



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ПЛЕВЕН
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНА
КАТЕДРА „ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ“

Д-Р КРАСИМИР КОСТОВ ГИНЕВ

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧНА РОЛЯ НА ЕНДОТЕЛИН-1,
МАТРИКСНИТЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИ-2, -9 И
МАГНЕЗИЯ В РАЗВИТИЕТО И ДИНАМИКАТА НА
СЪДОВИТЕ ПРОМЕНИ ПРИ РАЗЛИЧНИ СТЕПЕНИ
НА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

ПО НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ „ПАТОФИЗИОЛОГИЯ“, ШИФЪР 03.01.05

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

ДОЦ. Д-Р АНЕЛИЯ ДИМИТРОВА, ДМ

НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ:

ДОЦ. Д-Р ДЕНКО СТРАШИМИРОВ, ДМ

ПЛЕВЕН

2016

Д-р Красимир Костов Гинев е роден на 15.02.1972 г. в гр. Крумовград. Средното си образование завършва през 1989 г. с отличие в ЕСПУ „Хр. Смирненски“ - гр. Плевен. Завършва медицина в Медицински университет-Плевен през 1999 г. Има признати специалности по Патофизиология и Психиатрия. От 2011 г. работи като асистент в сектор „Патофизиология“ при МУ - Плевен. Научните му интереси включват проучвания на вазоактивни пептиди, магнезий и съдови екстрацелуларни матриксни протеини при артериална хипертензия, оксидативен стрес на съдовата стена, атеросклероза и стареене. Д-р Костов е член на Българското дружество по физиологични науки и European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation (EACPR).

* * *

Дисертационният труд съдържа 194 страници и е онагледен с 6 таблици и 152 фигури.

Библиографският списък включва 375 литературни източника, от които 10 на кирилица и 365 на латиница.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на катедра „Физиология и патофизиология“ при Медицински университет - Плевен.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 12.02.2016 г. от 13:30 ч. в зала „Асклепий“ на МУ - Плевен.

Материалите по защитата са на разположение в Научния отдел и са публикувани на интернет страницата на МУ - Плевен.

БЛАГОДАРНОСТ

Искам да изкажа благодарност на моя научен ръководител доц. д-р Анелия Димитрова, дм, р-л катедра „Физиология и патофизиология“ и на научния ми консултант доц. д-р Денко Страшимиров, дм, за полезните съвети и напътствия във връзка с работата ми по дисертационния труд.

Искам също сърдечно да благодаря на:

- Проф. д-р С. Тишева, дмн, р-л клиника по „Кардиология и ревматология“ при УМБАЛ-Плевен, за съдействието ѝ при вземането на биологичен материал от пациентите и подбора на групите, както и за помощта при представянето на експерименталните данни на редица национални и международни научни форуми.

- Доц. М. Атанасова, дб, р-л сектор „Биология“ и гл. ас. А. Блажев за тяхната цялостна подкрепа и отзифчивост по време на работата, както и на целия колектив на сектора, където бяха направени имунологичните изследвания.

- Доц. д-р А. Русева, дм, р-л МДКЛ при УМБАЛ-Плевен, където бяха направени клинично-лабораторните изследвания.

- Ръководството и Финансовия директор на МУ-Плевен за предоставените средства по проекти: №1/2012 г. *„Изследване серумните концентрации на ендотелин-1 и матриксните металопротеинази-2 и -9, като маркери за сърдечно-съдовия риск при пациенти с различна степен на артериална хипертензия“* и №7/2013 г. *„Клинично-имунологична връзка между промените в серумните концентрации на ендотелин-1 и матриксните металопротеинази-2 и -9 при пациенти с артериална хипертензия и захарен диабет тип 2“*.

- Проф. К. Мутафчиев, дх, за полезните съвети относно физико-химичните свойства на магнезия и тяхната връзка с биологичната му роля.

Изказвам специална благодарност и на организаторите на форума „Наука и младост“ в МУ-Пловдив, чл.-кор. проф. д-р Ст. Костянев, дмн, Ректор и доц. д-р Б. Маринов, дм, Председател на МНД „Асклепий“, където бяха направени първите научни съобщения и публикации по дисертационния труд.

СЪКРАЩЕНИЯ

КИРИЛИЦА

АК	Аминокиселина
АН	Артериално налягане
АС	Алдостерон
АХ	Артериална хипертензия
АТФ	Аденозинтрифосфат
ДАН	Диастолично артериално налягане
ДНК	Дезоксирибонуклеинова киселина
ЕТ	Ендотелин
ЕЦМ	Екстрацелуларен матрикс
ЗД тип II	Захарен диабет тип II
МС	Метаболитен синдром
ПСС	Периферно съдово съпротивление
РААС	Ренин-ангиотензин-алдостеронова система
РНК	Рибонуклеинова киселина
САН	Систолично артериално налягане
СГМК	Съдови гладкомускулни клетки
цАМФ	Циклическ аденозин монофосфат
цГМФ	Циклическ гуанозин монофосфат
ЦНС	Централна нервна система
ЮГА	Юктагломерулен апарат

ЛАТИНИЦА

ADCY	Аденилат циклаза
ANP	Атриален натриуретичен пептид
Ang II	Ангиотензин II
AVP	Аргинин вазопресин
BH4	Тетрахидробиоптерин
BNP	Мозъчен натриуретичен пептид
BMI	Индекс на телесната маса
CRP	С-реактивен протеин
hs-CRP	Високочувствителен CRP
CLDN16	Клаудин 16
COMT	Катехол-орто-метил трансфераза
COX	Циклооксигеназа
CuZn-SOD	CuZn-супероксид дисмутаза
CYP	Цитохром P450
DAG	Диацилглицерол
ET-1	Ендотелин-1
ECE	Ендотелин конвертиращ ензим

ETA	Ендотелин А рецептор
ETB	Ендотелин В рецептор
EDHF	Ендотел-продуциран хиперполяризиращ фактор
EGF	Епидермален растежен фактор
eNOS	Ендотелна азотноокисна синтаза
ER	Ендоплазмен ретикулум
GC	Гуанилат циклаза
GPx	Глутатион пероксидаза
HbA1c	Гликиран хемоглобин
HAS	Хиалуронсинтаза
HSN	Хипомагнезиемия с вторична хипокалциемия
ICAM-1	Интрацелуларна адхезионна молекула-1
IL-1	Интерлевкин-1
IL-6	Интерлевкин-6
IP3	Инозитол трифосфат
LOX	Лизилоксидаза
MAPK	Митоген активирана протеин киназа
Mg²⁺	Магnezий
MMPs	Матриксни металопроотеинази
MMP-2	Матриксна металопроотеиназа-2
MMP-9	Матриксна металопроотеиназа-9
MCP-1	Моноцитен хемоатрактантен протеин-1
NEP	Неутрална ендопептидаза
NF-κB	Нуклеарен фактор-капа В
NO	Азотен оксид
Nox	NADPH-оксидаза
NA	Норадреналин
PAI-1	Плазминоген активаторен инхибитор-1
PGE₁	Простагландин E ₁
PGI₂	Простагландин I ₂
PKC	Протеинкиназа C
PLA2	Фосфолипаза A ₂
PLC-β	Фосфолипаза C-β
ROS	Кислородни радикали
SHR	Спонтанно хипертензивни плъхове
SRTXs	Сарафотоксини
TIMPs	Тъканни инхибитори на металопроотеиназите
TNF-α	Тумор некротизиращ фактор-α
TRPM 6/7	Селективни TRPM 6/7 Mg ²⁺ канали
TxA₂	Тромбоксан A ₂
VCAM-1	Съдово-клетъчна адхезионна молекула-1
VEGF	Съдов ендотелен растежен фактор
WKY	Нормотензивни плъхове Wistar Kyoto

СЪДЪРЖАНИЕ

ВЪВЕДЕНИЕ	9
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	13
КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ	14
1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ	14
2. ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ ПАЦИЕНТИ	14
3. МЕТОДИ	19
3.1. Клиничен метод	19
3.1.1. Анамнеза	19
3.1.2. Физикален статус	19
3.2. Използвани апарати	19
3.2.1. Измерване на артериалното налягане и оценка на степените на артериалната хипертензия	19
3.2.2. Електрокардиография	20
3.2.3. Офталмоскопия	20
3.3. Вземане на кръв за имунологично и клиниколабораторно изследване	
3.3.1. Имунологично изследване	21
3.3.1.1. Определяне на ET-1 чрез ELISA	21
3.3.1.2. Определяне на MMP-2 чрез ELISA	21
3.3.1.3. Определяне на MMP-9 чрез ELISA	22
3.3.2. Лабораторно изследване	23
3.3.2.1. Определяне на серумен Mg^{2+} чрез колориметричен метод	23
3.3.2.2. Определяне на CRP чрез имунотурбидиметричен метод	23
3.3.2.3. Определяне на кръвна захар чрез глюкозооксидазен метод	23
3.3.2.4. Определяне на HbA1c чрез високо афинитетна елуентна хроматография	23

3.4. Статистически методи	24
ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ.....	25
1. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ET-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ	25
2. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ	26
3. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ	27
4. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА Mg ²⁺ ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ	28
5. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ	29
6. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ET-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II	30
7. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II	31
8. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II	32
9. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА Mg ²⁺ ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II	33

10. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II	34
11. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ET-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II	35
12. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II	37
13. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II	39
14. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА СЕРУМНИЯТ Mg^{2+} ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.....	41
15. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II	43
16. НАМЕРЕНИ КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ	45
ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ	47
ИЗВОДИ	67
ПРИНОСИ	68
СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И НАУЧНИТЕ СЪОБЩЕНИЯ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	69

ВЪВЕДЕНИЕ

Артериалната хипертензия (АХ) е едно от най-важните социално значими заболявания, което засяга над един милиард души по света. Прогнозира се броят на хората с АХ да достигне през 2025 г. 1.5 милиарда. Поради тази причина, превенцията и лечението на заболяването са сред основните приоритети на общественото здравеопазване у нас и в световен мащаб.

АХ е заболяване със сложна патогенеза. Понастоящем се приема, че е резултат на нарушения в редица нервни, бъбречни, хормонални и съдови механизми за контрол на артериалното налягане (АН). Основно значение има дисбаланса в синтеза и обмяната на биологичноактивни субстанции с вазоконстрикторен (агиотензин II, ендотелин-1, норадреналин, адреналин, вазопресин, тромбоксан A_2 и др.) и вазодилататорен ефект (азотен оксид, простагландини I_2 , E_1 и E_2 , брадикинин и др.). Друг важен момент в патогенезата е повишената активност на симпатико-адреналната и ренин-ангиотензин-алдостероновата система (РААС).

Въпреки значителните познания за патогенезата на АХ, все още има неизяснени патофизиологични механизми, които разкриват нов потенциал за контрол и терапевтично въздействие. Например, малко се знае за ролята на ендотелин-1 (ЕТ-1) и магнезия (Mg^{2+}) в механизмите за контрол на АН. Те реализират своите ефекти върху съдовия тонус, чрез подобни механизми, като повлияват вътреклетъчната Ca^{2+} обмяна в ендотелните и съдовите гладкомускулни клетки (СГМК). Освен чрез директните си съдови ефекти, ЕТ-1 и Mg^{2+} участват в контрола на АН чрез въздействие върху ключови патогенетични звена на АХ, като РААС, нервноендокринни механизми, антиоксидантна защита и др. Не е изяснено и по какъв начин те си взаимодействат и повлияват структурно-функционалните особености на съдовата стена в условията на хемодинамичен стрес. ЕТ-1 и Mg^{2+} могат да активират и някои вътреклетъчни сигнални пътища, водещи до пролиферация на СГМК и промяна на екстрацелуларните матриксни протеини. В този процес на съдово ремоделиране, активна роля играят матриксните металопроотеинази-2 и -9 (MMP-2 и MMP-9).

Различните изоформи на ендотелините и техните рецепторни подтипове са били идентифицирани в нервната, бъбречната и съдовата тъкан, където изпълняват множество физиологични функции свързани с регулацията на съдовия тонус и водно-солевия баланс. ET-1, който е мощен вазоконстриктор с пролонгирано действие, може да остане свързан с ETA рецептора до два часа и да потенцира действието на вторичните посредници дълго време след освобождаването на рецептора. ET-1 участва в бъбречната регулация на АН, чрез повлияване на бъбречната хемодинамика, тубулната реабсорбция на вода и електролити и секрецията на ренин. ET-1 повлиява натриевата и водната хомеостаза, като регулира алдостероновата (АС) продукция, секрецията на атриален натриуретичен пептид (ANP), мозъчен натриуретичен пептид (BNP) и вазопресин (AVP). Като цяло ендотелините имат положителен инотропен ефект и могат да регулират медуларната надбъбречна катехоламинова секреция, както и да повишат базалните нива на катехоламините. ET-1 регулира системната хемодинамика, чрез повлияване на сърдечно-съдовия център, както и дейността на барорецепторите в аортната дъга и каротидните синуси. ET-1 е замесен във възпалителния процес засягащ съдовата стена при АХ. Той може да активира макрофагите, в резултат на което се освобождават проинфламаторни цитокини. Последните могат да стимулират производството на нови количества ET-1 и така да се повиши трайно АН. ET-1 стимулира също производството на кислородни радикали (ROS) в ендотелните и СГМК. Предполага се, че в основата на този процес е повишената експресия на съдовата NADPH-оксидаза. Увеличената продукция на ROS в съдовата стена води до повишената синтеза на проинфламаторни цитокини и възпалителен съдов отговор. По този начин възпалението и оксидативния стрес формират един порочен кръг в патогенезата на АХ, в който активно участие взема ET-1.

Mg^{2+} също играе важна роля в регулацията на АН, като модулира съдовия тонус и реактивност чрез различни механизми. Mg^{2+} е естествен Ca^{2+} антагонист. Той потенцира продукцията на вазодилататори, като простагландин I_2 (PGI_2) и азотен оксид (NO) от съдовия ендотел. Mg^{2+} променя съдовите отговори към редица вазоактивни вещества. Например, повишените нива на Mg^{2+} отслабват

ЕТ-1 индуцираната контракция, докато понижените нива на Mg^{2+} я засилват. При Mg^{2+} дефицит се стимулира производството и освобождаването на АС, активира се NF- κ B и се потенцира възпалителен съдов отговор, понижават се експрсията и активността на редица антиоксидантни ензими, като глутатион пероксидаза (GPx), CuZn-супероксид дисмутаза (CuZn-SOD), каталаза, както и нивата на важни антиоксиданти, като глутатион, витамин С, витамин Е и селен. Предполага се, че Mg^{2+} може да предпази еластичните влакна от Ca^{2+} отлагане, като по този начин играе роля в поддържането на еластичитета на съдовете. Mg^{2+} балансира ефектите на катехоламините при остър и хроничен стрес. Допълнително Mg^{2+} дефицит може да е свързан с развитие на инсулинова резистентност, хипергликемия и промени в липидния метаболизъм, които засилват атеросклеротичните промени и повишават съдовата ригидност.

АХ води до промени в морфологията на съдовата структура. Екстрацелуларният матрикс (ЕЦМ) на съдовата стена съдържа колаген, еластин, гликопротеини и протеоглигани. Стабилността, еластичността и комплайанса на артериалния съд се определя основно от съотношението на колагена и еластина в него. Относителното съдържание на тези протеини се поддържа от бавен, но динамичен процес на синтезиране и разграждане. Съдържанието на колаген и еластин в съдовата стена се регулира от балансираните ефекти на матриксните металлопротеинази (MMPs), ензими, които се синтезират от съдови и възпалителни клетки и тъканните инхибитори на металлопротеиназите (TIMPs). Дисрегулацията на този баланс води до повишено натрупване на колаген, намалено количество на еластин и повишена ригидност на съдовата стена. MMP-2 и MMP-9, които разграждат колаген тип IV на базална съдова мембрана, ламинин и еластин са признати като основни индуктори на съдовото ремоделиране при АХ. Дефицитът на Mg^{2+} може да повиши активността на MMPs, докато разграждането на еластиновите влакна може значително да нарасне в присъствие на Mg^{2+} .

Диабетът и АХ са взаимно свързани заболявания. Честотата на хипертензията е 1.5 до 3 пъти по-висока сред диабетната популация, отколкото в групи без диабет. Също така е доказано, че диабетът е два пъти по-чест при пациенти с АХ, отколкото при хора с нормално АН. Хипертензията е важен

симптом в комплекса на метаболитния синдром (МС) и е основен фактор за повишен сърдечно-съдов риск при болните със захарен диабет тип 2 (ЗД тип II). Поради тази причина комбинацията от ЗД тип II и АХ е била наречена „смъртоносен дует“. Около 20-60% от болните със ЗД тип II развиват АХ, която в много отношения наподобява характеристиките на есенциалната хипертензия. Редица възпалителни маркери (например С-реактивният протеин) са повишени при пациенти с хипертензия, ЗД тип II и МС, което дава основание да се приеме, че диабетът и АХ са до известна степен и хронични възпалителни заболявания.

От изложеното по-горе може да се направи заключението, че таргетното съдово увръждане при АХ е резултат от медиаторния и нервно-хормоналния дисбаланс, водещи до възпалителен отговор и оксидативен стрес на съдовата стена. Те от своя страна са причина за развитието на ендотелна дисфункция, с доминиране на вазоконстрикторните ефекти и пролиферативния съдов отговор. В резултат на тези процеси първоначално настъпва изразена вазоконстрикция, а впоследствие и стабилно съдово ремоделиране, водещи до трайно повишаване на АН. Важна патогенетична роля в тези механизми играят ET-1, MMP-2, MMP-9 и Mg^{2+} , които пряко са свързани със съдовите промени при АХ.

ЦЕЛ

ЦЕЛ НА НАСТОЯЩОТО ИЗСЛЕДВАНЕ Е ДА СЕ ПРОУЧИ РОЛЯТА НА ЕТ-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} И CRP, КАТО ИМУНОЛОГИЧНИ И ЛАБОРАТОРНИ МАРКЕРИ ЗА СЪДОВИТЕ ПРОМЕНИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С:

- ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА (УМЕРЕНА + ТЕЖКА) ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ;**
- ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА (УМЕРЕНА + ТЕЖКА) АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.**

ЗАДАЧИ

За изпълнение на целта бяха поставени следните задачи:

1. Да се определят серумните концентрации на ЕТ-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} и CRP при пациенти с лека и високостепенна (умерена + тежка) есенциална артериална хипертензия.
2. Да се определят серумните концентрации на ЕТ-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} и CRP при пациенти с лека и високостепенна (умерена + тежка) артериална хипертензия със ЗД тип II.
3. Да се направи сравнителен анализ на концентрациите на ЕТ-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} и CRP при пациентите с есенциална артериална хипертензия и тези с артериална хипертензия и ЗД тип II.
4. Да се изясни има ли корелации между изследваните показатели.

КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

За периода октомври 2012 г. до май 2014 г. от региона на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД - Плевен, бяха подбрани пациенти отговарящи на включващите и изключващите критерии на изследването, както и подходящи контролни лица. Доброволното участие на всички участници в проучването беше удостоверено с писмено информирано съгласие.

Имунологичните изследвания са извършвани в сектор „Биология“ на Медицински университет - Плевен. Лабораторните изследвания са направени в МДКЛ на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД - Плевен. Изследванията са осъществени със средства по два научни проекта финансирани от бюджета на Медицински университет - Плевен:

№1 (2012 год.): „Изследване серумните концентрации на ендотелин-1 и матриксните металопротеинази-2 и -9, като маркери за сърдечно-съдовия риск при пациенти с различна степен на артериална хипертензия“

№7 (2013 год.): „Клинико-имунологична връзка между промените в серумните концентрации на ендотелин-1 и матриксните металопротеинази-2 и -9 при пациенти с артериална хипертензия и захарен диабет тип 2“

Проектите бяха одобрени от етичната комисия към Медицински университет - Плевен.

