



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ – ВАРНА**

**ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА
КАТЕДРА „ПЕДИАТРИЯ“**

Д-р Кристина Ивайлова Петрова

ДИСЕРТАЦИЯ

ОЦЕНКА НА ОКСИДАТИВНИЯ СТРЕС И РАННАТА СЪДОВА УВРЕДА ПРИ ДЕЦА И МЛАДИ ВЪЗРАСТНИ С БЕТА-ТАЛАСЕМИЯ МАЙОР

за присъждане на образователна и научна степен

„доктор“

Специалност: **„Педиатрия“**

Научни ръководители:

проф. д-р Валерия Игнатова Калева, д.м.

доц. д-р Мария Милева Димова, д.м.

Варна, 2024

СЪДЪРЖАНИЕ

Използвани съкращения	4
I. ВЪВЕДЕНИЕ	5
II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	7
1. Бета-таласемия майор	7
2. Оксидативен стрес	10
2.1. Активни кислородни форми и свободни радикали	10
2.2. Токсични ефекти на активните кислородни форми. Липидна пероксидация.	12
2.3. Антиоксидантна защита и оксидативен стрес	12
2.4. Оценка на оксидативния статус на организма. Малондиалдеhid	13
3. Оксидативен стрес и бета-таласемия майор	15
3.1. Железен свръхтовар и бета-таласемия майор	15
3.2. Малондиалдеhid и бета-таласемия майор	17
4. Оксидативен стрес и съдова увреда	18
4.1. Липиден профил, липидни индекси и дислипидемия	18
4.2. Оксидативен стрес и атеросклероза	20
4.3. Ендотелна функция и дисфункция	23
4.4. Концепция за ранно съдово стареене	26
4.5. Артериална ригидност	27
5. Бета-таласемия и сърдечно-съдов риск	32
5.1. Липиден профил и липидни индекси при бета-таласемия майор	32
5.2. Съдова увреда при бета-таласемия майор	35
6. Изводи от литературен обзор	39
III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО	41
IV. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО	42
V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	49
1. Обща характеристика на участниците в проучването	49
2. Сравнителен анализ на получените резултати при пациентите с бета- таласемия майор и контролната група	52
3. Корелационни зависимости на резултатите при пациентите с бета- таласемия майор	67

VI.	ИЗВОДИ	99
VII.	ПРИНОСИ	101
VIII.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
IX.	СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	103
X.	ПРИЛОЖЕНИЯ	105
XI.	БИБЛИОГРАФИЯ	117

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АКФ	активни кислородни форми
АН	артериално налягане
АР	артериална ригидност
АССБ	атеросклеротична сърдечно-съдова болест
АХ	артериална хипертония
БТ	бета-таласемия
БТМ	бета-таласемия майор
ГИТ	гастроинтестинален тракт
ДАН	диастолично артериално налягане
ЕК	ендотелни клетки
ЕЦКРА	Експертен център по коагулопатии и редки анемии
ЖСН	желязно свръхнатрупване
ИТМ	индекс на телесна маса
МДА	малондиалдехид
МРТ	магнитно-резонансната томография
НТЗБТ	нетрансфузионнозависима бета-таласемия
ОС	оксидативен стрес
ОХ / ТС	общ холестерол / total cholesterol
ПАТ	периферна артериална тонометрия
ПН	пулсово налягане
САН	систолично артериално налягане
ССЗ	сърдечно-съдови заболявания
СПВ	скорост на пулсовата вълна
СрАН	средно артериално налягане
СЧ	сърдечна честота
ТГ / TG	триглицериди / triglycerides
ТЖСК	тотален желязосвързващ капацитет
ТЗБТ	трансфузионно зависима бета-таласемия
ТХСК	трансплантация на хемопоетични стволови клетки
АС	arterial compliance (артериален кълмплайънс)
AtC	atherogenic coefficient (атерогенен коефициент)
AIx	augmenation index (аугментационен индекс)
AIР	atherogenic idex of plasma (атерогене индекс на плазмата)
ba- PWV	brachial-ankle pulse wave velocity (брахио-глезененна скорост на пулсова вълна)
BSA	body surface area (индекс на телесна повърхност)
cf-PWV	carotid-femoral pulse wave velocity (каротидно-феморална скорост на пулсова вълна)
CRI-I	Castelli risk index I
CRI-II	Castelli risk index II
Ер	pressure-strain elastic modulus (модул на еластичност)
ЕТ	echo-tracking
Нb	hemoglobin (хемоглобин)
NO	nitric oxide (азотен оксид)
PWV	pulse wave velocity (скорост на пулсовата вълна)
PWVβ	pulse wave velocity β (скорост на пулсовата вълна в една точка)
TIF	Thalassemia international federation

I. Въведение

Оксидативният стрес (ОС) се дефинира като нарушаване на баланса между оксиданти и антиоксиданти поради прекомерно производство на прооксиданти и свободни радикали. Този дисбаланс е причина за молекулярно и клетъчно увреждане и стои в патофизиологията на много заболявания, вкл. и при таласемичните синдроми.

Бета-таласемията е наследствена хемоглобинопатия с пълно или частично увреждане на бета-глобиновия ген, резултиращо в намален или липсващ синтез на β -глобинови вериги. Образуваните нестабилни тетрамерни агрегати преципитират в еритроидните клетки, увреждат оксидативно техните мембрани и причиняват преждевременната им хемолиза, манифестираща се с неефективна еритропоеза, хронична анемия и железен свръхтовар. Важно значение за намалената преживяемост на увредените еритроидни клетки има и оксидативният ефект на натрупаното в организма свободно желязо вследствие на редовните хемотрансфузии.

Най-предпочитан обект за свободно-радикално увреждане са липидите, а липидната пероксидация е главен молекулен механизъм, осъществяващ свободно-радикална токсичност. Крайно съединение на липидната пероксидация е малондиалдеhidът (МДА), използван като индекс на оксидативен статус и предпочитан маркер за оценка на ОС. Налице са доказателства, че процесите на образуването му играят основна роля в патогенезата на преждевременната атеросклероза. Многобройни проучвания доказват повишени нива на МДА при трансфузионно-зависими пациенти с бета-таласемия майор (БТМ). Доказва се и ендотелна дисфункция, променена съдова еластичност със задебеляване на интимата и артериална ригидност, корелиращи с по-висока честота на съдови усложнения, преждеременно артериално стареене и ранна атеросклероза.

Съдовият ендотел се описва като динамична ендокринна структура с активно участие в поддържането на съдовата хомеостаза. Ендотелната дисфункция, свързана с провъзпалителна и протромботична активност и с повишен ОС, се приема за важен предшественик на атеросклерозата. Доказано е наличие на ендотелна дисфункция и повишена артериална ригидност при пациенти с БТМ и затова оценката на ранната съдова увреда и ОС е актуален научен проблем. Състоянието на артериите корелира в голяма степен с биологичната възраст на индивида, а промените обикновено започват в детска възраст. Своевременната и адекватна грижа за пациентите с БТМ достоверно удължава продължителността на живот, демонстрирайки тенденция за изравняване с тази на общото население. Очаквана е и промяна в спектъра на съпътстващите заболявания.

От друга страна, застаряването на пациентите с БТМ и разпространението на сърдечно-съдови рискови фактори, свързани с обременяването с желязо, диабет и тютюнопушене, обуславят повишен риск от атеросклероза и сърдечно-съдови заболявания (ССЗ). Началната

поява и прогресия на съдовите увреждания могат най-достъпно да бъдат проследявани чрез ултразвуково изследване на каротидните артерии, измервайки дебелината на съдовата интима-медия и артериалната еластичност. Препоръчва се рутинно провеждане на доплерово ултразвуково изследване на каротиди за ранно идентифициране на субклинична атеросклероза и за навременна медикаментозна и немедикаментозна превенция.

Обобщено, контролът на съдовото здраве при пациенти с БТМ е актуален научен и клиничен проблем и досега проучвания в тази област не са провеждани в България. Изследването на съдовия статус в български популации с БТМ би предоставило възможност за сравнителни анализи с чуждестранни публикации, за формулиране на някои клинични специфики в ранните съдови промени и за дефинирането на възможности за терапевтичното им повлияване.

II. Литературен обзор

1. Бета-таласемия майор

Таласемичните синдроми са хетерогенна група наследствени заболявания, при които се наблюдава дефектен синтез на една или повече глобинови вериги, участващи в образуването на нормалния хемоглобин. Те се класифицират според вида на засегнатата верига и имат различно географско разпределение и тежест на клинично протичане.

Бета-таласемията (β -таласемия, БТ) се среща с най-голяма честота и в зависимост от дефицита на синтезирания хемоглобин съществуват два основни типа: β^0 -таласемия, при която не се синтезира β -глобин и β^+ -таласемия, при която се синтезира недостатъчно количество β -глобин. (1)(2) Намаленото количество (β^+) или отсъствие (β^0) на β -глобин резултира в релативен излишък на несвързани α -глобинови вериги, които преципитират в еритроидните клетки на костния мозък и периферната кръв и водят до неефективна еритропоеза, хемолиза и хронична анемия. (3) Степента на редукция на глобиновата верига се определя от естеството на мутация в β -глобиновия ген, локализиран върху късото рамо на хромозома 11. (4) Според тежестта на клинично протичане БТ се разделя на: таласемия майор, която представлява тежка форма на болестта; таласемия интермедия – средно тежка форма; таласемия минор (носителство на гена за таласемия) – най-често безсимптомна форма и „тиха“ таласемия – безсимптомно носителство на гена на БТ. С изключение на някои редки доминантни форми, болните с бета-таласемия майор са хомозиготи или „смесени хетерозиготи“ на гени за β^0 - или β^+ -глобин; повечето при бета-таласемия интермедия са хомозиготи или „смесени хетерозиготи“, а при таласемия минор в по-голямата си част са хетерозиготи. (5)

Разпространението на БТ в световен мащаб е различно. С най-голяма честота се среща в тропичните и субтропични маларийни райони, където относителният дял на засегнатите индивиди е между 2.5 и 15%. Точната причина за превалирането ѝ в тази част на света не е изяснена, но хипотетично се свързва със защитната роля на синтезираните по-големи количества HbF при носителите на гена на БТ, който е неподходящ за развитието на маларийния плазмодий и резултира с намалена морбидност и смъртност от малария. (6) Миграцията на населението и бракосъчетаването между различните етнически групи е допринесло за нейното разпространение в почти всички райони на света, вкл. и в Северна Европа, където преди това таласемията не е била позната. Днес се приема, че 1.5% от глобалната популация са носители на гена на β -таласемия, което на практика представлява раждания на около 60 000 симптоматични индивиди годишно. (5) Общата годишна честота на симптоматичните индивиди е оценена на 1/100 000 в света и 1/10 000 в Европейския съюз. За българската популация е известно, че около 2.5% са носители на гена на БТ, което се равнява

на около 170 000 души, от които около 300 (200 възрастни и 100 деца) са с таласемия майор. (7)(8)

Бета-таласемия майор (БТМ) е описана за първи път през 1927 г. от американския педиатър Томас Кулей и в голяма част от литературните източници се представя като „анемия на Кулей“. (9)(10)

Клиничното представяне на БТМ се проявява между 6-и и 24-ти месец след раждането с прогресивно задълбочаваща се бледост, субиктер и нарастване на обиколката на корема от варираща по степен хепатоспленомегалия. При липса на адекватно хемотрансфузионно лечение се добавя изоставане във физическото развитие, хиперпигментирана кожа, типични скелетни промени и ранна смърт. (11) При редовна хемотрансфузионна програма, растежът и развитието могат да се запазят нормални до 10-12-годишна възраст. През второто десетилетие обаче, ако не се провежда адекватно желязохелатиращо лечение, пациентите развиват усложнения, свързани с натрупване на желязо. Тези усложнения включват забавяне на растежа и половото развитие, увреждания на сърце (дилатативна кардиомиопатия, аритмия), черен дроб (фиброза и цироза) и ендокринни жлези (диабет, хипогонадизъм, хипопаратиреоидизъм, хипотиреоидизъм, хипопитуитаризъм и надбъбречна недостатъчност). Други чести усложнения са хиперспленизъм, хронични вирусни хепатити, хепатоцелуларен карцином, венозни тромбози и остеопороза. (12)(13)(14)(15)(16)(17)

Терапевтичният подход включва регулярни трансфузии на еритроцитен концентрат, желязохелатиращо лечение, спленектомия, трансплантация на хематопоеични стволови клетки, генна терапия и прилагане на агенти, подобряващи еритроидната матурация. (18)

Хемотрансфузиите стартират обикновено в кърмаческа възраст и продължават през целия живот в интервал от 2-5 седмици. Целта е да се поддържа предтрансфузионно ниво на хемоглобин (Hb) между 90 и 100 г/л и посттрансфузионно между 130 и 140 г/л. Осъществява се с обезлевоцитен еритроцитен концентрат по разширена антигенна формула в обем от 15 до 20 мл/кг/ден. (13)(19)

Желязното свръхнатрупване (ЖСН) е най-значимото усложнение при БТМ, определящо тежестта на клиничните симптоми и продължителността на живота. Класическите методи за оценка включват изследване на серумен феритин и магнитнорезонансни (МРТ) техники за оценка на желязно натрупване в черен дроб и сърце. Други по-рядко използвани възможности за изследване включват чернодробна биопсия, изследване на свободно серумно желязо, ферискан и магнитна биосусцептометрия (SQUID). (13)(20)(21)

Желязо-хелатиращата терапия (ЖХТ) е втори задължителен компонент от терапевтичното поведение. По правило тя трябва да започне при пациенти над 2 години след първите 10-20 трансфузии или когато стойността на серумния феритин надхвърли 1000 ng/ml. Понастоящем се използват три хелатиращи медикамента: deferoxamine (Desferal®), deferiprone (Ferriprox®) и deferasirox (Exjade®). В зависимост от възрастта, степента на желязното свръхнатрупване и доминиращата органна локализация те могат да се използват самостоятелно или в комбинация. (13)(22)

Спленектомия се обсъжда при пациенти с хиперспленизъм, незадоволителни резултати от трансфузионно лечение, значителна спленомегалия с риск от руптура и при които годишното количество трансфузирана кръв надхвърля 200 мл/кг. Трансплантацията на хематопоеични стволови

клетки (ТХСК) е единственият понастоящем лечебен метод за пълен терапевтичен успех, който се препоръчва при пациенти със строго дефинирани възрастови, клинични и лабораторни критерии. Генната терапия и приложението на матуриращи еритропоезата агенти са въведени в реалната практика след 2019 г. и все още не се прилагат рутинно. (13)(23)(24)(25)(26)

През последните години се наблюдава значително увеличаване на продължителността на живота при пациентите с БТМ. От напълно безперспективна диагноза в миналото, днес по-голямата част пациентите преживяват в добро здраве далеч над зрялата си възраст и водят сравнително нормален живот. Тази промяна е свързана основно със все по-доброто разгадаване на молекулярната патология на болестта и патофизиологичните механизми на съпътстващите усложнения, прилагането на редовно трансфузионно и хелатиращо лечение, както и на усъвършенстваните методи за мониториране на ЖСН. (13)(27)(28) Според данни на Farmakis et al. при 63% от пациентите с ТМ се очаква продължителността на живота да е около 50 години и в половината от случаите да няма усложнения, свързани с болестта. (29)

Основната причина за смърт в миналото е била сърдечната недостатъчност в резултат на хроничната анемия (в ерата преди редовните хемотрансфузии) или обременяването с желязо (в годините преди прилагането на хелатираща терапия), последвана от инфекциозните усложнения. (20)(30) След въвеждането на стандартното хелатиращо лечение и редовното мониториране на желязната свръхтовар, сърдечните усложнения са намалели драстично, но все още остават една от водещите причини за фатален изход при тези пациенти. (10)(31)(32)(33)

С увеличаване продължителността на живота при пациентите с БТМ се очаква да се промени както спектърът на трансфузионно-асоцираните заболявания, така и да се появят други непознати до сега усложнения. (24)(34) По-голямата възраст в съчетание с кумулативната експозиция на асоциирания с хроничната анемия и ЖСН оксидативен стрес, както и приемът на специфични за болестта медикаменти, могат да станат причина и за изявата на заболявания, които не са били наблюдавани в предходните десетилетия. (35)(36)(37)(38)

Бета-таласемия майор е заболяване с множество рискови фактори за поява на различни по вид и тежест усложнения, които трябва да бъдат диагностицирани, лекувани и проследявани от мултидисциплинарен екип в специализирани центрове. През последните години за приоритетно научно направление в контекста за предоставяне на оптимални мултидисциплинарни грижи при пациентите с БТМ се утвърждава търсенето и прилагането на нови методи за изучаване на патофизиологичните механизми на съпътстващите усложнения с цел тяхното ранно диагностициране и своевременна профилактика. Оценката на миокардната сидероза и мониторирането на сърдечната функция, комбинирани с интензифициране на желязното хелиране, превръщат едно универсално фатално заболяване в хронично страдание с очаквана отлична дългосрочна прогноза при индивиди, започнали хелация от много ранна възраст.

