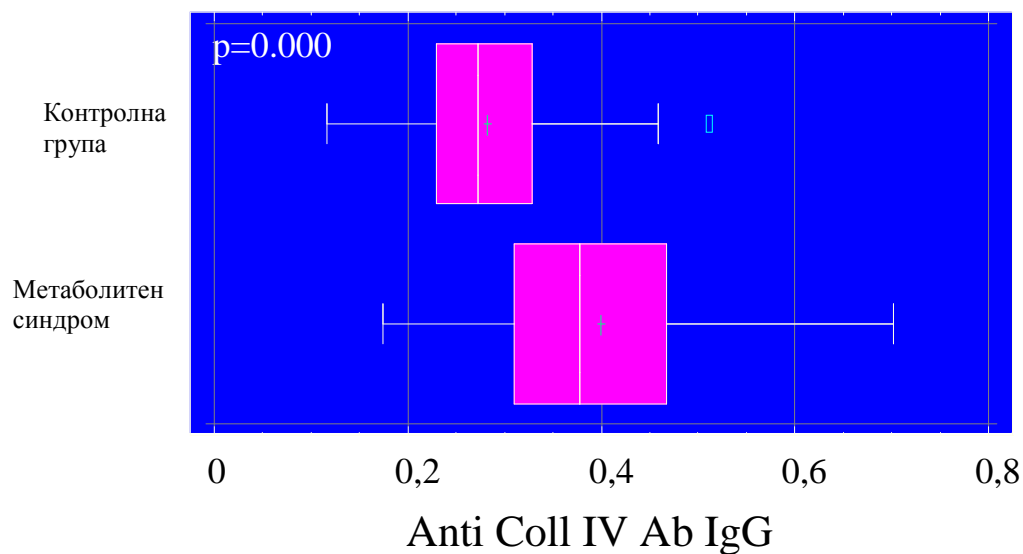
Фиг.2 Сравняване средните стойности на AEAbs IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром

При сравнение на средните стойности на ATEAbs IgG в групата на контролите и на лицата с метаболитен синдром (съответно 0,45 +/- 0,13 и 0,55 +/- 0,43) се наблюдава статистически значимо по-високи стойности на ATEAbs IgG в групата с метаболитен синдром, $t = -2.638$, $p = 0.005$, (фиг.3)



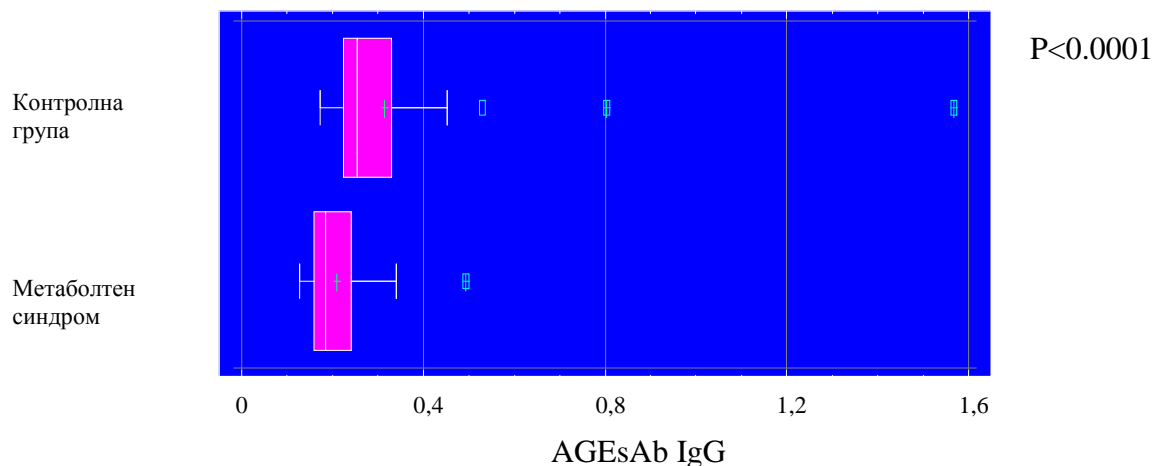
Фиг.3 Сравняване средните стойности на ATEAbs IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром

При сравнение на средните стойности на Anti Coll IV Ab IgG в групата на контролите и на лицата с метаболитен синдром (съответно 0,28 +/- 0,08 и 0,40 +/- 0,11) се наблюдава статистически значимо по-високи нива на Anti Coll IV Ab IgG в групата с метаболитен синдром, $F= 30.299$, $p = 0.000$, (фиг.4)



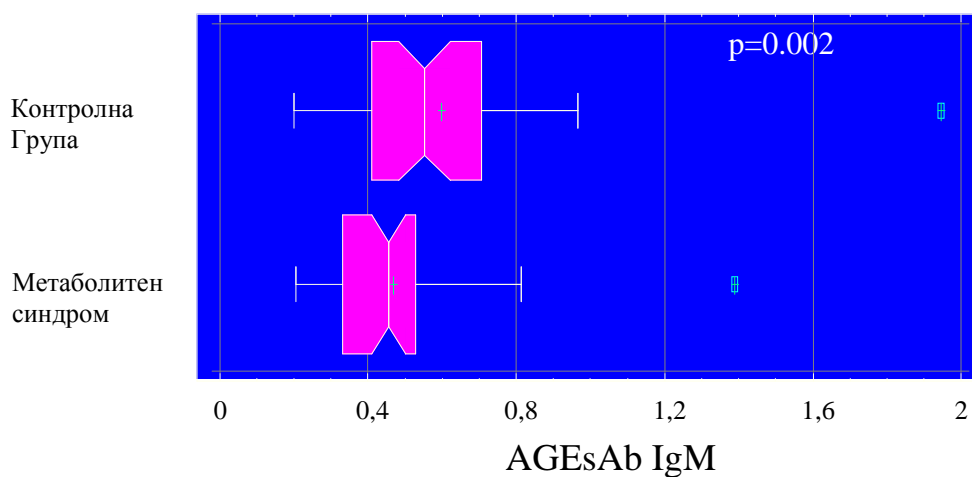
Фиг.4 Сравняване средните стойности на Anti Col IV Ab IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром

Разпределение на AGEs Ab IgG в групата на контролите и на лицата с метаболитен синдром е различно от нормалното. При сравнение на медианите на двете групи (съответно 0,25 и 0,19) в контролната група нивата на AGEsAb IgG са статистически по високи според Mann-Whitney (Wilcoxin) W test $p<0,0001$ (фиг.5)



Фиг.5 Сравняване медианите на AGEs Ab IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром

Разпределение на AGEs Ab IgM в групата на контролите и на лицата с метаболитен синдром е различно от нормалното. При сравнение на медианите на двете групи (съответно 0,55 и 0,445) в контролната група нивата на AGEs Ab IgG са статистически по $p=0,002$ (фиг.6)



Фиг.6 Сравняване медианите на AGEs Ab IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром

2.2 СРАВНЯВАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ МЕЖДУ ГРУПАТА НА ЛИЦАТА С МЕТАБОЛИЦИ БЕЗ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ И ЛИЦАТА МЕТАБОЛИЦИ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ

Разпределението на АЕАб IgG при лицата с метаболитен синдром без диабет е различно от нормалното. При сравняване на медианите на АЕАб IgG между двете метаболитни групи със и без диабет не се наблюдава статистическа значима разлика, съответно 0,51 и 0,46, $p > 0.05$.

Аналогично при сравняване на медианите на АЕАб IgM в двете групи (разпределението при лицата с метаболитен синдром без диабет е различно от нормалното), не се наблюдава статистически значима разлика, съответно 0,29 и 0,34, $p > 0,05$

Няма статистически значима разлика и при сравняване средните стойности на АТЕАб IgG в двете групи $p > 0.05$: MS-D 0,56 +/-SD-0,22 при мин. 0,26 и макс. 1,032 и MS+D 0,54 +/- SD-0,19 при мин. 0,30 и макс. 0,92.

Няма и статистически значима разлика при сравняване на средните стойности на АТЕАб IgM в двете групи $p > 0,05$: MS-D 0,28 +/-SD-0,09 при мин. 0,162 и макс. 0,474 и MS+D 0,25 +/- SD-0,09 при мин. 0,133 и макс. 0,398.

При сравняване средните стойности на АСollIVAb IgG в групата на лицата с метаболитен синдром без ЗД и лица с метаболитен синдром със ЗД няма статистическа значима разлика в двете групи $p > 0,05$: съответно 0,39 +/- SD-0,13 при мин 0,175 и макс 0,702 и 0,40 +/- SD-0,08 при мин. 0,27 и макс. 0,555.

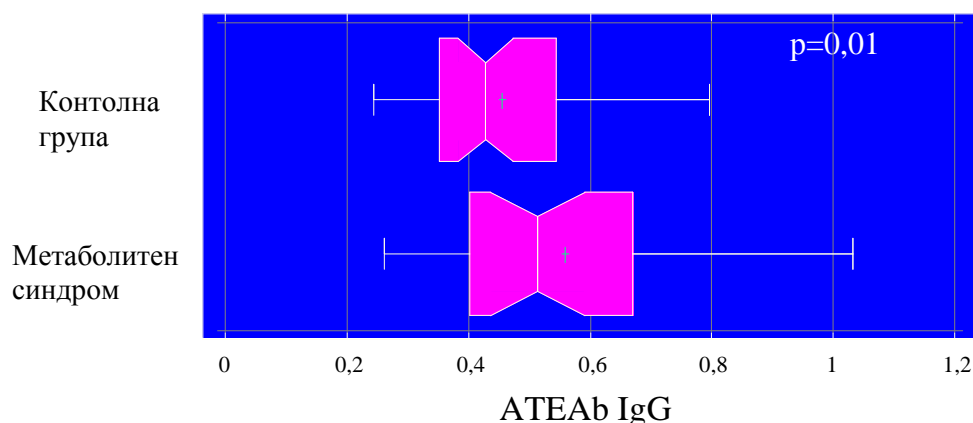
При сравняване на медианите на АСollIVAb IgM в двете групи (разпределението при лицата с метаболитен синдром без диабет е различно от нормалното), не се наблюдава статистически значима разлика, съответно 0,42 и 0,32, $p > 0,05$.

Разпределението на AGEsAb IgG при лицата с метаболитен синдром без диабет е различно от нормалното. При сравняване на медианите на AGEsAb IgG между двете метаболитни групи със и без диабет не се наблюдава статистическа значима разлика, съответно 0,20 и 0,18, $p>0.05$.