2. ИЗСЛЕДВАНИ ГРУПИ ПАЦИЕНТИ

За изпълнение на задача 1 - Определяне на серумните концентрации на ET-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} и CRP при пациенти с лека и високостепенна (умерена + тежка) есенциална артериална хипертензия, включените в изследването лица (n=75) бяха разпределени в 3 групи:

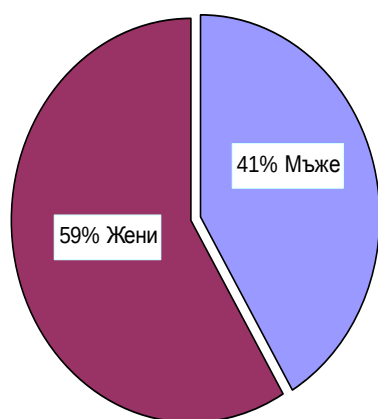
Група I - Контролна група от здрави лица (GI; n=15)

Група II - Пациенти с лека степен на есенциална АХ (GII; n=29)

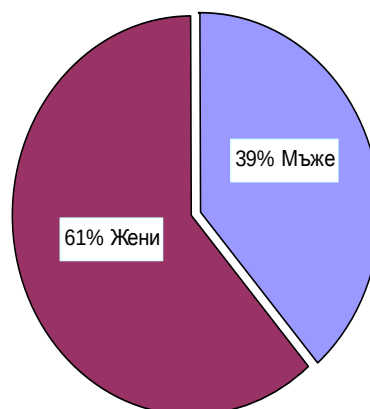
Група III - Пациенти с високостепенна (умерена+тежка) есенциална АХ (GIII; n=31)

Таблица 1. Характеристики на групите с есенциална АХ.

Общ брой изсл. лица (n =75)	ГІ (n = 15)	ГІІ (n = 29)	ГІІІ (n = 31)
Мъже [n (%)]	5 (33.0)	12 (41.0)	12 (39.0)
Жени [n (%)]	10 (67.0)	17 (59.0)	19 (61.0)
Възраст (години)	47,92 ± 11,3	62,92 ± 7,8	67,74 ± 15,3
САН (mmHg)	124,0 ± 3,7	143,0 ± 4,1	167,8 ± 5,6
ДАН (mmHg)	82,2 ± 4,1	83,0 ± 2,2	91,3 ± 3,1
ЕТ-1 (pg/ml)	3,2 ± 1,0	5,2 ± 2,4	4,8 ± 1,8
ММР-2 (ng/ml)	38,1 ± 12,2	40,2 ± 16,7	39,6 ± 14,6
ММР-9 (ng/ml)	16,9 ± 8,0	15,2 ± 6,6	9,3 ± 5,6
Mg ²⁺ (mmol/l)	0,78 ± 0,1	0,87 ± 0,08	0,82 ± 0,07
CRP (mg/l)	1,07 ± 0,9	9,2 ± 11,2	5,8 ± 7,5



Фиг. 1. Процентно съотношение на мъжете и жените в ГІІ при пациентите с есенциална АХ.



Фиг. 2. Процентно съотношение на мъжете и жените в ГІІІ при пациентите с есенциална АХ.

2.1. Брой пациенти:

Бяха изследвани 60 пациента с различна тежест на артериална хипертензия:

- 29 пациента - с лека хипертензия без диабет на възраст от 20-75 г.
- 31 пациента - с високостепенна (умерена+тежка) хипертензия без диабет на възраст от 20-75 г.

2.1.1. Критерии за включване в групата с лека хипертензия:

- Пациенти на възраст между 20-75 год.;
- АХ със САН 140-160 mmHg и/или ДАН 90-100 mmHg;
- Подписано информирано съгласие.

2.1.2. Критерии за включване в групата с високостепенна хипертензия:

- Пациенти на възраст между 20-75 год.;
- АХ със САН >160 mmHg и/или ДАН >100 mmHg;
- Подписано информирано съгласие.

2.1.3. Изключващи критерии:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| ▪ Да нямат захарен диабет; | ▪ Тежка застойна СН; |
| ▪ Други ендокринни заболявания; | ▪ Бъбречна недостатъчност; |
| ▪ Системен лупус; | ▪ Злокачествени заболявания; |
| ▪ Колагенози; | ▪ Бременност; |
| ▪ Ревматоиден артрит; | ▪ Отказ за подписване на |
| ▪ Чернодробна недостатъчност; | информирано съгласие. |

2.1.4. Критерии за включване в контролната група:

- Здрави лица на възраст между 20-75 год.;

2.1.5. Изключващи критерии:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| ▪ Артериална хипертензия; | ▪ Тежка застойна СН; |
| ▪ Захарен диабет; | ▪ Бъбречна недостатъчност; |
| ▪ Други ендокринни заболявания; | ▪ Злокачествени заболявания; |
| ▪ Системен лупус; | ▪ Бременност; |
| ▪ Колагенози; | ▪ Отказ за подписване на |
| ▪ Ревматоиден артрит; | информирано съгласие. |
| ▪ Чернодробна недостатъчност; | |

За изпълнение на задача 2 - Определяне на серумните концентрации на ET-1, MMP-2, MMP-9, Mg^{2+} и CRP при пациенти с лека и високостепенна (умерена + тежка) артериална хипертензия със ЗД тип II, включените в проучването лица (n=70) също бяха разпределени в 3 групи:

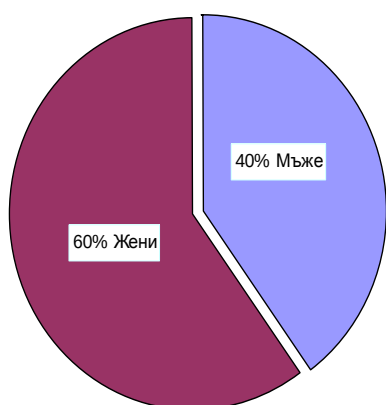
Група I - Контролна група от здрави лица (ГI; n=20)

Група II - Пациенти с лека степен на АХ с Т2ЗД (ГII; n=30)

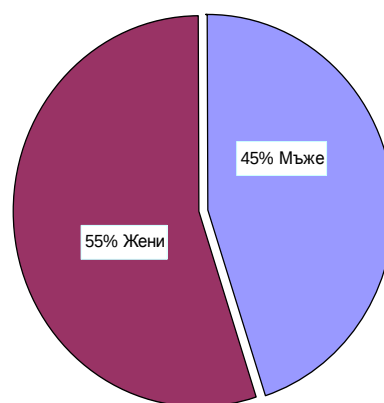
Група III - Пациенти с високостепенна (умерена+тежка) АХ с Т2ЗД (ГIII; n=20)

Таблица 2. Характеристики на групите с АХ и ЗД тип II.

Общ брой изсл. лица (n = 70)	ГI (n = 20)	ГII (n = 30)	ГIII (n = 20)
Мъже [n (%)]	8 (40.0)	12 (40.0)	9 (45.0)
Жени [n (%)]	12 (60.0)	18 (60.0)	11 (55.0)
Възраст (години)	39,05 ± 15,3	61,55 ± 10,7	65,6 ± 11,4
САН (mmHg)	122,5 ± 3,9	141,9 ± 7,3	163,6 ± 9,5
ДАН (mmHg)	81,7 ± 3,8	80,7 ± 8,8	89,1 ± 10,4
ЕТ-1 (pg/ml)	3,5 ± 1,7	3,1 ± 1,7	9,2 ± 7,1
MMP-2 (ng/ml)	29,8 ± 7,5	38,4 ± 11,4	36,1 ± 11,1
MMP-9 (ng/ml)	22,6 ± 8,0	42,1 ± 23,1	40,1 ± 17,9
Mg ²⁺ (mmol/l)	0,83 ± 0,1	0,98 ± 0,2	1,02 ± 0,3
CRP (mg/l)	1,0 ± 0,8	5,6 ± 4,4	10,3 ± 8,6
HbA1c (%)	—	6,9 ± 1,4	7,6 ± 1,8



Фиг. 3. Процентно съотношение на мъжете и жените в ГII при пациентите с АХ и ЗД тип II.



Фиг. 4. Процентно съотношение на мъжете и жените в ГIII при пациентите с АХ и ЗД тип II.

2.2. Брой пациенти:

Бяха изследвани 50 пациента с различна тежест на артериална хипертензия:

- 30 пациента - с лека хипертензия и ЗД тип II на възраст от 20-75 г.;
- 20 пациента - с високостепенна (умерена+тежка) хипертензия и ЗД тип II на възраст от 20-75 г.

2.2.1. Критерии за включване в групата с лека хипертензия:

- Пациенти на възраст между 20-75 год.;
- АХ със САН 140-160 mmHg и/или ДАН 90-100 mmHg;
- Наличие на ЗД тип II по критериите на СЗО от 2006 г.;
- Подписано информирано съгласие.

2.2.2. Критерии за включване в групата с високостепенна хипертензия:

- Пациенти на възраст между 20-75 год.;
- АХ със САН >160 mmHg и/или ДАН >100 mmHg;
- Наличие на ЗД тип II по критериите на СЗО от 2006 г.;
- Подписано информирано съгласие.

2.2.3. Изключващи критерии:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| ▪ Други ендокринни заболявания; | ▪ Бъбречна недостатъчност; |
| ▪ Системен лупус; | ▪ Злокачествени заболявания; |
| ▪ Колагенози; | ▪ Бременност; |
| ▪ Ревматоиден артрит; | ▪ Отказ за подписване на |
| ▪ Чернодробна недостатъчност; | информирано съгласие. |
| ▪ Тежка застойна СН; | |

2.2.4. Критерии за включване в контролната група:

- Здрави лица на възраст между 20-75 год.;

2.2.5. Изключващи критерии:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| ▪ Артериална хипертензия; | ▪ Тежка застойна СН; |
| ▪ Захарен диабет; | ▪ Бъбречна недостатъчност; |
| ▪ Други ендокринни заболявания; | ▪ Злокачествени заболявания; |
| ▪ Системен лупус; | ▪ Бременност; |
| ▪ Колагенози; | ▪ Отказ за подписване на |
| ▪ Ревматоиден артрит; | информирано съгласие. |
| ▪ Чернодробна недостатъчност; | |

2.3. За изпълнение на задачи 3 и 4 бяха използвани описаните вече групи.

3. МЕТОДИ

3.1. КЛИНИЧЕН МЕТОД

3.1.1. Анамнеза

На всички лица бе снета подробна анамнеза за наличието на субективни оплаквания, сърдечно-съдови рискови фактори, придружаващи заболявания и терапия. Получени бяха анамнестични данни за давността на АХ, стойностите на АН, провежданото лечение. При пациентите с АХ и ЗД тип II беше получена също информация за неговата давност, лечение, наличие на съдови усложнения. Осъществен бе анализ на съпътстващата налична медицинска документация.

3.1.2. Физикален статус

Извършен беше физикален преглед, както и измерване на ръст, тегло, изчисляване на BMI.

3.2. ИЗПОЛЗВАНИ АПАРАТИ

3.2.1. Измерване на артериалното налягане и оценка на степените на артериалната хипертензия:

3.2.1.1. Измерването на артериалното налягане беше направено според препоръките на СЗО, след десетминутен покой в седнало положение с маншет на мишницата. Използван беше стандартен ръчен сфигмоманометър. Направиха се 3 измервания с 2 минутен интервал между тях, като за референтна беше взета средната стойност. Измерванията се правеха и на двете ръце, като за референтна се прие по-високата стойност.

3.2.1.2. Оценката на степените на артериалната хипертензия беше направена според насоките за диагностика и лечение на артериалната хипертензия на Европейската асоциация по хипертензия и Европейската асоциация по кардиология (ESH и ESC) от 2013 г. (**Таблица 3**).

Таблица 3. Степени на артериална хипертензия според насоките на Европейската асоциация по хипертензия от 2013 г.

Категории [Степени]	Систолично [mmHg]		Диастолично [mmHg]
Оптимално	<120	и	<80
Нормално	120-129	и/или	80-84
Повишено нормално	130-139	и/или	85-89
I ^{-ва} степен АХ (лека)	140-159	и/или	90-99
II ^{-ра} степен АХ (умерена)	160-179	и/или	100-109
III ^{-та} степен АХ (тежка)	≥180	и/или	≥110
Изолирана систолна хипертензия	≥140	и	<90
Степените на хипертензията се определят според най-високите стойности на АН (САН и ДАН). Изолираната систолна АХ трябва да бъде класифицирана като I ^{-ва} , II ^{-ра} или III ^{-та} степен, според стойностите на систолното АН в посочения диапазон.			

3.2.2. Електрокардиография - на всички пациенти е регистрирана ЕКГ в дванадесет отвеждания.

3.2.3. Офталмоскопия - на пациентите с АХ и ЗД тип II беше направена консултация с офталмолог и извършена офталмоскопия.

3.3. ВЗЕМАНЕ НА КРЪВ ЗА ИМУНОЛОГИЧНО И КЛИНИКОЛАБОРАТОРНО ИЗСЛЕДВАНЕ

В сутрешните часове между 8 и 9.30 ч., 12 часа след последното хранене, беше взета 5ml венозна кръв в стерилни вакутейнери за серум, без антикоагулант. Полученият при центрофугиране на 1500 об/мин серум беше разделен на по-малки количества и съхранен при -80°C до момента на осъществяване на имунологичното изследване. Лабораторните показатели бяха изследвани веднага.

3.3.1. ИМУНОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

3.3.1.1. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ET-1 ЧРЕЗ ELISA МЕТОД

За определяне концентрациите на ET-1 беше използван кит, базиран на принципа на сандвич ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co. KG, Divischgasse 4, A-1210 Wien, Austria, кат. №. BI-20052). Според указанията на производителя, във всяко кладенче на плаките се накапва по 50 µl тестиран серум или стандарт в различни концентрации, за построяване на стандартна права. След това се добавя 200 µl Detection antibody във всяко кладенче, разклаща се внимателно и се инкубира 16-24 часа на стайна температура. След изтичане на този период, плаките се промиват петкратно на автоматична миячка с 300 µl разреден промиващ буфер (Wash Buffer). След последното промиване се добавя 200 µl Conjugate във всяко кладенче и се инкубира 1 час на стайна температура. Следва отново петкратно промиване с 300 µl разреден промиващ буфер, добавя се 200 µl Substrate във всяко кладенче и се инкубира 30 мин. на тъмно. Реакцията се спира с 50 µl стоп разтвор (Stop Solution). Екстинкциите се измерват на автоматичен ELISA ридер „Ceres UV900C” - Bio-Tek Instruments Inc., при дължина на вълната 450 nm., веднага след приложението на стоп разтвора. Концентрациите на ET-1 за всеки тестиран серум се изчисляват по формула, получена от стандартна права, която е построена въз основа на екстинкциите на стандартите при различни концентрации.

3.3.1.2. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА MMP-2 ЧРЕЗ ELISA МЕТОД

За определяне концентрациите на MMP-2 беше използван кит, базиран на принципа на сандвич ELISA (R&D systems, кат. № DMP2F0). Според указанията на производителя, във всяко кладенче на плаките се накапват 100 µl of Assay Diluent RD1-74, след което се добавят по 50 µl тестиран серум, разреден 1:10 с калибратор дилуент RD5-32 (20 µl серум + 180 µl калибратор дилуент) или стандарт в различни концентрации, за построяване на стандартна права. След 2 часа престой на стайна температура върху шейкър, плаките се промиват трикратно на автоматична миячка с 400 µl промиващ буфер (Wash Buffer)

на кладенче. След последното промиване се добавя 200 µl Conjugate във всяко кладенче и се инкубира за 2 часа на стайна температура върху шейкър. Промива се отново трикратно и се добавя по 200 µl субстратен разтвор (Substrate Solution) към всяко кладенче. Инкубира се 30 мин. на стайна температура, на тъмно. Реакцията се спира с 50 µl стоп разтвор (Stop Solution), а цветът в кладенчетата се променя от син в жълт. Ако цветът е зелен или не отговаря на очакванията е необходимо леко да се разклати. До 30 мин. се измерват екстинкциите на автоматичен ELISA ридер „Ceres UV900C” - Bio-Tek Instruments Inc., при дължина на вълната 450 nm. Концентрациите на MMP-2 за всеки тестиран серум се изчисляват по формула, получена от стандартна права, която е построена въз основа на екстинкциите на стандартите при различни концентрации.

3.3.1.3. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА MMP-9 ЧРЕЗ ELISA МЕТОД

За определяне концентрациите на MMP-9 беше използван кит, базиран на принципа на сандвич ELISA (R&D systems, кат. № DMP900). Според указанията на производителя, във всяко кладенче на плаките се накапват 100 µl of Assay Diluent RD1-34, след което се добавят по 100 µl тестиран серум, разреден 1:100 с калибратор дилуент RD5-10 (10 µl серум + 990 µl калибратор дилуент) или стандарт в различни концентрации, за построяване на стандартна права. След 2 часа престой на стайна температура върху шейкър, плаките се промиват трикратно на автоматична миячка с 400 µl промиващ буфер (Wash Buffer) на кладенче. След последното промиване се добавя 200 µl анти-MMP-9 антитяло конюгирано с пероксидаза и се инкубира за 1 час на стайна температура върху шейкър. Промива се отново трикратно и се добавя по 200 µl субстратен разтвор (Substrate Solution) към всяко кладенче. Инкубира се 30 мин. на стайна температура, на тъмно. Реакцията се спира с 50 µl стоп разтвор (Stop Solution), а цветът в кладенчетата се променя от син в жълт. До 30 мин. се измерват екстинкциите на автоматичен ELISA ридер „Ceres UV900C” - Bio-Tek Instruments Inc., при дължина на вълната 450 nm. Концентрациите на MMP-9 за всеки тестиран серум се изчисляват по формула, получена от стандартна права, която е построена въз основа на екстинкциите на стандартите при различни концентрации.

3.3.2. ЛАБОРАТОРНО ИЗСЛЕДВАНЕ

3.3.2.1. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СЕРУМЕН Mg^{2+} ЧРЕЗ КОЛОРИМЕТРИЧЕН МЕТОД

Серумната концентрация Mg^{2+} беше определена чрез колориметричен метод с Chlorophosphonazo III (CPZ III).

Принцип на теста: EGTA (ethylenebis (oxyethylenenitrilo) tetra-acetic acid) беше използвана за инхибиране на Ca^{2+} свързването с CPZ III. В резултат на това CPZ III се свързва само с Mg^{2+} и води до увеличаване на абсорбцията при 659 nm.

Референтни граници: При здрави индивиди концентрациите на серумния Mg^{2+} са между 0.65-1.05 mmol/l.

3.3.2.2. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА CRP ЧРЕЗ ИМУНОТУРБИДИМЕТРИЧЕН МЕТОД

Принцип на теста: Човешки CRP аглутинира с латексови частици, покрити с моноклонални анти-CRP антитела. Преципитатът се определя турбидиметрично при 552 nm. Реактиви и работни разтвори: R1 - TRIS буфер с говежди серумен албумин и имуноглобулини (миши); R2 - SR латексови частици, покрити с анти-CRP антитела (миши) в глицинов буфер. Изследването е направено с COBAS INTEGRA 400 анализатор (Roche Diagnostics kit).

Референтни граници: При здрави индивиди CRP е с обхват < 5 mg/l (< 0.5 mg/dl или < 47.6 nmol/l).

3.3.2.3. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРЪВНА ЗАХАР ЧРЕЗ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЕН МЕТОД

Принцип на теста: Серумната глюкоза беше изследвана чрез GOD-PAP метода с Hitachi 705 автоанализатор (Boehringer Mannheim, Germany).

Референтни граници: При здрави индивиди кръвната захар на гладно за венозната кръв е 3.8 -6.1 mmol/l, а за капилярната кръв е 3.5- 5.5 mmol/l.