2. Оксидативен стрес

2.1. Активни кислородни форми и свободни радикали

Кислородът е един от най-широко разпространените химични елементи на земята. С изключение на анаеробните форми всички останали живи организми, включително и човекът, се нуждаят от кислород за своето съществуване. (39) Той влиза в състава на белтъците, мазнините и въглехидратите, които са основни съставки при изграждането на човешкото тяло. Доказано е, че кислородът в по-високи концентрации от необходимите за нормалното физиологично състояние води до токсичен ефект при растения, животни и аеробни микроорганизми. За първи път през 1954 г. *Gershman et al.* изказват предположението, че токсичният ефект на кислорода се предизвиква от образуването на активни кислородни радикали. (40)(41)(42)

Кислородът осъществява основната си биологична роля чрез участие в процесите на биологично окисление, в които се образува енергията, необходима за жизнената дейност на организма – т.нар. „тъканно дишане“ или „окислително фосфорилиране“. Приблизително 95% от кислорода се изразходва като енергия и в крайна сметка се превръща във вода. Останалите 5% произвеждат метаболити, наречени **активни кислородни форми (АКФ)**, които както показва името им, са изключително реактивоспособни. Молекулният кислород в основното си състояние е бирадикал и има два несдвоени електрона във външната си електронна обвивка. Генерирането на основните АКФ е резултат от последователно присъединяване на електрони – самостоятелно или с участие на Fe^{2+} . (43) Познати са четири вида АКФ: *супероксид ($O_2^{\cdot -}$)*, *водороден пероксид (H_2O_2)*, *хидроксилният радикал ($\cdot OH$)* и *синглетен кислород (O_2)*. (44)

Освен кислородни, съществуват високореактивоспособни форми и на други химични елементи, от които с най-голямо значение за живите форми са тези на азота. Означават се като **активни азотни форми**. Такива са *азотен оксид ($NO\cdot$)* и *пероксинитрит ($ONOO\cdot$)*. Азотният оксид се произвежда от различни клетки, в т.ч. ендотелни клетки и макрофаги. (45) Пероксинитритът е продукт на реакция между супероксид и азотен оксид. Той е мощен окислител с кратък полуживот от около 10 ms и реагира с различни биомолекули. (46)

В научната литература са познати няколко различни термина за обозначаване на реактивните кислородни съединения – оксорадикали, свободни кислородни радикали, активни кислородни радикали и комбинации на тези наименования. Предпочитаният термин е „реактивни кислородни видове“ (ROS – Reactive Oxygen Species), тъй като по-голямата част от съединенията, предизвикващи свободно-радикални увреди, съдържат кислородни функционални групи, но по своята химична същност не са радикали и невинаги реагират с клетъчните структури посредством радикални реакции. (47)

Терминът „**радикал**“ е използван за първи път от *Guyton de Morveau* през 1786 година и по-късно е използван и от *Gay-Lussac*, *Liebig* и *Berzelius*, за да обозначи групи от атоми, които са непроменени в много вещества. (48) Думата е производна на латинската дума *radix*, означаваща корен. В терминологията на органичната химия с нея се означава онази част от дадена молекула, която може да бъде заместена от единичен атом или остава непроменена при химични реакции. Такива радикали са свързани здраво в структурата на молекулата и са неразделна нейна част. Съществуват обаче и **свободни радикали**, които представляват самостоятелно съществуващи химически частици (атоми, йони, молекули или части от молекули). (44)(48)(49) Познанието за свободните радикали е преминало дълъг път на развитие.

Според съвременната дефиниция за свободни радикали те са атоми или групи от атоми с неедноен брой електрони във външния си слой, които могат да се образуват при взаимодействието на кислорода с някои молекули. Свободните радикали са много нестабилни и бързо вземат участие във верижни реакции с други съединения, за да си набавят липсващия електрон и по този начин да придобият химическа стабилност. Обикновено те атакуват най-близко разположената молекула. Когато се извършва реакция между два свободни радикала, техните неедноени електрони формират двойка и така радикалите се рекомбинират. Във физиологичните условия на организма повечето молекули нямат неедноени електрони. В хода на тези верижни реакции се предизвиква окисление на различни субстрати, водещо до модифициране на органичните молекули и разграждане на клетъчни структури. (50) Свободните радикали може да се класифицират според тяхната химична природа и биологична активност. По отношение на стабилността си биват нестабилни, които са високореактивни и стават индуктори на верижни реакции, и стабилни, които са нискореактивни. (51) По отношение на химичната структура се делят на две групи – с органична и с неорганична природа. (52) *Halliwell* през 1996 г. предлага свободните радикали с органична природа да се разделят на три основни групи: активни форми на кислород, активни форми на азот и активни форми на хлор. (52)

Източниците на АКФ могат да бъдат ендогенни (митохондрии, фагоцити, физическо натоварване, възпалителни процеси, метаболитен път на арахидоновата киселина, исхемия/реперфузия и др.) и екзогенни (UV-светлина, радиоактивност, редица храни, медикаменти, замърсители от околната среда, цигарен дим и др.). (53)(54) В ниски до умерени количества АКФ са необходими за много процеси в човешкия организъм и обуславят нивото на прооксидантните процеси. Това се случва в резултат на нормалния метаболизъм, но може да бъде повлияно и от въздействието на външни фактори.

2.2. Токсични ефекти на активните кислородни форми. Липидна пероксидация

За радикалите са характерни пет основни биохимични реакции: *пренос на водород, електронен пренос, реакция на присъединяване, реакция с образуване на краен продукт и реакция на диспропорциониране*. Те засягат биологичните молекули ДНК, белтъци и липиди и се осъществяват постоянно в аеробната среда, в която съществуват живите организми. Кумулативният ефект от множеството промени, проявяващи се вследствие въздействието на АКФ, е една от основните причини за настъпване на клетъчна смърт. (47)(48) Оксидативни увреждания в ДНК протичат през целия живот и се проявяват с промени в структурата на базите, веригите и дезоксирибозните остатъци на ДНК. (55) Окислението на белтъците може да доведе до модифициране на аминокиселини и формиране на карбонилни или други киселинни остатъци. При окисление на отделни аминогрупи се променя структурата на цели протеинови молекули, което, от своя страна, води до промяна в активността на различни ензими, рецептори, йонни канали и др. (43) Липидните молекули, които изпълняват важна роля в структурата и функцията на клетъчните мембрани, са най-податливи на действието на АКФ. Процесът на окислението им се нарича *липидна пероксидация* и понастоящем се смята за основния молекулен механизъм, отговорен за оксидативните увреди на организма. Продуктите, получени вследствие на липидната пероксидация, са цитотоксични. (56)

Важен факт е, че липидната пероксидация не може да бъде измерена експериментално. Поради тази причина продуктите на липидна пероксидация се използват като биомаркери за оценка на прооксидантните процеси в организма, респективно за оценка на оксидативния статус. (57)(58)(59) Най-голямо внимание се обръща на *малондиалдехид (МДА)*, който е само част от големия брой карбонилни остатъци, формирани при липидната пероксидация. (59)(60)

2.3. Антиоксидантна защита и оксидативен стрес

Генерирането на свободни радикали е естествен процес, който не може да бъде спряен. За щастие в еволюционното развитие на организмите са възникнали защитни механизми, които предотвратяват неконтролното развитие на окислително-радикаловите процеси. При нормални физиологични условия в човешкия организъм обикновено съществува баланс между продукцията и елиминирането на реактивни кислородни метаболити, осъществен от комплексна и стриктно организирана антиоксидантна система. (61)(62)

Според дефиницията, дадена от *Halliwell* и *Gutteridge* през 1989 г., антиоксидант е „всяка субстанция, която макар и в много по-ниски концентрации от тези на окисляемия субстрат значимо забавя и/или инхибира неговото окисление“. (51) В по-широк аспект в понятието „антиоксидант“ могат да бъдат включени всички вещества, които забавят или предотвратяват окислителното увреждане на биологичните структури. Антиоксидантите са молекули, които могат безопасно да взаимодействат със свободните радикали и да прекъсват верижните

реакции преди разрушаване на жизнено важните молекули. Една антиоксидантна молекула може да влиза в реакция само с един свободен радикал. Това води след себе си необходимостта от постоянно подновяване на антиоксидантните ресурси. (42)(51)(63)

Антиоксидантната защита включва *ендогенни антиоксиданти*, които могат да бъдат с ензимна и неензимна природа, и *антиоксиданти, постъпващи с храната*. (64) Главните ензими, участващи в обезвреждането на АКФ, са супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза, ерготионеин пероксидаза, НАД(Ф)Н пероксидаза, аскорбат пероксидаза и др. Неензимната защитна система се състои от малки молекули, които са разтворими или във водна или в някои случаи в липидна среда. Основните представители на неензимната антиоксидантна система са глутатион, тиоредоксини, протеини с SH-групи, ерготионеин, мелатонин и някои ендогенни метаболити като L-метионин, L-цистамин, билирубин, таурин, пикочна киселина и др., които изпълняват ролята на вторични „прихващачи“ на свободни радикали. (65)

Балансът между интензитета на прооксидантните процеси и активността на антиоксидантната защита определя оксидативния статус на организма. Резки промени в скоростите на тези два процеса или намесата на различни външни или вътрешни фактори могат да нарушат деликатния баланс между тях. Това води до състояние, известно като **оксидативен стрес**. (66) Концепцията за „оксидативен стрес“ е въведена за първи път от *Helmut Sies* през 1985 г. и според нея „оксидативният стрес е процес, при който естественият баланс между прооксидантите и антиоксидантите е изместен към страната на окислението, предизвикващо биологично увреждане“. (67) Използването на термина „стрес“ подчертава неблагоприятните последици, които възникват при нарушаване на съществуващия клетъчен прооксидантно-антиоксидантен баланс. (68)(69)(70)(71) Оксидативният стрес е в основата на формулираната за първи път през 1956 г. от *Denham Harman* „свободно-радикалова теория за стареенето“. Според *Harman* свободните радикали, които се произвеждат по време на аеробното дишане, имат вредни ефекти върху клетъчните компоненти и съединителната тъкан и причиняват кумулативни щети с течение на времето, което в крайна сметка води до стареене на организма и смърт. (70) Оксидативният стрес може да бъде отговорен за индуцирането на различни заболявания (сърдечно-съдови, невродегенеративни, рак и др.), както и да ускори естествения процес на стареене на организма. (72)(73) Той може да е първопричината за възникване на дадено заболяване (напр. токсичност, причинена от радиация или паракват) или да допринесе за неговата прогресия (болест на Алцхаймер, ХОББ, хипертония и др.) (74)

2.4. Оценка на оксидативния статус на организма. Малондиалдехид

Оксидативният статус на организма може да се изследва и оцени основно по три начина: чрез директно измерване нивата на АКФ, чрез изследване на количеството/концентрацията на

биомолекули, които са били променени под действието на АКФ, или чрез определяне на състоянието на антиоксидантната защитна система. (75)(76)

Повечето АКФ са изключително високо реактивоспособни с кратък полуживот и нестабилна химическа структура, което значително затруднява директното им измерване и изследване в рутинната клинична практика. Поради тези причини за оценка на оксидативния статус се изследват ефектите от тяхното действие върху организма. (77) Продуктите от окислителното разграждане на различните биомолекули като ДНК, РНК, белтъци или липиди характеризират индиректно прооксидантните процеси на организма, но изключителната им стабилност ги прави надеждни маркери за оценка на оксидативния статус и предпочитани показатели за изследване в сравнение с АКФ. (41)(75)

Малондиалдехидът е основният и най-изучаван продукт на вторичното разграждане на полиненаситените мастни киселини. В ролята си на крайно съединение той се използва широко като индекс на оксидативен статус, респективно мярка за оксидативна увреда. (78)(79) Възможността да бъде лесно изолиран от кръв, урина и други биологични течности го прави предпочитан маркер за оценка на оксидативния статус. Има доказателства, че процесите при образуването на МДА имат основна роля в патогенезата на преждевременната атеросклероза (80). Установено е също, че освен атерогенен, МДА има мутагенен и карциногенен потенциал, което допълнително налага необходимостта от неговото изследване и мониториране.

Концентрацията на МДА би могла да се определи с различни аналитични техники. За количественото му изследване в биологични течности (серум, плазма, урина) се използва реакцията с тиобарбитурова киселина, която може да се измери спектрофотометрично или флуориметрично. (81) Този метод обаче се характеризира с ниска специфичност поради възможна лъжливо положителна интерференция на захари, биливердин, билирубин, албумин, сиалова киселина, гликопротеини и урея, както и поради възможността и на други алдехиди да реагират с тиобарбитуровата киселина. (81)(82)

За количествено определяне на МДА могат да се използват и редица високоразделителни техники като капилярна електрофореза, газова хроматография с масспектрометрично отчитане, течна хроматография и високоефективна течна хроматография. (81)(83) Предимствата на тези методи са висока аналитична специфичност, чувствителност и възпроизводимост, но изискването на скъпа апаратура и тясно профилиран персонал ограничават тяхното прилагане в реалната практика. Вече има разработени търговски ELISA тест набори за количествено определяне на МДА в лизати от клетки или тъкани, в серум или плазма.

Към настоящия момент все още няма показател или група от показатели, които да се приемат като „златен стандарт“ при измерването на оксидативен стрес.

3. Оксидативен стрес и бета-таласемия майор

Предвид съвременните разбирания за патогенезата на таласемичните синдроми през последните години те все повече се възприемат като заболявания, свързани с оксидативно увреждане на организма, предизвикано от свободни радикали. При пациентите с БТМ, освен преждевременната хемолиза на еритроидните клетки, важно значение за тяхната намалена преживяемост има и оксидативният ефект на натрупаното в организма свободно желязо вследствие на редовните хемотрансфузии. Оксидативният стрес при тези пациенти е широко изследвана тема през последните години. (84)(85)(86)(87)(88)(89)

3.1. Железен свръхтовар и бета-таласемия майор

Има два основни начина за натрупване на желязо в организма: от храната чрез гастроинтестиналния тракт (ГИТ) и чрез регулярни хемотрансфузии.

При наличие на анемия организмът се опитва да компенсира дефицитната хемопоеза като абсорбира значително повече желязо през ГИТ, отколкото обикновено (2-5 g/годишно в сравнение с 0,0015 g/годишно при напълно здрави хора) (2)(90)(91) За разлика обаче от анемийните синдроми, свързани с железен дефицит, анемията при БТМ се дължи на преждевременна хемолиза на клетките от еритроидния ред и е асоциирана с нормални или високи нива на серумно желязо и феритин. При тези пациенти физиологичната компенсаторна реакция за повишена абсорбция на желязо от ГИТ има неблагоприятен ефект, който на настоящият етап може да бъде повлиян единствено чрез поддържане на добри хемоглобинови нива. На практика това може да бъде постигнато чрез прилагане на оптимални хемотрансфузионни режими, поддържащи претрансфузионни нива на Hb над 9 g/dl. Установено е, че при неадекватно трансфузираните пациенти компенсаторно абсорбираното желязо от ГИТ е 1–5 mg/ден, което за една година се равнява на около 0,4-2 g допълнително желязо. (92)(93)

Основният източник на желязно натрупване при редовно трансфузирани пациенти с БТМ е прелятата кръв. Всеки милилитър червени кръвни клетки съдържа около 1,16 mg желязо. Стандартна единица кръв съдържа около 250 ml еритроцитен концентрат или между 200–290 mg желязо. (94) Желязото, освободено при разпадането на трансфузираните еритроцити, е най-големият източник на железен свръхтовар. (95) Поради факта, че човешкият организъм няма способността да екскретира излишното желязо, то се натрупва предилекционно в паренхимните клетки на черния дроб, сърцето и част от ендокринните жлези.