Сравняване на медианите на AGEsAb IgG в двете групи (разпределението при лицата с метаболитен синдром без диабет е различно от нормалното), не се наблюдава статистически значима разлика, съответно 0,46 и 0,43, $p>0,05$.

2.3 СРАВНЯВАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ КОНТРОЛНАТА ГРУПА И ГРУПАТА МЕТАБОЛИЦИ БЕЗ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ.

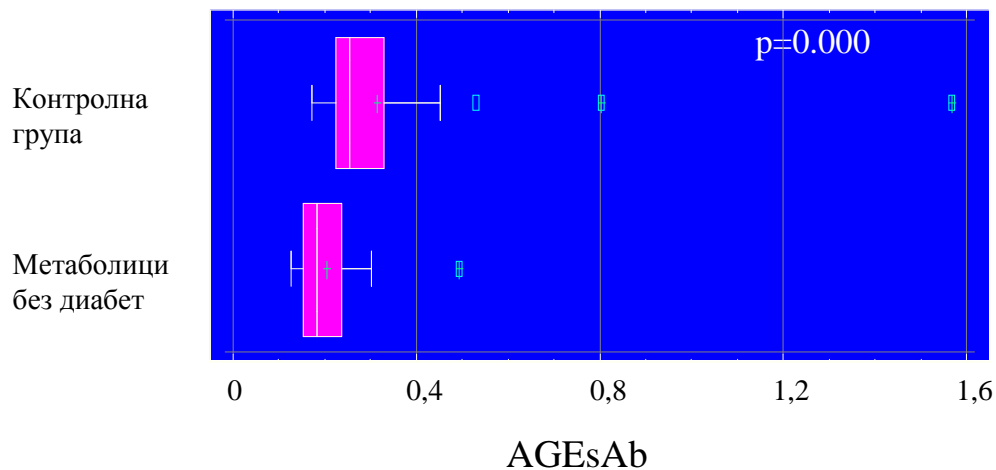
Статистически значима разлика има при сравняване средните стойности на AGEAb IgG в двете групи ($M=0,459$ и $M=0,461$; $p<0,05$), както и статистически значима разлика има при сравняване средните стойности на имунологичните маркери в двете групи за AGEAb IgG (съответно $\bar{X}=0,45 \pm 0,13$ и $\bar{X}=0,55 \pm 0,43$ $p=0.01$) Фиг.7



Фиг.7 Сравняване средните стойности на AGEAb IgG при здрави лица и лица с метаболитен синдром без захарен диабет

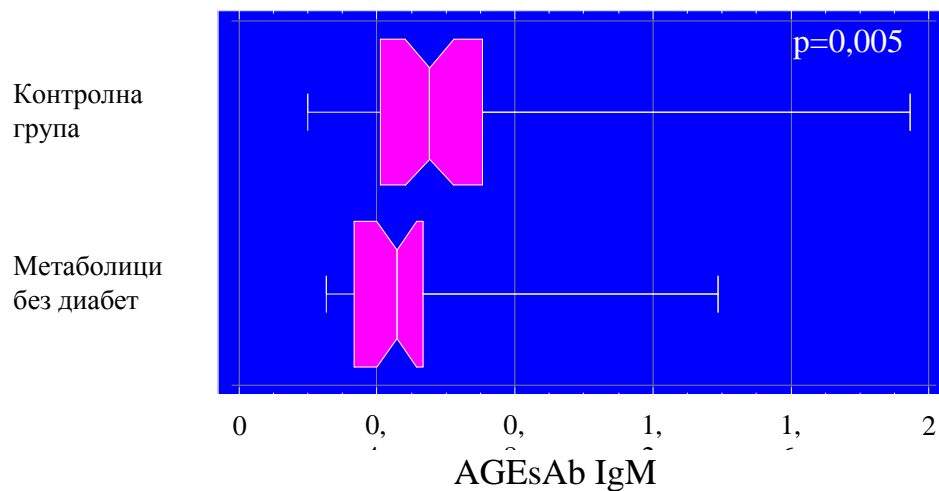
Статистически значима разлика има и при сравняване средните стойности за ACollIVAb IgG (съответно \bar{X} -0.281 +/- 0,081 и \bar{X} -0.397 +/- 0,126 $p=0.000$) в двете групи.

Статистическа значима разлика има и при сравняване медианите в контролната група и групата на метаболици без диабет, където нивата на антителата са по високи в контролната група в сравнение в групата на метаболиците (съответно M -0,255 и M -0,183 $p=0.000$) за AGEsAb IgG (Фиг.8),



Фиг.8 Сравняване медианите на AGEsAb IgG при контролна група и лица с метаболитен синдром без захарен диабет

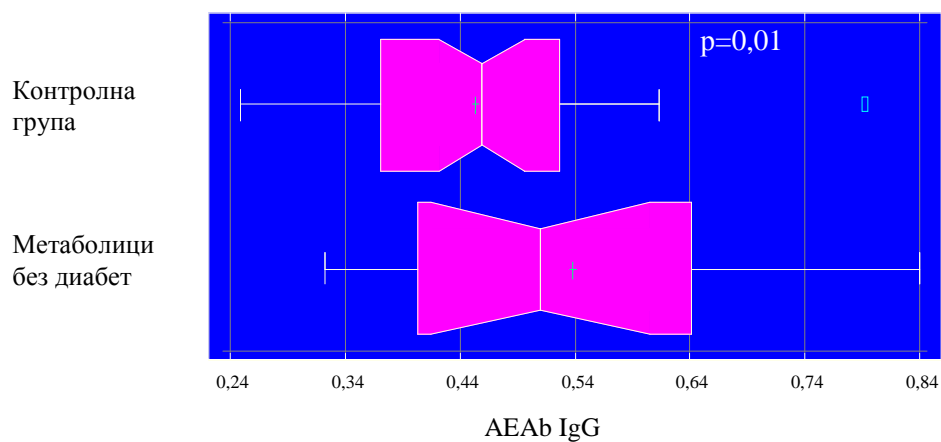
както и за AGEsAb 98 (съответно M -0,552 и M -0,457 $p=0.005$) (Фиг.9)



Фиг.9 Сравняване медианите на AGEsAb IgM при контролна група и лица с метаболитен синдром без захарен диабет

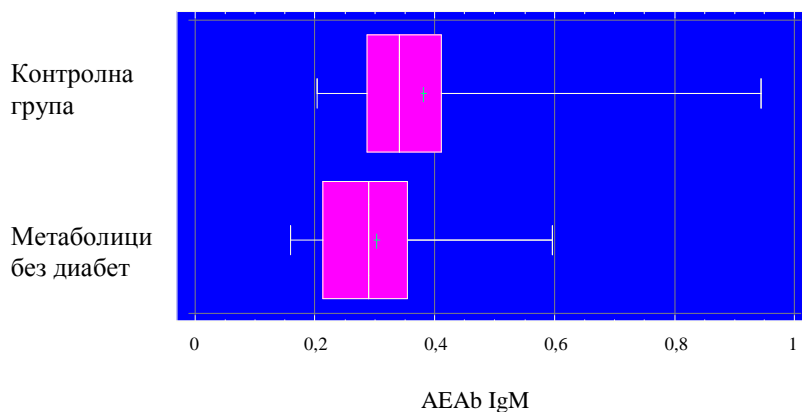
2.4 СРАВНЯВАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ КОНТРОЛНАТА ГРУПА И ГРУПАТА МЕТАБОЛИЦИ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ.

Статистически значима разлика има в средните стойности на имунологичните маркери в двете групи за АЕАб IgG (съответно \bar{X} - 0,45, +/- 0,11 и \bar{X} - 0,537, p=0,01) (Фиг.10)



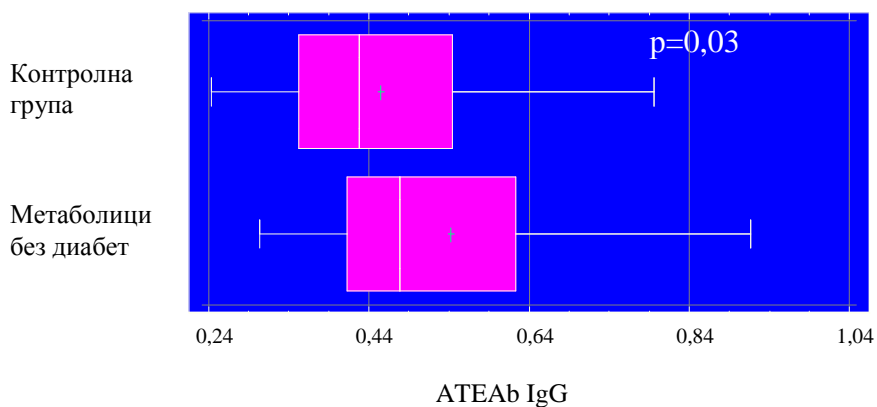
Фиг.10 Сравняване средните стойности на АЕАб IgG в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

както и статистически значима разлика между двете групи има в медианите на АЕАб IgM ($M = 0.340$ и $M = 0.289$, $p=0,02$) (Фиг.11)



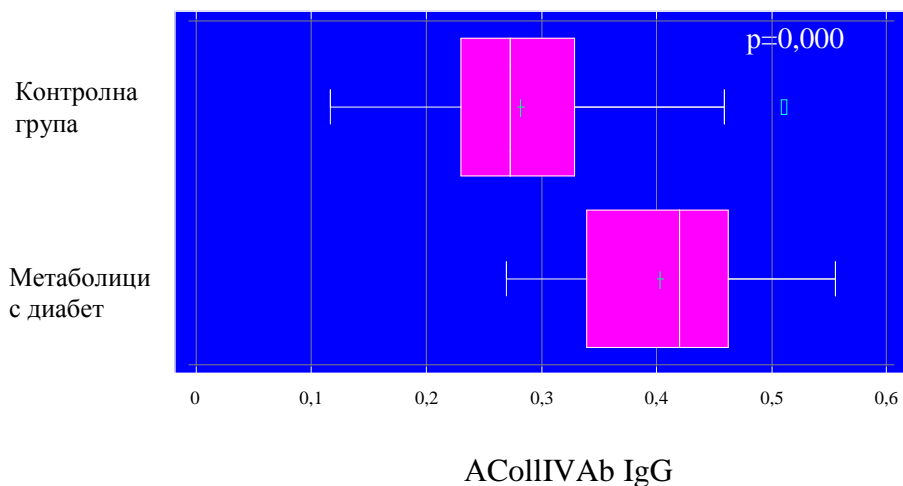
Фиг.11 Срявяване средните стойности на АЕАб IgM в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