3.3.2.4. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА HbA1c ЧРЕЗ ВИСОКО АФИНИТЕТНА ЕЛУЕНТНА ХРОМАТОГРАФИЯ - Референтни граници: < 6.5 %.

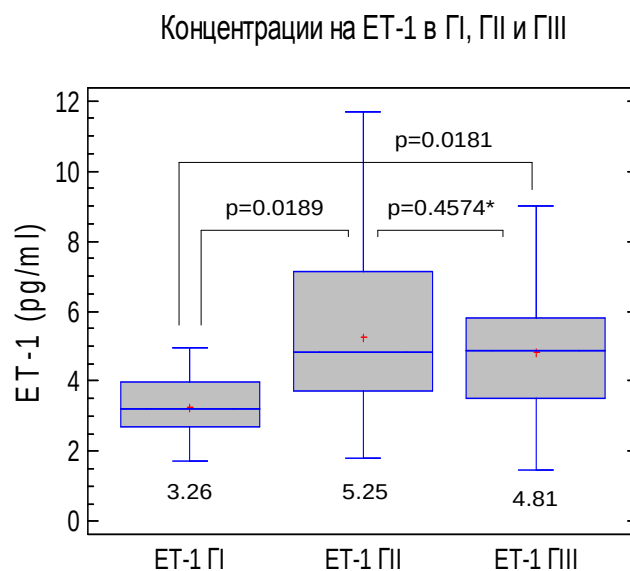
3.4. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

Данните от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети Statgraphics Centurion XVI и Excel for Windows. Използвани са методи на дисперсионен, корелационен и регресионен анализ. Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови величини (средни стойности, медиани, корелационни коефициенти). При сравняването на групите най-често е използвана средната стойност на величините ($\bar{X}$) $\pm$ стандартното отклонение (SD), като показател за вариабилността на изследвания фактор или стойностите на медианите в зависимост от типа на разпределение. При нормално разпределение на данните, значимостта на разликите между групите е установена с F-теста на Fisher (ANOVA), а при данни отклоняващи се от нормалното разпределение, с непараметричния тест на Kruskal Wallis (KW). Корелационните зависимости между показателите са изследвани с корелационния анализ на Pearson за оценка на количествени променливи величини. Степента на корелациите е оценена според корелационния коефициент (r) при 3-степенна скала, като: слаба ($r < 0.3$), умерена ($r = 0.3 - 0.7$), значителна ($r > 0.7$). За статистически достоверни при различните анализи са приети стойности на $p < 0.05$.

ПОЛУЧЕНИ РЕЗУЛТАТИ

1. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ЕТ-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ.

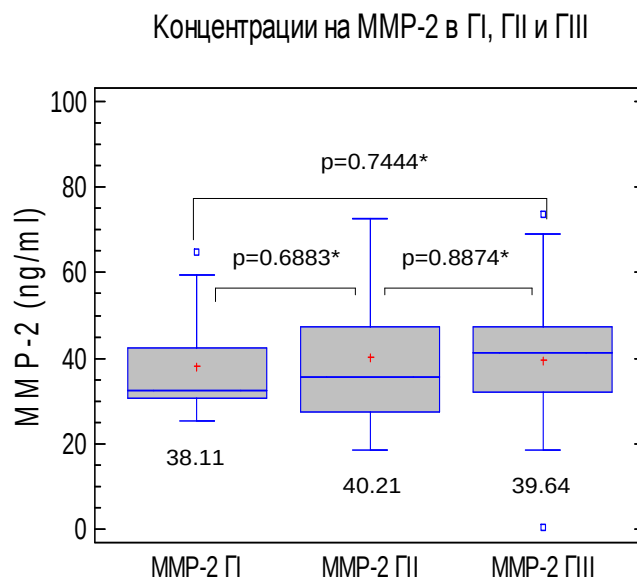
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на ЕТ-1 в ГII 5.25 ± 2.4 ($1.81 \div 11.68$) pg/ml са сигнификантно повишени спрямо тези в ГI 3.26 ± 1.0 ($1.72 \div 4.95$) pg/ml, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=6.12$; $p=0.0189$). Концентрациите на ЕТ-1 в ГIII 4.81 ± 1.8 ($1.48 \div 9.01$) pg/ml са също сигнификантно повишени спрямо тези в ГI 3.26 ± 1.0 ($1.72 \div 4.95$) pg/ml ($F=6.12$; $p=0.0181$). Концентрациите на ЕТ-1 в ГIII 4.81 ± 1.8 ($1.48 \div 9.01$) pg/ml са понижени спрямо тези в ГII 5.25 ± 2.4 ($1.81 \div 11.68$) pg/ml, но липсва статистически достоверна разлика ($F=0.56$; $p=0.4574^*$) (**Фиг. 5**).



Фиг. 5. Статистически достоверни разлики на ЕТ-1 между ГI, ГII и ГIII. Данните са представени като средни стойности в pg/ml.

2. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ.

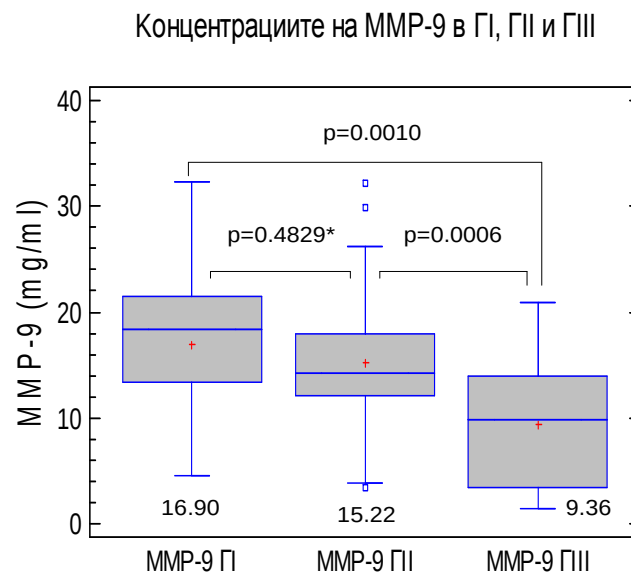
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-2 в ГII 40.21 ± 16.7 ($18.65 \div 80.22$) ng/ml са незначително повишени спрямо тези в ГI 38.11 ± 12.2 ($25.47 \div 64.69$) ng/ml, но няма статистически достоверна разлика между двете групи ($F=0.16$; $p=0.6883^*$). Концентрациите на MMP-2 в ГIII 39.64 ± 14.6 ($0.49 \div 73.67$) ng/ml са незначително повишени спрямо тези в ГI 38.11 ± 12.2 ($25.47 \div 64.69$) ng/ml и също няма статистически достоверна разлика на между двете групи ($F=0.11$; $p=0.7444^*$). Концентрациите на MMP-2 в ГII 40.21 ± 16.7 ($18.65 \div 80.22$) ng/ml и ГIII 39.64 ± 14.6 ($0.49 \div 73.67$) ng/ml са приблизително еднакви, като липсва статистически достоверна разлика ($F=0.02$; $p=0.8874^*$) (**Фиг. 6**).



Фиг. 6. Сравнение на концентрациите на MMP-2 в ГI, ГII и ГIII. *Липсват статистически достоверни разлики между трите групи. Данните са представени като средни стойности в ng/ml.

3. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ.

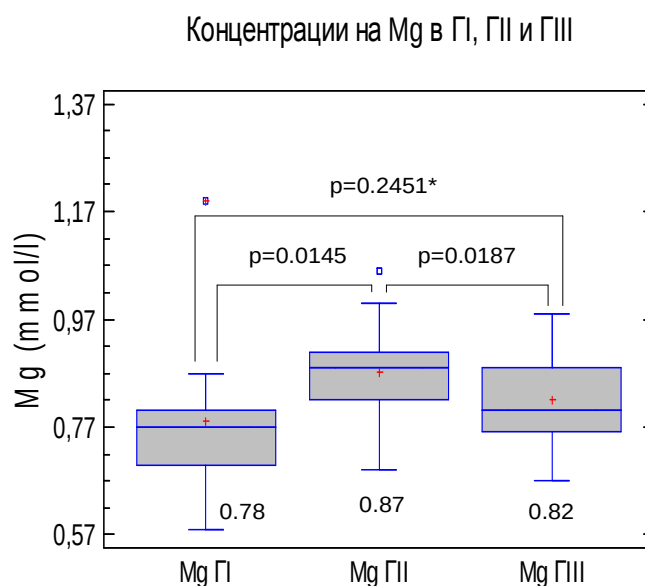
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-9 в ГII 15.22 ± 6.6 ($3.46 \div 32.19$) ng/ml са понижени спрямо тези в ГI 16.90 ± 8.0 ($4.58 \div 32.25$) ng/ml, но няма статистически достоверна разлика между двете групи ($F=0.50$; $p=0.4829^*$). Концентрациите на MMP-9 в ГIII 9.36 ± 5.6 ($1.44 \div 20.98$) ng/ml са сигнификантно понижени (почти двойно) спрямо тези в ГI 16.90 ± 8.0 ($4.58 \div 32.25$) ng/ml, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=12.60$; $p=0.0010$). Концентрациите на MMP-9 в ГIII 9.36 ± 5.6 ($1.44 \div 20.98$) ng/ml са сигнификантно понижени спрямо тези в ГII 15.22 ± 6.6 ($3.46 \div 32.19$) ng/ml, като съществува статистически достоверна разлика ($F=13.37$; $p=0.0006$) (**Фиг. 7**).



Фиг. 7. Статистически достоверни разлики на MMP-9 между ГI, ГII и ГIII. Данните са представени като средни стойности в ng/ml.

4. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА Mg^{2+} ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ.

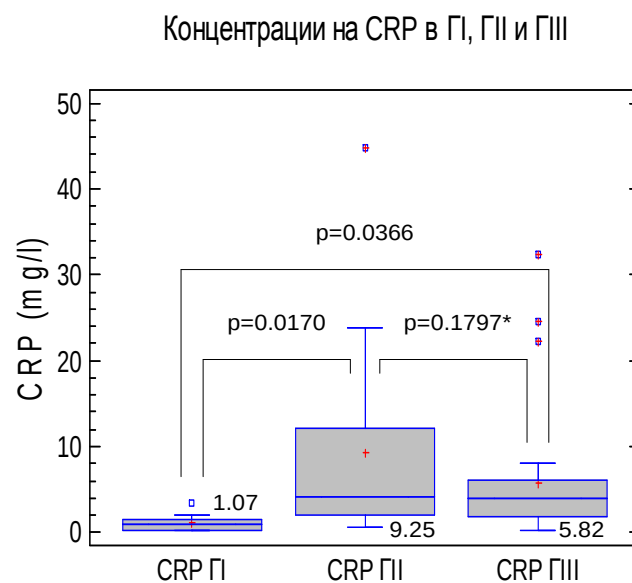
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на серумния Mg^{2+} в ГII 0.87 ± 0.08 ($0.69 \div 1.06$) mmol/l са сигнификантно повишени спрямо тези в ГI 0.78 ± 0.14 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=6.53$; $p=0.0145$). Концентрациите на Mg^{2+} в ГIII 0.82 ± 0.07 ($0.67 \div 0.98$) mmol/l са незначително повишени спрямо тези в ГI 0.78 ± 0.14 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l, но няма статистически достоверна разлика на между двете групи ($F=1.39$; $p=0.2451^*$). Концентрациите на Mg^{2+} в ГIII 0.82 ± 0.07 ($0.67 \div 0.98$) mmol/l са сигнификантно понижени спрямо тези в ГII 0.87 ± 0.08 ($0.69 \div 1.06$) mmol/l, като съществува статистически достоверна разлика ($F=5.85$; $p=0.0187$) (**Фиг. 8**).



Фиг. 8. Статистически достоверни разлики на Mg^{2+} между ГI, ГII и ГIII. Данните са представени като средни стойности в mmol/l.

5. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА ЕСЕНЦИАЛНА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ.

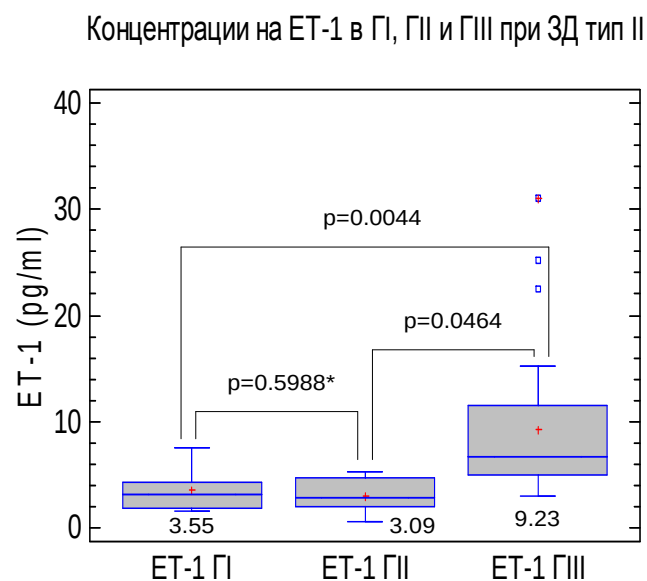
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на CRP в ГII 9.25 ± 11.2 ($0.55 \div 44.72$) mg/l са сигнификантно повишени спрямо тези в ГI 1.07 ± 0.9 ($0.25 \div 3.46$) mg/l, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=6.23$; $p=0.0170$). Концентрациите на CRP в ГIII 5.82 ± 7.5 ($0.31 \div 32.34$) mg/l са също сигнификантно повишени спрямо тези в ГI 1.07 ± 0.9 ($0.25 \div 3.46$) mg/l, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=4.69$; $p=0.0366$). Концентрациите на CRP в ГIII 5.82 ± 7.5 ($0.31 \div 32.34$) mg/l са понижени спрямо тези в ГII 9.25 ± 11.2 ($0.55 \div 44.72$) mg/l, но липсва статистически достоверна разлика ($F=1.85$; $p=0.1797^*$) (**Фиг. 9**).



Фиг. 9. Статистически достоверни разлики на CRP между ГI, ГII и ГIII. Данните са представени като средни стойности в mg/l.

6. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ЕТ-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.

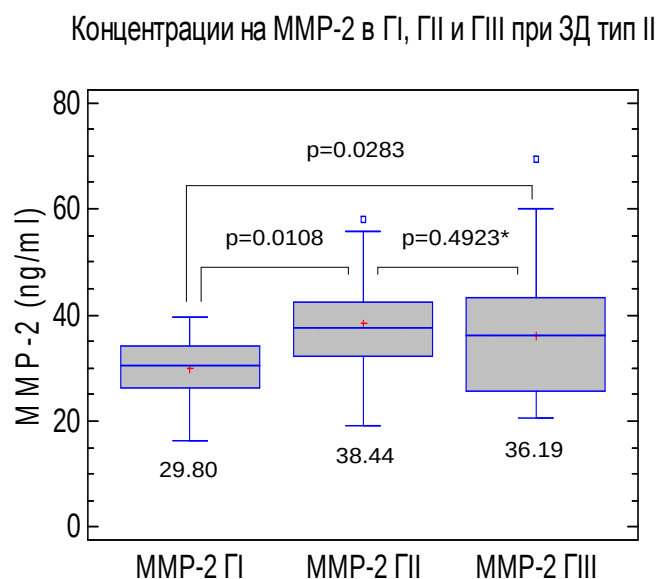
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на ЕТ-1 в ГІ 3.55 ± 1.7 ($1.63 \div 7.54$) pg/ml и ГІІ 3.09 ± 1.7 ($0.64 \div 5.34$) pg/ml са много близки и няма статистически достоверна разлика между двете групи ($F=0.29$; $p=0.5988^*$). Концентрациите на ЕТ-1 в ГІІІ 9.23 ± 7.1 ($3.01 \div 30.99$) pg/ml са сигнификантно повишени спрямо тези в ГІ 3.55 ± 1.7 ($1.63 \div 7.54$) pg/ml, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=9.16$; $p=0.0044$). Концентрациите на ЕТ-1 в ГІІІ 9.23 ± 7.1 ($3.01 \div 30.99$) pg/ml са сигнификантно повишени спрямо тези в ГІІ 3.09 ± 1.7 ($0.64 \div 5.34$) pg/ml ($F=4.32$; $p=0.0464$) (**Фиг. 10**).



Фиг. 10. Статистически достоверни разлики на ЕТ-1 между ГІ, ГІІ и ГІІІ при пациентите със ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в pg/ml.

7. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.

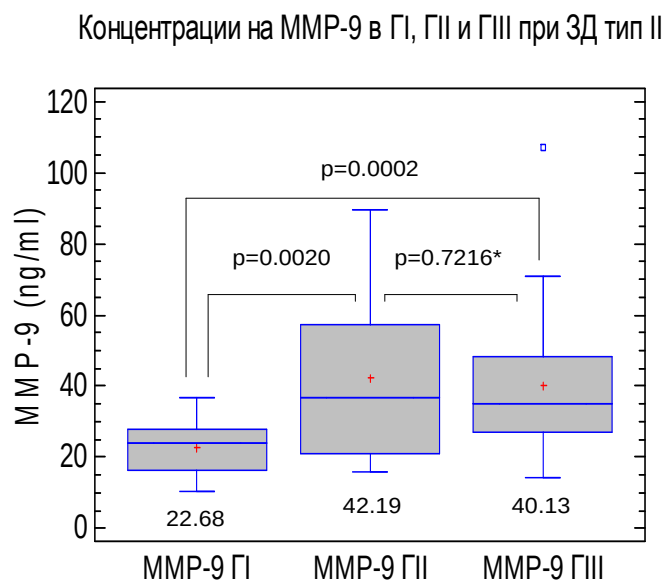
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-2 в ГII 38.44 ± 11.4 ($19.05 \div 58.10$) ng/ml са сигнификантно повишени спрямо тези в GI 29.80 ± 7.5 ($9.65 \div 39.59$) ng/ml, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=7.28$; $p=0.0108$). Концентрациите на MMP-2 в ГIII 36.19 ± 11.1 ($20.66 \div 69.38$) ng/ml са също сигнификантно повишени спрямо тези в GI 29.80 ± 7.5 ($9.65 \div 39.59$) ng/ml, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=5.07$; $p=0.0283$). Концентрациите на MMP-2 в ГIII 36.19 ± 11.1 ($20.66 \div 69.38$) ng/ml са незначително понижени спрямо тези в ГII 38.44 ± 11.4 ($19.05 \div 58.10$) ng/ml, но липсва статистически достоверна разлика ($F=0.48$; $p=0.4923^*$) (**Фиг. 11**).



Фиг. 11. Статистически достоверни разлики на MMP-2 между GI, GII и GIII при пациентите със ЗД тип II. Данните са представени, като средни стойности ($\bar{X}$) $\pm$ стандартното отклонение (SD) в ng/ml.

8. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.