При ЖСН се наблюдава пренасищане на рецепторите на гликопротеина трансферин, който играе основна роля при транспорта на желязото в кръвта. При нормални условия една трета от неговите свързващи места са наситени с желязо и две трети от капацитета му остава в резерв. Степента на „запълненост“ на трансферина с желязо се отразява чрез лабораторните

показатели тотален желязосвързващ капацитет (ТЖСК), латентен желязосвързващ капацитет и процент на насищане на трансферина. (95) (91) Пренасищането на рецепторите му създава предпоставка за наличие на *свободно, несвързано с трансферина желязо*, циркулиращо в кръвта. Свободното желязо обикновено е двувалентно и е изключително токсично поради участието му в процеси, при които се генерират свободни кислородни радикали. Обикновено то се открива в плазмата, когато трансфериновата сатурация надвиши 75%. (93)(96) В условията на железен ексцес несвързаното с трансферина желязо се поема основно от клетките на черния дроб, бъбреците, панкреаса и кардиомиоцитите. (97)(98)(99)(100) Количественото му определяне е маркер за оценка на железен свръхтовар при пациенти, при които има риск от желязно свръхобременяване. (101)

Свободното, несвързано с трансферин желязо е нестабилно и притежава прооксидантни свойства. (102)(103) Когато желязото привлече електрон, то променя своята валентност от 3+ (т.нар. фери желязо) на 2+ (т.нар. феро желязо). При преходът на желязото между 2+ и 3+ валенция се продуцират *свободни радикали*, които са причина за *оксидативен стрес*. (104) (105)

Основна реакция, при която се образуват свободни радикали, е *реакцията на Фентън*: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} = \text{OH}^- + \text{HO}^\cdot + \text{Fe}^{3+}$. В тази реакция желязото повишава своята валентност и, взаимодействайки с молекула на водороден прекис, води до появата на хидроксилен радикал. Той може да се свърже с различни биомолекули, включително ДНК. (106)(102) Друга значима реакция е *реакцията на Хабер-Вайс*: $\text{O}_2 + \text{Fe}^{3+} = \text{O}_2^\cdot + \text{Fe}^{2+}$, при която, обратно на Фентъновата реакция, металният йон се редуцира. Описаните две реакции се допълват и могат да продължат безкрайно, водейки до повишаване на нивата на свободни радикали в клетките. (88)(107)

Генерирането на свободни радикали и навлизането на свободно желязо в клетките и тъканите води до различни клетъчни и органни увреди. (108)(109)(110) Доказано, че свободните радикали водят до увреждане на съдовата мускулатура, а железният свръхтовар редуцира синтеза на азотния оксид и води до намаляване на съдовия тонус. (111) Феритинът е цитоплазмен протеин, който съхранява желязото в неговата биологична, нетоксична фериформа, като основният орган за съхранение е черният дроб. Освен в чернодробните клетки, малки количества феритин се намират в костния мозък, слезката, мускулите и кръвта. Серумният феритин корелира положително с размера на общото количество желязо в организма и се използва като най-удобен, достъпен и евтин лабораторен тест за неговото определяне. При пациентите с БТМ серумните концентрации на феритина отразяват степента на ЖСН и се използват за оценка на ефекта от хелатиращото лечение. (112)(113)(114)(115) Въпреки че няма точно определени граници за нива на феритина при БТМ, в практиката се приемат стойности под 1000 ng/ml. (13) Това са и стойностите, при достигането на които се препоръчва стартиране на хелатиращо лечение при новооткрити пациенти. Различни

проучвания при пациенти с БТМ доказват, че при достигане на феритинови концентрации над 1000 ng/ml първият орган, в който се установява ЖСН, е черният дроб. Впоследствие, с повишаване на феритиновите нива, отлагането на желязо прогресира и в другите таргетни органи – сърце, слезка и панкреас. (116)

Дългосрочният контрол на серумния феритин при пациенти с БТМ е полезен ориентир за риска от усложнения от претоварване с желязо. Много изследователи доказват връзка между контрола на серумния феритин и прогнозата на заболяването (32)(114)(117). Проучвания са установили значително по-нисък риск от сърдечни заболявания и смърт в най-малко две трети от случаите, когато нивата на серумния феритин са се поддържали под 2500 µg/l за период от десетилетие или повече. (114) Наблюдения с по-голям брой пациенти показват, че поддържането на още по-нисък серумен феритин от 1000 µg/l може да бъде свързано с допълнителни клинични предимства. (32)

3.2. Малоналдеhid и бета-таласемия майор

Rachmilewitz et al. първи установяват през 1976 г. че бета-таласемичните еритроидни мембрани са обект на повишена липидна пероксидация. Резултатите от тяхното проучване доказват, че крайният ефект е повишение на МДА и правят предположението, че по-високите му концентрации биха могли да допринесат за допълнителна промяна в организацията на двуслойната липидна клетъчна мембрана. (118) Две години по-късно *Giardini et al.* установяват, че концентрацията на МДА в еритроцитите на пациенти с БТМ е значително по-висока от тази на здрави контроли (119). *Livrea et al.* съобщават и за двукратно по-високи нива на МДА при пациенти с бета-таласемия интермедия (БТИ), сравнено със здрави контроли. (80) През следващите години и до настоящия момент многобройни проучвания на колективи от страни със широко разпространение на бета-таласемичния ген доказват повишени нива на МДА при пациенти с БТМ. (120)(121)(122)(123)(124)(125)(126)(127)(128)(129)(130) (131)(132)

През 2012 г. *Awadalla et al.* съобщават за значително повишен МДА при пациенти с БТМ и го обясняват чрез различни механизми, вкл. с излишното количество желязо и утаяване на свободните α-глобинови вериги с последващо генериране на вътреклетъчни АКФ. Авторите предполагат, че повишената чернодробна липидна пероксидация, в резултат на натрупване на феритин, също може да повиши скоростта на образуване на МДА в кръвообращението. (133) Техните резултати са предшествани от подобни наблюдения и заключение от *Semsek et al.* през 2005 г. и *Walter et al.* през 2006 г. (134)(135)

През 2021 г. е проведен систематичен преглед и метаанализ на всички проучвания, които изследват нивата на МДА и на феритин при пациенти с БТ, и ги сравняват с тези на здрави контроли. Този метаанализ е направен от цялостен преглед на литературата за пациенти с различни видове БТ и от различни региони, предимно от страните с широко разпространение

на таласемия. (136) В проучванията (общо 27 на брой), които са включени в метаанализа, участват пациенти, които не са приемали антиоксидантна терапия. (137)(138)(139)(140)(134) Включени са и две проучвания, обхващащи пациенти с БТ, лекувани с антиоксиданти, но стойностите на МДА са изследвани преди началото на техния прием. (120)(126) Анализът е показал, че както феритинът, така и прооксидантният биомаркер МДА са значително повишени (общата р-стойност е $< 0,001$) както при ТЗБТ, така и при НТЗБТ, независимо от клиничната тежест, възрастта, пола и трансфузионите зависимости на пациентите в сравнение със здрави контроли. На базата на получените данни авторите правят заключението, че МДА може да се използва като добър сурогатен маркер за железен свръхтовар при всички видове БТ, независимо от тежестта и зависимостта от кръвопреливане. Следователно той може да се използва като прогностичен биомаркер за проследяване, особено на ефекта от хелатиращата терапия, и да замени острофазовия протеин феритин. (136)

4. Оксидативен стрес и съдова увреда

4.1. Липиден профил, липидни индекси и дислипидемия

Промени в липидния профил са открити при пациенти с различни хематологични заболявания – сърповидноклетъчна анемия, дефицит на глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа, наследствена сфероцитоза, апластична анемия и миелодиспластичен синдром, като патогенезата им не е съвсем ясна. (80)(121)(141)(142)(143)(144) Някои от предполагаемите механизми са разреждане на плазмата поради анемия, активиране на макрофагалната система с освобождаване на цитокини и хормонални нарушения. (5)

Изследването на липидния профил е рутинен биохимичен метод за оценка на атерогенния статус при индивиди с риск от ССЗ. То включва определянето на серумните нива на триглицериди, общ холестерол и неговите субфракции HDL-холестерол и LDL-холестерол. Липидният параметър, който привлича най-голямо внимание, е LDL-холестеролът. Той се счита за основен и независим сърдечно-съдов рисков фактор и е важна и съществена част от инструментите за оценка на сърдечно-съдовия риск. (145) Проучвания доказват, че дори индивидите с нормални нива на общ холестерол са изложени на висок риск от развитие на миокарден инфаркт, ако нивата на LDL-холестерола са ниски. (146)(147) Намаляването на стойностите на LDL-холестерола е включено в стратегиите за профилактика на ССЗ. (148) Според ръководство на Европейското дружество по кардиология за лечение на дислипидемия от 2016 г. LDL-холестеролът трябва да бъде първата цел за лечение и след това да се обърне внимание на другите липидни параметри в конкретните случаи. (145) Фрамингамското проучване доказва ролята на LDL-холестерола в развитието на коронарната болест и първостепенното значение на неговите повишени нива за прогресията на атеросклеротичните

съдови промени. (149) Затова серумните нива на LDL-холестерола се използват като таргет както при инициране, така и при контрол на провежданото липидопонижаващо лечение. (150)

В клиничната практика HDL-холестеролът и триглицеридите остават почти пренебрегнати в сравнение с вниманието, което се обръща на LDL-холестерола. В проучвания на някои автори обаче се доказва, че ниските и изключително високите нива на HDL-холестерола, както и високите нива на триглицериди също повишават риска от ССЗ и смъртност. (151) Установено е също, че и non-HDL-холестерола (общ холестерол минус HDL-холестерол) е високорисков фактор за ССЗ. (152) Според препоръките на Националната липидна асоциация non-HDL-холестерола дори е по-информативен от LDL-холестерола и може да се използва за преценка за инициране на терапия. (153)

Различни проучвания доказват обаче, че при лица с оптимални и дори значително намалени нива на LDL-холестерол също се демонстрира наличие и прогресия на атеросклероза и сърдечно-съдови събития. Това явление е известно като остатъчен риск, който не може да бъде оценен само чрез определяне на нивата на LDL-холестерола. Това е една от причините за непрекъснато растящия интерес към използването на *алтернативни липидни параметри и съотношения*, целящи подобряване на скрининга на рисковите индивиди, особено при тези с референтни стойности на LDL-холестерол. (154)(155)(156)(157)(158)(159) Понастоящем за прогнозиране на риска от преждевременна атеросклероза и сърдечна заболеваемост се използват следните липидни индекси – *атерогенен индекс на плазмата, рискови индекси на Castelli I и II и атерогенен коефициент*. (160)(161)

Атерогенният индекс на плазмата (AIP) представлява логаритмично трансформирано съотношение от измерените триглицериди и HDL-холестерола, като и двата показателя са независими рискови фактори за коронарна артериална болест. (162) (163) Индексът корелира тясно с големината на LDL-частиците и може да служи за индикатор на атерогенния липопротеинов фенотип. AIP представлява достъпен и лесен за прилагане сърдечно-съдов маркер, който е особено полезен за прогнозиране на плазмената атерогенност. Клиничните проучвания доказват неговото предиктивно значение за развитие на ССЗ и рутинното му изследване в клиничната практика за оценка на сърдечно-съдовия риск и отговора от проведеното лечение е оправдана. (163)(164)(165) Проучване, публикувано през 2018 год., показва, че атерогенните индекси, вкл. и AIP, корелират добре с хранителния статус, абдоминалното затлъстяване и параметрите на инсулиновата резистентност в педиатричната популация. (166) Доказано е, че AIP не само отразява връзката между защитните и атерогенните липиди, но също така е и силен предиктор за атеросклероза и коронарни сърдечни заболявания. (167)

Атерогенният индекс на плазмата се изчислява на базата на серумните нива на триглицеридите и HDL-холестерола, като и двата показателя самостоятелно са независими рискови фактори за коронарна артериална болест. (167) Според *Dobiasova et al.* стойности на AIP между 0,3 до 0,1 съответстват на нисък риск, 0,10 - 0,24 – среден риск, и над 0,24 – висок кардиоваскуларен риск при възрастни пациенти.

Рисковите индекси на Castelli I (CRI-I), Castelli II (CRI-II) и атерогенният коефициент (AtC) са сред малкото други клинично значими индекси, които се използват за прогнозиране на рискови фактори за коронарна артериална болест. (163) Рисковите индекси на Castelli I (ОХ/HDL-холестерол) и Castelli II (LDL-холестерол/HDL-холестерол) са много мощни рискови индикатори, които имат прогностична стойност за развитие на ССЗ, по-висока от изолираните данни, получени от изследването на стандартен липиден профил. Те отразяват промяната на важния за оценка на съдовия риск компонент, а именно намаляването на защитната фракция на HDL-холестерола за сметка на повишаването на общия холестерол и по-конкретно на LDL-холестерола. Метаанализ от 2022 г. на 13 кохортни проучвания с общо 207 515 участници от общата популация показва, че по-високите стойности на CRI-I са свързани с 43% по-висок риск от сърдечно-съдови събития и стига до заключението, че CRI-I може да се използва за прогнозиране и превенция на ССЗ. (168) Други автори установяват, че това съотношение прогнозира риска от коронарна болест, независимо от нивата на LDL-холестерол и HDL-холестерол. (169) Съотношението LDL-холестерол/HDL-холестерол (CRI-II) също е обект на интерес, но проучванията за неговото прогностично значение при определяне на сърдечно-съдовия риск са все още много ограничени. В проучване на *Bersot et al.* авторите установяват, че CRI-II се асоциира с риск от внезапна сърдечна смърт, който риск е правопрпорционален на неговата стойност. (169)

Non-HDL-холестерол се изчислява като ОХ-HDL-холестерола. Съотношението non-HDL-холестерол/HDL-холестерол се нарича атерогенен индекс или атерогенен коефициент (AtC). Non-HDL-холестеролът е мярка за LDL-холестерола, IDL- и VLDL-частиците. Поради това той се препоръчва като вторична терапевтична цел при индивиди с висока концентрация на триглицериди и се предполага, че може да е сурогатен маркер за серумната концентрация на аполипопротеин В (apoB) в клиничната практика. (170) Атерогенният коефициент е диагностична алтернатива, която може да се ползва за оценка на атерогенния статус на пациента и за прогнозиране на риска за развитие на бъдещи сърдечно-съдови събития. (162)(171)

4.2. Оксидативен стрес и атеросклероза

Както вече беше споменато, оксидативният стрес играе важна роля в патогенезата и развитието на много заболявания, включително и тези на сърдечно-съдовата система, които са

водеща причина за болестност и смъртност в световен мащаб. Проблемът е актуален и в нашата страна, като данните сочат, че около 2/3 от причините за смърт се дължат на миокарден инфаркт, мозъчен инсулт и сърдечна недостатъчност. (172) Приема се, че основен рисков фактор за тяхното развитие и вторични усложнения е атеросклерозата, в основата на която стоят оксидативният стрес и свободните радикали.