Средните стойности на АТЕАб IgG в контролната група и групата на пациентите с метаболитен синдром със захарен диабет имат статистически значима разлика ($\bar{X} = 0,45 \pm 0,13$ и $\bar{X} = 0,542 \pm 0,19$, $p=0,03$) (фиг.12)



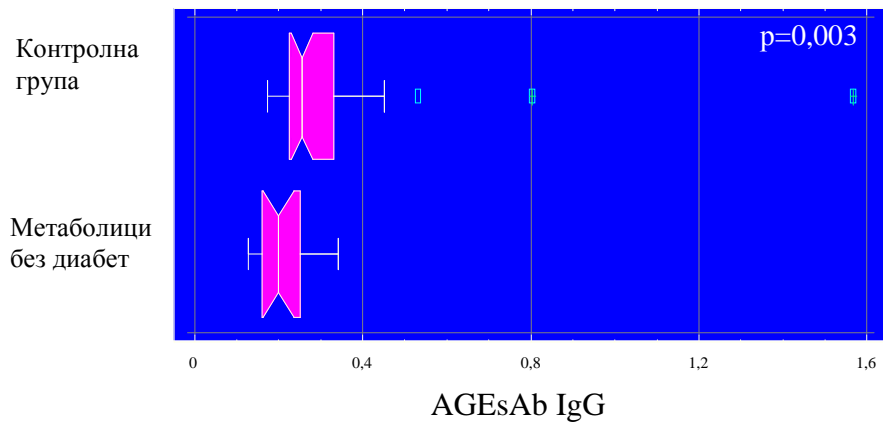
Фиг.12 Срявяване средните стойности на АТЕАб IgG в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

При сравняване средните стойности на ACollIVAb IgG (\bar{X} - 0,281 +/- 0,08 и \bar{X} - 0,403 +/- 0,08, p=0,000) в двете групи се доказва статистически значима разлика (Фиг.13)

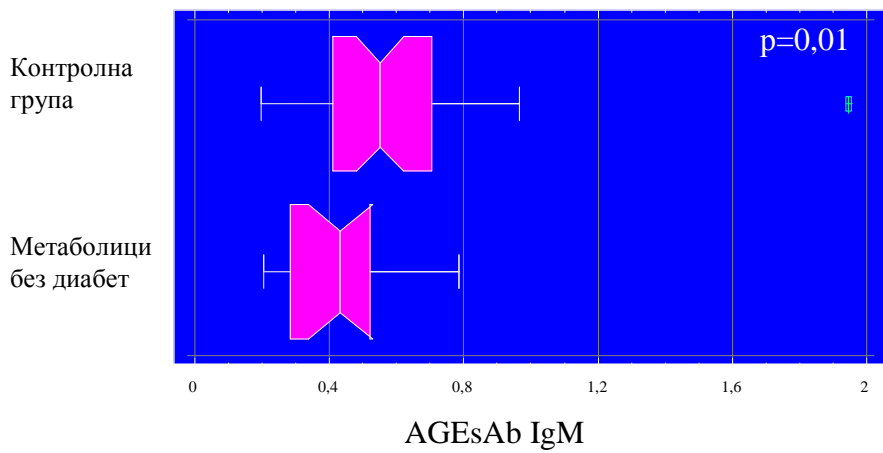


Фиг.13 Сравняване средните стойности на ACollIVAb IgG в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

При AGEs IgG и AGEs IgM разпределението е различно от нормалното в двете групи. При сравнение на медианите и при двата класа антитела за AGEsAb IgG (M - 0,255 и M - 0,199, p=0,003) и за AGEsAb IgM (M - 0,552 и M - 0,433, p=0,01) се открива статистически значима разлика между контролната група спрямо метаболиците със захарен диабет, където при контролната група стойностите на AGEsAb са по-високи, визуализирано с Фиг.14 и Фиг.15.



Фиг.14 Срявяване медианите на AGEsAb IgG в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

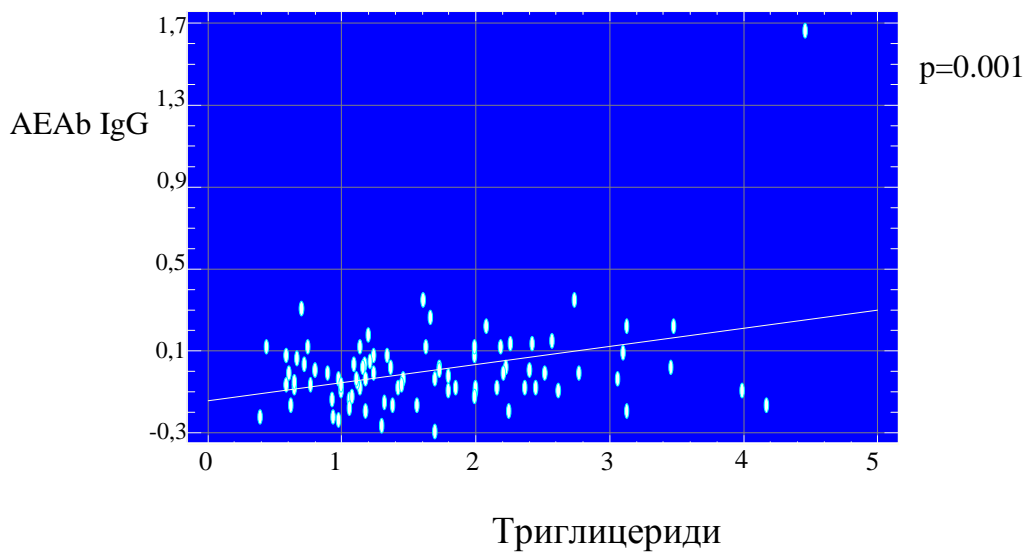


Фиг.15 Срявяване медианите на AGEsAb IgM в контролната група и групата на лица с метаболитен синдром с диабет

3 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ПРОУЧЕНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ МАРКЕРИ И ОТДЕЛНИТЕ РИСКОВИ ФАКТОРИ.

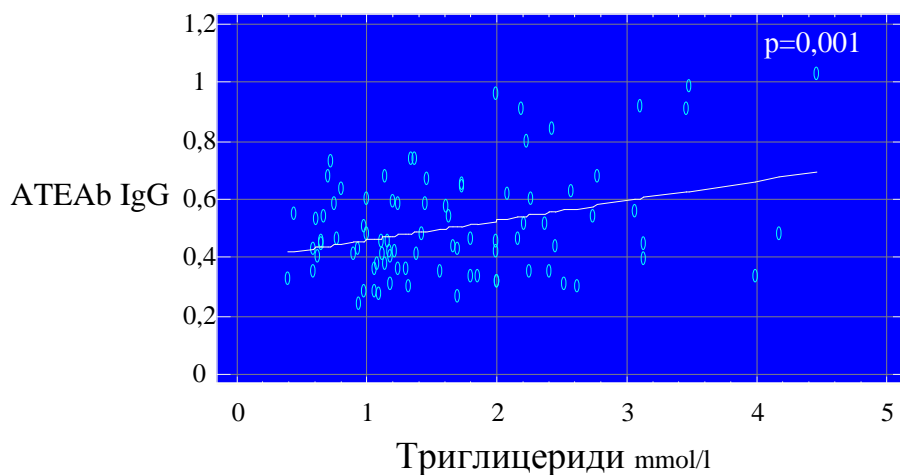
3.1 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ И ОТДЕЛНИТЕ РИСКОВИ ФАКТОРИ В ОБЩАТА ГРУПА – МЕТАБОЛИЦИ И КОНТРОЛИ

При оценка на корелационната зависимост между нивата на АЕАб IgG в общата група и нивата на триглицеридите, имаме умерена корелация която е статистически значима с корелационен коефициент на Пийърсън $r = 0,35$, и $p = 0,001$.(фиг.16)



Фиг.16 Корелационен анализ между АЕАб IgG и нивата на триглицеридите в общата група

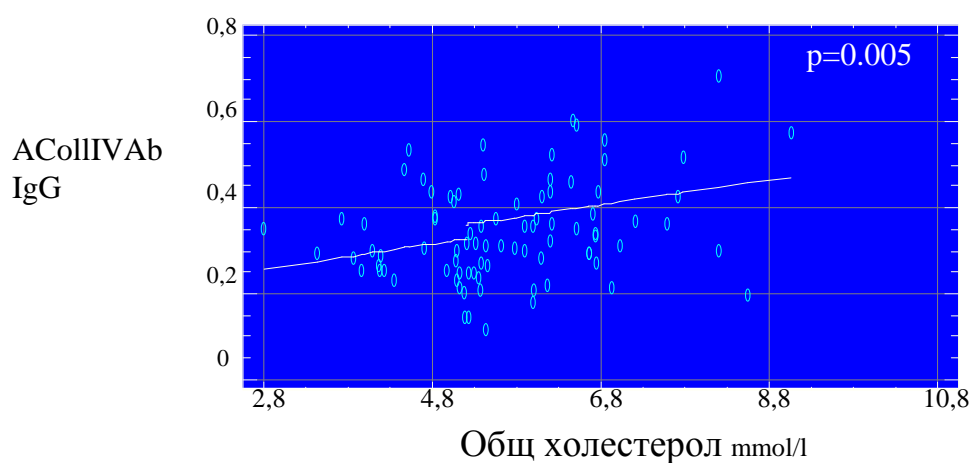
Статистически значима, линейна умерена, положителна корелация има при оценка на корелационната зависимост между АТЕАб IgG и нивата на общия холестерол в общата група с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0,33$, и $p=0,001$ (фиг.17)



Фиг.17 Корелационен анализ между ATEAb IgG и нивата на триглицеридите в общата група

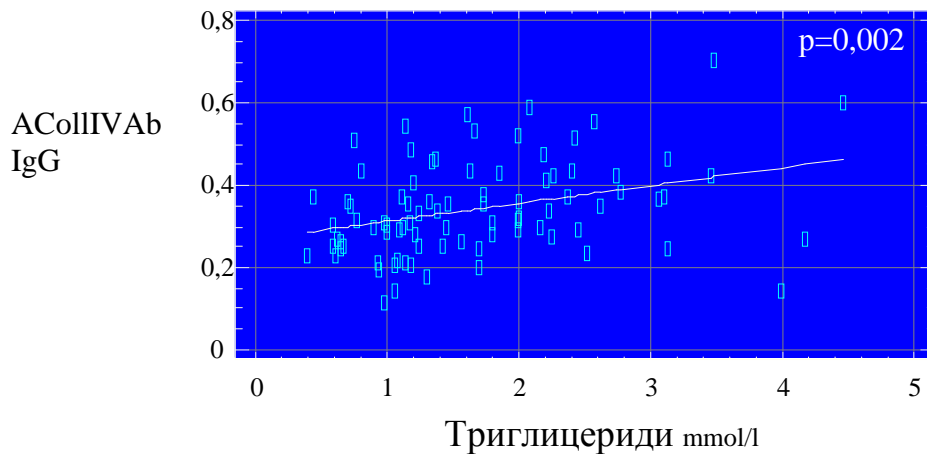
В общата група нивата на ACollIVAb IgG показват статистически значими умерени корелации с нивата на общия холестерл, триглицеридите, LDL и HDL.