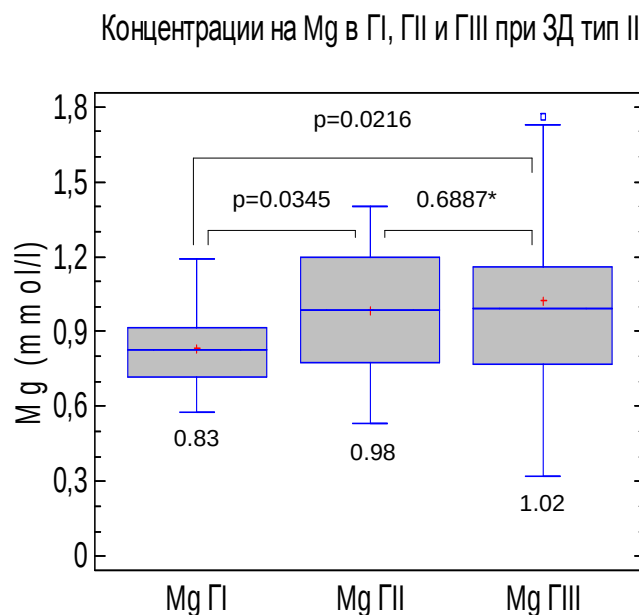
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-9 в ГII 42.19 ± 23.1 ($15.82 \div 89.41$) ng/ml са сигнификантно повишени (почти двойно) спрямо тези в ГI 22.68 ± 8.0 ($10.18 \div 36.64$) ng/ml, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=11.32$; $p=0.0020$). Концентрациите на MMP-9 в ГIII 40.13 ± 17.9 ($14.02 \div 107.13$) ng/ml са също почти двойно повишени спрямо тези в ГI 22.68 ± 8.0 ($10.18 \div 36.64$) ng/ml, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=15.46$; $p=0.0002$). Концентрациите на MMP-9 в ГIII 40.13 ± 17.9 ($14.02 \div 107.13$) ng/ml са незначително понижени спрямо тези в ГII 42.19 ± 23.1 ($15.82 \div 89.41$) ng/ml, но липсва статистически достоверна разлика ($F=0.13$; $p=0.7216^*$) (**Фиг. 12**).



Фиг. 12. Статистически достоверни разлики на MMP-9 между ГI, ГII и ГIII при пациентите със ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в ng/ml.

9. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА Mg^{2+} ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.

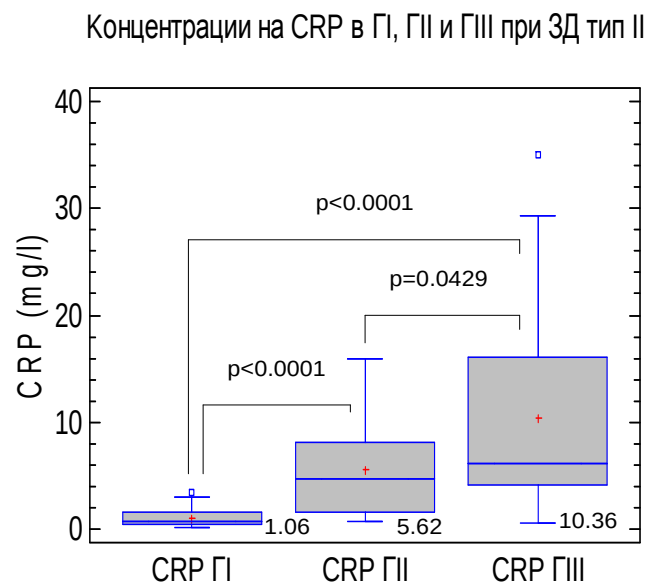
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на серумния Mg^{2+} в ГII 0.98 ± 0.2 ($0.53 \div 1.40$) mmol/l са сигнификантно повишени спрямо тези в GI 0.83 ± 0.1 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=4.85$; $p=0.0345$). Концентрациите на Mg^{2+} в ГIII 1.02 ± 0.3 ($0.32 \div 1.76$) mmol/l са сигнификантно повишени спрямо тези в GI 0.83 ± 0.1 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l, като също има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=5.57$; $p=0.0216$). Концентрациите на Mg^{2+} в ГII 0.98 ± 0.2 ($0.53 \div 1.40$) mmol/l и ГIII 1.02 ± 0.3 ($0.32 \div 1.76$) mmol/l са приблизително еднакви и липсва статистически достоверна разлика ($F=0.16$; $p=0.6887^*$) (**Фиг. 13**).



Фиг. 13. Статистически достоверни разлики на Mg^{2+} между GI, GII и GIII при пациентите със ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в mmol/l.

10. РЕЗУЛТАТИ ОТ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЛЕКА И ВИСОКОСТЕПЕННА АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЯ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП II.

Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на CRP в ГII 5.62 ± 4.4 ($0.69 \div 16.01$) mg/l са сигнификантно повишени (петкратно) спрямо тези в GI 1.06 ± 0.8 ($0.27 \div 3.44$) mg/l, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=23.34$; $p<0.0001$). Концентрациите на CRP в ГIII 10.36 ± 8.6 ($0.55 \div 34.99$) mg/l са сигнификантно повишени (десетократно) спрямо тези в GI 1.06 ± 0.8 ($0.27 \div 3.44$) mg/l, като също има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=26.43$; $p<0.0001$). Концентрациите на CRP в ГIII 10.36 ± 8.6 ($0.55 \div 34.99$) mg/l са сигнификантно повишени (двукратно) спрямо тези в ГII 5.62 ± 4.4 ($0.69 \div 16.01$) mg/l ($F=4.31$; $p=0.0429$) (**Фиг. 14**).

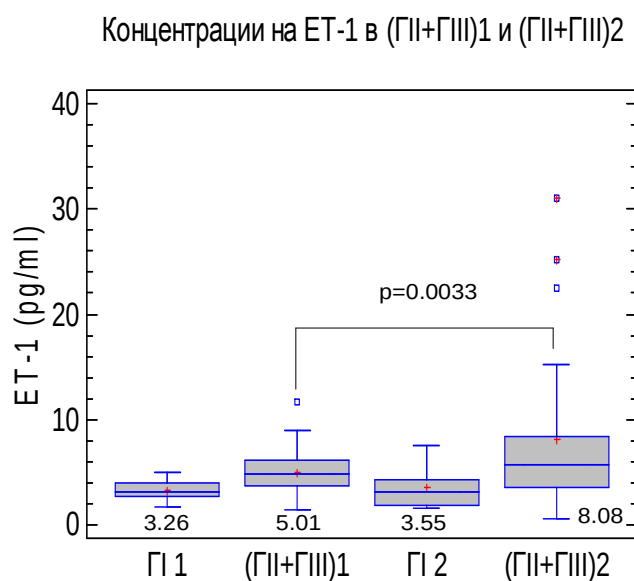


Фиг. 14. Статистически достоверни разлики на CRP между GI, ГII и ГIII при пациентите със ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в mg/l.

11. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ET-1 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.

11.1. Сравнение на концентрациите на ET-1 между общите хипертензивни групи при пациентите с есенциална АХ (ГII+ГIII)₁ и АХ със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂.

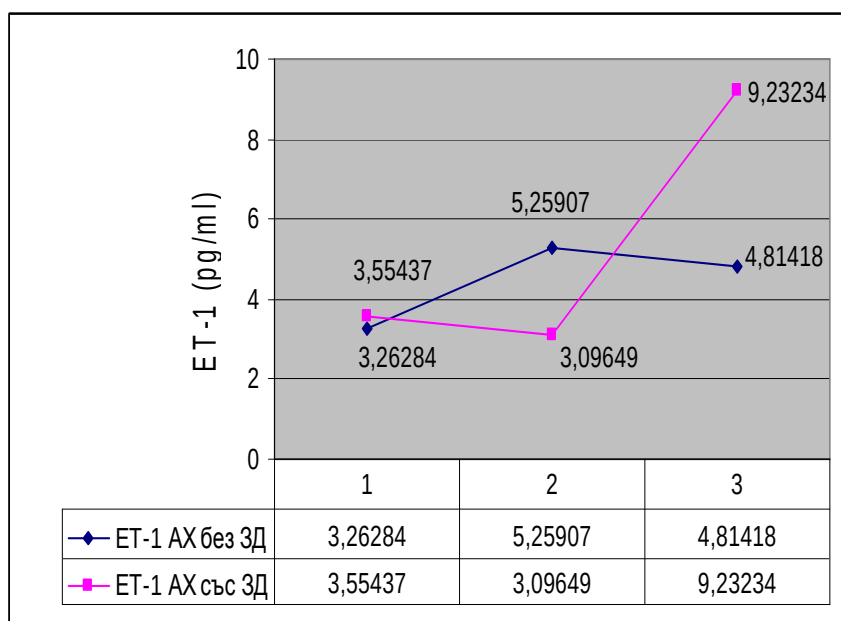
Концентрациите на ET-1 в ГI₁ 3.26 ± 1.0 ($1.72 \div 4.95$) pg/ml и ГI₂ 3.55 ± 1.7 ($1.63 \div 7.54$) pg/ml са много близки, което дава възможност за надеждно сравняване на (ГII+ГIII)₁ и (ГII+ГIII)₂. Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на ET-1 в (ГII+ГIII)₂ 8.08 ± 6.8 ($0.64 \div 30.99$) pg/ml са сигнификантно повишени спрямо тези в (ГII+ГIII)₁ 5.01 ± 2.1 ($1.48 \div 11.68$) pg/ml, като съществува статистически достоверна разлика между двете групи ($F=9.17$; $p=0.0033$) (**Фиг. 15**).



Фиг. 15. Статистически достоверна разлика на ET-1 между общата хипертензивна група при пациентите с есенциална АХ (ГII+ГIII)₁ и общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂ ($F=9.17$; $p=0.0033$). Данните са представени като средни стойности в pg/ml.

11.2. Сравнение на концентрациите на ЕТ-1 между групите с лека (ГII) и високостепенна (ГIII) АХ с и без ЗД тип II.

Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на ЕТ-1 в ГII при пациентите с АХ без ЗД 5.25 ± 2.4 ($1.81 \div 11.68$) pg/ml са статистически достоверно повишени в сравнение с тези на ГI 3.26 ± 1.0 ($1.72 \div 4.95$) pg/ml, докато при пациентите с АХ и ЗД тип II 3.09 ± 1.7 ($0.64 \div 5.34$) pg/ml те са много близки до тези на ГI 3.55 ± 1.7 ($1.63 \div 7.54$) pg/ml. Концентрациите на ЕТ-1 в ГIII при пациентите с АХ и ЗД тип II 9.23 ± 7.1 ($3.01 \div 30.99$) pg/ml са значително повишени в сравнение с тези при пациентите с АХ без ЗД 4.81 ± 1.8 ($1.48 \div 9.01$) pg/ml (**Фиг. 16**).

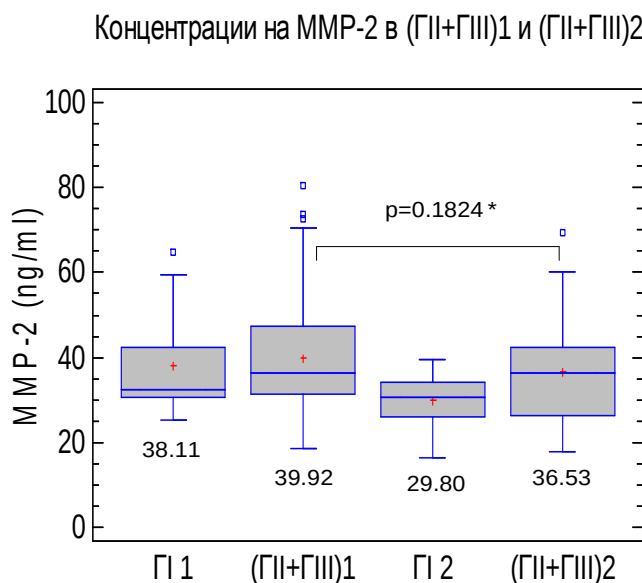


Фиг. 16. Сравнение на концентрациите на ЕТ-1 при пациентите с лека и високостепенна АХ с и без ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в pg/ml. Легенда: 1- ГI, 2- ГII, 3- ГIII.

12. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА MMP-2 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.

12.1. Сравнение на концентрациите на MMP-2 между общите хипертензивни групи при пациентите с есенциална АХ (ГII+ГIII)₁ и АХ със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂.

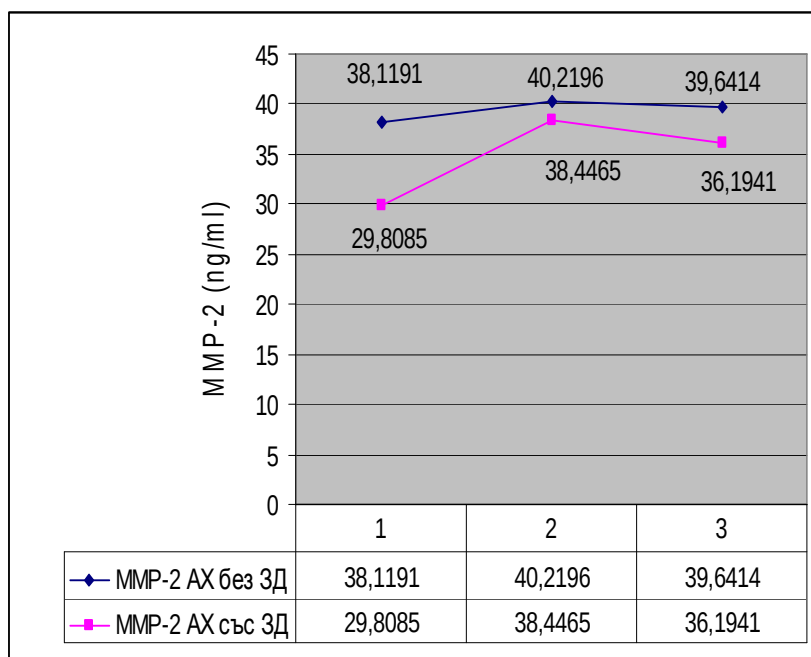
Концентрациите на MMP-2 в ГI₁ 38.11 ± 12.2 ($25.47 \div 64.69$) ng/ml и ГI₂ 29.80 ± 7.5 ($9.65 \div 39.59$) ng/ml се различават значително, което не дава възможност за добро сравняване на (ГII+ГIII)₁ и (ГII+ГIII)₂. Най-общо, резултатите от изследването показаха, че концентрациите MMP-2 в (ГII+ГIII)₁ 39.92 ± 15.6 ($0.49 \div 80.22$) ng/ml са леко повишени в сравнение с тези на (ГII+ГIII)₂ 36.53 ± 11.3 ($17.89 \div 69.38$) ng/ml, но няма статистически достоверна разлика между двете групи ($F=1.80$; $p=0.1824^*$) (**Фиг. 17**).



Фиг. 17. Концентрации на MMP-2 в общата хипертензивна група при пациентите с есенциална артериална хипертензия (ГII+ГIII)₁ и общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂. *Липсва статистически достоверна разлика между двете групи ($F=1.80$; $p=0.1824$). Данните са представени като средни стойности в ng/ml.

12.2. Сравнение на концентрациите на MMP-2 между групите с лека (ГII) и високостепенна (ГIII) АХ с и без ЗД тип II.

Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-2 в ГII при пациентите с АХ без ЗД 40.21 ± 16.7 ($18.65 \div 80.22$) ng/ml са незначително повишени в сравнение с тези на ГI 38.11 ± 12.2 ($25.47 \div 64.69$) ng/ml, докато при пациентите с АХ и ЗД тип II 38.44 ± 11.4 ($19.05 \div 58.10$) ng/ml, те са статистически достоверно повишени в сравнение с тези на ГI 29.80 ± 7.5 ($9.65 \div 39.59$) ng/ml. Концентрациите на MMP-2 в ГIII при пациентите с АХ без ЗД 39.64 ± 14.6 ($0.49 \div 73.67$) ng/ml, както и тези при АХ със ЗД тип II 36.19 ± 11.1 ($20.66 \div 69.38$) ng/ml, не се променят съществено в сравнение с тези на ГII (**Фиг. 18**).

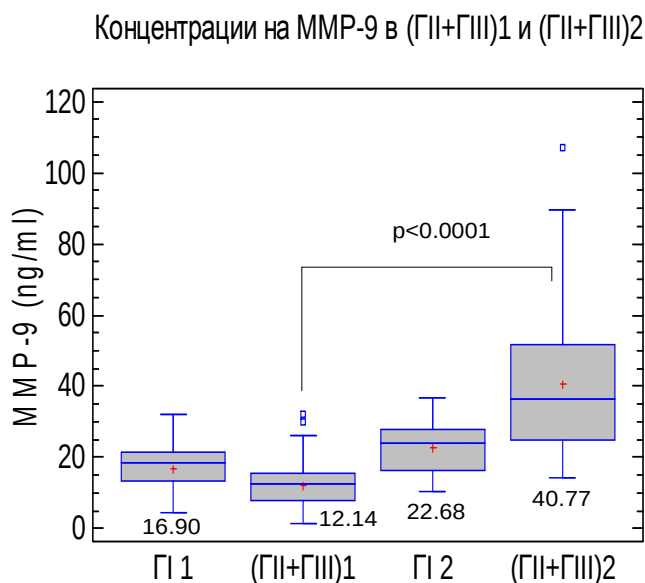


Фиг. 18. Сравнение на концентрациите на MMP-2 при лека и високостепенна АХ при пациентите с и без ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в ng/ml. Легенда: 1- ГI, 2- ГII, 3- ГIII.

13. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА MMP-9 ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.

13.1. Сравнение на концентрациите на MMP-9 между общите хипертензивни групи при пациентите с есенциална АХ (ГII+ГIII)₁ и АХ със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂.

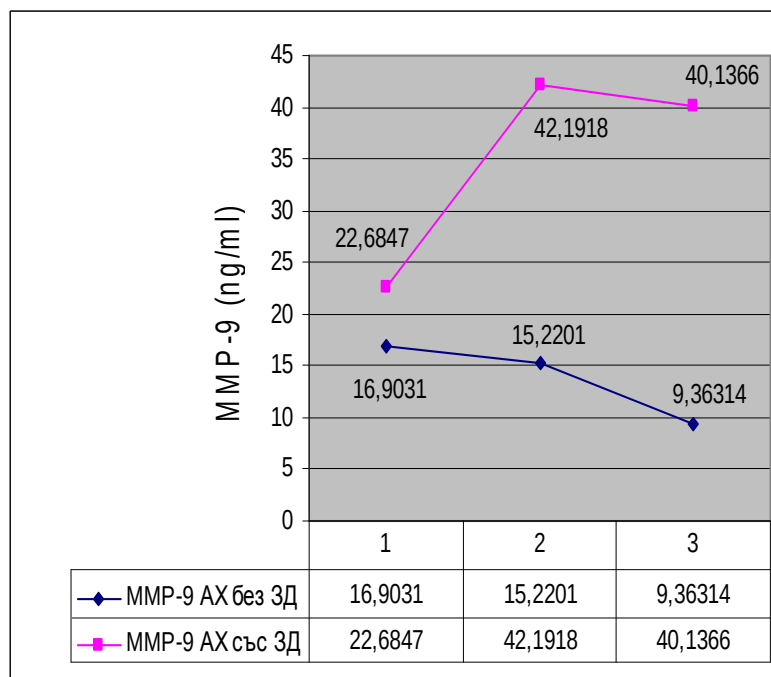
Концентрациите на MMP-9 в ГI₁ 16.90 ± 8.0 ($4.58 \div 32.25$) ng/ml и ГI₂ 22.68 ± 8.0 ($10.18 \div 36.64$) ng/ml се различават значително, което не дава възможност за добро сравняване на (ГII+ГIII)₁ и (ГII+ГIII)₂. Най-общо, резултатите от изследването показваха, че концентрациите MMP-9 в (ГII+ГIII)₂ 40.77 ± 19.5 ($14.02 \div 107.13$) ng/ml са сигнификантно повишени в сравнение с тези на (ГII+ГIII)₁ 12.14 ± 6.7 ($1.44 \div 32.19$) ng/ml, като има много висока статистически достоверна разлика между двете групи ($F=112.64$; $p<0.0001$) (**Фиг. 19**).



Фиг. 19. Статистически достоверна разлика на MMP-9 между общата хипертензивна група при пациентите с есенциална артериална хипертензия (ГII+ГIII)₁ и общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂. ($F=112.64$; $p<0.0001$). Данните са представени като средни стойности в ng/ml.

13.2. Сравнение на концентрациите на MMP-9 между групите с лека (ГII) и високостепенна (ГIII) АХ с и без ЗД тип II.

Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на MMP-9 в ГII при пациентите с АХ без ЗД 15.22 ± 6.6 ($3.46 \div 32.19$) ng/ml са понижени незначително в сравнение с тези на ГI 16.90 ± 8.0 ($4.58 \div 32.25$) ng/ml, докато при пациентите с АХ и ЗД тип II 42.19 ± 23.1 ($15.82 \div 89.41$) ng/ml, те са повишени почти двойно в сравнение с тези на ГI 22.68 ± 8.0 ($10.18 \div 36.64$) ng/ml. Концентрациите на MMP-9 в ГIII при пациентите АХ без ЗД 9.36 ± 5.6 ($1.44 \div 20.98$) ng/ml са статистически достоверно понижени в сравнение с тези на ГII 15.22 ± 6.6 ($3.46 \div 32.19$) ng/ml, докато при АХ и ЗД тип II 40.13 ± 17.9 ($14.02 \div 107.13$) ng/ml те не се променят съществено в сравнение с тези на ГII 42.19 ± 23.1 ($15.82 \div 89.41$) ng/ml (**Фиг. 20**).

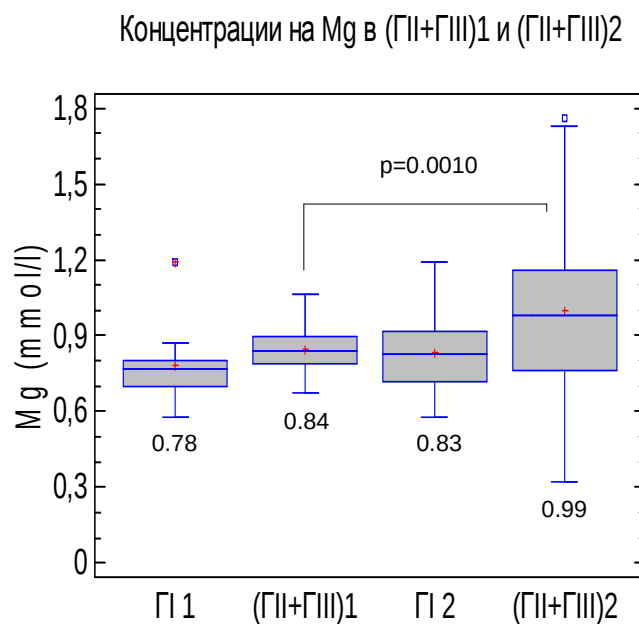


Фиг. 20. Сравнение на концентрациите на MMP-9 при лека и високостепенна АХ при пациентите с и без ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в ng/ml. Легенда: 1- ГI, 2- ГII, 3- ГIII.

14. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА СЕРУМНИЯТ Mg^{2+} ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.

14.1. Сравнение на концентрациите на Mg^{2+} между общите хипертензивни групи при пациентите с есенциална АХ $(\text{ГII}+\text{ГIII})_1$ и АХ със ЗД тип II $(\text{ГII}+\text{ГIII})_2$.

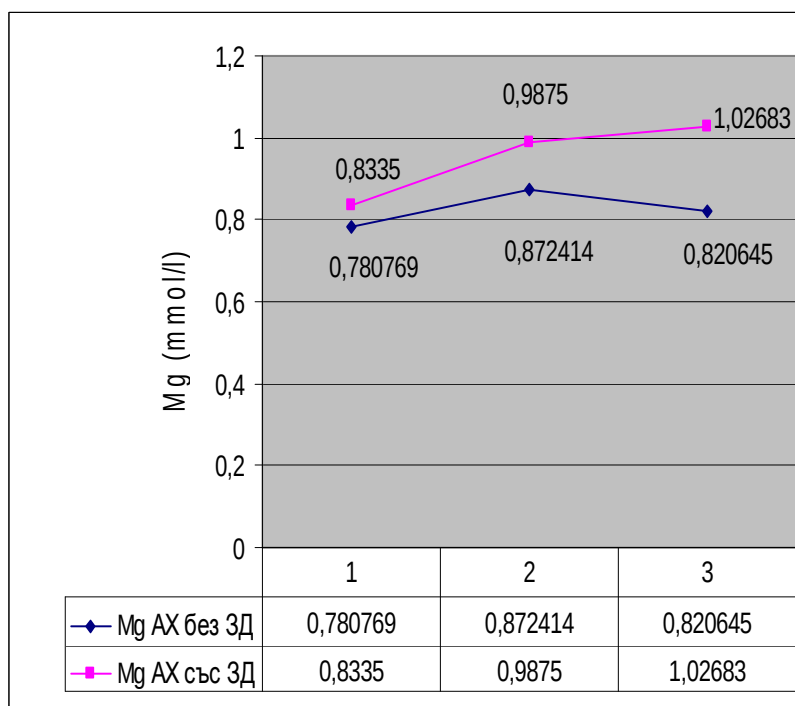
Резултатите от изследването показаха, че концентрациите на серумния Mg^{2+} в $(\text{ГII}+\text{ГIII})_2$ 0.99 ± 0.3 ($0.32 \div 1.76$) mmol/l са сигнификантно повишени в сравнение с тези на $(\text{ГII}+\text{ГIII})_1$ 0.84 ± 0.08 ($0.67 \div 1.06$) mmol/l, като има статистически достоверна разлика между двете групи ($F=11.35$; $p=0.0010$) (**Фиг. 21**).



Фиг. 21. Статистически достоверна разлика на Mg^{2+} между общата хипертензивна група при пациентите с есенциална артериална хипертензия $(\text{ГII}+\text{ГIII})_1$ и общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II $(\text{ГII}+\text{ГIII})_2$. ($F=11.35$; $p=0.0010$). Данните са представени като средни стойности в mmol/l.

14.2. Сравнение на концентрациите на Mg^{2+} между групите с лека (ГII) и високостепенна (ГIII) АХ с и без ЗД тип II.

Резултатите от изследването на серумния Mg^{2+} показаха, че в ГII при пациентите с АХ без ЗД 0.87 ± 0.08 ($0.69 \div 1.06$) mmol/l, концентрациите са достоверно повишени спрямо тези в ГI 0.78 ± 0.14 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l. Подобни резултати имаше и при АХ със ЗД тип II, където концентрациите в ГII 0.98 ± 0.2 ($0.53 \div 1.40$) mmol/l също бяха достоверно повишени спрямо тези в ГI 0.83 ± 0.1 ($0.58 \div 1.19$) mmol/l. Концентрациите на Mg^{2+} в ГIII при пациентите с АХ без ЗД 0.82 ± 0.07 ($0.67 \div 0.98$) mmol/l са достоверно понижени спрямо тези в ГII 0.87 ± 0.08 ($0.69 \div 1.06$) mmol/l, докато в ГIII при АХ със ЗД тип II 1.02 ± 0.3 ($0.32 \div 1.76$) mmol/l, те са леко повишени в сравнение с тези на ГII 0.98 ± 0.2 ($0.53 \div 1.40$) mmol/l (**Фиг. 22**).

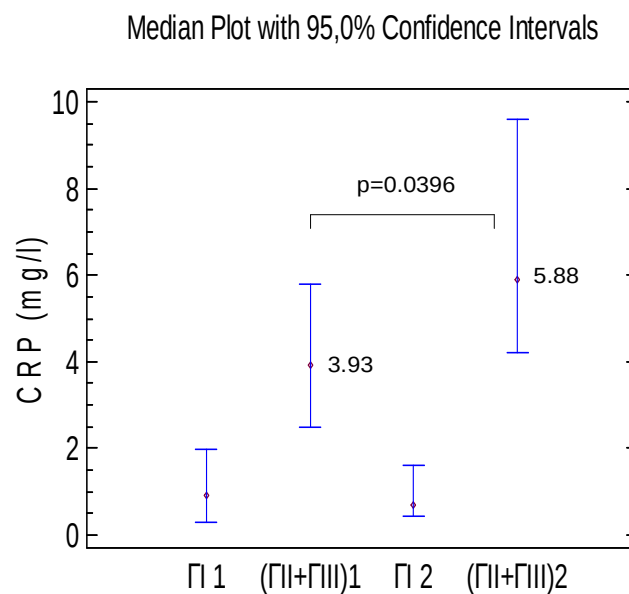


Фиг. 22. Сравнение на концентрациите на Mg^{2+} при лека и високостепенна АХ при пациентите с и без ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в mmol/l. Легенда: 1- ГI, 2- ГII, 3- ГIII.

15. СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА СЕРУМНИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА CRP ПРИ ПАЦИЕНТИТЕ С ЕСЕНЦИАЛНА АХ И АХ СЪЧЕТАНА СЪС ЗД ТИП II.

15.1. Сравнение на концентрациите на CRP между общите хипертензивни групи при пациентите с есенциална АХ (ГII+ГIII)₁ и АХ със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂.

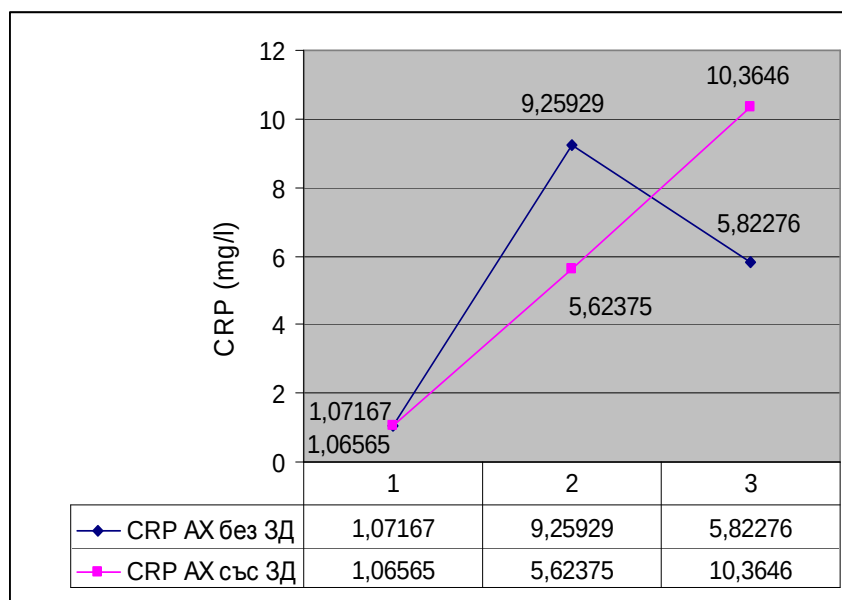
Резултатите от изследването показаха, че медианата на концентрациите на CRP в (ГII+ГIII)₂ 5.88 mg/l е статистически достоверно по-висока в сравнение с тази на (ГII+ГIII)₁ 3.93 mg/l (KW; $p=0.0396$) (**Фиг. 23**).



Фиг. 23. Статистически достоверна разлика между медианите на CRP в общата хипертензивна група при пациентите с есенциална артериална хипертензия (ГII+ГIII)₁ и общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II (ГII+ГIII)₂ (KW; $p=0.0396$). Данните са представени в mg/l.

15.2. Сравнение на концентрациите на CRP между групите с лека (ГII) и високостепенна (ГIII) АХ с и без ЗД тип II.

Резултатите от изследването на CRP показаха, че в ГII при пациентите с АХ без ЗД 9.25 ± 11.2 ($0.55 \div 44.72$) mg/l, концентрациите са достоверно повишени (9 пъти) спрямо тези в ГI 1.07 ± 0.9 ($0.25 \div 3.46$) mg/l. Подобни резултати имаше и при АХ със ЗД тип II, където концентрациите в ГII 5.62 ± 4.4 ($0.69 \div 16.01$) mg/l също бяха достоверно повишени (5 пъти) спрямо тези в ГI 1.06 ± 0.8 ($0.27 \div 3.44$) mg/l. Концентрациите на CRP в ГIII при пациентите с АХ без ЗД 5.82 ± 7.5 ($0.31 \div 32.34$) mg/l са понижени (около 2 пъти) спрямо тези в ГII 9.25 ± 11.2 ($0.55 \div 44.72$) mg/l, докато в ГIII при АХ със ЗД тип II 10.36 ± 8.6 ($0.55 \div 34.99$) mg/l те са достоверно повишени (2 пъти) спрямо тези в ГII 5.62 ± 4.4 ($0.69 \div 16.01$) mg/l. Вижда се, че концентрациите на CRP в ГII и ГIII при АХ с и без ЗД тип II показват приблизително еднакви, но реципрочни стойности. Прави също впечатление, че концентрациите на CRP при пациентите със ЗД тип II се повишават пропорционално с нарастване степента на хипертензията: ГI (1.06 mg/l) < ГII (5.62 mg/l) < ГIII (10.36 mg/l) (**Фиг. 24**).

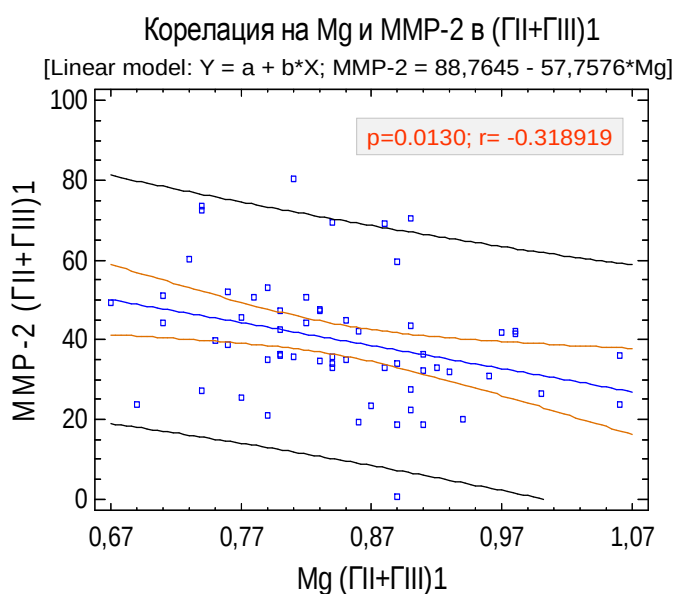


Фиг. 24. Сравнение на концентрациите на CRP при лека и високостепенна АХ при пациентите с и без ЗД тип II. Данните са представени като средни стойности в mg/l. Легенда: 1- ГI, 2- ГII, 3- ГIII.

16. НАМЕРЕНИ КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ.

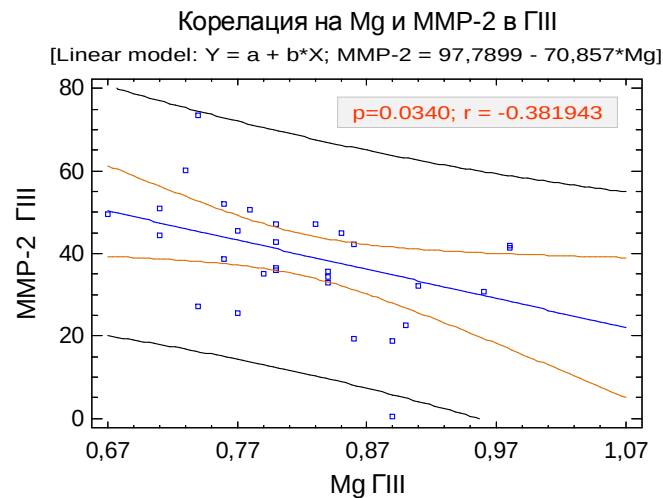
16.1. Корелации при пациентите с есенциална АХ.

Резултатите от регресионния анализ показват, че в общата хипертензивна група $(\text{ГII}+\text{ГIII})_1$ при пациентите с есенциална АХ, съществува умерена отрицателна корелационна зависимост между концентрациите на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-2 ($p=0.0130$; $r=-0.318919$) (**Фиг. 25**).



Фиг. 25. Отрицателна корелационна зависимост между серумния Mg^{2+} и MMP-2 в общата хипертензивна група при пациентите с есенциална АХ $(\text{ГII}+\text{ГIII})_1$ ($p=0.0130$; $r= -0.318919$).

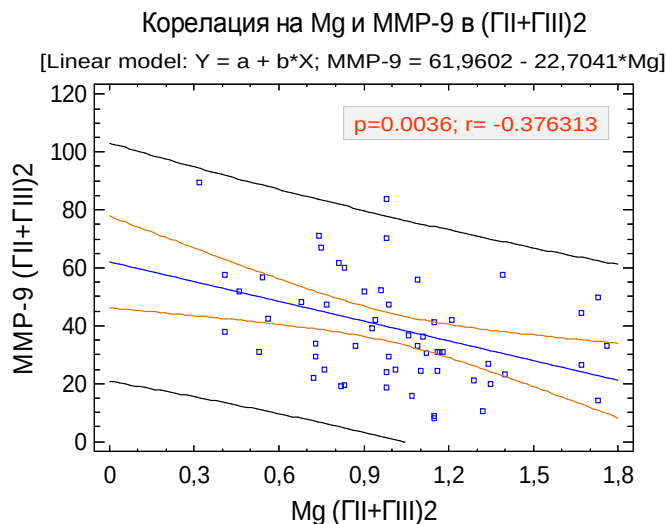
Съществува и умерена отрицателна корелационна зависимост между концентрациите на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-2 в ГIII при пациентите с есенциална АХ ($p=0.0340$; $r= -0.381943$) (**Фиг. 26**).



Фиг. 26. Отрицателна корелационна зависимост между серумния Mg^{2+} и MMP-2 в ГIII при пациентите с есенциална АХ ($p=0.0340$; $r= -0.381943$).

16.2. Корелации при пациентите с АХ и ЗД тип II.

Намерена беше също умерена отрицателна корелация между концентрациите на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-9 в общата хипертензивна група $(\text{ГII}+\text{ГIII})_2$ при пациентите със ЗД тип II ($p=0.0036$; $r= -0.376313$) (**Фиг. 27**).



Фиг. 27. Отрицателна корелационна зависимост между серумния Mg^{2+} и MMP-9 в общата хипертензивна група при пациентите със ЗД тип II $(\text{ГII}+\text{ГIII})_2$ ($p=0.0036$; $r= -0.376313$).

ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Ролята на ET-1 при човешката хипертензия е установена чрез измерване на серумните и плазмените му нива. Въпреки, че някои проучвания демонстрират увеличение на ET-1 при хипертензивни пациенти (**Oishi S.** и съавт., 1994; **Januszewicz A.** и съавт., 1997; **Letizia C.** и съавт., 1997a,b; **Cardillo C.** и съавт., 1999), други не показват разлики в нивата на ET-1 между пациенти с АХ и нормотензивни лица (**Sudo N.** и съавт., 1993; **Hoffman A.** и съавт., 1994; **Letizia C.** и съавт., 1995). Резултатите от нашето проучване потвърждават тезата, че нивата на ET-1 при лека (ГII) и високостепенна есенциална АХ (ГIII), са повишени в сравнение с тези на контролната група (ГI). Данните сочат, че концентрациите на ET-1 в ГII са по-високи от тези в ГIII, което разкрива важната патогенетична роля на ET-1 в началните стадии (леката степен) на АХ преди да са настъпили процесите на стабилно съдово ремоделиране (**Фиг. 5**). Може да се каже, че при есенциалната АХ, повишените нива на ET-1 дават „началния тласък“ за развитието на хипертензията. Едно от първите сравнения на концентрациите на ET-1 при хора с АХ е направено между пациенти с феохромоцитом, с есенциална АХ и здрави контролни индивиди. Значително по-високи нива на ET-1 са наблюдавани при тези с феохромоцитом в сравнение с другите две групи, както и сред тези с есенциална АХ в сравнение с контролите. Тези констатации поддържат хипотезата за ролята на ET-1 в развитието на клиничната хипертензия (**Oishi S.** и съавт., 1994). В подкрепа на тази данни са и докладваните случаи при пациенти с хемангиоендотелиома, които имат значително повишени нива на ET-1 и изявена АХ. Повишените нивата на ET-1 и на АН при тези пациенти се нормализират след оперативното отстраняване на тумора (**Yokokawa K.** и съавт., 1991). Устойчива хипертензия с повишени нива на ET-1 се наблюдава по-често и при пациенти от афро-американски произход или такива със затлъстяване, при които е повишен риска за развитие на сърдечно-съдови и бъбречни заболявания (**Ergul S.** и съавт., 1996; **Parrinello G.** и съавт., 1996; **Ergul A.**, 2000). В подкрепа на ролята на ET-1 за възникването на хипертензивния

процес са и данните при пациенти с есенциална АХ или резистентна хипертензия, които показват, че при лечение с неселективния ЕТ-рецепторен антагонист бозентан (**Krum H.** и съавт., 1998) или със селективния ЕТА-рецепторен антагонист дарусентан, съществено се понижава АН (**Roumen N.** и съавт., 2002; **Black H.** и съавт., 2007). Други автори докладват, че нивата на ЕТ-1 са нормални при пациенти с есенциална АХ, но изтъкват, че локалните нива на ЕТ-1 в съдовата стена са повишени (**Barton M.** и съавт., 1997; **Schiffrin E.**, 2001). Разнопосочните изводи по отношение концентрациите на ЕТ-1 не са изненадващи, тъй като елиминирането му от кръвта настъпва бързо. Също така секрецията на ЕТ-1 от ендотелните клетки е силно поляризирана към СГМК, което води до минимално увеличение в циркулиращите му нива (**Hynynen M.** и съавт., 2006). От друга страна, резултатите най-вероятно се повлияват и от допълнителни фактори, като специфичност на антителата използвани при имунологичния анализ, наличието на диабет (**Letizia C.** и съавт., 1997b), затлъстяване (**Ferri C.** и съавт., 1995), съдови увреди (**Schneider M.** и съавт., 2007) и расата (**Ergul S.** и съавт., 1996; **Evans R.** и съавт., 1996; **Treiber F.** и съавт., 2000). Нашите резултати при пациентите със ЗД тип II показват, че има статистически достоверни разлики на ЕТ-1 между ГIII в сравнение с ГI, както и на ГII в сравнение с ГIII (**Фиг. 10**). Нивата на ГII са много близки до тези на ГI, докато тези на ГIII са значително повишени, от което може да се направи заключението, че ЕТ-1 играе важна роля за развитието на високостепенната АХ при пациентите със ЗД тип II. Това вероятно се дължи на засиленото му вазоконстрикторно, прооксидативно и проинфламаторно действие, обусловено от метаболитните съдови промени. Интерес представлява патофизиологичната роля на ЕТ-1 в инициирането на хипертензивния процес. ЕТ-1 е пряко свързан с патогенезата на АХ чрез нискостепенното системно и съдово възпаление (**Böhm F.** и съавт., 2007; **Pernow J.** и съавт., 2012), както и чрез оксидативния стрес на съдовата стена (**Skalska A.** и съавт., 2009; **Romero M.** и съавт., 2010; **Piechota A.** и съавт., 2010). Нискостепенното възпаление локализирано в съдовата тъкан е важен фактор в патофизиологията на хипертензията (**Savoia C.** и съавт., 2011). ЕТ-1 може да активира макрофагите, в резултат на което се освобождават проинфламаторни и хемотаксични медиатори,

като TNF- α , IL-1, IL-6 и IL-8 (**Ruetten H.** и съавт., 1997; **Hofman F.** и съавт., 1998; **Browatzki M.** и съавт., 2000). Свърхекспресията на ET-1 се свързва с възпалителен отговор, включващ повишена активация на провъзпалителния транскрипционен фактор NF- κ B и експресията на редица провъзпалителни цитокини, като TNF- α , IL-1 и IL-6 (**Yang L.** и съавт., 2004). На свой ред този транскрипционен фактор и провъзпалителните цитокини TNF- α и IL-6, могат да стимулират производството на ET-1 (**Virdis A.** и съавт., 2003), а той от своя страна може да повиши АН (**Vierhapper H.** и съавт., 1990; **Schneider M.** и съавт., 2000; **Letizia C.** и съавт., 2001). Връзката между оксидативния стрес на съдовата стена и развитието на АХ е демонстрирана в много експериментални модели, както и при човешка хипертензия (**Vaziri N.**, 2004; **Peterson J.** и съавт., 2006; **Harrison D.** и съавт., 2009; **Briones A.** и съавт., 2010). ROS се произвеждат във всички слоеве на съдовата стена и от всички видове съдови клетки - ендотелни, гладкомускулни и адвентициални. ROS се формират от различни ензимни системи, като NADPH оксидаза, ксантин оксидаза, разединена eNOS и др. (**Suzuki H.** и съавт., 1998; **Adlam D.** и съавт., 2007; **Victor V.** и съавт., 2009). Различни доклади подкрепят ролята на ET-1 в образуването на ROS, както и връзката му с оксидативния стрес и ендотелната дисфункция при хора. ET-1 стимулира производството ROS в човешки ендотелни и съдови гладкомускулни клетъчни култури (**Dong F.** и съавт., 2005; **Duerrschmidt N.** и съавт., 2000), както и в изолирани съдове (**Galle J.** и съавт., 2000; **Loomis E.** и съавт., 2005; **Lopez-Sepulveda R.** и съавт., 2011). Предполага се, че основният механизъм за засилената продукция на ROS при АХ е повишената експресия на съдовата NADPH оксидаза. ET-1 увеличава експресията на NOX2, която е скоростноопределяща субединица на NADPH оксидазата (**Mohazzab K.** и съавт., 1994). Стимулиращият ефект на ET-1 върху производството на ROS може също да бъде свързан с NADPH оксидазната субединица p22phox (**Kamata K.** и съавт., 2004; **Kanie N.** и съавт., 2002). ET-1 повишава също експресията и активността на p47phox субединицата, което е доказано в аортата на плъхове (**Romero M.** и съавт., 2010). Повишената продукция на ROS в съдовата стена от своя страна води до активирането на NF- κ B. Стимулира се синтезата на

проинфламаторни цитокини, хемокини и адхезионни молекули, което е свързано с развитието на възпалителен съдов отговор (**Camici G.** и съавт., 2009). По този начин възпалението и оксидативния стрес формират един порочен патогенетичен кръг, в който активно участие взема ET-1. Ендотелинът е мощен вазоконстрикторен пептид с разнообразни функции. Допълнително той може да регулира АН чрез повлияване на бъбречната хемодинамика (**Pernow J.** и съавт., 1989), тубулната реабсорбция на вода и електролити (**Schnermann J.** и съавт., 1992), както и секрецията на ренин (**Otsuka A.** и съавт., 1989). ET-1 повлиява натриевата и водната хомеостаза, като регулира алдостероновата продукция (**Imai T.** и съавт., 1992), секрецията на атриален натриуретичен пептид (**Fukuda Y.** и съавт., 1988), мозъчен натриуретичен пептид (**Horio T.** и съавт., 1993) и вазопресин (**Matsumura K.** и съавт., 1991). ET-1 има положителен инотропен ефект (**Takanashi M.** и съавт., 1991) и може да регулира надбъбречната катехоламинава секреция (**Boarder M.** и съавт., 1989). ET-1 регулира системната хемодинамика чрез повлияването на сърдечно-съдовия център (**Takahashi K.** и съавт., 1991), както и дейността на барорецепторите в аортната дъга и каротидните синуси (**Itoh S.** и съавт., 1991). Всички тези ефекти на ET-1 в условията на повишената му продукция могат да доведат до трайно покачване на АН и възникване на АХ. При пациентите със ЗД тип II, заболяването често се съчетава с АХ, която води до по-тежки усложнения на диабета. ET-1, който е мощен вазоконстриктор с пролиферативни, профибротични и проинфламаторни свойства, може да допринесе за много аспекти на диабетната съдова болест (**Kalani M.**, 2008). Според редица проучвания, циркулиращите и локалните нива на ET-1 са повишени при животински модели и пациенти с диабет (**Matsumoto T.** и съавт., 2014). Сравнителният анализ на концентрациите на ET-1 при пациентите с есенциална АХ и тези с АХ съчетана със ЗД тип II в нашето проучване показват, че концентрациите на ET-1 при ЗД тип II са статистически достоверно повишени (**Фиг. 15, 16**). На това вероятно се дължи и увеличената вазоконстрикторна активност на ET-1 при пациентите със ЗД тип II (**Böhm F.** и съавт., 2007). Експресията на ET-1 и неговите рецептори се променят значително с прогресията на заболяването, което повишава биологичната роля на ендотелиновата система

при пациентите със ЗД (**Pernow J.** и съавт., 2012). Високите нива на ET-1 могат да допринесат и за потискане синтезата на NO от ендотела (**Ergul A.**, 2011). Едно общо наблюдение, направено в почти всички проучвания изследващи ендотелин рецепторната блокада и съдовата функция при животински модели с хипертензия, хиперхолестеролемия или атеросклероза е, че продължителното лечение с ETA рецепторни антагонисти се свързва с подобрена ендотел-зависима, NO-медирана вазодилатация (**Barton M.**, 2000). Подобрието на NO-зависимата вазодилатация може да бъде блокирано от приложението на ETB антагонисти (**Verhaar M.** и съавт., 1998). Ендотелната дисфункция играе важна роля в генезата на диабетната микро- и макроангиопатия. При пациенти със ЗД тип II е била намерена положителна корелация между плазмените нива на ET-1 и микроангиопатията (**Ergul A.**, 2011). Има също данни, че експресията на ET-1 е увеличена и в атеросклеротични плаки на човешки артерии (**Lerman A.** и съавт., 1991). Това показва, че ET-1 е причинно замесен в развитието на атеросклерозата. Инхибирането на продукцията му може от своя страна да потисне образуването на атеросклеротичните плаки, което е доказано в животински модели (**Barton M.** и съавт., 1998; **Barton M.**, 2000; **Schiffrin E.**, 2002; **Tepe G.** и съавт., 2002). Освен това, ET-1 е свързан с намаляване на инсулиновата чувствителност и може да участва в патогенезата на метаболитния синдром. ET-1 може да допринесе за развитието на ендотелната дисфункция и инсулиновата резистентност, чрез увеличаване на производството на ROS, главно на супероксиден анион, като активира NADPH-оксидазната експресия и активност (**Ergul A.**, 2011). ET-1 и ETA рецепторите променят съдовата структура при ЗД тип II. Блокадата на ETA намалява тези ефекти. Гликемичният контрол предотвратява съдовото ремоделиране чрез понижаваща регулация на ET-1/ETA рецепторната медиация (**Sachidanandam K.** и съавт., 2009). ET-1 инхибира инсулин-медираното усвояване на глюкозата през плазмената мембрана. Той уврежда инсулин зависимия глюкозен транспортер GLUT 4 в адипоцитите и намалява инозитол-3-фосфат киназната активност. Освен това ET-1 намалява периферната утилизация на глюкозата и чувствителността към инсулин при здрави доброволци. От друга страна, блокадата на ETA рецептора потенцира

усвояването на глюкозата. Тези наблюдения показват, че ендогенният ET-1 играе роля в регулирането на глюкозното усвояване в инсулинзависимите тъкани (**Shemyakin A.** и съавт., 2011). Експериментални данни сочат, че блокадата на ET-1 сигнализацията подобрява вазодилатацията при диабет и намалява инсулиновата резистентност (**Matsumoto T.** и съавт., 2014). Schneider и съавтори съобщават, че плазмените концентрации ET-1 са били значително по-високи при пациенти със 3Д тип I, 3Д тип II и хипертензия в сравнение с контролите (**Schneider J.** и съавт., 2002). Значими корелации се наблюдават също между плазмените нива на ET-1 и диабетните усложнения. Нивата на ET-1 са по-високи при пациенти с микроалбуминурия, повишени стойности на гликиран хемоглобин и ретинопатия (**Kalani M.**, 2008). При диабетно болни с АХ и нефропатия е доказано, че нивата на ET-1 са по-високи отколкото при пациенти със 3Д без тези усложнения (**Singh U.** и съавт., 2011).

Повишеното АН е един от най-важните фактори свързани със значително сърдечно-съдово remodelиране. Поради тази причина, редица изследвания анализират връзката между MMPs и техните инхибитори при АХ. Според литературните данни, най-проучвани в това отношение са MMP-2 и MMP-9. Това се дължи основно на широкото разпространение на двата ензима в почти всички тъкани в сравнение с останалите класове MMPs (**Kugler A.**, 1998). MMP-2 и MMP-9 се синтезират и секретират предимно от моноцит-произхождащи макрофаги и ендотелни клетки (**Falk E.** и съавт., 1995). Някои обобщени клинични проучвания сочат, че MMP-2 и MMP-9 могат да се използват като биомаркери на сърдечно-съдовия риск при АХ (**Marchesi C.** и съавт., 2012). Според едно обзорно проучване на Fontana и съавтори (**Fontana V.** и съавт., 2012), нивата на MMP-2 и MMP-9 при АХ могат да бъдат повишени (**Tayebjee M.** и съавт., 2004; **Wallace S.** и съавт., 2005; **Derosa G.** и съавт., 2006), понижени (**Intengan H.** и съавт., 1999; **Li-Saw-Hee F.** и съавт., 2000; **Zervoudaki A.** и съавт., 2003) или непроменени. Трудността при намиране на точни корелации между активността/нивата на MMPs и АХ може да зависи до голяма степен от пациентите, които се оценяват, от вида на медикаментите, които се използват (**Schieffer B.** и съавт., 2004), от вида на MMPs, които се изследват (**Lemarie C.**

и съавт., 2010), от наличието на съпътстващи заболявания и усложнения. В нашето проучване ние изследвахме и други два фактора, които могат да повлияят нивата на MMP-2 и MMP-9, а именно стадия и формата на АХ. При леката и високостепенната есенциална АХ данните показват, че с нарастване степента на хипертензията нивата на MMP-9 се понижават, като в ГIII това снижение е почти двойно в сравнение с ГI. В ГII средните стойности на MMP-9 са близки до тези на ГI и между тях не съществува статистически достоверна разлика. Съществува обаче достоверна разлика между ГII и ГIII, което е индиректен показател, че тоталната активност на MMP-9 при високостепенната есенциална АХ е понижена (**Фиг. 7**). Подобни на нашите резултати съобщават Zervoudaki и съавтори, които са наблюдавали значително понижение на плазмените концентрации на MMP-9 при пациенти с есенциална АХ в сравнение с нормотензивни лица (**Zervoudaki A.** и съавт., 2003). Li-Saw-Hee и съавтори също съобщават, че протеолитичната активност на MMP-9 и TIMP-1 са потиснати при хипертензивни пациенти (**Li-Saw-Hee F.** и съавт., 2000). Субстратната специфичност на MMP-2, MMP-9 и особено способността им да разграждат колагени от тип IV и V, предполага тяхната важна роля в метаболизма на съдовата базална мембрана. Нашите данни показват, че по-ниските серумни концентрации на MMP-9 при пациентите с лека и високостепенна есенциална АХ, предполагат нейната възможна роля в механизмите на съдовото ремоделиране при заболяването. Въз основа на тези резултати може да се направи заключението, че нивата на MMP-9 при есенциална АХ намаляват с нарастване степента на хипертензията в следния порядък: ГI>ГII>>ГIII. Намалената активност на MMP-9 е свързана с натрупване на екстрацелуларен матрикс в резистивните артерии, което допринася за прогресията на хипертензията (**Dhingra R.** и съавт., 2009). Противоречиви резултати са показали също и циркулиращите нива на MMP-2 при пациентите с АХ. Според различни проучвания те могат да бъдат повишени (**Derosa G.** и съавт., 2006), непроменени (**Martinez M.** и съавт., 2006; **Ahmed S.** и съавт., 2006; **Dhingra R.** и съавт., 2009) или понижени (**Zervoudaki A.** и съавт., 2003). Нашите данни показват, че нивата на MMP-2 в ГII и ГIII са много близки до тези на ГI, по което може да се съди, че MMP-2

не се променя значително и не е пряко свързана със съдовото ремоделиране при есенциалната АХ (**Фиг. 6**). В други изследвания, направени при пациенти с изолирана систолна хипертензия, са намерени синхронно повишени нива на MMP-2 и MMP-9, като тези на MMP-9 са показали корелация с изявата на аортната ригидност (**Yasmin S.** и съавт., 2005). Видимото разминаване на данните за MMP-2 и MMP-9 при различните проучвания може да се обясни с факта, че балансът между синтез и разграждане на ЕЦМ при АХ се развива динамично във времето, както и, че MMPs се индуцират само за определен период след началото на хипертензивното състояние (**Flamant M.** и съавт., 2007). Повишените нива/активност на MMPs могат да предизвестят само началото на промените в протеиновия ЕЦМ търновър, което впоследствие с течение на времето води и до повишена съдова ригидност (**Briones A.** и съавт., 2010).