Атеросклерозата е мултифакторен процес, който започва още в детска възраст и се развива асимптоматично в продължение на много години. Аутопсии доказват патологични промени в големите артерии още през първото десетилетие на живота, както и атеросклеротични плаки в коронарните артерии на юноши. (173)(174) Идеята за възпалителната генеза на атеросклерозата датира още от XIX век и днес повечето изследователи са привърженици на тезата, че това е съдов процес, медиран от имунната система. В подкрепа на това е наличието на макрофаги и активирани лимфоцити, както и на редица медиатори на възпалението в атеросклеротичните плаки. (175)(176)

Множество доказателства сочат, че основните рискови фактори за атеросклероза (хипертония, захарен диабет, хиперлипемия, тютюнопушене) причиняват и оксидативен стрес, оказващ влияние върху луминалната повърхност на съдовата стена. Многобройни са пътищата, посредством които повишената продукция на АКФ взема участие в развитието на атеросклеротичните изменения. За обяснение на патогенезата на атеросклерозата *Parthasarathy et al.* предлагат теорията за оксидативната модификация. Според нея свободнорадикалните процеси и липидната пероксидация са определящи за инициране на атерогенезата и формиране на атеросклеротични плаки. (177)(178) Именно оксидативният стрес е отговорен за окислителното увреждане на липопротеините, образуването на липидни пероксиди, агрегацията на тромбоцитите и активирането на макрофагите. (179)(180) Най-лесно се окисляват липопротеините с ниска плътност (LDL-холестерол) поради високото им съдържание на полиненаситени мастни киселини (polyunsaturated fatty acid, PUFA), които са основният субстрат за липидна пероксидация при ОС. Оксидативно модифицираните LDL се поемат от макрофагите и така се формират добре познатите „пенести клетки“ на атеросклеротичните плаки. Окислените LDL притежават хемоатрактивни свойства, които улесняват адхезията на моноцитите към съдовата стена и по този начин осъществяват крайния си токсичен ефект чрез инхибиране освобождаването на NO на ниво ендотелни клетки. (181)(182)

Идентифицирането на окислени LDL *in vivo* за първи път е станало възможно в края на 80-те години на миналия век и това е потвърдило теорията за участието на ОС в патогенезата на атеросклерозата. Получените в резултат на липидното окисление силно реактивни алдехиди са една от основните причини за сърдечно-съдова патология и стареене. Регистрирано е

преходно повишение на нивата на определени алдехиди (напр. 4-хидроксиноненал ацеталдехид, акролеин) при сърдечна недостатъчност и при исхемично-реперфузионна увреда. (183)

Окислителната модификация на LDL от свободните радикали води до отрицателни ефекти върху съдовата функция като намаляване на нивата на произведения от ендотелните клетки азотен оксид (NO), ендотелна апоптоза, увеличаване на пролиферацията на гладките мускулни клетки и синтез на провъзпалителни молекули. В качеството си на ендогенно произведена молекула и свободен радикал NO води до вазодилатация, блокиране на тромбоцитната агрегация и пролиферация на гладкомускулните клетки и така противодейства на развитието на атеротромбоза. (184)(185) Като малка, неутрална и хидрофобна молекула азотният оксид е способен да прониква през клетъчните мембрани и да се движи между клетъчните органели, упражнявайки паракринни функции в съдовата стена. Намаленото производство и ниска бионаличност на NO е важна стъпка в развитието на атеросклероза. (186)

Азотният оксид първоначално е бил известен като „произхождащ от ендотела релаксиращ фактор“ (EDRF) и е описан за първи път от *Furchgott* и *Zawadzki* през 1980 г. (187) Около 8 години по-късно *Moncada et al.* (185) и *Ignaro et al.* (188) установяват, че EDRF е идентичен с описания от *Palmer et al.* NO. (186) За откритието си, че NO действа като сигнална молекула в сърдечно-съдовата и нервната система, *Louis Ignarro* и *Ferid Murad* получават Нобеловата награда за физиология и медицина през 1998 г. (188)(186)(184)

Скоро след като е идентифициран като „мистериозен“, произлизащ от ендотела релаксиращ фактор за кръвоносните съдове, NO бързо придобива статут на една от най-важните сигнални молекули в сърдечно-съдовата система. Той е лабилен свободен радикал, който се генерира в организма и функционира като ендогенен медиатор в контрола на системния и микроваскуларен тонус, миокардния контрактилитет, клетъчния нитрозо-редокс баланс и участва в процесите на възпаление и антикоагулация. Азотният оксид е най-малката известна сигнална молекула и поради своята уникалност е обявен за молекула на годината през 1992 г. (189)

В качеството си на регулатор на различни физиологични процеси NO има основна роля в развитието на атеросклерозата, при която отключващият фактор е лезията на ендотелните клетки. Тази лезия може да е обусловена от различни фактори, като към настоящия момент се приема, че оксидативният стрес, реактивните метаболити на кислорода и продуктите на липидната пероксидация са водеща причина за ендотелното увреждане. (190) Самите ендотелни клетки отговарят на оксидативния стрес с продукция на реактивни метаболити на кислорода, които имат много висок афинитет на свързване с NO и допълнително допринасят за неговото инактивиране. (190)(188)

В обобщение, оксидативният стрес играе основна роля в патофизиологията на атеросклеротичната сърдечно-съдова болест (АССБ). Активните кислородни форми по различни механизми влияят на съдовия ендотел и могат да доведат до ендотелна дисфункция, която е основен фактор в развитието на (ССЗ). (191) Освен това АКФ са част от няколко взаимосвързани клетъчни метаболитни пътища, които имат важен принос за развитието на АССБ. (192)

През последните години в медицинската литература все по-често се използва терминът *субклинична атеросклероза* и усилията на съвременната медицина са насочени към ранното установяване на патологични промени в съдовата стена, преди да са настъпили необратими промени в нея. (176) Изявление на American Heart Association подчертава необходимостта от валидизиране на прецизни и надеждни техники и методи за неинвазивно измерване на ранна атеросклероза с цел подобряване на нейната ранна диагностика и превенция на усложненията при деца и възрастни с рискови фактори за развитие на сърдечно-съдови заболявания. (193)

4.3. Ендотелна функция и дисфункция

Ендотелна функция

Благодарение на стратегическото си разположение и голямата си площ ендотелът участва активно в поддържането на съдовата хомеостаза, регулира съдовия тонус, коагулацията и гладкомускулната пролиферация, осигурява баланс между обема на циркулиращата кръв и този на извънсъдовата течност. В отговор на различни стимули, ендотелните клетки (ЕК) синтезират и освобождават различни вазоактивни субстанции – NO, цитокини, адхезионни молекули, ендотелини и др. (194) Ендотелните клетки имат роля в различни имунни и възпалителни процеси в организма и е доказано, че вземат участие и в клетъчната пролиферация и ангиогенеза. Защитната им функция е от особено значение и за мозъка, тъй като те са част от кръвно-мозъчната бариера, осигурявайки ѝ селективна пропускливост. Ендотелните клетки действат като сито и ограничават преминаването на големи молекули, токсични вещества и микроорганизми в мозъчната тъкан и същевременно пропускат необходимите за функционирането му молекули като кислород, ензими и хормони. Благодарение на своите разнообразни синтетични, метаболитни и бариерни функции ЕК се явяват съществена част от главните структури, поддържащи телесната хомеостаза и съответно заемат ключово място в патогенезата на различни заболявания. (195)(196)

Ендотелна дисфункция

Различни фактори могат да увредят ЕК и да причинят т.нар. ендотелна дисфункция. Артериална хипертония (АХ), захарен диабет, дислипидемия, стареене на организма, наднормено телесно тегло и затлъстяване, тютюнопушене, липса на физическа активност,

прекомерен прием на сол и алкохол, психоемоционален стрес и менопауза са част от причините, благоприятстващи и отговорни за съдова ендотелна дисфункция. (197) При голяма част от пациентите са налице повече от един от споменатите рискови фактори. Повечето от тях могат да бъдат модифицирани чрез промяна в начина на живот или чрез подходящи медикаменти за разлика от немодифицируемите такива като пол, възраст и фамиленост. Стареенето е един от основните фактори, отговорни за ендотелна дисфункция. (198) С възрастта съдовете губят своята еластичност и способност да се защитават срещу ендо- и екзогенни неблагоприятни въздействия. Ендотелът губи възможността да изпълнява физиологичните си бариерни функции, нарушава се балансът между вазодилатори и вазоконстриктори в полза на последните и се повишава коагулантната активност. (199)

Ендотелната дисфункция се характеризира с генерализиран дефект в хомеостазната функция и с нарушена ендотел-зависима вазодилатация. Ендотелът придобива проинфламаторна активност и протромботични свойства, които се свързват с различни заболявания – хипертония, коронарна артериална болест, хронична сърдечна недостатъчност, периферна съдова болест, тромботични инциденти, хронична бъбречна недостатъчност и системни възпалителни заболявания като ревматоиден артрит и системен лупус еритематодес. (200) Метаанализ, проведен от *Lerman et al.*, доказва, че нарушената ендотелна функция е независим предиктор за сърдечно-съдови усложнения, вкл. сърдечна смърт, миокарден инфаркт и необходимост от реваскуларизация. (201) Нарушената ендотелна функция се приема като ранно събитие, отключващо развитието на атеросклерозата, и се обсъжда като възможен таргет при нейното лечение. Основни характеристики на ендотелната дисфункция са вазоспазъм, локални промени в коагулация/прокоагулация, абнормна фибринолиза, възпаление и повишена клетъчна пролиферация. Повишената продукция на оксиданти и повишената експресия на рецептори за LDL са също част от нейните прояви. Ендотелната дисфункция не е необратима и е възможно да бъде коригирана чрез промяна в начина на живот и с подходящи медикаментозни средства, повлияващи някои от увреждащите фактори – дислипидемия, високо артериално налягане и повишена кръвна захар. (202)(203)(204)

Ендотелната дисфункция би могла да се изследва по различни начини – чрез функционални тестове, изследващи способността за вазодилатация в отговор на различни фармакологични или физиологични стимули и чрез отчитане на различни биомаркери, повишаващи се при нейната изява. За такива се приемат циркулиращите в кръвообращението разтворими клетъчно-адхезионни молекули – sICAM-1, sVCAM -1, sP-selectin, sE-selectin, sL-selectin, както и някои по-нови маркери като асиметричен диметиларгинин (АДМА) и ендотелин-1. (205) (206) Според някои автори хомоцистеинът, факторът на Вилебранд и

фибриногенът също могат да бъдат приети като показатели, отразяващи наличието на ендотелна дисфункция. (207)

Методи за оценка на ендотелна дисфункция

Оценката на ендотел-зависимата вазодилатация се очертава като достъпен индикатор за здравето на ендотела посредством стимули, които увеличават производството на NO. (208) Ендотелната функция е възможно да се оцени на ниво коронарно или периферно кръвообращение. В първия случай най-често се използват инвазивни методи, базирани на ангиографска оценка на вазодилатацията след инфузиране на вазоактивни вещества като ацетилхолин или нитроглицерин. Инвазивният ѝ характер, зависимостта от опитността на оператора, високата цена и ниската достъпност обаче ограничават нейната употреба. (209)(210)

В наши дни са разработени различни неинвазивни техники за оценка на ендотелната дисфункция, чието приложение е лесно и могат да се използват като скринингови тестове за идентифициране на ранни белези за атеросклероза. Методиките оценяват периферното кръвообращение, като се смята, че дисфункцията на ендотела е системно разстройство. Обикновено изследването се провежда върху брахиалната артерия или съдовете от горната част на ръката. (211)(212) Ултразвукът на брахиалната артерия е широко използван неинвазивен метод за оценка на ендотелната функция. Оклузия на горната част на ръката за 5 минути води до реактивна хиперемия, след като се освободи маншетът. (200)

Поток-медираната вазодилатация е метод, който се използва широко и измерва способността на артериите да индуцират освобождаване на NO, предизвиквайки процес на реактивна хиперемия, причинена от дилатация на дисталната микроваскулатура. (213) При този метод ендотелната функция се оценява чрез ултразвуково измерване на диаметъра на брахиалната артерия по време на реактивна хиперемия. (214) Този тест има прогностична стойност за бъдещо сърдечно-съдово заболяване, не е скъп, но е зависим от сърдечния дебит, осигурява ограничени количествени данни и отново зависи от оператора. (215)

Друг метод за неинвазивна оценка на ендотелната функция на брахиалната артерия е изследването на промените в кръвотока по време на реактивна хиперемия чрез използване на плетизмография. Техниката е неинвазивна, лесно възпроизводима и лесно изпълнима, като резултатите са по-малко зависими от оператора в сравнение с ултразвуковите техники. Методиката оценява процентна промяна в потока спрямо базовия след 5-минутна исхемия на дистална предмишница. (212)

Периферната артериална тонометрия (ПАТ) е по-нов, неинвазивен метод за оценка на ендотелната функция. При него амплитудата на пулсовата вълна се оценява преди и по време на реактивна хиперемия, която е предизвикана от запушване на кръвния поток в брахиалната

артерия с помощта на надуваем маншет. (214) Сравнява се разликата между кръвния поток в ръката с реактивна хиперемия и контролната ръка. Изчисленият индекс на реактивна хиперемия е мярка за ендотелна функция. ПАТ може да доведе до по-възпроизводими резултати от поток-медираната вазодилатация, чиито резултати могат да варират сред специалистите по ултразвукова сонография. От 2003 г. ендотелната дисфункция, измерена чрез периферна артериална тонометрия, е успешно включена в Фрамингамското проучване (Framingham Heart Study). Проучването доказва сигнификантна обратнопропорционална връзка между ендотелната дисфункция, измерена с периферна артериална тонометрия, и сърдечно-съдовите рискови фактори, включващи пол, индекс на телесна маса, общ-/HDL-холестерол, захарен диабет и тютюнопушене. (149)

4.4. Концепция за ранно съдово стареене

Нормалното съдово стареене се асоциира с постепенни промени в съдовете, което води до понижаване на комплайнса и повишаване на тяхната ригидност. Това настъпва в резултат на зависими от възрастта биохимични промени в съдовата стена, например промяна в съдържанието на колагена и еластина. Известно е, че при някои пациенти, като тези с фамилна обремененост за ранна изява на ССЗ и други рискови фактори за атеросклероза и индивиди с ниско тегло при раждане, този процес настъпва преждевременно, който се детерминира като патологично ранно съдово стареене. (216) Патогенетичните механизми на процесите на съдово стареене и атеросклерозата са сходни. Както при стареенето на съдовете, така и при атеросклеротичната болест се установява повишена артериална ригидност, увеличена дебелина на интима-медия слой на съдовата стена и ендотелна дисфункция.

Концепцията за ранно съдово стареене (early vascular aging) е въведена през 2008 г. и се отнася за преждевременните промени в структурата и функциите на артериите и по-точно за артериалната ригидност, която имитира ефектите на естествения процес на стареене. (217) (218) Феноменът „ранно съдово стареене“ се предизвиква от комбинация на сърдечно-съдови фактори, генетично предразположение и фетално програмиране, както и от фактори от околната среда. Факторите, които допринасят за артериалната ригидност, включват нарушено съотношение еластин/колаген, възпаление, предизвикано от реактивни кислородни видове, съдови калцификати, втвърдяване на васкуларните гладкомускулни клетки и ендотелна дисфункция. (219) Всичките тези морфологични и физиологични промени в съдовете могат да бъдат оценени неинвазивно с помощта на редица методи. (220)

Повишената скорост на каротидно-феморалната пулсова вълна е установен отличителен белег за артериална ригидност и подобрява прогнозирането на риска от сърдечно-съдови събития отвъд традиционните сърдечно-съдови рискови фактори. (221)(222)(223) Предложен

е за маркер за ранно съдово стареене и може да бъде диагностициран при индивиди, демонстриращи необичайно високи скорости на пулсовата вълна за тяхната възраст и пол.

4.5. Артериална ригидност

Артериалната ригидност (АР) е показател, който описва физичните свойства на съдовата стена, които се влияят от нейните морфологични и функционални характеристики. Артериалната ригидност отразява степента на разтягане на големите съдове в отговор на изтласквания от сърдечния мускул ударен обем и характеризира промените, които настъпват в интима-медия слоя на съдовата стена. (224) Както вече беше отбелязано, в хода на физиологичния процес на стареене артериалната стена от еластична става ригидна. Освен възрастта, всички традиционни сърдечно-съдови рискови фактори имат негативен ефект върху еластичността на съдовата стена. Заболявания като АХ, захарен диабет, хиперлипидемия и хронично бъбречно заболяване могат да ускорят процеса на втвърдяване на съдовете. (225) Увеличеното средно артериално налягане допринася за развитие на АР, повишавайки хемодинамичния стрес върху артериалната стена. (226)

Намалена артериална еластичност и респ. повишена артериална ригидност възникват в резултат на ендотелно увреждане и дисфункция. Ендотелната дисфункция е маркер за съдово увреждане, който може да се наблюдава преди развитието на атеросклеротична лезия. Доказано е в предишни проучвания, че повишената АР е маркер за повишена сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност. (227)

Артериалната ригидност се възприема от една страна като ефективен прогностичен маркер за бъдещо развитие на сърдечно-съдови заболявания, а от друга – като терапевтична мишена. Тъй като тя е една от най-ранно откриваемите промени в структурата и функцията на съдовата стена, които водят до последващо развитие на ССЗ, е от изключително важно значение да се намери лесен, прецизен, надежден и оптимален метод за нейното измерване. (228)

Понастоящем съществуват различни техники и устройства за добиване на информация, свързана с еластичността на стените на кръвоносните съдове. Разбирането на основните принципи на хемодинамиката е задължително, за да се оценят напълно предимствата и ограниченията на различните методологии и индекси, използвани за оценка на артериалната твърдост, и техните потенциални клинични приложения. През годините физици като *Young* (1808), *Poiseuille* (1840), *Moens* (1878) и *Korteweg* (1878) създават хидравлична и еластична теория. Лекар-физиолози, като *Marey* (1860), *Mahomed* (1872) и *Mackenzie* (1902), разработват различни видове сфигмографи и правят важен принос в анализа на вълната на налягане. (223) По-късно се установява, че механичното поведение на големите артерии е изключително сложно и създава сериозни трудности, както от теоретични, така и от технически аспекти.