Положителна умерена линейна корелация между нивата на ACollIVAb IgG с нивата на общия холестерол, с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0,30$, $p = 0,005$. (Фиг.18)



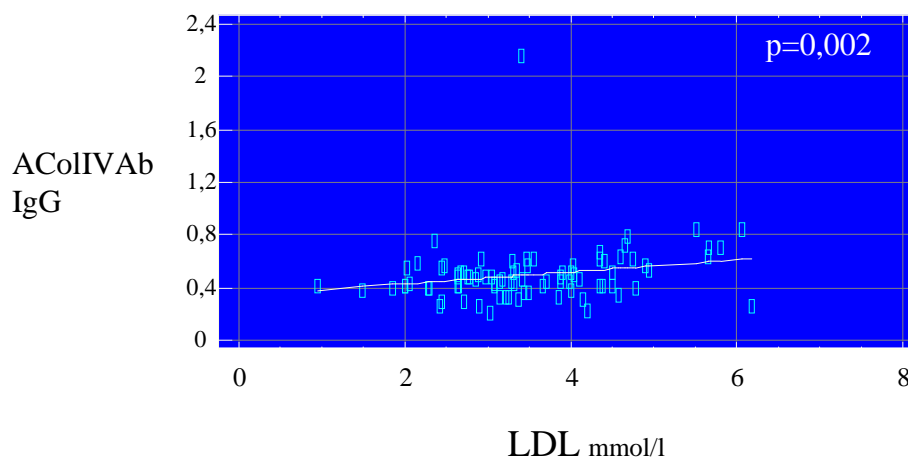
Фиг.18 Корелационен анализ между ACollIVAb IgG и нивата на общ холестерол в общата група

Положителна умерена линейна корелация между нивата на AColIVAb IgG с нивата на триглицеридите, с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0,34$, $p=0,002$. (фиг.19)



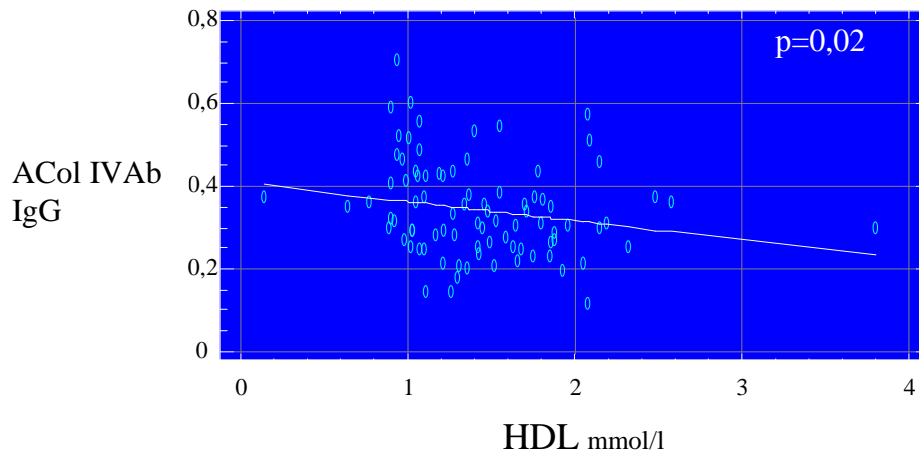
Фиг.19 Корелационен анализ между AColIVAb IgG и нивата на триглицеридите в цялата извадка

Положителна умерена корелация между нивата на AColIVAb IgG с нивата на LDL, с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0,32$, $p=0,002$. Регресионният анализ описва най-добре тази зависимост която е линейна, $r=0,32$, $p=0,002$, (фиг.20)



Фиг.20 Корелационен анализ между AColIVAb IgG и нивата на LDL в общата група

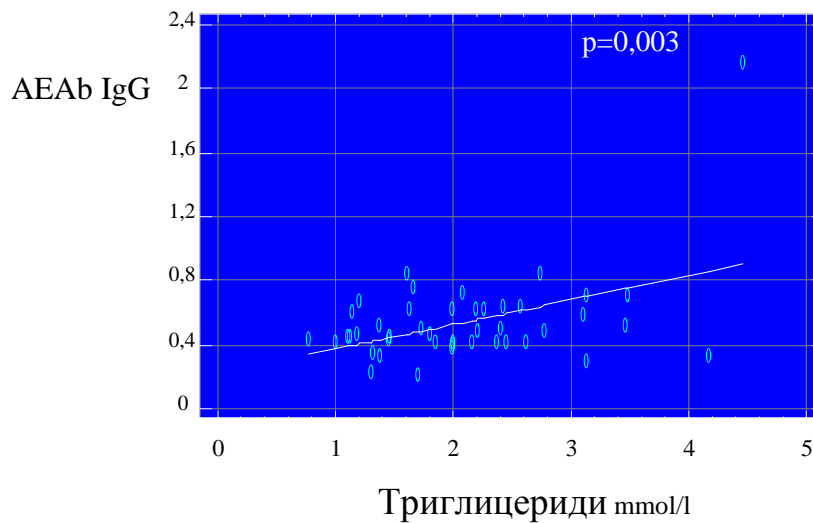
Отрицателна умерена корелация между нивата на AColIVAb IgG с нивата на HDL-C с корелационен коефициент на Спийърман $\rho=-0,26$, и $p=0,02$. Регресионният анализ описва най-добре тази зависимост която е линейна, $\rho=-0,26$, $p=0,02$, (фиг.21)



Фиг.21 Корелационен анализ между AColIVAb IgG и нивата на HDL в общата група

3.2 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ И ОТДЕЛНИТЕ РИСКОВИ ФАКТОРИ В ГРУПАТА НА ЛИЦАТА С МЕТАБОЛИТЕН СИНДРОМ (СЪС И БЕЗ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ)

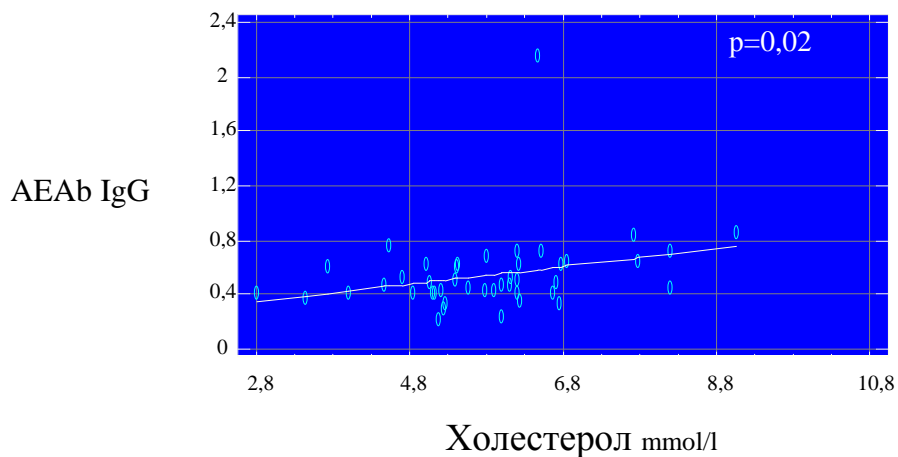
Положителна умерена корелация, която е статистически значима има при определяне корелационната зависимост между стойностите на АЕАб IgG и нивата на триглицеридите с коефициент на корелация на Пийърсън $r=0,44$, $p=0,003$. Регресионният анализ описва най-добре тази зависимост чрез линеен модел, $r=0,44$, $p=0,003$ (фиг.22).



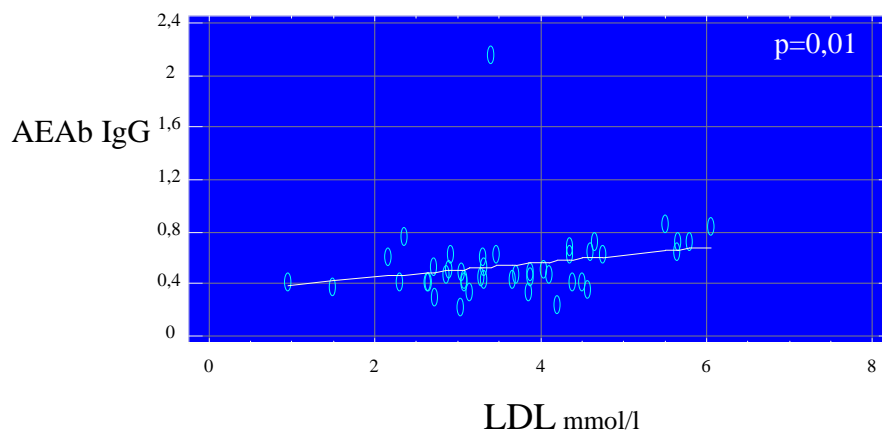
Фиг.22 Корелационен анализ между AEAб IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболити

При определяне на корелационната зависимост между стойностите на AEAб IgG и нивата на кръвната захар, се установява умерена, положителна, статистически значима корелационна зависимост с коефициент на корелация на Спийрман $\rho=0,32$, $p=0,05$. Регресионният анализ описва най-добре тази зависимост която е линейна, $\rho=0,32$, $p=0,05$