В сравнение с общата популация, атеросклерозата при пациентите със ЗД се изявява по-рано, тя е по-тежка и има по-разпространен характер. MMP-2 и MMP-9 се синтезират и секретират локално от макрофагите и ендотелните клетки в атеросклеротичните лезии (**Falk E.** и съавт., 1995) и може да участват в дестабилизирането на атеросклеротичните плаки (**Galis Z.** и съавт., 1994). Освен това, пациентите с диабет имат по-често инфаркт на миокарда, страдат от повтарящи се коронарни инциденти и са по-склонни към развитие на сърдечна недостатъчност. Причината за тази неблагоприятна прогноза може да бъде нарушения баланс между MMPs/TIMPs (**Portic-Dobos V.** и съавт., 2002). В някои проучвания е намерена връзка между високото съдържание на глюкоза в кръвта и дисрегулацията на системата MMPs/TIMPs (**Death A.** и съавт., 2003). Поради тази причина ние изследвахме MMP-2 и MMP-9 при пациенти с АХ и ЗД тип II. Резултатите от определянето на серумните концентрации на MMP-2 при лека и високостепенна АХ показват, че в ГII и ГIII те са статистически достоверно повишени в сравнение с тези на GI (**Фиг. 11**). Концентрациите на MMP-9 в ГII и ГIII са също достоверно повишени, почти двойно, в сравнение с тези на GI (**Фиг. 12**). От експерименталните данни може да се направи заключението, че ролята на MMP-2 и MMP-9 нараства при пациентите с АХ и ЗД тип II. Двете металлопротеинази са пряко свързани със

съдовите промени и съдовите усложнения при заболяването, като ролята на MMP-9 е доминираща. Не беше намерена статистически достоверна разлика на MMP-2 и MMP-9 в ГII и ГIII, което показва, че няма пряка връзка между техните концентрации и степените на хипертензията при пациентите със ЗД тип II (**Фиг. 11, 12**). Подобни на нашите резултати са докладвани от Derosa и съавтори, които намират, че нивата на MMP-2, MMP-9, TIMP-1 и TIMP-2 при пациенти със ЗД тип II са повишени в сравнение с тези на здрави индивиди (**Derosa G.** и съавт., 2007). Високото съдържание на глюкоза значително усилва експресията и активността на MMPs, което води до разстройване на баланса между синтез и разграждане на ЕЦМ (**Pugliese G.** и съавт., 1994). Данните от проучването на Cipollone и съавтори, също предоставят доказателства, че свръхекспресията на MMP-2 и MMP-9 в диабетни атеросклеротични плаки е свързана с повишена уязвимост на плаката, което води до по-висок риск за развитие на исхемични инциденти (**Cipollone F.** и съавт., 2003). Подобни резултати описват Signorelli и съавтори, които са наблюдавали значително по-високи концентрации на MMP-2 и MMP-9 в серума на пациенти със ЗД тип II и атеросклероза (**Signorelli S.** и съавт., 2005). Установено е също, че нарушения физиологичен баланс между MMPs/TIMPs, играе важна роля в развитието и прогресията на диабетната микроангиопатия. Повишена експресия на MMP-2 и MMP-9 например, е била потвърдена в ранния етап на диабетната ретинопатия (**Giebel S.** и съавт., 2005). Дори в някои проучвания се посочва, че по-високите серумни концентрации на MMP-9 при пациенти с диабет предвиждат до няколко години и появата на микроалбинурия, което може да бъде ранен прогностичен белег за развитието на диабетна нефропатия (**Ebihara I.** и съавт., 1998; **Zaoui P.** и съавт., 2008). Резултатите от сравнителния анализ на концентрациите на MMP-2 при пациентите с есенциална АХ и АХ съчетана със ЗД тип II в нашето проучване показват, че при есенциалната АХ, MMP-2 не е пряко свързана с ремоделирането на съдовата стена, докато при АХ и ЗД тип II ролята ѝ значително нараства (**Фиг. 17, 18**). Получените резултати за MMP-9 показват, че при пациентите с есенциална АХ концентрациите на MMP-9 са понижени, което вероятно е компенсаторен механизъм, поддържащ стабилността на съдовата стена в условията на хроничен

хемодинамичен стрес (**Фиг. 19, 20**). Подобни резултати съобщават Zervoudaki и съавтори, според които нивата на MMP-9 при есенциална АХ са понижени, като процеса е обратим и може да се коригира чрез антихипертензивна терапия (**Zervoudaki A.** и съавт., 2003). Вероятно след началното активиране на MMPs, действието им се контрабалансира от експресията на TIMPs и тяхната активност се потиска (**Jackson Z.** и съавт., 2002; **Flamant M.** и съавт., 2007; **Watts S.** и съавт., 2007). Понижената концентрация на MMP-9 при есенциалната АХ е свързана с понижение на тоталната активност на MMP-9, което води до натрупване на колаген в стената на резистивните артерии, намалената им еластичност и прогресия на хипертензията (**Dhingra R.** и съавт., 2009). Обратно, при пациентите с АХ и ЗД тип II, концентрациите на MMP-9 са повишени (**Фиг. 19, 20**), което показва, че MMP-9 играе важна роля за възникването на съдовите промени и усложнения при ЗД тип II (**Ebihara I.** и съавт., 1998; **Zaoui P.** и съавт., 2000; **Giebel S.** и съавт., 2005; **Signorelli S.** и съавт., 2005). Артериите реагират на промяната в хемодинамичното напрежение чрез ремоделиращи процеси в съдовата стена. На равнището на съдовите клетки механичните стимули задействат различни рецептори и се инициира вътреклетъчна сигнализация чрез каскадата на MAPK и пътя на TGF- α /NF- κ B. Последният играе важна роля в процеса на съдовата трансформация, както и за активирането на различни извънклетъчни протеази отговорни за реорганизацията на ЕЦМ. По този начин стената на съда нормализира силата си на опън чрез повишаване на съдовия комплайнс и така в краткосрочен план противодейства на повишеното АН. На този етап, MMPs са основни участници в деградацията на ЕЦМ. В дългосрочен план обаче, протеините на ЕЦМ се ресинтезират отново и се формират нови връзки между тях. Така се нарушават полезните ефекти от първоначалния ремоделиращ процес и в крайна сметка се повишава артериалната ригидност (**Lemarié C.** и съавт., 2010). Mg^{2+} , като кофактор на редица ензими, също участва в регулацията на колагеновата и еластиновата обмяна (**Cunha A.** и съавт., 2013) и по този начин повлиява структурата и динамичното преустройство на ЕЦМ. Колагенът и еластинът не са единствените ЕЦМ протеини засягащи съдовото ремоделиране при АХ. Отлагането на хондроитин сулфат, хепарин сулфат,

протеоглигани и фибронектин също може да допринесе за значителното уплътняване на ЕЦМ и повишената ригидност на съдовата стена (**Lakatta E.**, 2003; **Zieman S.** и съавт., 2005). Например, добавянето на малки количества фибронектин може да увеличи якостта на опън петкратно (**Long J.** и съавт., 2003) и обратно, липсата на фибрили-1 може да доведе до абнормно разпределение на еластина и да повиши артериалната ригидност (**Marque V.** и съавт., 2001).

Mg²⁺ участва в множество процеси регулиращи сърдечно-съдовата функция (**Jahnen-Dechent W.** и съавт., 2012; **Paravicini T.** и съавт., 2012). Серумните му нива се поддържат в границите на тесен референтен диапазон и малки промени в екстрацелуларната и интрацелуларната Mg²⁺ концентрация може да имат значителен ефект върху съдовия тонус, еластичност и растеж. Някои данни подкрепят ролята на Mg²⁺ в патофизиологията на есенциалната АХ (**Joffres M.** и съавт., 1987; **Jee S.** и съавт., 2002; **Hatzistavri L.** и съавт., 2009; **Cunha A.** и съавт., 2013). Нещо повече, изследователите съобщават, че са необходими по-високи дози на антихипертензивните медикаменти при пациенти с недостиг на Mg²⁺, отколкото при тези с нормални серумни концентрации (**Whang R.** и съавт., 1982). Резултатите от нашето изследване при пациентите с лека и високостепенна есенциална АХ показват, че концентрациите на серумния Mg²⁺ в ГII са статистически достоверно повишени в сравнение с тези на ГI. Те са по-високи и в ГIII в сравнение с ГI, но тук обаче липсва достоверна разлика. От друга страна, концентрациите на Mg²⁺ в ГIII са статистически достоверно понижени в сравнение с тези на ГII (**Фиг. 8**). Тези резултати показват, че серумните концентрации на Mg²⁺ са повишени при пациентите с лека и високостепенна есенциална АХ в сравнение с нормотензивните контроли. Поддържането на по-високи базални нива на серумния Mg²⁺ при пациентите с есенциална АХ, вероятно е свързано с ключовата роля на този макроелемент в редица патогенетични механизми на заболяването. За разлика от нашите данни, някои клинични проучвания показват дефицит на Mg²⁺ при пациенти с АХ (**Touyz R.** и съавт., 1992). Не всички изследователи обаче установяват ниски концентрации на серумния Mg²⁺ при хора с високо АН. Например, Hiraga и съавтори, не са били в състояние да дадат точно обяснение за наблюдаваните от

тях повишени концентрации на цитозолно-свободен Mg^{2+} при пациенти с есенциална АХ (**Hiraga H.** и съавт., 1998). Тези различия вероятно се дължат на факта, че пациентите с високо АН не представляват единна и хомогенна група. Очевидно е, че недостигът на Mg^{2+} не е наличен при всички пациенти с АХ. От друга страна, не всички хора с хипомагниезимия имат високо АН. Когато се интерпретират резултатите от проучванията, трябва да се има предвид също, че едва отскоро са въведени и са станали достъпни някои много специфични техники за изследване на Mg^{2+} , като селективни флуоресцентни Mg^{2+} сонди и Mg^{2+} -специфични йонселективни електроди. Това в известна степен може да обясни различията между по-старите и по-новите проучвания (**Geiger H.** и съавт., 2012). Понижението на Mg^{2+} концентрации в ГIII в сравнение с тези на ГII, както и регистрираната хипомагниезимия в някои проучвания, вероятно е в резултат на прекомерната Mg^{2+} екскреция вследствие на продължителната терапия с диуретици. В бъбречните тубулни клетки, инхибирането на NKCC2 ($Na^+-K^+-2Cl^-$) котранспортера от диуретика furosemide, води до намаляване на лумен-позитивния потенциал, който стои в основата на парацелуларния Mg^{2+} транспорт. Това води до прекомерна Mg^{2+} екскреция и до хипомагниезимия. Тиазидните диуретици „имитират“ ефекта на синдрома на Gitelman, чрез засилване на Na^+ екскреция, като инхибират Na^+-Cl^- -котранспортера (NCC). Известно е, че тези медикаменти повлияват Mg^{2+} баланс и могат да доведат до хипомагниезимия, което може да бъде обяснено с понижаваща регулация в експресията на TRPM6 Mg^{2+} канали в отговор на продължителна терапия (**De Baaij J.** и съавт., 2012). Резултатите от нашето изследване показват, че при пациентите с лека и високостепенна АХ със ЗД тип II, серумните концентрации на Mg^{2+} са по-високи при пациентите в ГII и ГIII в сравнение с ГI. Не беше намерена статистически достоверна разлика между ГII и ГIII, по което може да се съди, че няма пряка връзка между концентрациите на серумния Mg^{2+} и степените на хипертензията при ЗД тип II (**Фиг. 13**). АХ е част от комплекса на метаболитния синдром (**Geiger H.** и съавт., 2012). Наличието на MC е свързано с промени в Mg^{2+} метаболизъм (**Barbagallo M.** и съавт., 2007). Констатациите показват, че младите хора с висок прием Mg^{2+} са имали по-нисък риск от развитие на MC и, че този риск е бил

доза-зависим (**Geiger H.** и съавт., 2012). Corica и съавтори наскоро показаха, че пациенти със 3Д тип II, които имат високо рисков липиден профил, повишено АН или абдоминално затлъстяване имат по-ниски нива на Mg^{2+} в сравнение с пациенти без метаболитни рискови фактори. Guerrero-Romero пък намира връзка между серумните нива на Mg^{2+} , възпалението и оксидативния стрес, като рискови фактори за развитието на МС. Има също данни, че приемът на Mg^{2+} е обратно пропорционален на отделените компоненти на МС и нивата на инсулина на гладно, което предполага, че по-високия прием на Mg^{2+} може да има протективна роля срещу риска от развитие на МС (**Barbagallo M.** и съавт., 2007). Mg^{2+} играе много важна роля в развитието на 3Д тип II (**Chaudhary D.** и съавт., 2010). В редица епидемиологични проучвания е намерена обратнопропорционална връзка между приема на Mg^{2+} и риска от развитие на 3Д тип II (**Geiger H.** и съавт., 2012). Има все повече доказателства, които изтъкват клиничното значение на променения Mg^{2+} метаболизъм за възникването на периферната инсулинова резистентност. Връзката между инсулина и Mg^{2+} е двустранна. Инсулинът регулира Mg^{2+} хомеостаза, но от друга страна самият Mg^{2+} е основен фактор определящ инсулиновия и глюкозния метаболизъм. Mg^{2+} е необходим кофактор в над 300 ензимни реакции и по-конкретно такива свързани с процеси на фосфорилиране, и по принцип във всички реакции, които включват използването и трансфера на АТФ. Вътреклетъчният Mg^{2+} е основен кофактор на редица ензими от въглехидратния метаболизъм и заради ролята му като част от активирания Mg^{2+} -АТФ комплекс е необходим за всички ензими, ограничаващи скоростта на гликолиза и участващи в реакциите на фосфорилиране. Mg^{2+} дефицит може да доведе до нарушения на тирозинкиназната активност на инсулиновия рецептор, свързана с развитието на пострецепторна инсулинова резистентност и намалено клетъчно използване на глюкозата, като колкото е по-ниска базалната Mg^{2+} концентрация, толкова по-голямо количество инсулин се изисква за метаболизма на глюкозата (**Barbagallo M.** и съавт., 2007). Хипотезата, че промените в Mg^{2+} метаболизъм индуцират инсулинова резистентност, се потвърждават и от данните при експериментални животни показващи, че хранителния Mg^{2+} дефицит е свързан с инсулинова резистентност. Плъхове хранени с ниско магнезиева диета

показват значително увеличение на кръвната глюкоза и триглицеридите. Ефектите на Mg^{2+} дефицит върху глюкозо-стимулираната секреция на инсулин и действието на инсулина върху скелетната мускулатура са проучени също при плъхове. Mg^{2+} изчерпване предизвиква вредно въздействие върху глюкозния метаболизъм и уврежда както секрецията на инсулина така и неговото действие. Наблюдаваната в скелетните мускули на плъхове с дефицит на Mg^{2+} инсулинова резистентност, е свързана частично и с дефект на тирозинкиназната активност на инсулиновите рецептори (**Barbagallo M.** и съавт., 2012). Резултатите от сравнителния анализ на концентрациите на серумния Mg^{2+} при пациентите с есенциална АХ и АХ със ЗД тип II в нашето проучване показват, че те са достоверно повишени при ЗД тип II (**Фиг. 21, 22**). Следователно, ролята на Mg^{2+} нараства при коморбидното съчетание на АХ със ЗД тип II. Поддържането на по-високи базални нива на серумния Mg^{2+} при АХ с и без ЗД тип II е свързано с ключовата роля на този макроелемент в редица патогенетични механизми на заболяването. Това вероятно е компенсаторен механизъм, чиято цел е да се поддържа адекватен антагонизъм с йоните на Ca^{2+} , както и да се балансират повишените нужди на организма от Mg^{2+} в условията на намален прием и/или повишени загуби от терапията с диуретици. Ca^{2+} концентрации в цитозола са един от главните фактори определящи контрактилните свойства на СГМК. Mg^{2+} противодейства на Ca^{2+} и изпълнява роля на физиологичен Ca^{2+} блокер (**Chakraborti S.** и съавт., 2002). Повишените нива на извънклетъчния Mg^{2+} инхибират Ca^{2+} инфлукс, докато намаления извънклетъчен Mg^{2+} активира инфлукса през Ca^{2+} канали (**Cunha A.** и съавт., 2012). Mg^{2+} дефицит значително повишава продукцията на различни проинфламаторни молекули, като $TNF-\alpha$, IL-1, IL-6, VCAM, PAI-1 и намалява експресията и активността на редица антиоксидантни ензими, като глутатион пероксидаза (GPx), CuZn супероксид дисмутаза (CuZn-SOD), каталаза. Намаляват също клетъчните и тъканните нива на важни антиоксиданти, като глутатион, витамин С, витамин Е и селен (**Belin R.** и съавт., 2007). Хипомагнезиемията е свързана с възпаление и увеличено производство на кислородни радикали (**Barbagallo M.** и съавт., 2009), които имат пряка връзка с патогенезата на АХ. По този начин, повишените базални

нива на Mg^{2+} при пациентите от ГII и ГIII, вероятно допълнително понижават степента на оксидативния стрес и възпалителния системен и съдов отговор. Ниските нива на Mg^{2+} могат да потенцират развитието на ендотелна дисфункция чрез активиране на NF- κ B, който включва транскрипционна програма водеща до развитието на проинфламаторен фенотип (**Ferrè S.** и съавт., 2010). Едно от свързващите места на NF- κ B се намира в промотора на MMP-9 гена. Следователно е възможно ниската Mg^{2+} концентрация директно да увеличи експресията на MMP-9 чрез NF- κ B в началото и процеса да се поддържа от IL-1 по-късно. Има също доказателства, че в култивирани ендотелни клетки при високи нива на Mg^{2+} се предотвратява активирането на NF- κ B, респ. продукцията на проинфламаторни цитокини и хемокини, понижава се активността на MMP-9 (**Maier J.**, 2012). От това следва, че повишените базални нива на Mg^{2+} в ГII и ГIII може да са причина за понижените концентрации на MMP-9 при есенциалната АХ, което се подкрепя от нашите експериментални данни (**Фиг. 7, 20**). Резултатите от регресионния анализ също потвърждават наличието на подобна зависимост, но при пациентите със ЗД тип II. Открита беше статистически значима отрицателна корелация между концентрациите на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-9 в общата хипертензивна група. При нея с нарастване концентрациите на серумния Mg^{2+} тези на MMP-9 намаляват (**Фиг. 27**). Може да се направи заключението, че независимо от повишените концентрации на MMP-9 при АХ и ЗД тип II, повишените нива на серумния Mg^{2+} се стремят да ги понижат. В литературата все още няма описани преки доказателства за връзката между нивата на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-2. Според мнение на Maier, механизмът на MMP-2 индукцията от ниски нива на Mg^{2+} е все още в процес на проучване (**Maier J.**, 2012). В тази връзка нашите резултати дават нова информация, като доказват наличието на статистически значими отрицателни корелации между концентрациите на серумния Mg^{2+} и тези на MMP-2 в ГIII (**Фиг. 26**), както и в общата хипертензивна група при пациентите с есенциална АХ (**Фиг. 25**). При тях с повишаване концентрациите на серумния Mg^{2+} тези на MMP-2 се понижават. Изводът, който може да се направи на базата на тези наши експериментални данни е, че повишените нива на серумния Mg^{2+} могат да понижат експресията и активността на MMP-2 при есенциална АХ, което е

особено изявено при високостепенната хипертензия. Тези данни допълнително се подкрепят от резултатите, че концентрациите на MMP-2 в ГII и ГIII при есенциалната АХ са много близки до тези на ГI (**Фиг. 6**). Повишените нива на Mg^{2+} отслабват ET-1 индуцираната контракция, докато понижените нива на Mg^{2+} я засилват (**Sontia B.** и съавт., 2007). Kharitonova и съавтори изследват ролята на различни Mg^{2+} съединения за възникването на системно възпаление и ендотелна дисфункция при плъхове, хранени с ниско магнезиева диета за 74 дни. Ниското съдържание на Mg^{2+} в храната намалява неговата концентрацията в плазмата и еритроцитите, което е съпроводено с намалена концентрация на eNOS, повишени нива на ET-1 в серума и нарушена ендотел-зависима вазодилатация. Тези ефекти водят до повишаване на концентрацията на провъзпалителни молекули, като CRP, IL-6, TNF- α , VCAM-1, което показва развитието на системно възпаление и ендотелна дисфункция. TNF- α участва в активирането на експресията на NF- κ B, докато IL-6 основно регулира транскрипционните нива на CRP в хепатоцитите. Така Mg^{2+} дефицит дава началото на сложен път, който допринася за развитието на ендотелна дисфункция и атерогенеза. Анализът на активността на магнезиевите неорганични соли показва, че добавянето на Mg-сулфат не намалява значително повишените нива на ET-1, но добавянето на Mg-хлорид напълно възвръща концентрациите на ET-1 до нормални стойности. Тестваните органични съединения Mg-оксибутират и Mg-L-аспартат понижават концентрацията на ET-1 до нормално ниво, докато третирането с Mg-N-ацетилтаурат води само до частично намаляване на ET-1 в Mg^{2+} -дефицитните групи (**Kharitonova M.** и съавт., 2015). Дефицитът на Mg^{2+} може да повиши активността на MMPs, вкл. колагенази, които започват да разграждат структурните компоненти на ЕЦМ и преди всичко колагена с по-голяма скорост. Разграждането на еластиновите влакна може значително да нарасне (до 2-3 пъти) в присъствие на Mg^{2+} . Дефицитът на Mg^{2+} е свързан с ниска еластазна активност и увеличаване броя на еластичните влакна. Дефицитът на Mg^{2+} в съединителната тъкан води до забавяне на синтеза на всички структурни молекули (колаген, еластин, протеоглигани и глюкозаминоглигани) (**Торшин И.** и съавт., 2008). Приемът на Mg^{2+} под препоръчителния е широко разпространен и се свързва с по-

висока вероятност за повишаване на серумните нива на CRP при деца (**King D.** и съавт., 2007). Съществува също връзка между хранителния прием на Mg^{2+} и повишените нива на CRP в общата възрастна популация (**King D.** и съавт., 2005). Приемът на Mg^{2+} също е обратно свързан и с нивата на hs-CRP, IL-6 и фибриногена (**Kim D.** и съавт., 2010).