Артериите проявяват нелинейни виско-еластични свойства и имат мощни адаптивни механизми. (229) Нито един артериален сегмент няма идентични еластични свойства и е невъзможно да се екстраполират сегментните артериални свойства към цялото артериално дърво. Въпреки това са разработени прости параметри, получени или от модела на *Windkessel*, или въз основа на разпространението на съдова вълна. *Safar et al.* и *O'Rourke et al.* са допринесли значително за клиничното приложение на тези концепции, които се оказват полезни не само за представянето на основното механично поведение на артериалната система, но и за прогнозиране на резултати и подобряване на терапията. (223)(230)(231)(232)

Хемодинамика и артериална ригидност

При всеки удар на сърцето се генерира и се разпространява пулсова вълна по протежение на артериалното съдово русло до всяка точка на бифуркация или до откриване на периферно съпротивление, генерирайки нова вълна в обратна посока към сърцето (отразена вълна). (233) Скоростта на тази отразена вълна, както и фазата на сърдечния цикъл, в която е генерирана (систола или диастола), зависи от периферното съдово съпротивление, еластичността на големите артерии и централното артериално налягане. Пулсовата вълна се движи от центъра към периферията със скорост, която зависи от артериалната разтегливост, респ. артериалната ригидност. Разпространението на пулсовата вълна в големите артерии се извършва обикновено със скорост от около 5-6 m/s. Съществува пряка зависимост между скоростта на кръвния ток и тази на пулсовата вълна, като в големите артерии кръвният ток се движи значително по-бавно от пулсовата вълна. Еластичните свойства на артериите се променят по хода на артериалното дърво, като проксималните артерии са по-еластични, а дисталните са по-ригидни. (234) Скоростта варира и в зависимост от артериалното налягане и от физичните особености на съдовата стена. Тъй като по-малките артерии имат по-малка разтегливост от аортата, скоростта в тях е по-голяма. (235)

При младите индивиди артериите са по-еластични и отразената вълна е бавна и достига до сърцето по време на диастола, като по този начин се повишава диастолното налягане и се подобрява перфузията на коронариите. С възрастта и в хода на стареенето на съдовете скоростта на пулсовата вълна се увеличава, което се асоциира с по-ранно генериране на отразената вълна още по време на систола. Това води до повишаване на систолното кръвно налягане с последващо повишаване на сърдечното натоваарване и намаляване на коронарната перфузия. (229) Пулсовата вълна се разпространява по-бързо през ригидните съдове, което прави измерването на скоростта на пулсовата вълна (СПВ) важен показател за оценка на ригидността на съответния артериален сегмент. Повишената СПВ е индикатор за атеросклероза и може да се използва за идентифициране на пациенти, които имат повишен сърдечно-съдов риск. (236)

Методи за оценка на артериална ригидност

Артериалната ригидност може да бъде оценена чрез различни методи – инвазивни и неинвазивни. Измерването ѝ помага за оценката на сърдечно-съдовия риск и допълва останалите рискови фактори (АХ, липиден статус, кръвна глюкоза).

Съществуват три основни начина за оценка на артериалната ригидност: измерване на скоростта на разпространение на пулсовата вълна (СПВ), анализ на пулсовата вълна и локално измерване на съдовата ригидност. (223) Оценяването на АР чрез измерване на скоростта на пулсовата вълна или чрез изчисляване на индекса на аугментационното налягане е включено в последната актуализация на препоръките на Европейското кардиологично дружество (септември 2021 г.) като метод за оценка на сърдечно-съдовия риск. (237)

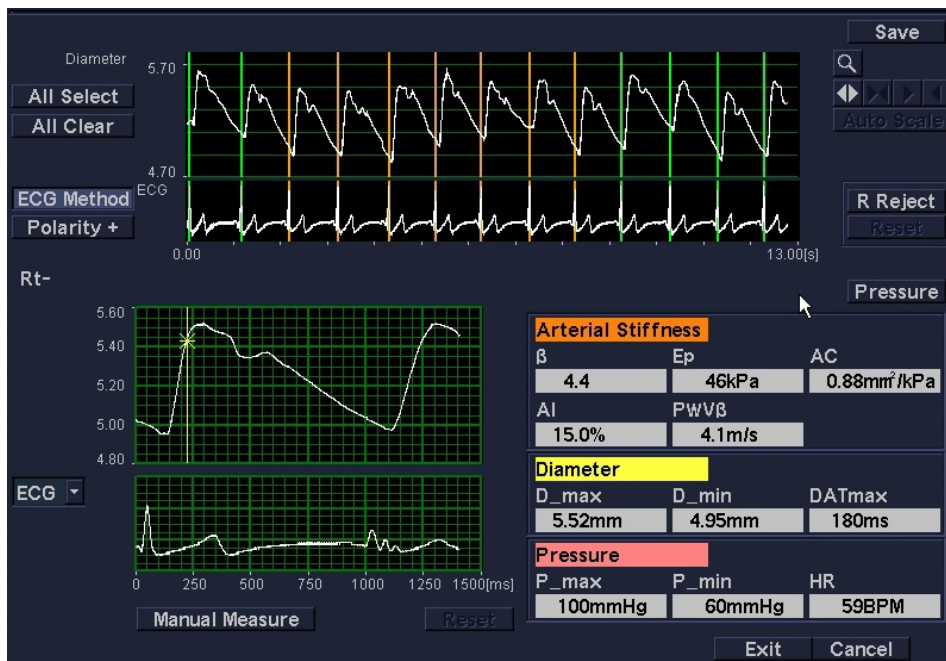
Измерване на скоростта на пулсовата вълна (СПВ, pulse wave velocity, PWV), преминаваща през определен съдов участък, е неинвазивно изследване и се изчислява като съотношение между разстоянието, на което се намират двете точки на измерване и времето, което е необходимо на пулсовата вълна да премине между тези две места на измерване. Изследването би могло да се извърши върху различни артериални сегменти – каротидо-феморален (cf-PWV), брахио-глезенен (ba-PWV) или в една единствена точка на съда (PWV β). (238) Използват се различни измерващи устройства – тонометрични, ултразвукови, осцилометрични и магнитнорезонансни. Измерването на каротидно-феморалната скорост на разпространение на пулсовата вълна е златен стандарт в измерването на артериалната ригидност. Сигналите се събират от каротидната и феморалната артерия, които са разположени близо до аортата, като се използват различни търговски системи. Събирането на данни може да се извърши едновременно или последователно, ръководено от ЕКГ. Въпреки че това е най-надеждният и най-широко използван метод за оценка на артериалната ригидност, трябва да се отбележи, че той не оценява възходящата аорта и част от аортната дъга. (239) Магнитнорезонансната томография (МРТ) вероятно е единственият метод, който може да осигури най-точно анатомично изобразяване и транзитно време на пулсовата вълна и да позволи оценка на всички сегменти на аортата, които не могат да бъдат оценени с cf-PWV. (240) Но цената на този метод, времетраенето на провеждането на изследването и неповсеместната му наличност го правят трудно приложим в ежедневната практика.

Брахио-глезенната СПВ (ba-PWV) е алтернативен метод за оценка на СПВ в друг сегмент, измервайки преминаването на пулсовата вълна от брахиалната и глезенната артерия. Разстоянието между двете места на измерване се изчислява чрез линейна регресия на телесното тегло. Въпреки това голямото разстояние между двете артерии и различната структура на артериите, по които пътува пулсовата вълна, водят до неясноти при тълкуването на резултатите. (241)

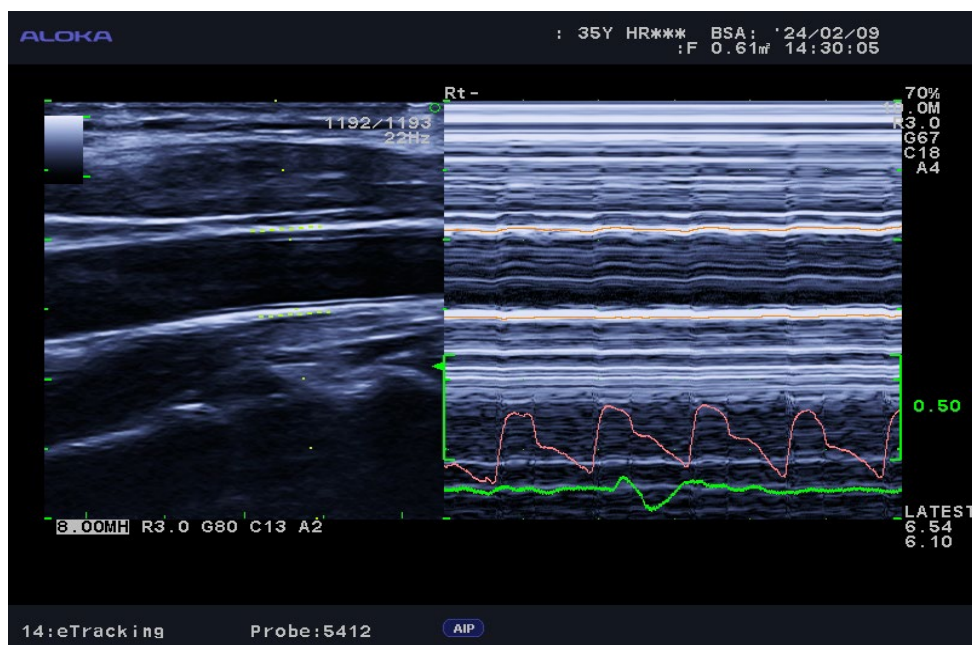
Кардио-глезенният васкуларен индекс се получава от индекса за артериална ригидност и е въведен от японски изследовател *Shirai et al.* през 2006 г. за получаване на независими от налягането стойности за артериална ригидност. Този индекс има добра възпроизводимост при различни съдови заболявания, но все пак има редица клинични състояния, при които употребата му е ограничена, като аортна стеноза, предсърдно мъждене и периферна артериална болест. (242)(241)

Пулсовата вълна може да бъде оценена и индиректно чрез анализ на отразената вълна, което се определя количествено чрез индекс на увеличение (аугментационен индекс, AIx) в каротидната или в радиалната артерия. Аугментационният индекс се определя от амплитудата на отразената вълна, от разстоянието до мястото, където се е отразила, и от фазата на сърдечния цикъл. За определянето на този индекс също са необходими допълнителни параметри като пулсово налягане, систолно артериално налягане и често се оценява заедно с измерването на СПВ.

Пример за модерен и неинвазивен метод е ехографската техника ехо-тракинг (echo-tracking, ET), която измерва СПВ в една точка на каротидната артерия, намираща се на 1.5-2 см от нейната бифуркация ($PWV\beta$). Тази техника има потенциала да преодолее гореизброените недостатъци на другите методики. (238) *Melnikova et al.* я определят като модерен аспект в измерването на локалната ригидност на артериалната стена посредством ултразвук в B-mode. (243) Тази техника е от особен интерес поради лесното ѝ техническо изпълнение, бързина, добра възпроизводимост и повторяемост. (234) Предпочитани места за изследване са общата каротидна или феморална артерия поради анатомичната им локализация. Чрез нея се оценяват пет показателя на артериална ригидност: **β -stiffness индекс** – измерва артериалната съдова ригидност независимо от артериалното налягане), **E_p (константа на еластична деформация или модул на еластичност)** – измерва механичните свойства на артериалната стена, **АС (артериален комплайънс)** – описва абсолютната промяна в диаметъра или площта за дадена промяна на налягането, **AIx (аугментационен индекс)** – показва каква част от пулсовата вълна се определя от отразената вълна и се изчислява като процент от пулсовото налягане, **$PWV\beta$ (скорост на пулсовата вълна в една точка)** – произхожда от β -stiffness индекса и носи информация за артериалната ригидност в определен специфичен регион на интерес. (234)(244) Тези показатели се генерират от софтуера на програмата и са базирани на изчисления според сложни математически алгоритми. От изброените параметри β -stiffness индексът и $PWV\beta$ са главните показатели за оценка на артериалната ригидност.



Фиг. 1. Ехографско измерване на показателите на артериална ригидност: образ на ехо-тракинг изследване с измерени стойности на β -stiffness index, Ep, AC, AIx, PWV β



Фиг. 2. Ехографски образ на общата каротидна артерия (ляво) и запис на поредица от пулсови вълни и ЕКГ (дясно)

През 2017 г. *Vriz et al.* провеждат изследване, включващо 900 здрави лица, на базата на което успяват на изведат референтни стойности на локалната каротидна ригидност, измерена чрез ехо-тракинг според възрастта. (234) През 2019 г. е публикуван доклад за референтните стойности на ригидност на общата каротидна артерия при здрави лица от различна възраст и пол, изготвен от 14 европейски центъра в рамките на международно сътрудничество в областта на ехо-тракинг (ETIC, E-tracking International Collaboration). (245)

5. Бета-таласемия и сърдечно-съдов риск

Атеросклеротично обусловените ССЗ са водеща причина за смърт сред общото население, представлявайки около една трета от смъртните случаи през 2019 г. според доклад на American Heart Association и се възприемат като епидемия на съвременната цивилизация. (246) Сърдечно-съдовите заболявания са резултат както от наличието на наследствени фактори, така и от фактори от обкръжаващата околна среда. (247) Един от известните рискови фактори за развитието и прогресията на атеросклерозата и ССЗ е натрупването на желязо в организма. (248) Както вече стана ясно, железният свръхтовар подпомага развитието на атеросклеротични плаки и катализира продукцията на свободни радикали, които от своя страна увеличават риска от развитие на исхемични сърдечно-съдови инциденти. (249) *Salonen et al.* (250) доказват, че високите феритинови концентрации ($> 200 \text{ mg/L}$) са свързани с 2,2 пъти по-висок риск от остър миокарден инфаркт при мъже. (251) Преди последното десетилетие атеросклеротичните съдови промени и свързаните с тях ССЗ са били с ниска честота при пациентите с БТМ и това се обяснява с тяхната ограничена преживяемост и наследствено обусловени по-ниски нива на холестерол. Тъй като продължителността на живота на тези пациенти се увеличава, има тенденция честотата на ССЗ да достигне високите проценти, характерни за общото население. Очаква се да се промени и спектърът на съпътстващите заболявания. (29)

Оценката на ранната съдова увреда, оксидативния стрес и атерогенната дислипидемия при пациентите с БТМ са актуални проблеми и широко застъпени области в световната медицинска наука. Имайки предвид, че състоянието на артериите показва в голяма степен биологичната възраст на организма, съвременните изследвания са насочени към търсене на показатели за ранно съдово увреждане и терапевтични подходи за неговото повлияване.

5.1. Липиден профил и липидни индекси при бета-таласемия майор

Инсулиновата резистентност, чернодробната увреда, оксидативният стрес и спленектомията са патологичните механизми, които засягат липидния и въглехидратния метаболизъм при пациентите с БТМ. (131)(252)(253) Натрупаното желязо в черния дроб води до постепенно увреждане на хепатоцитите, ретикуло-ендотелните клетки и често резултира до чернодробна фиброза. Тези промени се манифестират с **повишени чернодробни ензими, ниско серумно ниво на общ холестерол, ниски нива на HDL-холестерол и LDL-холестерол и високи нива на триглицериди**. Възрастта, полът, хранителните навици и етническата принадлежност са част от факторите, които оказват влияние върху липидната хомеостаза при деца и възрастни с БТМ. (254)

Промени в липидния профил при пациенти с бета-таласемия майор са наблюдавани от различни изследователски екипи.