Умерена, положителна статистически значима корелация има при определянето на корелационната зависимост между стойностите на AEAб IgG и нивата на общия холестерол и стойностите на LDL, описана най-добре чрез регресионен анализ като линейна (съответно $\rho=0,37$ и $p=0,016$ и $\rho=0,41$ и $p=0,007$) (фиг.23 фиг.24)

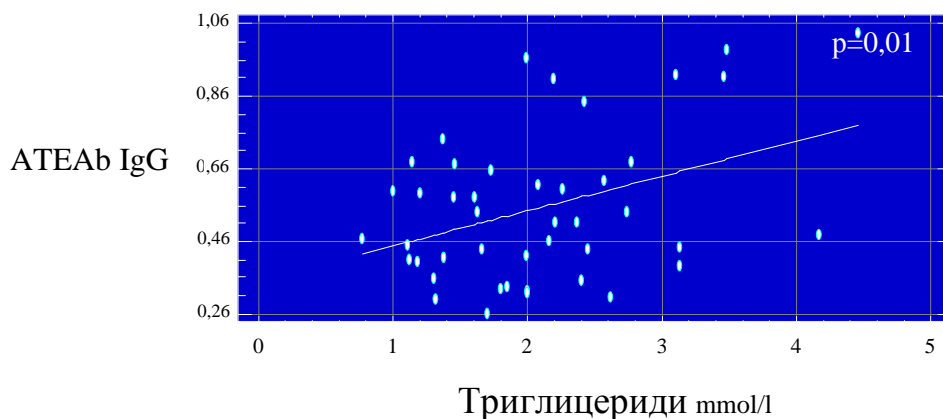


Фиг.23 Корелационен анализ между AEAbs IgG и нивата на общия холестерол в групата на метаболици



Фиг.24 Корелационен анализ между AEAbs IgG и нивата на LDL в групата на метаболици

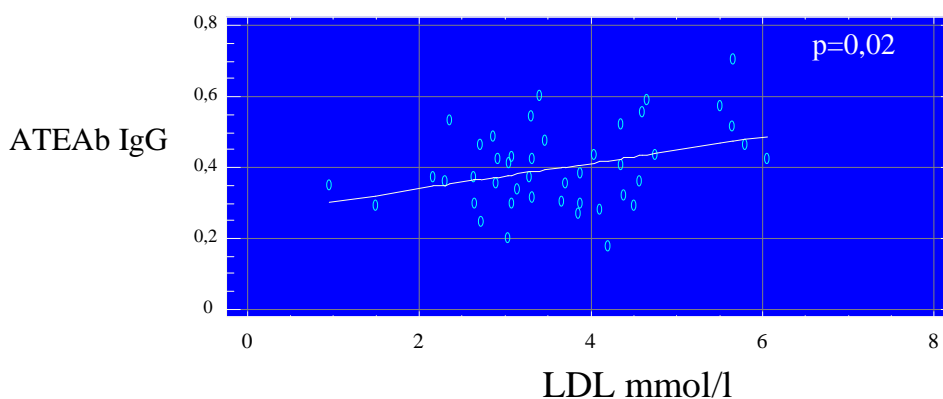
При определяне на корелационна линейна зависимост между стойностите на AEAbs IgG и нивата на триглицеридите, се установява умерена, положителна, статистически значима корелационна зависимост, с коефициент на Пийърсън $r=0.39$, $r=0.009$. (Фиг.25).



Фиг.25 Корелационен анализ между стойностите ATEAb IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболиците

Умерена, положителна и статистически значима корелативна връзка се установява между стойностите на ATEAb IgG и нивото на общия холестерол с коефициент на Пиърсън $r=0.32$ и $p=0.03$. Регресионния анализ описва тази зависимост като линейна $r=0.32$ и $p=0.03$

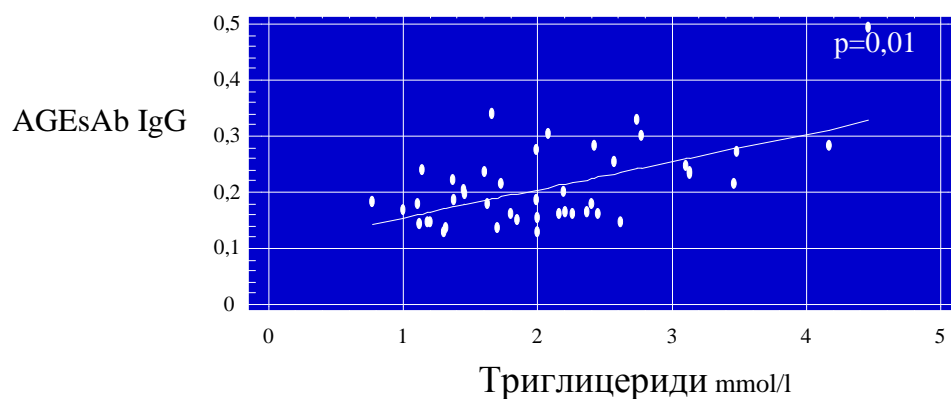
От проведените изследвания умерена положителна и статистически значима корелация има и между стойностите на ATEAb IgG и нивата на LDL $r=0,36$, $p=0.02$, като регресионния анализ описва зависимостта като линейна $r=0,36$, $p=0.02$. (Фиг.26)



Фиг.26 Корелационен анализ между стойностите ATEAb IgG и нивата на LDL в групата на метаболиците

ACollIVAb IgG показва умерена статистически значима положителна корелационна зависимост със стойностите на общия холестерол и нивата на LDL с корелационен коефициент на Пийърсън съответно ($r=0,32$, $p=0,03$ и $r=0,36$, $p=0,02$), като регресионния анализ описва тези зависимости като линейни. ACollIVAb IgM не показва корелационна зависимост с изследваните рискови фактори.

Силна, положителна и статистически значима корелация има при определяне корелационната зависимост между нивата AGEsAb IgG и стойностите на триглицеридите с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0,58$, $p=0,00$. Регресионния анализ описва най-добре тази зависимост като линейна $r=0,58$, $p=0,00$ (Фиг 27).



Фиг.27 Корелационен анализ между стойностите AGEsAb IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболиците

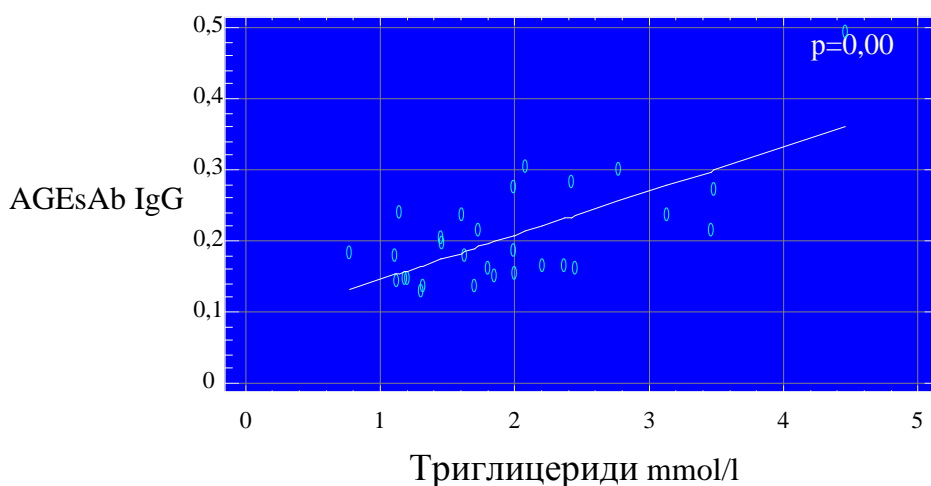
Умерена, положителна и статистически значима е корелационната зависимост между AGEsAb IgG и стойностите на общия холестерол $r=0,35$, $p=0,01$, като регресионния анализ описва тази зависияост като линейна $r=0,35$, $p=0,01$.

Умерена и положителна е корелационната зависимост между AGEs IgM и стойностите на триглицеридите $r=0,37$ $p=0,01$, като тази зависимост

е статистически значима и линейна (при използване на регресионния анализ).

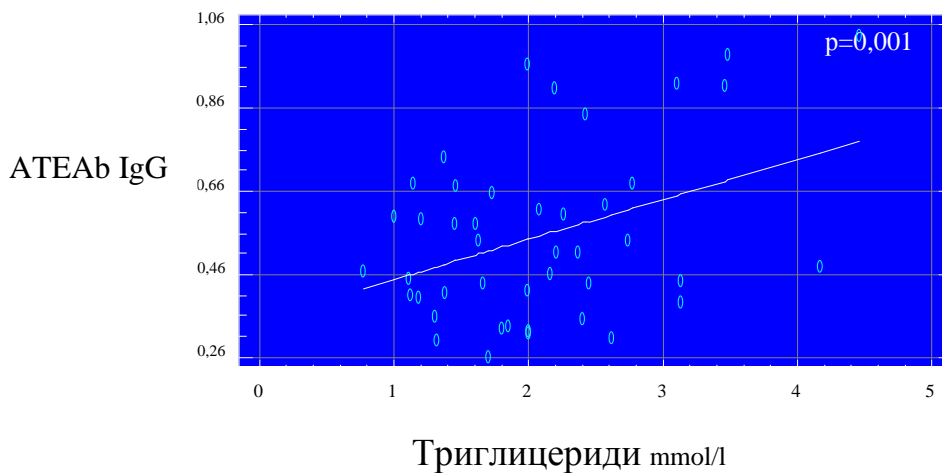
3.3 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ И ОТДЕЛНИТЕ РИСКОВИ ФАКТОРИ В ГРУПАТА НА ЛИЦАТА С МЕТАБОЛИТЕН СИНДРОМ БЕЗ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ.