Има доказателства при хора и животински модели за връзката на АХ с промени в хуморалния и клетъчния имунитет, което предполага водещата роля на възпалението в патогенезата на заболяването (**Boos C.** и съавт., 2006). Хроничното нискостепенно възпаление е идентифицирано, като неразделна част от патогенезата на съдовите заболявания (**Savoia C.** и съавт., 2006; **Boos C.** и съавт., 2006). Нискостепенното възпаление локализирано в съдовата тъкан е признато като важен фактор в патофизиологията на АХ (**Savoia C.** и съавт., 2011). Резултатите от нашето проучване потвърждават тезата, че при пациентите с лека и високостепенна есенциална АХ, нивата на CRP са значително повишени в сравнение с тези на контролната група. Концентрациите на CRP в ГII са статистически достоверно повишени в сравнение с тези на ГI. Концентрациите на CRP в ГIII са също статистически достоверно повишени в сравнение с тези на ГI. Липсва статистически достоверна разлика на CRP между ГII и ГIII (**Фиг. 9**). Нивата на CRP са по-високи при пациентите от ГII в сравнение с тези от ГIII, което показва, че възпалителният процес е доминиращ в ранните стадии на есенциалната АХ (леката хипертензия) (**Фиг. 9, 24**). Подобни на нашите резултати описват и други автори. Някои проучвания показват, че в сравнение с нормотониците, плазмените нива на възпалителните маркери, включително на CRP, са повишени при пациенти с есенциална АХ (**Pauletto P.** и съавт., 2006). В едно проучване сред възрастни московчани с АХ е открита също положителна връзка между повишените нива на CRP, САН и ДАН, както при мъжете, така и при жените ≥ 55 години (**Шальнова С.** и съавт., 2012). Наблюдения при пациенти с прехипертензия със САН между 130 и 139 mmHg и ДАН между 85 и 89 mmHg, показват по-високи плазмени нива на CRP, TNF- α , амилоид А, хомоцистеин и левкоцити в сравнение с контролите. При друго проспективно проучване продължило единадесет години е установено, че нормотензивни мъже с високи

нива на CRP е три пъти по-вероятно да развият АХ в сравнение с тези с ниски нива (**Niskanen L.** и съавт., 2004). Доказана е и линейна връзка между CRP и липсата на нощен спад на АН (non-dipping) при пациентите с по-високи нива на CRP (**Bellelli G.** и съавт., 2001). В едно проучване на Gavin направено сред 15215 жени първоначално без сърдечно-съдови заболявания, CRP показва линейна връзка с АН. Изтъква се, че както CRP, така и АН могат да бъдат независими и синергични фактори по отношение на сърдечно-съдовия риск. В заключението се посочва, че стратегии насочени към понижаване на АН и намаляване на съдовото възпаление, могат да осигурят потенциално значима клинична полза (**Blake G.** и съавт., 2003). Такава терапевтична полза е установена при хипертензивни пациенти лекувани с ангиотензин рецепторни блокери, при които е установен CRP-понижаващ ефект на медикаментите (**Yasunari K.** и съавт., 2004; **Fliser D.** и съавт., 2004). Циркулиращите възпалителни молекули са повишени при пациенти с есенциална АХ и техните нива могат да предскажат появата ѝ. Увеличени са редица възпалителни маркери, като CRP; цитокини, като TNF- α , IL-1 и IL-6; хемокини, като моноцитен хемоатрактантен протеин (MCP-1); адхезионни молекули, като ICAM-1, VCAM-1 и P-селектин (**Paolo P.** и съавт., 2006). Нивата на CRP са независимо свързани и с други рискови фактори за хипертензия, като хипергликемия (**Rodríguez-Morán M.** и съавт., 1999), инсулинова резистентност и затлъстяване (**Yudkin J.** и съавт., 1999). Резултатите от определянето на CRP при пациентите с лека и високостепенна АХ със 3Д тип II показват, че концентрациите на CRP в ГII са петкратно по-високи в сравнение с тези на ГI, като съществува много високо ниво на статистическа значимост. Концентрациите на CRP в ГIII са десетократно по-високи в сравнение с тези на ГI, като също има много високо ниво на статистическа значимост. Концентрациите на CRP в ГIII са сигнификантно повишени (почти двойно) спрямо тези на ГII (**Фиг. 14**). Концентрациите на CRP при пациентите със 3Д тип II се повишават пропорционално, но значимо с нарастване степента на хипертензията, което доказва, че има пряка връзка между нивата на CRP и степените на хипертензията. Нивата на CRP при пациентите със 3Д тип II са по-високи в ГIII в сравнение с ГII, което показва, че възпалителният процес доминира при по-високите степени на

АХ (**Фиг. 14, 24**). Резултатите от сравнителния анализ на концентрациите на CRP при пациентите с есенциална АХ и АХ съчетана със ЗД тип II в нашето проучване показват, че медианата на концентрациите на CRP при ЗД тип II е статистически достоверно по-висока (**Фиг. 23**). Може да се направи заключението, че възпалителният отговор, респ. концентрациите на CRP, нарастват при коморбидното съчетание на АХ със ЗД тип II (**Фиг. 24**). Концентрациите на CRP при пациентите с АХ със и без ЗД тип II, са значително повишени, което потвърждава патогенетичната връзка на АХ с хроничното нискостепенно системно и съдово възпаление (**Фиг. 9, 14**). Многобройни проучвания са показали, че нивата на CRP могат да бъдат увеличени при диабет (**Devaraj S.** и съавт., 2010). Има доказателства, че нивата на CRP са повишени при ЗД тип II. Най-ранните данни подчертаващи връзката между възпалението и диабета са били демонстрирани от групата на Pickup, която намира, че IL-6 и hs-CRP са повишени при диабетици. Pickup и съавтори доказват, че пациентите със ЗД тип II, които имат повече от две характеристики на метаболитния синдром в действителност имат по-изявен възпалителен отговор (респ. повишени нива на hs-CRP и IL-6), в сравнение с тези с по-малко характеристики (**Devaraj S.** и съавт., 2010). Наличието на хронично възпаление при ЗД тип II, е свързано основно с повишени плазмени концентрации на CRP, IL-1, IL-6, TNF- α и фибриноген. Тези възпалителни цитокини увеличават съдовия пермеабилитет, променят вазорегулаторните отговори, засилват левкоцитната адхезия, улесняват тромбообразуването и потискат фибринолизата чрез стимулиране на PAI-1 (**Van den Oever I.** и съавт., 2010). Над 2500 мъже и жени са били изследвани за доказване на връзката между плазмения CRP, инсулина на гладно, нивото на глюкозата в кръвта и гликирания хемоглобин. Повишените нива на CRP са били свързани с по-високи нива на инсулина и HbA1c при двата пола, както и с по-високо ниво на глюкозата в кръвта при жени. Допълнителното потвърждаване на тази „възпалителна“ хипотеза идва от едно проучване на инсулиновата резистентност при атеросклероза (IRAS - Insulin Resistance Atherosclerosis Study), където лицата, които развиват ЗД тип II имали по-високи нива на възпалителни маркери - CRP, PAI-1 и фибриноген, отколкото тези, които не развиват диабет.

(**Devaraj S.** и съавт., 2010). CRP може да повиши синтезата на MMPs от моноцити и макрофаги с последваща засилена колаген-деградационна активност на съдовия ЕЦМ (**Williams T.** и съавт., 2004; **Lin R.** и съавт., 2005; **Montero I.** и съавт., 2006; **Abe N.** и съавт., 2006). Успоредно с това се стимулира продукцията на IL-8, който може допълнително да наруши баланса между MMPs/TIMPs в атеросклеротичните плаки и да доведе до възникване на нестабилни плаки (**Moreau M.** и съавт., 1999; **Devaraj S.** и съавт., 2004). CRP може също да предизвика активирането на периферните левкоцити с последваща секреция на медиатори дестабилизиращи плаката, като MMP-9, MCP-1 и урокиназен плазминогенен активатор (**Bisoendial R.** и съавт., 2009). CRP предизвиква многобройни проинфламаторни и проатерогенни ефекти в ендотелните клетки, като намалява продукцията на NO и PGI₂, повишава нивата на ET-1, MCP-1, IL-8, PAI-1 и клетъчните адхезионни молекули (**Van den Oever I.** и съавт., 2010). CRP нарушава продукцията на NO, като стимулира производството на ET-1 (**Cachafeiro V.** и съавт., 2009). Предполага се, че провъзпалителният ефект на CRP се осъществява съвместно с ET-1 и IL-6 (**Böhm F.** и съавт., 2007). Тези данни се подкрепят и от нашите резултати, според които динамиката на нивата на ET-1 и CRP показват сходни характеристики при леката и високостепенната АХ с и без ЗД тип II. При есенциалната АХ, нивата на ET-1 и CRP са повишени в ГII (при леката АХ) (**Фиг. 5, 9**), докато при АХ и ЗД тип II те са повишени в ГIII (при високостепенната АХ) (**Фиг. 10, 14**).

ИЗВОДИ

1. Концентрациите на ET-1 са повишени при АХ, като при пациентите с АХ и ЗД тип II те са по-високи от тези при есенциална АХ.
2. ET-1 играе основна роля за развитието на леката хипертензия при пациентите с есенциална АХ, докато при тези със ЗД тип II е свързан с развитието на високостепенна хипертензия.
3. Концентрациите на MMP-2 при есенциална АХ не се променят значително, докато при АХ и ЗД тип II те са повишени.
4. Концентрациите на MMP-9 при есенциална АХ се понижават с нарастване степента на хипертензията, докато при АХ и ЗД тип II те са значително повишени.
5. Концентрациите на серумния Mg^{2+} при пациентите с АХ и ЗД тип II са достоверно по-високи от тези при есенциална АХ.
6. Промените в концентрациите на серумния Mg^{2+} могат да регулират нивата на MMP-2 и MMP-9 при АХ, като зависимостта е обратнопропорционална.
7. Концентрациите на CRP са значително повишени при АХ с и без ЗД тип II, като при ЗД тип II те се повишават пропорционално с нарастване степента на хипертензията.
8. Концентрациите на CRP при пациентите с есенциална АХ показват, че възпалителният процес е по-изявен при леката степен на АХ, докато при ЗД тип II доминира при високостепенната АХ.

ПРИНОСИ

НАУЧНИ ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН ХАРАКТЕР

1. Доказа се, че ET-1 играе основна роля за развитието на леката хипертензия при пациентите с есенциална АХ, докато при ЗД тип II е свързан с развитието на високостепенната АХ.
2. Установи се, че при пациентите с АХ и ЗД тип II, повишаването на концентрациите на CRP е свързано с нарастване степента на хипертензията.
3. Получени са доказателства, че промените в концентрациите на серумния Mg^{2+} могат да регулират нивата на MMP-2 и MMP-9 при АХ, като зависимостта е обратнопропорционална.

НАУЧНИ ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР

1. Тезата, че концентрациите на ET-1 са повишени при пациенти с АХ с и без ЗД тип II беше потвърдена.
2. Установи се, че концентрациите на MMP-9 са понижени при пациентите с есенциална АХ, а тези на MMP-2 не показват значителна промяна.
3. Убедително се подкрепят данните, че концентрациите на MMP-2 и MMP-9 са повишени при пациентите с АХ и ЗД тип II.
4. Намерени са повишени концентрации на серумния Mg^{2+} и CRP при пациентите с АХ с и без ЗД тип II.

СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

В България:

1. **K. Kostov**, A. Dimitrova, A. Grigoryan, S. Tisheva, A. Ruseva, M. Atanasova, K. Gospodinov, A. Blazhev. Changes in the serum levels of endothelin-1, matrix metalloproteinases-2, -9 and C-reactive protein in patients with mild and severe degree of arterial hypertension. Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, Tome 67, No 3, 2014, 427-434. **IF=0.284**
2. **К. Костов**, А. Григорян, А. Димитрова. Ендотелини и артериална хипертензия. Сборник „Наука и Младост 2012”, МУ- Пловдив, 223-231.
3. **К. Костов**, А. Григорян, А. Димитрова, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, К. Господинов, А. Блажев. Ендотелин-1 и матриксни металопротеинази-2 и 9 при пациенти с различна степен на артериална хипертензия, Сборник „Наука и Младост 2013”, МУ-Пловдив, 85-90.
4. **К. Костов**, А. Григорян, А. Димитрова, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, К. Господинов, А. Блажев. Серумен магнезий и матриксни металопротеинази-2 и -9 (ММР-2 и ММР-9) при пациенти с лека и тежка степен на артериална хипертензия. Сборник доклади и резюмета от XII^{-та} национална научна сесия за студенти и преподаватели, МУ-Плевен, 2013 , 269-276.
5. **К. Костов**, А. Димитрова, С. Тишева, А. Русева, М. Атанасова, А. Блажев, А. Григорян, К. Господинов. Роля на магнезия в патогенезата на артериалната хипертензия. Сборник „Наука и Младост 2014”, МУ-Пловдив, 114-120.
6. **K. Kostov**, A. Dimitrova, A. Grigoryan, A. Blazhev, M. Atanasova, S. Tisheva, A. Ruseva, I. Tsinlikov. Endothelin-1 in patients with arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus. Science & Technologies, Volume IV, Number 1, 2014, Medicine, 420-424.

7. **K. Kostov**, T. Rashev, A. Dimitrova, S. Tisheva, A. Blazhev, M. Atanasova, K. Gospodinov, Endothelin-1, cardiotrophin-1, galectin-3, MMP-1 and TIMP-1 as biomarkers of cardiovascular risk in patients with arterial hypertension, Science & Technologies, Volume V, Number 1, 2015, Medicine, 178-183.

СПИСЪК НА НАУЧНИТЕ СЪОБЩЕНИЯ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

В чужбина:

1. **K. Kostov**, A. Dimitrova, A. Grigoryan, S. Tisheva, A. Russeva, M. Atanasova, K. Gospodinov, A. Blazhev. Serum levels of endothelin-1, matrix metalloproteinases- 2, - 9 and C-reactive protein in patients with mild and severe degree of arterial hypertension. Frontiers in cardiovascular biology 2014. 4-06 Jul 2014, Barcelona - Spain (Cardiovascular Research, 2014, 103, S102–S141). **IF=5.94**
2. **K. Kostov**, A. Dimitrova, S. Tisheva, A. Russeva, A. Blazhev, M. Atanasova, I. Tsinlikov. Endothelin-1, matrix metalloproteinases-2, -9 and C-reactive protein such as markers of cardiovascular risk in hypertensive patients with type 2 diabetes. EuroPREvent 2015, 14 - 16 May, Lisbon - Portugal (European Journal of Preventive Cardiology, 2015, 22, suppl. 1: S63). **IF=3.32**

В България:

3. **К. Костов**, А. Димитрова, С. Тишева, К. Господинов, А. Блажев, М. Атанасова, А. Русева, И. Цинликов и А. Николов. Серумни концентрации на ендотелин-1 и С-реактивен протеин при пациенти с артериална хипертензия с и без захарен диабет тип 2. XIV национален конгрес по кардиология, 2-5 октомври 2014, Варна, к.к. „Златни пясъци“ (Сп. „Българска кардиология“, том XX, 2014, Приложение №1, П-7.7, стр. 54).
4. **K. Kostov**, A. Dimitrova, A. Blazhev, A. Grigoryan, I. Himcheva. Endothelin and urotensin II systems - possibilities for pharmacological impact in arterial hypertension. 7th National Congress of Pharmacology - “Pharmacology: from experiment to clinical practice”, Medical University - Pleven, 17-19 October, 2014 (Journal of Biomedical and Clinical Research, Medical University - Pleven, Volume 7, Number 1, Suppl. 1, 2014, Abstracts, page 83).

5. **Kostov K**, A Grigoryan, A. Dimitrova et al. 24th International Scientific Conference, Dedicated to the 70-Anniversary of the Foundation of the Union of Scientists in Bulgaria: Endothelin-1 in patients with arterial hypertension and type 2 diabetes mellitus, Stara Zagora, 5-6 June 2014, Bulgaria (Science & Technologies, Volume IV, Number 1, 2014, Medicine, стр. 420-424).
6. **Костов К**, А. Григорян, А. Димитрова, М. Атанасова, А. Блажев, С. Тишева, А. Русева, К. Господинов, Т. Бетова, М. Апостолова. Роля на ендотелините в биологията на съдовата стена при норма и патология. X^{-та} национална конференция по медицинска биология, 26.10.2013 г., МУ-Плевен.
7. **Костов К**, А. Димитрова, М. Атанасова, С. Тишева, А. Русева, А. Блажев, А. Григорян, К. Господинов. Участие на магнезия и С-реактивния протеин във възпалителния системен и съдов отговор при пациенти с различна степен на артериална хипертензия. X^{-та} национална конференция по медицинска биология, 26.10.2013 г., МУ-Плевен.
8. **Костов К**, А. Димитрова, М. Атанасова, А. Блажев, Р. Генчева, С. Тишева, А. Русева, А. Григорян, К. Господинов. Корелационни зависимости между концентрациите на ендотелин-1, магнезий и матриксните металопротеинази-2 и -9 изследвани в серуми на пациенти с лека и тежка степен на артериална хипертензия“. X^{-та} национална конференция по медицинска биология, 26.10.2013 г., МУ-Плевен.
9. **Kostov K. G.**, Dimitrova A. A., Tisheva S. T., Blazhev A. B., Atanasova M. A., Russeva A. L., Gospodinov K. D., Grigoryan A. V., Cvetkova M. E., Ivanov I. I. Changes in the serum concentrations of endothelin-1 in hypertensive patients with and without type 2 diabetes. 12th International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, 8-11 October, 2014, Medical University - Pleven, Bulgaria (Abstract book, P.24, pages 148-149).

10. **K. Kostov**, A. Dimitrova, S. Tisheva, A. Blazhev, M. Atanasova, A. Ruseva, K. Gospodinov, A. Grigoryan. Serum concentrations of matrix metalloproteinases - 2 and - 9 (MMP-2 and MMP-9) in patients with arterial hypertension with and without type 2 diabetes mellitus. Jubilee Scientific Conference "40 years Medical University - Pleven", 30 October-1 November, 2014 (Journal of Biomedical and Clinical Research, Medical University - Pleven, Volume 7, Number 1, Suppl. 2, 2014, Abstracts, page 42).
11. **К. Костов**, Т. Рашев, А. Димитрова, С. Тишева, А. Блажев, М. Атанасова, К. Господинов, А. Григорян. Ендотелин-1, кардиотрофин-1, галектин-3, матриксна металопроотеиназа-1 и тъканния инхибитор на металопроотеиназите-1, като биомаркери за сърдечно-съдовия риск при пациенти с артериална хипертензия", XXV международна научна конференция на Съюза на учените в Стара Загора, 4-5 юни 2015.
12. **K. Kostov**, A. Dimitrova, S. Tisheva, A. Ruseva, A. Blazhev, M. Atanasova, K. Gospodinov, A. Grigoryan. C-reactive protein as a marker for low-grade inflammation in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. Anniversary Scientific Conference "Science for Health" - 70 Years Medical University of Plovdiv, Bulgaria, 20-22 May 2015 (Folia Medica, Medical University - Plovdiv, Volume 57, Suppl. 1, 2015, Contents, SY 38, page 160).
13. **Kostov K. G.**, Blazhev A. B., Dimitrova A. A., Atanasova M. A., Tisheva S. T., Russeva A. L., Gospodinov K. D., Ivanova M. I., Kitanovska J., Naydenova K. Y. Serum magnesium modulates the levels of MMP-9 and vascular collagen IV turnover in hypertensive patients with type 2 diabetes. 13th International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, 7-9 October, 2015, Medical University-Pleven, Bulgaria (Abstract book, pages 151-152).
14. **K. Kostov**, A. Dimitrova, A. Grigoryan, S. Tisheva, A. Blazhev, M. Atanasova, A. Ruseva, K. Gospodinov, T. Rashev. Serum concentrations of endothelin-1 in patients with mild and high-grade arterial hypertension with and without type 2 diabetes. XI Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences, 9-11 October, Plovdiv, 2015 (Folia Medica 2015, 57, Suppl. 3, page 56).