Maioli et al. са един от първите колективи, които в своите проучвания, публикувани от 1984 до 1997 год., правят предположението, че увреждането на черния дроб, ускорената еритропоеза и повишеното усвояване на липопротеини с ниска плътност от макрофагите и хистиоцитите на ретикулоендотелната система са основните детерминанти за ниските стойности на общия холестерол при пациенти с бета-таласемия. (255) През 1991 г. *Goldfarb et al.* установяват също по-ниски стойности на общ холестерол и аномалия в структурата и състава на липопротеините при пациенти с БТМ. Те приемат, че анемията, заедно с активирането на макрофагалната система и чернодробна дисфункция, обясняват установения серумен липопротеинов модел. (144) В проучване на *Amendola et al.* от 2007 г. се предполага, че по-високата активност на костния мозък с повишена консумация на холестерол също може да бъде причина за липидните аномалии при пациенти с бета-таласемия. (143)

Unchern et al. са едни от колективите, които изказват предположението, че дислипидемията при бета-таласемия е следствие от липидна пероксидация, свързана с оксидативния стрес, който е предизвикан от високия железен свръхтовар. (256)

Hartman et al. обясняват хипохолестеролемиата при пациенти с БТМ с различни комплексно действащи механизми, свързани с хемодилуция поради анемия, прекомерна нужда от холестерол поради еритроидна хиперплазия, повишено освобождаване на цитокини поради активиране на макрофагалната система и повишено усвояване на холестерола от активираната ретикулоендотелна система и чернодробна увреда поради обременяване с желязо. (257)

Sherief et al. изследват липидния профил на деца с БТМ и съобщават за понижени нива на общ холестерол, LDL- и HDL-холестерол и повишени триглицериди. На базата на тези резултати те правят заключението, че дислипидемията в детска възраст може да бъде рисков фактор за развитие на преждевременна атеросклероза. (258) Няколко години по-рано *Mashaali et al.* също съобщават за по-високи стойности на триглицериди и по-ниски на общ холестерол и HDL-холестерол при деца с БТМ. Причините, които посочват, са повишена консумация на холестерол поради засилена еритропоеза, железен свръхтовар, хормонални нарушения и оксидативен стрес при бета-таласемия. (259) Проучване на *Shams et al.* от 2010 г. демонстрира, че нивото на триглицеридите е било значително по-високо при пациенти в сравнение със здрави контроли и нивото им е корелирало със стойностите на серумната глюкоза, общия холестерол, АСАТ, АЛАТ, серумно желязо, феритин и възрастта на пациентите. (260) В друго изследване, проведено от *Papanastasiou et al.*, хипертриглицеридемия е наблюдавана при 34,6% от пациентите в сравнение с 6.6% от контролите и е открита положителна корелация между нивата на триглицеридите и възрастта на пациентите. (261) Има и проучвания обаче, в които не е открита разлика в нивата на триглицеридите между пациенти и здрави контроли.

(262) Тези несъответствия биха могли да се обяснят с вариации в начина на живот, хранителните навици, етническата принадлежност и се нуждаят от по-нататъшно валидиране чрез допълнителни изследвания. (262)

През 2022 г. *Jabbar et al.* провеждат проучване, чиято цел е да оцени нивата на липидите и атерогенните индекси при пациенти с БТМ и да ги сравни с тези на здрави контроли, както и да потърси връзка между нивата на липидите, липидната пероксидация и инфламаторни маркери. (254) Общият брой на децата и юношите, включени в това проучване е 164, от които 79 пациенти с БТМ и 85 здрави деца и юноши като контролна група. Средната възраст на пациентите с БТМ е $9,62 \pm 3,23$ год., а средната възраст на контролната група е $9,43 \pm 2,94$ г. ($p > 0,05$). Всички пациенти с БТМ са получавали редовни кръвопреливания, като 45 (56,9%) от тях са били спленектомирани. Резултатите, които авторите съобщават, са сигнификантно по-ниски нива на общ холестерол, HDL- и LDL-холестерол и по-високи нива на триглицериди при пациентите с БТМ в сравнение със здравите контроли. Тези резултати потвърждават данните, получени от по-ранни проучвания на *Ragab et al.* в Египет (2014 г.) (263) и *Bordbar et al.* в Иран (2012 г.) (264). Подобно на *Maioli et al.* (1997 г.) (219), авторите обясняват тези резултати с намалена чернодробна синтетична функция, ускорена еритропоеза и прекомерно усвояване на холестерол от макрофагите на ретикулоендотелната система. Високите нива на триглицериди се обясняват с намалената екстрахепатална липолитична активност. В проучване на *Ricchi et al.* (265) е открита и положителна връзка между общия холестерол и нивата на хемоглобина, резултат, съобщен и от *Daswanii et al.* (266) Една от обсъжданите причини за тази лабораторна констелация е наличието на повишена консумация на холестерол, необходим за изграждането на клетъчната мембрана и наличието на хиперпластична и свръхактивна ретикулоендотелна система. (265)

През 2024 г. *Sandip et al.* провеждат проучване сред 50 пациенти с диагностицирана таласемия на възраст между 9 и 12 години, като оценяват липидния профил и нивата на серумния феритин, сравнявайки ги със здрави контроли. Авторите доказват значително ($p < 0,05$) понижени нива на общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и VLDL-холестерол спрямо здравите контроли. Нивата на триглицеридите и на серумния феритин са значително по-високи от тези на здравите контроли ($p < 0,05$). Открита е също положителна корелация между серумния феритин и общия холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и VLDL-холестерол, както и отрицателна корелация между нивата на серумния феритин и триглицеридите. Според авторите откритите корелации биха могли да предвидят/да предскажат бъдещо фатално сърдечно усложнение. Проучването подчертава необходимостта от проследяването на липидния профил при пациентите, за да се подобри ранното откриване на сърдечни усложнения. (267)

Към днешна дата има оскъдни по брой изследвания, оценяващи липидните индекси като предиктори за ранна атеросклероза и сърдечно-съдови заболявания при деца с трансфузионно-зависима таласемия. Едно от тях е това на *Nogay et al. (2017 г.)* които изследват 400 здрави деца на възраст от 6 до 18 г. и установяват, че увеличението на AIP се асоциира със сърдечно-съдови рискови фактори и е по-достоверен показател в сравнение с останалите индекси при оценката на сърдечно-метаболитния риск при деца и юноши. (268) Една година по-късно *Nasir et al.* съобщават за повишени нива на AIP и CRI-I като допълнение към по-ниските нива на HDL-холестерол при деца с БТМ. При горна граница на CRI-I 3,5 при възрастни, авторите са установили при децата стойност на CRI-I 4,4. (269) Този резултат е в съгласие с предишно проучване на *Ashar et al. (2015 г.)*, които съобщават за увеличение на CRI-I до 5,7 и на AIP до 0,32. (270) През 2017 г. *Sherief et al.* също съобщават за високи нива на AIP ($0,45 \pm 0,12$) при деца БТМ и подкрепят мнението на другите изследователски колективи, че децата с ТЗБТ са изложени на риск от развитие на преждевременна атеросклероза. (244) Съобщенията за предиктивната стойност на CRI-II-при пациенти с БТМ са единични. (160)

В обобщение, при пациентите с бета-таласемия майор са характерни специфични промени в липидната хомеостаза, които са асоциирани с по-често развитие на ендотелна дисфункция, артериална ригидност и ранна атеросклероза и увеличен риск от по-голяма честота на ССЗ. Железният свръхтовар, индуцираната от хемолизата редукция в бионаличността на NO и липидната пероксидация са едни от основните причини за развитието на ендотелна дисфункция и артериална ригидност при пациенти с бета-таласемия. (113)(271)(272) От друга страна, увеличената продължителност на живота и тревожното разпространение на класическите сърдечно-съдови рискови фактори като диабет, АХ и тютюнопушене, допълнително повишават риска от настъпване на акцелерирана атеросклероза и ССЗ. Всичко това в съчетание с останалите възпалителни, имунни и други фактори, които биха могли да влияят отрицателно върху съдовата стена, при пациентите с БТМ многократно увеличават рисковия си потенциал за развитие на ССЗ. Според *Hahalis, et al.* въздействието на тези фактори се увеличава многократно поради необходимостта от провеждане на доживотни хемотрансфузии, по-честа среща с различни инфекциозни агенти и персистирането на цитокинови нива в преливаната кръв и стромалните клетки на хиперпластичния костен мозък. (273)

5.2. Съдова увреда при бета-таласемия майор

Повишена артериална ригидност е наблюдавана както в периферните, така и в централните еластични артерии при пациенти с БТМ. Постмортем проведени хистологични изследвания показват повишена фиброза и глюкозаминогликани в аортата, илиачните и пулмоналните артерии. Образни изследвания са демонстрирали калцификати в задната

тибиална артерия. (13) В проучване на *Nassef et al.*, сравняващо централната и периферната атеросклероза при пациенти с БТИ, се доказва, че централната съдова исхемия се среща по-често в сравнение с периферната и че няма значима корелация между дебелината на интима-медия комплекса на каротидните артерии (показател, който се използва като маркер за субклинична атеросклероза) и нивото на холестерола или серумния феритин. (274) При оценката на ефекта на хелатиращата терапия върху преждевременното съдово стареене и периферната съдова болест същите автори съобщават, че въпреки прилаганата терапия, при пациентите все още се регистрират високи нива на серумно желязо, което води до увреждане на еластичната тъкан и отлагане на калцификати в съдовите структури.

Нарушенията на ендотелната функция при пациенти с БТМ настъпват сравнително рано. Тези изменения са описани за първи път от *Cheung et al.* през 2002 г. (271). В проведеното от тях проучване са включени 30 пациенти на възраст $22,2 \pm 7,4$ год., при които е нямало данни за сърдечно засягане (със запазена систолна и диастолна функция на лява камера) и същия брой здрави контроли. На всички участници е осъществено ехокардиографско изследване за промени в миокарда, оценен е кръвотокът в каротидната и брахиална артерия чрез пулсов доплер, а за оценка на ендотелната функция е използвана кръвоток-медирана вазодилатация. Според получените резултати при пациентите с БТМ е доказана значително по-голяма мускулна маса на лявата камера, повишена ригидност на каротидната артерия и намалена пулсова скорост на брахиалната артерия, както и нарушена кръвоток-медирана дилатация. Желязното обременяване и последващо увреждане на тъканите от натрупването на кислородни радикали, както и успоредното с това намаление на бионаличността на NO вследствие на хемолизата, са механизмите, които според авторите водят до съдови нарушения при пациентите с БТМ. (271) В резултат на това се наблюдават увеличение на съдовата ригидност, ендотелна съдова дисфункция и левокамерна мускулна хипертрофия.

През годините в различни проучвания са съобщавани повишени стойности на интима-медия комплекса на общата каротидна артерия, традиционно считан за най-ранния маркер на артериална увреда при пациенти с БТМ. (275) Обикновено това е било свързано с висок железен свръхтовар и по-напреднал стадий на заболяването. Измерването на каротидния интима-медия комплекс не може обаче да отрази най-ранните съдови промени и началото на атеросклеротичния процес. За да се оцени по-точно съдовата увреда при пациенти с БТМ се използват други показатели като артериална ригидност. Двата показателя са взаимно свързани и са зависими от железния свръхтовар, но е доказано, че артериалната ригидност е по-ранен маркер за съдова увреда, особено при пациенти, които нямат значителен железен свръхтовар, каквито са децата и младите възрастни. (276)(277)

Проучване, проведено от *Cusmà Piccione et al.*, сравнява стойностите на каротидния интима-медия комплекс при пациенти с БТМ и при здрави контроли и съобщава, че между тях няма съществена разлика ($0,67 \pm 0,20$ mm срещу $0,66 \pm 0,15$ mm). В изследването са взели участие 32 пациенти (23 жени, средна възраст 35 ± 8 години) с БТМ и 33 здрави контроли (20 жени, средна възраст 35 ± 6 години). Всички пациенти са били на дългогодишен трансфузионен режим и са получавали желязохелатираща терапия с дефериоксамин, деферипрон (самостоятелно или в комбинация) и деферазирокс. Изследваната група е подложена на клиничен преглед, ехокардиография и ултразвукова оценка на двете общи каротидни артерии чрез echo-tracking методиката, в рамките на една седмица от кръвопреливане. Освен това при всички пациенти е проведено магнитно резонансно изследване с T2* алгоритъм за оценка на желязен свръхтовар в миокарда. От участие в проучването са отпаднали пациенти със значителен желязен свръхтовар в миокарда (T2* <20 ms), артериална хипертония (систолично и диастолично кръвно налягане >140 mmHg и съответно >90 mmHg), захарен диабет, хиперхолестеролемия (ниво на общия холестерол >200 mg/dl) и анамнеза за коронарна артериална болест, каротидна атеросклероза, умерено или тежко клапно сърдечно заболяване или предсърдно мъждене. Пушачите също са били изключени. Авторите доказват, че измерването на дебелината на комплекса интима-медия на каротидните артерии много често не може да отрази наличието на най-ранните съдови промени и препоръчват да бъдат изследвани други параметри, като **артериална ригидност**, за да се оцени по-прецизно съдовото засягане при пациенти с БТМ. (278)

Изводът, който изследователите правят, е, че двуизмерният стрейн и echo-tracking методиките са по-точни от стандартното ехокардиографско и доплерово изследване на каротиди за идентифициране на ранни белези на сърдечно-съдово засягане. (278) Данните, които те са получили, са в съгласие с предишни открития и потвърждават, че дори при добре хелатирани пациенти се развива ранна съдова увреда, представяща се като повишена артериална ригидност. Според авторите на проучването в процеса на съдовата увреда освен желязния свръхтовар, който се приема за основен патогенетичен механизъм, вземат участие и повишените серумни нива на различни възпалителни маркери, като интерлевкин-6 и разтворими адхезионни молекули на съдови клетки, които се асоциират с ендотелна дисфункция. Колективът изказва съмнение и за потенциалната роля на възпалението в развитието на съдовата увреда. (211)(278) При пациенти с БТМ са доказани и хиперкоагулация с повишено производство на фактор на фон Вилебранд, повишени циркулиращи тромбоцитни агрегати и намалени плазмени нива на антитромбин. (279) *Tantawy et al.* съобщават за връзка между микрочастици, произхождащи от мембраните на активирани еритроцити и тромбоцити и повишена аортна ригидност при пациенти с БТМ. (280)

Появата и прогресията на артериалната ригидност е тясно свързана и с липидния и глюкозния метаболизъм, както и с инсулиновата резистентност. Биомаркерите, отразяващи липидния метаболизъм, включват параметрите от стандартния липиден профил, неконвенционални маркери и липидните съотношения. Доказана е връзката както между показателите от стандартния липиден профил, така и между липидните съотношения с артериалната ригидност. (155)(281) В последните години различни изследователи намират корелация между показателите от липидния профил и СПВ. Едно от възможните обяснения е фактът, че холестеролът се свързва към артериалната интима и се натрупва в артериалната стена, което променя механичните ѝ свойства. Артериалната ригидност се ускорява от оксидативния стрес, резултат от излишъка на липиди, което води до постоянно възпаление на артериалната стена. Липидите индуцират производство на цитокини и адхезионни молекули от левкоцитите, които обуславят прилепването на последните към съдовия ендотел и прониквайки в интимата, да повишават съдовото съпротивление. При сравнение на липидните параметри по отношение степента на корелацията им с високите стойности на PWV повечето проучвания показват, че липидните съотношения имат по-добра корелация, отколкото отделните липидни параметри с показателите на артериална ригидност. Връзката между артериалната ригидност и атерогенния индекс на плазмата (AIP) е доказана в различни проучвания, че е най-силната. Този показател, отразяващ наличието на атерогенна дислипидемия, се открива при различни хронични сърдечно-метаболитни нарушения като предиабет, захарен диабет, затлъстяване, наднормено тегло и метаболитен синдром, както и при пациенти с БТМ и се характеризира с високи циркулиращи нива на триглицериди и ниски нива на HDL-холестерол. Счита се за една от основните причини за липиднозависим остатъчен риск, който не се влияе от концентрацията на LDL-холестерола. (282)