Съществува силна, положителна корелационна зависимост между AGEsAb IgG и стойностите на триглицеридите с коефициент на Пийърсън $r=0.69$, $p=0.00$, като тази зависимост е статистически значима и се описва най-добре чрез регресионен анализ като линейна с $r=0.69$, $p=0.00$ (Фиг.28)



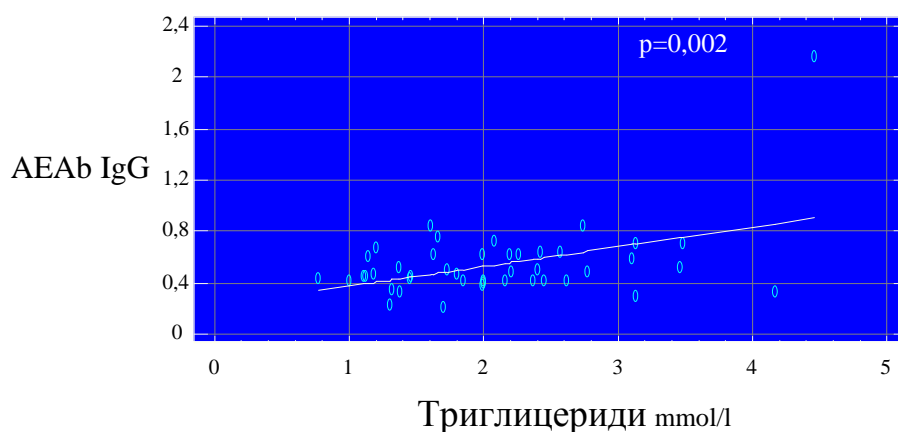
Фиг.28 Корелационен анализ между стойностите AGEsAb IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболически без захарен диабет

Силна и положителна е и корелационната зависимост между стойностите на AGEsAb IgG и нивата на триглицеридите с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0.58$, $p=0.001$, като зависимостта е линейна, оценена чрез регресионен анализ $r=0.58$, $p=0.001$ (фиг.29)



Фиг.29 Корелационен анализ между стойностите ATEAb IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболици без захарен диабет

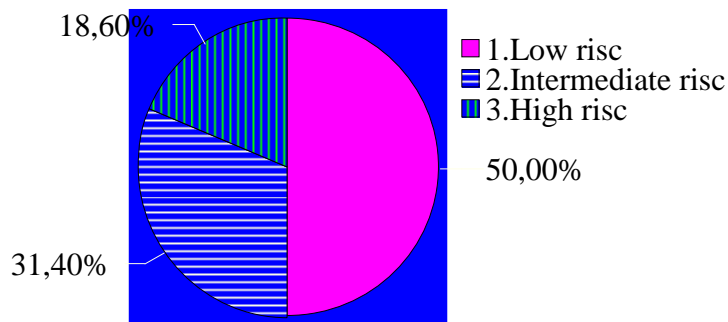
Отново, при търсене на корелационна зависимост между стойностите на триглицеридите и нивата на AEAb IgG се установява силна, положителна корелационна зависимост, която е статистически значима, с корелационен коефициент на Пийърсън $r=0.55$, $p=0.002$ и се определя като линейна, чрез регресионния анализ $r=0.55$, $p=0.002$ (Фиг.30)



Фиг.30 Корелационен анализ между стойностите AEAb IgG и нивата на триглицеридите в групата на метаболици без захарен диабет

4 КОРРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ИМУНОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ И SCORE CHART РИСКА

Всички пациенти бяха стратифицирани според SCORE chart риска в три групи: висок риск 5%-15% (18.6%), умерен риск 3%-5% (31.4%), нисък риск 0%-2% (50%). (Фиг.31)

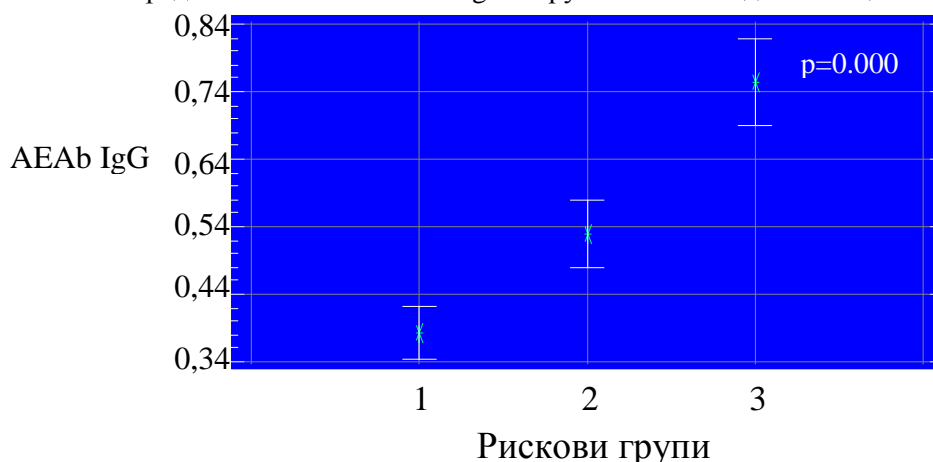


Фиг.31 Разпределение на изследваните лица според SCORE chart риска

При сравняване на трите групи (с нисък, умерен и висок риск) според нивата на антителата се установяват статистически значима разлика за средните стойности на АЕАb IgG, АТЕАb IgG , АСollIVAb IgG спрямо определения риск .

При използване метода на Фишер за най-малките значими разлики (LSD) в средните стойности на АЕАb IgG, се установи статистически значима разлика, при 95% доверителен интервал, между групата с нисък и висок риск (LSD=0,372, $p<0.05$), между групата с нисък и интермедиерен риск (LSD=0,147, $p<0.05$) и между групата с интермедиерен и висок риск (LSD=0,225, $p<0.05$). (Фиг.32)

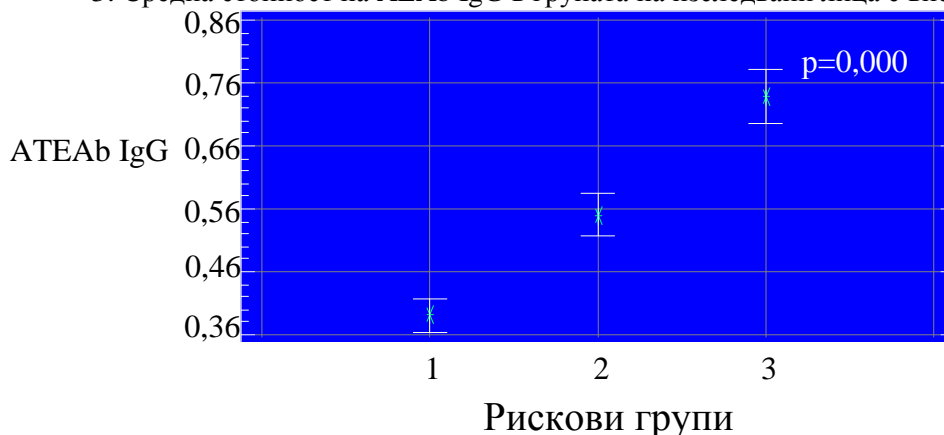
1. Средна стойност на АЕАb IgG в групата на изследвани лица с нисък риск
2. Средна стойност на АЕАb IgG в групата на изследвани лица с интермедиерен риск
3. Средна стойност на АЕАb IgG в групата на изследвани лица с висок риск



Фиг.32 Сравнително представяне на средните стойности на АЕАb IgG между трите рискови групи

При сравняване на трите групи, статистически значима разлика при 95% доверителен интервал, има и при сравняване средните стойности на АТЕАb IgG между групата с нисък и висок риск (LSD=0,347, $p<0.05$), между групата с нисък и интермедиерен риск (LSD=0,159, $p<0.05$) и между групата с интермедиерен и висок риск (LSD=0,188, $p<0.05$), като за целта е използван метода на Фишер за най-малките значими разлики и $p=0,000$. (Фиг.33)

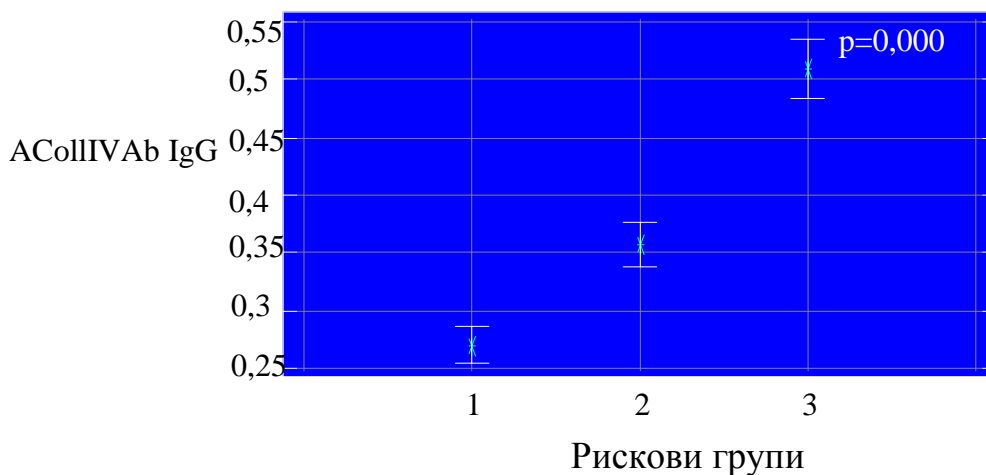
1. Средна стойност на АТЕАb IgG в групата на изследвани лица с нисък риск
2. Средна стойност на АТЕАb IgG в групата на изследвани лица с интермедиерен риск
3. Средна стойност на АЕАb IgG в групата на изследвани лица с висок риск



Фиг.33 Сравнително представяне на средните стойности на АТЕАb IgG между трите рисковни групи

При сравняване средните стойности на АСollIVAb IgG в трите групи, чрез метода на Фишер за най-малките значими разлики, се установява, че съществува статистически значима разлика при 95% доверителен интервал между нискорисковата група и групата с висок риск (LSD=0.239, $p<0.05$), между нискорисковата група и групата с интермедиерен риск (LSD=0.087, $p<0.05$) и между двете групи с интермедиерен и висок риск (LSD=0.152, $p<0.05$) $p=0,000$. (Фиг.34)

1. Средна стойност на АТЕАb IgG в групата на изследвани лица с нисък риск
2. Средна стойност на АТЕАb IgG в групата на изследвани лица с интермедиерен риск
3. Средна стойност на АЕАb IgG в групата на изследвани лица с висок риск



Фиг.34 Сравнително представяне на средните стойности на АСollIVAb IgG между трите рисковни групи

VI. ОБСЪЖДАНЕ:

Атеросклерозата е хроничен възпалителен процес, обхващащ съдовата стена. Този процес е мултифакторен и степента му на развитие се определя от редица рискови фактори, компоненти на метаболитния синдром. Като резултат се понижава комплайънсът на артериалните съдове и се увеличава техният стифнес. Този процес се нарича ранно съдово стареене и е в основата на редица ранни сърдечно-съдови усложнения, които са присъщи на лицата с метаболитен синдром и те са с по-висок кардиоваскуларен риск от останалата популация.

За правилната стратификация на риска са необходими методи за ранна оценка на морфологични съдови промени преди настъпването на усложненията. Търси се констелация от маркери, които да имат достатъчна прогностична тежест за ранните етапи от атеросклеротичния процес.

В последните години широко се проучват някои от имунологичните маркери на еластиновата, колагеновата обмяна и крайните гликирани продукти като белег за съдово стареене. Съгласно данните на изследователите в тази посока, промяната в техните нива се установява при високорискови лица със сърдечносъдови усложнения.

Липсват достатъчно проучвания, които да оценяват констелацията им при различните рискови фактори при лица метаболици без настъпили съдови усложнения. Не са достатъчни данните за прогностичната им стойност в оценката на процеса на ранно съдово стареене. За да се внедрят тези методи в клиничната практика са необходими повече проучвания, които да докажат и по-точно да обяснят динамиката на тези показатели в хода на съдовото стареене и да покажат тяхната роля в подобряване на рисковата стратификация на пациентите. Това ни мотивира да оценим

промените на някои от имунологичните маркери срещу основните компоненти на съдовата стена – еластин, тропоеластин, колаген и техните крайни гликирани продукти при лица с метаболитен синдром без настъпили усложнения и лица без метаболитен синдром и да охарактеризираме връзката между тези маркери и рисковия профил на лицата.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЛИЦА И ИМУНОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ

1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЛИЦА За да реализираме поставените конкретни задачи, формулирахме точни критерии (включващи и изключващи) и следвайки ги сформирахме две основни групи: група на лица с метаболитен синдром и контролна група от здрави лица. Групите бяха селектирани да бъдат без разлика относно разпределението им по пол и възраст (фиг.1 и табл.1). Групата с метаболитен синдром разделихме на две подгрупи – метаболити с клинично изявен захарен диабет и метаболити без захарен диабет. Това диференциране беше необходимо, за да можем да изследваме въздействието на захарния диабет върху еластиновия и колагеновия търновър извън влиянието на инсулиновата резистентност.

1.2. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ АНТИТЕЛА В ОБОСОБЕНИТЕ ГРУПИ

В контролната група броя изследвани лица е 42, като на всяко лице са изследвани АЕАb IgG, АЕАb IgM, АТЕАb IgG, АТЕАb IgM, АСollIVAb IgG, АСollIVAb IgM, АGEsAb IgG, АGEsAb IgM.

В групата с метаболитен синдром броя на лицата е 62 и също на всеки от тях са изследвани АЕАb IgG, АЕАb IgM, АТЕАb IgG, АТЕАb IgM, АСollIVAb IgG, АСollIVAb IgM, АGEsAb IgG, АGEsAb IgM,.

2. СРАВНЕНИЕ НА ИМУНОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ ПРИ ЛИЦАТА В ОБОСОБЕНИТЕ ГРУПИ

Сравнихме нивата на антителата, отразяващи еластиновата и тропоеластиновата обмяна и нашите резултати показват, че АЕАб IgG (фиг.2), АТЕАб IgG (фиг.3) са статистически значимо по-високи в групата на лицата с метаболитен синдром в сравнение с контролната група. Това потвърждава известните досега данни от проучванията на Атанасова и сътр., Fulop et al., Вакo et al. и характеризира хроничния имунен отговор срещу завишените нива на еластин- и тропоеластин- деградационните пептиди при ранното съдовото стареене. Атанасова и Fulop не откриват разлика в АЕАб IgM и АТЕАб IgM между групата на лицата с метаболитен синдром и контролната група. Нашите изследвания обаче показват, че в контролната група АЕАб IgM са статистически значимо по-високи в сравнение с лицата с метаболитен синдром, но такава зависимост не се установява за АТЕАб IgM. Познавайки динамиката в титъра на еластиновите и тропоеластинови антитела при здрави лица, описани от Байданов и сътр., в нашия анализ стигаме да извода **че обичайното повишаване на АЕАб IgG и АТЕАб IgG при метаболици е изместено в по-ранна декада и по-рано достига своя пик, а антителата при здрави лица в контролната група следват описаните от авторите особености в кривата.** Ето защо, при метаболици ранните АЕАб IgM и АТЕАб IgM са изчерпани, а при здрави лица не. Тези промени в нивата на АЕАб и АТЕАб при метаболици доказват интензификацията на еластиновата и тропоеластиновата обмяна и в голяма степен обясняват ранното повишаване на артериалната ригидност, описана от Asmar и сътр. и много автори, които обясняват ранното повишаване и на централното аортно налягане при метаболитен синдром.

При разделяне на пациентите с метаболитен синдром на две групи: със захарен диабет и без захарен диабет, не се открива статистически значима разлика между изследваните антитела в двете групи. **Сравнението на антителата спрямо контролите във всяка една група,**

демонстрира, че АЕАb IgG и АТЕАb IgG (фиг.10) са статистически по-високи в групите на лицата с метаболитен синдром без захарен диабет и със захарен диабет спрямо контролната група. Вероятното обяснение на този факт е, че инсулиновата резистентност е основният патогенетичен механизъм за развитие на метаболитен синдром, водещо до ранно стареене на съдовете, докато захарният диабет е късно усложнение, резултат на инсулиновата резистентност. Сходни резултати са получени и при сравняването на нивата на АЕАb IgG между здрави деца и деца със захарен диабет 1 тип.

Колаген тип IV се среща основно в базалната мембрана. Със старта на ендотелната дисфункция, в ранните фази на атеросклеротичния процес, се изчерпва противовъзпалителната ендотелна протективна функция, което позволява по-агресивната намеса на хуморалните и хемостазни компоненти на кръвта, последвано от увреда и ускорена дегенерация на базалната мембрана и колаген тип IV. Нашите резултати установяват статистически значимо по-високи нива на АСollIVAb IgG (фиг.4) в групата на лицата с метаболитен синдром спрямо контролната група, докато подобна сигнификантна разлика не се открива при АСollIVAb IgM в двете групи. **Следователно, още в началните етапи на атеросклеротичния процес настъпват промени и в обмяната на колаген тип IV, основна фибрилерна компонента, изграждаща базалните мембрани.**

При сравняването на имунологичните показатели на еластиновата и колагеновата обмяна при лицата с метаболитен синдром със и без захарен диабет не се открива статистически значима и сигнификантна разлика в нивата на АСollIVAb IgG между двете групи, докато при сравняване на антителата във всяка една група спрямо контролите се открива, че **АСollIVAb IgG са статистически по-високи в групите на лицата с метаболитен синдром без захарен диабет и със захарен диабет спрямо контролната група (фиг.13).** Обяснение на това дава патогенетичният

механизъм на метаболитния синдром, според който инсулиновата резистентност е основния ключов фактор, който стартира процеса на ендотелна дисфункция. Това води до увреждане на базалната мембрана и повишение на нивата на ACollIVAb IgG, белег на хроничен възпалителен процес. Захарния диабет не е задължителен компонент, а късен патологичен процес в хода на метаболитния синдром, каквито са и артериалната хипертония и атерогенната дислипидемия.

Тази зависимост на проучените от нас имунологични маркери срещу еластин, тропоеластин деградационните продукти и колаген тип IV показва, че антителата от клас IgG, характерни за вторичния имунен отговор, са завишени при дълготрайния хроничен възпалителен процес, характеризиращ метаболитния синдром и респективно атеросклерозата и охарактеризират процеса на съдово стареене, докато антителата от клас IgM, появяващи се в серума при първоначалния отговор в ранните етапи от съдовото стареене, са вече изчерпани. Следователно, констелацията от повишени нива на AЕАb IgG, АТЕАb IgG, ACollIVAb IgG може да бъде използвана като ранен маркер за съдово стареене, който предшества промените, установяващи се с някои съвременни, неинвазивни методи като ИМТ, PWV, AiX, ЦАН и др.

Нивата на крайните гликирани продукти – AGEs са завишени при състояния на хипергликемия, каквито са метаболитният синдром и захарният диабет. При изследване нивата на антителата срещу AGEs, ние установихме, че AGEsAb IgG и AGEsAb IgM са статистически значимо по-високи при контролната група спрямо лицата с метаболитен синдром (фиг.5, фиг.6). Такава тенденция на по-високи стойности на антителата и от двата класа IgG и IgM има и при сравняване на контролната група с групите на лицата метаболити със и без захарен диабет поотделно (фиг.14, фиг.15, фиг.8, фиг.9). Не се открива статистически значима разлика в

стойностите на AGEsAb IgG и AGEsAb IgM при сравняването им в групата на лицата с метаболитен синдром със захарен диабет и тези без диабет. Сходни са резултатите на Turk et al., които откриват по-ниски нива на антителата в серум на диабетици в сравнение с контролна група. От друга страна, Димитрова, Атанасова и сътр. откриват положителна корелация между нивата на антителата и възрастта и хипертонията при хипертонични плъхове и контролна група плъхове, като изследването обхваща ранните етапи от развитието на хипертонията (до осмия месец).

Ние установяваме, че в контролната група нивата на антителата срещу гликираните продукти са по-високи в сравнение с тези при метаболици и приемаме, че в хода на хроничния възпалителен процес, характеризиращ метаболитния синдром, се образуват големи количества крайни гликирани продукти, които свързват антителата срещу тях. Образуват се комплекси антиген-антитяло и количеството на свободни антитела в серума, които да бъдат детектирани е ниско, което обяснява ниските нива на AGEsAb IgG и AGEsAb IgM в серума на метаболицитите.

3 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИМУНОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ И ОТДЕЛНИТЕ РИСКОВИ ФАКТОРИ.

При оценка на корелационната зависимост между нивата на антителата и изследваните рискови фактори в двете изследвани групи се установява статистически значима слаба, положителна, линейна корелация между:

AEAb IgG и нивата на общия холестерол и LDL

ATEAb IgG и нивата на общия холестерол

ACollIVAb IgG и общия холестерол (фиг.18), LDL (фиг.20) и HDL (фиг.21)

Тези факти показват , че съществува зависимост между обмяната на холестерола и тази на еластина, тропоеластина и колагена.

Нивата на гореизброените антитела имат умерена, линейна и положителна корелация с нивата на триглицеридите (фиг.16, фиг.17, фиг.19), които са основна компонента на атерогенната дислипидемия, присъща за метаболитния синдром.