Castaner et al. и *Xiao Si et al.* установяват, че повишените стойности на AIP се свързват с високи *ba*-PWV и че пациентите, при които е установена артериална ригидност, са имали по-високи стойности на съотношението AIP. (282) *Wen et al.* провеждат проучване с общо 1015 участници на възраст от 18 до 44 г. без сериозни съпътстващи заболявания и установяват, че наличието на висока *ba*-PWV може да бъде предсказано от съотношението AIP. От всички конвенционални липидни параметри и липопротеинови съотношения TG/HDL има най-силна връзка с високите стойности на *ba*-PWV. (283) *Choudhary et al.* доказват, че съотношението TG/HDL има силна връзка с артериалната ригидност и при нормотензивни и нелекувани пациенти с артериална хипертония. Колективът предлага изчисляването на AIP да бъде включено в рутинната клинична и лабораторна оценка на сърдечно-съдовия риск. (156) *Kilic et al.* провеждат ретроспективно обсервационно проучване за ролята на дислипидемията за ранното съдово стареене и доказват, че нивата на AIP са независим рисков фактор за повишена

PWV и също така предлагат, че съотношението TG/HDL може да се използва рутинно за оценка на ранна/субклинична атеросклероза и ранно съдово стареене. (284) *Wang et al.* установяват, че корелацията между HDL-холестерола и PWV е отрицателна при 2375 китайци, които са участвали в проучване, проведено от тях, т.е. при намаляване на HDL-холестерола се увеличава артериалната ригидност. Не откриват връзка между общия холестерол и триглицеридите с PWV. (285)

В заключение, артериалната ригидност се влияе както от множество екзогенни рискови фактори за развитието на ССЗ, така и от биологичните процеси в организма. Тя започва в ранна детска възраст, прогресира в зряла възраст и отразява кумулативния ефект на различните сърдечно-съдови рискови фактори върху съдовата стена. (286) Повишена артериална ригидност е доказана при пациенти с БТМ и е установено, че тя е свързана с увеличаване на левокамерното следнатоварване, което прави ранното ѝ доказване изключително ценно за предотвратяване на бъдещи морфологични и функционални сърдечни увреди. (276) (278)

6. Изводи от литературния обзор

Изложеният литературен обзор би могъл да бъде обобщен в следните няколко аспекта:

- Пациентите с БТМ са изложени на повишен оксидативен стрес и необходимостта от обективни маркери за неговата оценка го правят специален таргет за клинични проучвания. В ролята си на крайно съединение на липидната пероксидация, МДА се използва широко като индекс на оксидативен статус и параметър за оксидативна увреда.
- За пациентите с БТМ е характерен висок риск от развитие на дислипидемии, които в ролята си на проатерогенен рисков фактор могат да доведат до развитие на ранна съдова увреда и акцелерирана атеросклероза, по-голяма честота на тромботични усложнения и увеличаване на заболяемостта от ССЗ.
- Оценката на ранната съдова увреда при пациентите с БТМ е изключително актуален проблем и широко застъпена област в световната медицинска наука.
- За определяне на риска от ССЗ все повече се налагат изследването на липидните индекси и неинвазивните ехографски методи за оценка на ранни промени в съдовата стена.
- Артериалната ригидност, определена чрез измерване на скоростта на пулсовата вълна, се приема за ранен маркер за съдова увреда, особено при пациенти без значителен железен товар. Параметърът СПВ се счита за много важен рисков фактор в оценката на общия сърдечно-съдов риск и дава информация отвъд традиционните рискови фактори. Ехографската методика *echo-tracking* позволява измерване на показателите на локална артериална ригидност и е нов и неинвазивен метод за оценка на сърдечно-съдовия риск с възможност за предсказване на бъдещи сърдечно-съдови събития.

Въз основа на направеното обобщение би могло да се дефинират следните насоки и проблеми, актуални за бъдещи изследвания:

(1) Публикациите, оценяващи предиктивната роля на абнормния липиден профил и оксидативния стрес за развитие на ранна атеросклероза и ССЗ при пациенти с БТМ, са все още ограничени и липсват ясни корелации за клинична оценка на риска;

(2) Информативността на $PWV\beta$, като локален параметър на каротидната артериална ригидност, не е добре проучена при пациенти с БТМ и се нуждае от допълнителни изследвания за валидиране на предиктивната му клинична стойност.

Основавайки се на обобщенията на литературния обзор и дефинираните научно-практични проблеми, ние си поставихме следната цел и произтичащи от нея задачи:

III. Цел и задачи на изследването

Цел на изследването

При деца и млади възрастни с бета-таласемия майор да се идентифицира наличие на ранна съдова увреда чрез изследване на артериална ригидност на периферни съдове и да се проучат нейните корелации с някои маркери за оксидативен стрес, показатели на липиден профил и липидни индекси.

Задачи

1. Да се извърши сравнителна оценка на някои изходни хемодинамични показатели – сърдечна честота (СЧ), артериално налягане (АН) и пулсово налягане (ПН) при деца и млади възрастни с БТМ и здрави контроли.
2. Да се извърши сравнителна оценка на някои хематологични параметри (Hb, Ery и Hct) и показатели за железен свръхтовар (серумен феритин) при деца и млади възрастни с БТМ и здрави контроли.
3. Да се анализират показателите на липидна обмяна (общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и триглицериди) и някои атерогенни индекси като маркери за сърдечно-съдов риск при пациенти с БТМ и да се сравнят с тези при здрави контроли.
4. Да се определят серумните концентрации на МДА при пациенти с БТМ и да се сравнят с тези на здрави контроли.
5. Да се измери и сравни локалната артериална ригидност на двете каротидни артерии посредством echo-tracking (ЕТ) методика при пациенти с БТМ и здрави контроли.
6. Да се изследват корелациите между нивата на серумния феритин и показателите на липидната обмяна и някои атерогенни липидни индекси при пациенти с БТМ.
7. Да се изследват корелациите между стойностите на хемоглобина и показателите на липидния профил и липидните индекси.
8. Да се изследват корелациите на ЕТ параметрите на двете каротидни артерии с пола, възрастта, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ.
9. Да се изследват корелациите на ЕТ параметрите на двете каротидни артерии с нивата на серумен феритин и МДА при пациенти с БТМ.
10. Да се изследват корелациите между спленектомията и ЕТ параметрите на двете каротидни артерии, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ.

IV. Материали и методи

1. Материална база за реализиране на дисертационния труд

Изследването е проведено в следните структури на УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна и МУ – Варна:

- Експертен център по коагулопатии и редки анемии (ЕЦКРА) към УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна
- Клиника по детска клинична хематология и онкология, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна
- Клиника по вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна
- Клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна
- Катедра по социална медицина и организация на здравеопазването, МУ – Варна

2. Пациентска популация, включена в изследването

В периода м. декември 2021 г. – м. март 2023 г. са изследвани общо 78 деца и млади възрастни, от които 38 пациенти (18 от мъжки и 20 от женски пол) с бета-таласемия майор и 40 (20 от мъжки и 20 от женски пол) здрави контроли. Пациентите са подбрани сред тези, които провеждат лечение и проследяване в ЕЦКРА. Дизайнът на проучването е „случай-контрола“ в търсено съотношение 1:1. Контролите са съобразени по възраст и пол до максимално възможна степен.

3. Критерии за включване и изключване в проучването

Включващи критерии:

- Пациенти с диагноза БТМ, потвърдена посредством електрофореза на хемоглобин и/или генетични изследвания, на възраст от 5 до 44 години
- Здрави индивиди без подлежащо сърдечно заболяване или установен анемиен синдром, съответстващи по възраст и пол за участие в контролната група
- Потвърдено и подписано информирано съгласие от страна на пациента/контролата (или родителите при непълнолетните участници) за участие в проучването

Изключващи критерии:

- Отказ от участие в проучването от страна на пациента/контролата (или родителите при непълнолетни участници)
- Възраст под 5 и над 44 години
- Наличие на документирано сърдечно заболяване или анемиен синдром при лицата от контролната група

4. Планирани визити за провеждане на изследванията

За целта на проучването и за удобство на пациентите и лицата от контролната група

заложените в проучването лабораторни и образни изследвания (виж т. 6. Методи на изследване) са комбинирани и провеждани по време на предварително уговорени визити. За пациентите с БТМ образните изследвания са провеждани по време на планирана визита с цел хемотрансфузия. Лабораторните изследвания са провеждани непосредствено *преди хемотрансфузия*.

5. Документация и информационни източници

Всички пациенти получават регулярни хемотрансфузии в ЕЦКРА в интервал от две до пет седмици и провеждат желязохелатираща терапия, според вида и тежестта на желязния свръхтовар. Информация за основното заболяване, съпътстващи усложнения и/или други заболявания, провежданото към момента трансфузионно и хелатиращо лечение, както и за резултатите от лабораторни и образни изследвания, вкл. документиращи желязния свръхтовар, са извлечени от медицинските досиета на участниците. Диагностичните процедури, лечението и проследяването на пациентите с БТМ се провежда от интердисциплинарен екип с опит в диагностиката и лечението на заболяването и на неговите усложнения. В екипите са включени хематолог/детски онкохематолог, кардиолог/детски кардиолог, ендокринолог/детски ендокринолог, гастроентеролог/детски гастроентеролог (хепатолог), генетик, психолог и социален работник. Алгоритъмът за проследяване е разработен от Работна група по таласемия към Българско медицинско сдружение по хематология (БМСХ) (*виж Приложение 1*).

В контролната група са включени лица, които към момента на изследването нямат лабораторни данни за анемиен синдром, нямат анамнестични данни за анемия, налагаща редовни кръвопреливания, и нямат данни за налично сърдечно-съдово заболяване. Контролната група е набрана измежду студенти по медицина и лекари, деца и познати на медицинския персонал в Клиниката по вътрешни болести и Клиниката по детска клинична хематология и онкология на УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, приятели и колеги на докторанта, както и на базата на разпространена информация за проучването.

Чрез предварителен телефонен контакт или в личен разговор с участниците и/или родителите на непълнолетните лица е предоставена изчерпателна информация, свързана с дизайна на проучването, вида на предстоящите процедури, очакваните резултати и индивидуалните ползи, както и за необходимата предварителна подготовка. Преди подписването на информирано съгласие (*виж Приложение 2*) и стартиране на диагностичните процедури, на всеки участник/родител на непълнолетен участник лично от изследователя отново е предоставена подробна информация както за цялостното проучване, така и за техническото изпълнение на всяко от предвидените изследвания (*виж Приложение 3*).

Социодемографските, антропометричните и здравни данни на участниците в проучването са отразени в индивидуални карти (*виж Приложение 4*).

Научната концепция на проучването е разгледана и одобрена от Комисия по етика на научните изследвания (КЕНИ) към Медицински университет – Варна с протокол № 101/24.03.2021 г. (виж Приложение 5).

Изследванията по проучването са финансирани с помощта на спечелен проект по Фонд „Наука“ № 20020/2020: *Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и млади възрастни с бета-таласемия майор.*

6. Методи на изследване

Анкета. При всички участници е проведена анкета, изискваща отговор на следните въпроси: възраст, вредни навици, давност на трансфузионното лечение и вид на провежданото хелатиращо лечение, антихипертензивна терапия и симптоми на сърдечно-съдово заболяване. Допълнително е събрана информация относно тютюнопушенето, вкл. давност, брой изпушени цигари дневно и преустановяване на тютюнопушенето.

Анамнеза, физикален преглед и антропометрични изследвания. Освен общ соматичен статус, при всички участници е измерен ръст (см), тегло (кг) и е изчислен индекс на телесна маса (ИТМ) по формулата $ИТМ = \text{тегло (кг)} / \text{ръст (м)}^2$. Изчислен е и индекс на телесна повърхност (BSA) по формулата на Mosteller: $BSA (m^2) = ([\text{ръст (см)} \times \text{тегло (кг)}] / 3600)^{1/2}$. Ръстът и килограмите са измерени с електронен ръстомер модел SECA, а телесното тегло – с електронна теглилка по БДС. При всички участници е измерено артериално налягане по време на покой и в седнало положение, продължило няколко минути преди началото на процедурата. Използван е стандартен ръчен сфигмоманометър. Направени са по 3 измервания на всяка ръка с 1-2 минути интервал между тях. За референтна е приета по-високата средна стойност. Пулсовото налягане е изчислено по формулата ПН (mmHg) = систолно артериално налягане (САН) (mmHg) – диастолно артериално налягане (ДАН) (mmHg). Изчисли се и средното артериално налягане (СрАН) по формулата $СрАН (mmHg) = ДАН + (САН - ДАН) / 3$.

Лабораторни изследвания. За провеждане на лабораторните изследвания е използвана венозна кръв, добита чрез венепункция на кубитална или друга периферна вена, след минимум 12 часа нощно гладуване. С цел едновременно извършване на лабораторните анализи, от кръвната проба е отделян серум, който е съхраняван във фризер на $-20^{\circ} C$. Всички кръвни показатели са изследвани в Централната клинична лаборатория на УМБАЛ „Св. Марина“, Варна и включват: *кръвна картина с диференциално броене (ПКК); липиден профил – общ холестерол (ОХ, TC), LDL-холестерол, HDL-холестерол, триглицериди (ТГ, TG); CRP; серумен феритин, серумно желязо, тотален желязосвързващ капацитет (ТЖСК); малондиалдехид (МДА).*

В рамките на настоящото проучване са изследвани следните лабораторни и биохимични

маркери и са приложени следните аналитични методи:

- *Кръвна картина с диференциално броене* (5-diff хематологичен анализатор Sysmex XN 1000): флуоресцентна поточна цитометрия с полупроводников лазер и хидродинамично фокусиране. Хематологичният анализатор прилага импедансен и оптичен метод при отчитане брой кръвни клетки, флуоресцентна флоуцитометрия със странична флуоресцентна светлина, предно и странично разсеяна светлина при диференциалното изброяване на левкоцитите и безцианиден колориметричен метод със *sodium lauryl sulphate* при измерване на хемоглобин
- *Общ холестерол* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): тристъпна ензимна реакция със завършек на Триндлер
- *LDL-холестерол* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): изчислен е по формулата на Friedewald's – LDL-холестерол = ОХ – (HDL-холестерол+ ТГ/2,2), при стойност на триглицеридите < 4,5 mmol/l. Измерен с директен ензимен метод с елиминация/каталаза, при стойност на триглицеридите > 4,5 mmol/l
- *HDL-холестерол* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): директен ензимен метод с елиминация/каталаза
- *Триглицериди* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): тристъпна ензимна реакция със завършек на Триндлер
- *Серумен феритин* (Анализатор - Roche Cobas 6000): електрохемилюминесцентен имуноанализ
- *Серумно желязо* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): колориметричен метод с Ferrozine
- *ТЖСК* (Биохимичен анализатор ADVIA 1800): директен метод с последователно освобождаване и поемане на желязо
- *МДА (ELISA)*: ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) с готов тест набор на фирма Bio-Techne-Novusbio. Тестът представлява конкурентен имуноанализ със следните аналитични характеристики: диапазон на количествено определяне (линейност) – 31.25 – 2000 ng/mL, чувствителност (Lower Limit of Detection) – 18.75 ng/mL, невъзпроизводимост в серия – CV < 5.59% и невъзпроизводимост между серии – CV < 5.19%, аналитична откриваемост в серум – % recovery – 92-110%.