АЕАб IgM, АТЕАб IgM, АСollIVAb IgM, AGEs IgG и AGEsAb IgM не показват корелация с изследваните рискови фактори.

Антителата в серума на лицата с метаболитен синдром показват следните корелационни зависимости:

АЕАб IgG показват умерена, линейна и положителна, статистически значима корелационна зависимост с нивата на триглицеридите (фиг.22), общия холестерол (фиг.23), серумната глюкоза и LDL (фиг.24).Те сензитивно реагират на промените в липидния статус като цяло.

АТЕАб IgG имат умерена, положителна, корелационна зависимост с нивата на триглицеридите (фиг.25), общия холестерол, серумната глюкоза и LDL.

АСollIVAb IgG имат умерена, положителна, корелационна зависимост с нивата на общия холестерол и LDL (фиг.26)

Може да се направи следния извод: дислипидемията и присъщата ѝ хипертриглицеридемия е един от основните лабораторни критерии за метаболитен синдром, пряко изразяващ повишената инсулинова резистентност. Както споменахме по-горе в расъжденията си, именно повишената инсулинова резистентност повлиява и интензифицира търновъра на еластина, тропоеластина и колаген тип IV. Общото патогенетично звено предопределя и по-силната корелативна връзка, която установихме. **От тук следва и разсъждението, че корелацията между повишените нива на АЕАб IgG, АТЕАб IgG, АСollIVAb IgG и триглицеридите отразяват адекватно процеса на съдово стареене,**

очевидно дирижиран от инсулиновата резистентност и следователно могат да бъдат обсъждани като констелация, която е сигурен белег за ранно съдово стареене.

Антителата в серума на лицата с метаболитен синдром без захарен диабет имат следните статистически значими положителни и линейни корелационни зависимости спрямо рисковите фактори:

АЕАб IgG показват силна корелация спрямо нивата на триглицеридите и умерена спрямо нивата на общия холестерол и LDL

АТЕб IgG също показват силна корелация с нивата на триглицеридите и умерена с общия холестерол

ACollIVAb IgG имат умерена корелационна зависимост с нивата на триглицеридите, общия холестерол и LDL, а ACollIVAb IgM с нивата на общия холестерол.

Установените силни корелационни връзки потвърждават тезата, че определящият фактор за интензифицирането на еластиновата и колагеновата обмяна е инсулиновата резистентност.

В групата на лицата с метаболитен синдром и групата на лицата с метаболитен синдром без захарен диабет, се установява силна положителна корелационна зависимост между нивата на AGEsAbIgG и AGEsAbIgM и триглицеридите, което доказва съществуването на общо патогенетично звено между процеса на неензимно гликиране и хиперпродукцията на триглицеридите.

Следователно инсулиновата резистентност е фактор, определящ не само клиничната изява на метаболитния синдром във всички негови характеристики, но и патогенетично звено дирижиращо ранните процеси в съдовата стена предхождащи клиничните изяви.

4 КОРЕЛАЦИОННА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ ИМУНОЛОГИЧНИТЕ МАРКЕРИ И SCORE CHART РИСКА

Всички пациенти бяха стратифицирани според SCORE chart риска в три групи: висок риск 10%-15% (18.6%), умерен риск 3%-5% (31.4%), нисък риск 0%-2% (50%).

При използване метода на Фишер за най-малките значими разлики (LSD) в средните стойности на АЕАb IgG, се установи статистически значима разлика, при 95% доверителен интервал, между групата с нисък и висок риск (LSD = 0,372, $p < 0.05$), между групата с нисък и интермедиерен риск (LSD = 0,147, $p < 0.05$) и между групата с интермедиерен и висок риск (LSD = 0,225, $p < 0.05$) (Фиг.32). При сравняване на трите групи, статистически значима разлика, при 95% доверителен интервал, има и при сравняване средните стойности на АТЕАb IgG между групата с нисък и висок риск (LSD=0,347, $p < 0.05$), между групата с нисък и интермедиерен риск (LSD=0,159, $p < 0.05$) и между групата с интермедиерен и висок риск (LSD=0,188, $p < 0.05$), като за целта е използван метода на Фишер за най-малките значими разлики и $p = 0,000$ (Фиг.33).

При сравняване средните стойности на АСollIVAb IgG в трите групи, се установява, че съществува статистически значима разлика, при 95% доверителен интервал, между нискорисковата група и групата с висок риск (LSD=0.239, $p < 0.05$), между нискорисковата група и групата с интермедиерен риск (LSD=0.087, $p < 0.05$) и между двете групи с интермедиерен и висок риск (LSD=0.152, $p < 0.05$) $p = 0,000$ (Фиг.34).

Анализът на получените от нас данни ни дава основание да считаме, че колкото по-висок е търновъра на трите фибрилери белтъка в съдовата стена толкова рискът на пациента според оценката със SCORE chart, е по-висок. Следователно високият съдов риск е предшестван от по-интензивен процес на съдово стареене. Особено подчертана е тази зависимост за еластина, които е отговорен за еластичитета на средно-големите съдове и има важна роля в раннат прогресия на артериалния стифнес, ранното

повишаване на пулсовото налягане и следователно за ранната изява на мозъчно-съдовите усложнения.

ИЗВОДИ

1. При лица с метаболитен синдром настъпват промени в имунологичните показатели, характеризиращи деградацията на еластина и тропоеластина, демонстриращи интензификацията на обмяната им.

2. В групата изследвани с метаболитен синдром настъпват промени в имунологичните показатели, доказващи интензификация на колаген тип IV обмяната.

3. Анализът на нивата на антителата срещу гликираните протеини показва по-ниски нива на AGEsAb, което приемаме като израз на изчерпване поради интензифициране на продукцията на AGEs, AGEsAbs и формиране на антиген-антитяло комплекси в ранните етапи от развитието на метаболитния синдром, респ. инсулиновата резистентност.

4. Съществува силно изразена, линейна, положителна корелация между антителата от клас IgG спрямо еластина, тропоеластина и колаген тип IV с нивото на триглицеридите в серума както и силно изразена, линейна, положителна корелация между антителата от клас IgG и IgM срещу AGEs с триглицеридите, което доказва връзката между процесите на съдово стареене и атерогенната дислипидемия присъща на метаболитния синдром.

5. Установените промени в имунологичните показатели на еластиновата и колагеновата обмяна не се различават при лицата с МС без и със захарен диабет, което ни дава основание да приемем, че интензификацията на обмяната на фибрилерните компоненти на ЕЦМ се стартира още с началото на метаболитния синдром и се определят от инсулиновата резистентност.

6. Констелацията от повишени нива на АЕАb IgG, АТЕАb IgG, АСollIVAb IgG и хипертриглицеридемия може да бъде използвана като ранен маркер за съдово стареене при метаболици

7. Прогностичната стойност на SCORE chart и констелацията АЕАb IgG, АТЕАb IgG, АСollIVAb IgG и хипертриглицеридемия е съизмерима – колкото по-висок е търновъра на трите фибрилерни белтъка в съдовата стена толкова рискът на пациента според оценката със SCORE chart, е по-висок. Следователно високият съдов риск е предшестван от по-интензивен процес на съдово стареене.

ПРИНОСИ:

1. За първи път в България се изследват някои от имунологичните маркери на еластиновата и тропоеластиновата обмяна при метаболици без съдови усложнения. Доказана е интензификацията на еластиновата и тропоеластиновата обмяна при съдовото стареене в хода на метаболитния синдром.

2. За първи път в България се изследват някои от имунологичните маркери на колаген тип IV обмяната при метаболици без съдови усложнения. Доказана е интензификацията на колагеновата обмяна при съдовото стареене в хода на метаболитния синдром.

3. Осъщественото кохортно проучване, оценяващо корелационните връзки между имунологичните маркери на еластиновата, тропоеластиновата, колагеновата обмяна и рисковите фактори, характеризиращи метаболитния синдром потвърждава връзката между атерогенната дислипидемия и съдовото стареене.

4. За първи път се сравняват антителата от клас IgG и IgM срещу AGEs при лица с метаболитен синдром със захарен диабет и такива с метаболитен синдром без захарен диабет. Установява се, че инсулиновата резистентност играе основна роля в патогенетичния механизъм на ускореното образуване и депониране на AGEs.

5. За първи път е осъществен сравнителен анализ между стойностите на имунологичните маркери на еластиновата, тропоеластиновата, колагеновата обмяна и срещу AGEs спрямо SCORE chart риска. Доказана беше изразена положителна корелационна зависимост между нивата на AEAbs IgG, ATEAbs IgG и ACollIVAbs IgG и рисковата стратификация според SCORE chart риска.

6. Предложена е констелация от имунологични маркери, които по своята прогностична стойност са съизмерими със SCORE chart риска.

ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Статии

1. **Е.Мекенян**, Sn.Tisheva. „Роля на промените в еластиновата обмяна в процеса на съдово стареене при метаболитен синдром” МЕДИНФО 09/2011 39-40
2. **Edward M.**, N. Stancheva, S. Tisheva Changes in the immunologic markers of elastin degradation in subjects with metabolic syndrome Journal of IMAB 2012 volume 18, book
3. **Edward M.**, N. Stancheva, S. Tisheva. Changes in the immunologic markers of collagen type IV degradation in subjects with metabolic syndrome: Journal of IMAB 2012 volume 18, book

Презентации в национални и международни форуми

1. **Мекенян Е.**, Stancheva N., Gospodinov K., Chakalova T., Tisheva S. Effect of metabolic syndrome in prehypertensive patients on immunological changes in elastin metabolism ESH: 22nd European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection London, 26-29 April 2012, Volume 30, e-Supplement A.
2. **Мекенян Е.**, Stancheva N., Gospodinov K, Tisheva S. Collagen immunological changes – a marker of early vessel aging in prehypertensive patients with metabolic syndrome ESH: 22nd European Meeting on Hypertension and Cardiovascular Protection London, 26-29 April 2012, Volume 30, e-Supplement A.
3. **Е. Мекенян**, N. Stancheva, K. Gospodinov, S. Tisheva. Immunological changes in collagen metabolism in prehypertensive patients with metabolic

syndrome. *Frontiers in CardioVascular Biology* 30 Mar 2012 - 01 Apr 2012 , London - United Kingdom *Cardiovascular Research* (2012) 93 (Suppl. 1), S113