Изчислени са следните индекси и съотношения:

- *рисков индекс на Castelli I* (Castelli risk index I, CRI-I) = TC/HDL-холестерол
- *рисков индекс на Castelli II* (Castelli risk index II, CRI-II) = LDL-холестерол/HDL-холестерол

- *плазмен атерогенен индекс* (Atherogenic index of plasma, AIP) = $\{(\log TG)/HDL\text{-холестерол}\}$
- *атерогенен коефициент* (Atherogenic coefficient, AtC) = $(TC - HDL\text{-холестерол})/HDL\text{-холестерол}$
- *non-HDL-холестерол* (*non-HDL*) = TC – HDL-холестерол

Изчисляването на AIP е осъществено с помощта на чешки онлайн калкулатор за атерогенен риск. (*Dobiasova, Czech. Calculator of atherogenic risk. Available from: <http://www.biomed.cas.cz/fgu/aip/calculator.php>*)

Инструментални изследвания

На всички участници в проучването се извърши ехографско изследване на двете общи каротидни артерии с ултразвуков апарат *Aloka Hitachi Prosound a7* чрез високочестотен линеарен трансдюсер. За целта на изследването пациентът е разположен в лежачо по гръб положение, с екстензия на шията и лека ротация на 30° контралатерално на изследваната област. Проведените измервания са извършени на 2 см проксимално от бифуркацията на общата каротидна артерия с цел визуализация на артерията в най-голямата ѝ ширина в надлъжен срез, като по този начин съдовата стена и ултразвуковият сигнал са перпендикулярни. Това осигурява възможност за точно проследяване на промяната в съдовия диаметър. След визуализация на артерията се включва функцията *echo-tracking* от екрана за управление, при което се появяват два маркера, с чиято помощ се отбелязват границите на изследвания артериален съд. Маркерите се поставят на близката и далечната стена на артерията на границата между *tunica media* и *tunica adventitia*. Преди началото на изследването на пациента са поставени периферни електроди, с помощта на които на екрана се наблюдава симултантен ЕКГ запис и се отчита с точност началото на систолата и диастолата на сърдечната контракция. Необходимо е да се регистрират поне шест сърдечни цикъла, по време на които при възможност пациентът е задържал дишането си, което осигурява подобряване на качеството на образа. След това записът може да се преустанови. На екрана се визуализира графика на промените в диаметъра на съда по време на изследването. Получената информация се обработва за всички вълни и програмата изчислява средна стойност на показателите за артериална ригидност – β -stiffness индекс, arterial compliance (AC), pulse wave velocity β (PWV β), augmentation index (AIx) и pressure-strain elastic modulus (Ep). Необходимо е да се въведат и данните от предварително измерените систолно и диастолно артериално налягане. Показателите на артериална еластичност се изчисляват автоматично чрез математически алгоритми.

Ехографското изследване на каротидните артерии е извършено от докторанта след успешно завършен online курс „Carotid Ultrasound MasterClass“ през януари 2022 г. с преподавател Prof. Dr. Thomas Binder (*виж Приложение 6*). През 2020 г. докторантът има проведен курс и по доплерова сонография в УМБАЛ „Св. Марина“ с ръководител доц. д-р Чавдар Бъчваров, д.м. (*виж Приложение 7*)

7. Статистически методи за обработка и анализ на резултатите

Данните са обработени чрез специализиран статистически пакет за персонален компютър SPSS Windows, версия 25. Графичното изобразяване е извършено с Excel.

Използвани са следните статистически методики:

Дескриптивен анализ: Този метод включва честотен анализ (представяне с брой и процент), кростабулация, изчисление на средни стойности и размах. Чрез честотния анализ се определя честотата на всяка стойност на изследваните променливи, които са представени с брой и процент. Кростабулацията позволи да се изследва връзката между повече от две променливи, които представят честотата на комбинирани признаци. Средните стойности и размахът се изчислени, за да се определят централните тенденции и разпределението на данните. Посредством Колмогоров-Смирнов (K-S) тестът бе проверена нормалността на разпределението на данните.

Графичен анализ: Този метод е използван за визуално представяне на резултатите чрез графики и диаграми.

Непараметрични методи: χ^2 (хи-квадрат). Тестът е използван за проверка на връзката между две категорични променливи.

Параметрични методи

- *Корелационен анализ по методите на Спирман и Пиърсън.* Този анализ е използван за анализ на връзките между данните. Корелация по Пиърсън се използва за установяване на връзка между числови данни и оценка на линейните връзки между две непрекъснати променливи. Корелация по Спирман анализира ранговете на стойностите на променливите и изчислява корелационен коефициент, който показва степента на монотонна връзка между тях.

Корелационният коефициент r може да приема стойности между 0 и -1 при обратнопропорционална връзка и между 0 и +1 при права.

Оценката на силата на взаимовръзката между два признака чрез коефициента на корелация r е:

- Ако r е под 0,30 – слаба корелация
- Ако r е между 0,30 и 0,50 – умерена корелация

- Ако r е между 0,50 и 0,70 – значителна корелация
- Ако r е между 0,70 и 0,90 – силна корелация
- Ако r е над 0,90 – много силна корелация
- *АНОВА (Анализ на дисперсия)*: методът на Анализ на дисперсия (ANOVA) е приложен за сравнение на средните стойности на оперативно време и затваряне на оперативната рана при пациенти с различни заболявания. Този анализ позволи да се установи между кои групи съществуват статистически значими разлики.
- *Independent t-test* е използван в за сравнение. Този статистически метод позволи на изследвателя да установи дали средните сравнявани резултати се различават статистически значимо.

Всички тестове са тълкувани като статистически значими при ниво на значимост $p \leq 0.05$.

V. Резултати и обсъждане

1. Обща характеристика на участниците в проучването

Настоящото изследване включва общо 78 участници, от които 38 деца и млади възрастни с БТМ и 40 здрави контроли, съответстващи по пол и възраст.

Преди провеждане на целевите анализи пациентите и здравите контроли са съпоставени спрямо техните демографски и антропометрични показатели, статус на тютюнопушене, вид на хелатираща терапия и проведена спленектомия.

1.1. Демографска и антропометрична характеристика на участниците

На *Табл. 1* са представени демографски и антропометрични данни на пациентите и здравите контроли в проучването. За съпоставка на половото разпределение е използван тестът хи-квадрат (Chi-square test), а за останалите параметри – т-тест за независими извадки (independent samples t-test).

Табл. 1. Демографски и антропометрични показатели на участниците в проучването

	Пациенти с БТМ N=38	Здрави контроли N=40	p-value
Възраст (год.)	25.0±10.8	23.1±11.0	p=0.449
Пол - жени	53%	49%	
Ръст (см)	160.1±16.1	164.84±17.8	p=0.230
Тегло (кг)	54.2±16.4	55.8±17.4	p=0.683
BSA (m ²)	1.54±0.29	1.59±0.35	p=0.509
BMI	20.6±3.55	19.9±3.23	p=0.383

Анализът на резултатите показва, че между пациентите и здравите контроли не се установява значима разлика по отношение на възраст (p=0.449), пол, ръст (p=0.230), тегло (p=0.683), BSA (p=0.509) и ИТМ (p=0.383).

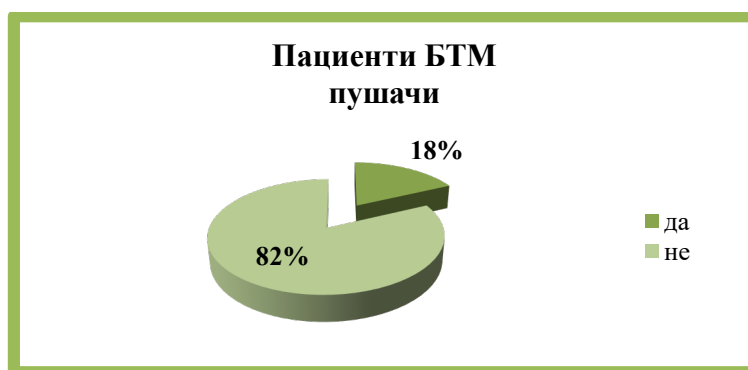
Обсъждане:

В проучвания, проведени от *Kremastinos et al.* през 2006 г. (287) и *Kostopoulou et al.* през 2014 г. (288) сред пациенти с БТМ на възраст, сходна с тази на изследваната от нас популация, е установен BSA значително по-малка сред пациентите в сравнение със здравите контроли. Изоставането в растежа и по-малката телесна повърхност авторите обясняват с хроничната анемия. В миналото ниският ръст при деца с БТМ варира между 30% и 60% и причина за това е не само анемичният синдром, но и железният свръхтовар и последващата увреда на

ендокринните жлези. (13)(289) Като допринасящи фактори за нисък ръст при пациентите с БТМ се добавят и хипотиреозидизъм, хипогонадизъм, дефицит на растежен хормон, дефицит на цинк, хронично чернодробно заболяване, психосоциален стрес и др. (290) В наши дни придържането към протоколите за хемотрансфузионно и оптимално хелатиращо лечение е намалило значително риска от нисък ръст, респ. от по-малка телесна повърхност сред пациентите с БТМ. На тях се дължи и подобреният ендокринен статус при децата в сравнение с предходните години. (13) В нашето проучване липсва статистически значима разлика между BSA при пациенти и здрави контроли ($p=0.509$). Ние приемаме, че това се дължи на разкриването на ЕЦКРА в нашата болница, предоставящ възможността за прилагане както на оптимално трансфузионно и хелатиращо лечение, така и на мултидисциплинарен подход за ранна диагностика и проследяване на очакваните усложнения на БТМ.

1.2. Характеристика на участниците по отношение на тютюнопушене

При изследване на статуса на тютюнопушене се установи, че пушачите в групата на пациентите са 7 (18%), а в контролната група 6 (15%). Относителният дял на пушачите в съответните групи е представен на *Фиг. 1* и *Фиг. 2*. Значимостта на разликите оценихме с непараметричния анализ кростабулация и хи-квадрат, който показва липса на значимост ($X^2=0.164$; $p=0.685$).



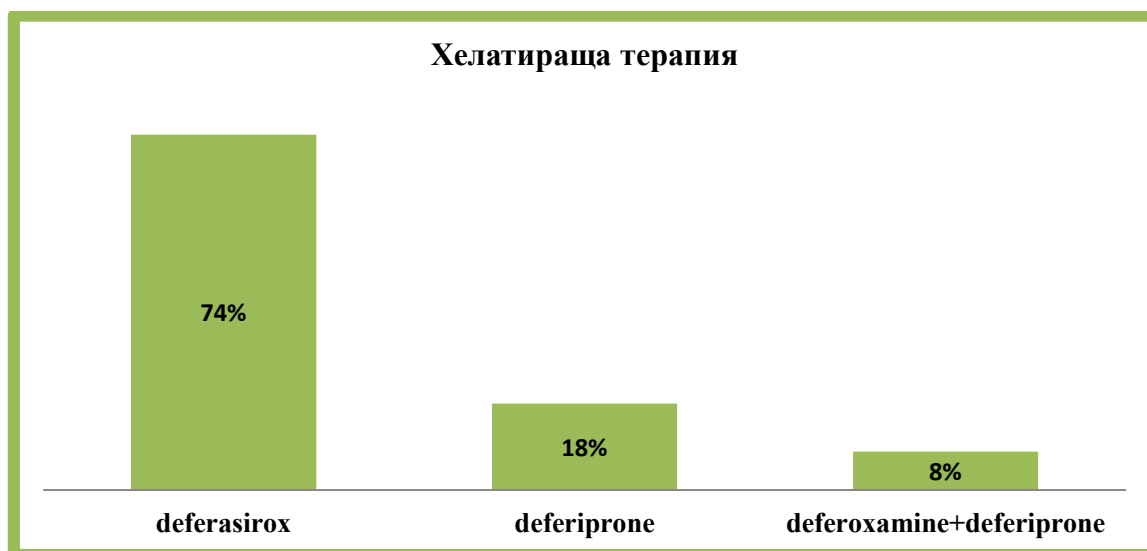
Фиг. 3. Относителен дял на пушачите сред пациентите с БТМ



Фиг. 4. Относителен дял на пушачите сред здравите контроли

1.3. Характеристика на пациентите спрямо вида на хелатиращата терапия

По време на изследването всички пациенти са получавали хелатираща терапия, съответно *deferasirox* – 28 пациенти (74%), *deferiprone* – 7 пациенти (18%) и комбинирана терапия *deferasirox* и *deferiprone* – 3 пациенти (8%). На *Фиг. 3* е представен относителния дял на пациентите според вида на хелатиращата терапия.



Фиг. 5. Относителен дял на пациентите според вида на хелатиращата терапия

1.4. Характеристика на пациентите спрямо проведена спленектомия

В изследваната от нас група 13 (34%) от пациентите са преживели спленектомия по индикации, свързани с основното заболяване. На *Фиг. 4* е представен относителният дял на спленектомираните пациенти.



Фиг. 6. Относителен дял на пациентите, преживели спленектомия

2. Сравнителен анализ на получените резултати при пациентите с БТМ и контролната група

2.1. Сравнителен анализ и обсъждане на хемодинамичните показатели

Резултати към задача 1: Да се извърши сравнителна оценка на някои изходни хемодинамични показатели – сърдечна честота (СЧ), артериално налягане (АН) и пулсово налягане (ПН) при деца и млади възрастни с БТМ и здрави контроли.

На Табл. 2 са представени хемодинамичните показатели на пациентите и здравите контроли в проучването.

Табл. 2. Хемодинамични показатели на участниците в проучването

Показател	Пациенти с БТМ ср. стойност \pm SD	Здрави контроли ср. стойност \pm SD	p-value
САН (mmHg)	106.18 \pm 10.4	102.56 \pm 11.17	p=0.147
ДАН (mmHg)	69.0 \pm 7.9	65.5 \pm 7.23	p=0.044
СрАН (mmHg)	81.3 \pm 8.26	77.7 \pm 7.96	p=0.05
СЧ (уд./мин)	87.4 \pm 16.9	70.2 \pm 11.8	p=0.0001
ПН (mmHg)	37,9 \pm 6,38	37,0 \pm 7,49	p=0.586

При изследване на хемодинамичните показатели при пациентите с БТМ и здравите контроли са установени следните стойности:

- **САН:** средната стойност на систолното АН при пациентите с БТМ е 106.18 \pm 10.4 mmHg, докато при здравите контроли е 102.56 \pm 11.17 mmHg, като разликата не е статистически значима, p=0.147
- **ДАН:** средната стойност на диастолното АН при пациентите с БТМ е 69.0 \pm 7.9 mmHg, докато при здравите контроли е 65.5 \pm 7.23 mmHg, като разликата е значима, **p=0.044**
- **СрАН:** в групата на пациентите с БТМ средното АН е 81.3 \pm 8.26 mmHg, докато в групата на здравите контроли е 77.7 \pm 7.96 mmHg, като разликата е статистически значима, **p=0.05**
- **СЧ:** средната сърдечна честота при пациентите с БТМ е 87.4 \pm 16.9 уд./мин, докато при здравите контроли е 70.2 \pm 11.8 уд./мин, като разликата е сигнификантна, **p=0.0001**
- **ПН:** при пациентите с БТМ средното пулсово налягане е 37,9 \pm 6,38 mmHg, а при здравите контроли 37,0 \pm 7,49 mmHg, като разликата не е значима, p=0.586

Анализът на получените резултати показва, че между пациентите и здравите контроли не се установява статистически значима разлика по отношение на САН (p=0.147) и ПН (p=0.586).

Статистически значима разлика се установи по отношение на ДАН ($p=0.044$), СрАН ($p=0.05$) и СЧ ($p=0.0001$).

Обсъждане:

По-високата сърдечна честота при пациентите в сравнение със здравите контроли е очакван резултат. Хроничната анемия и намалената доставка на кислород до тъканите при БТМ се компенсират чрез увеличаването на сърдечния дебит чрез увеличаване на сърдечната честота и нарастване на ударния обем. Това определя БТМ като високодебитно състояние и повечето автори откриват по-висока сърдечна честота при пациентите в сравнение със здравите контроли. (291) В различните проучвания се наблюдават вариации в стойностите на сърдечната честота, което може да се обясни с редица фактори, които ѝ оказват влияние, като нивото на хемоглобина, възрастта на пациентите и емоционалното състояние по време на прегледа. *Aessoposs et al.* през 2004 г. изследва група от 202 пациенти на възраст $27,3\pm 6,3$ г. и сравнява сърдечната им честота спрямо здрави контроли на възраст $26,0\pm 5,2$ год. Установява значително по-висока СЧ при пациентите 84 ± 12 уд./мин спрямо здравите 77 ± 12 уд./мин ($p=0,001$). (292)

При сравнение със здрави контроли образните изследвания при БТМ демонстрират по-големи сърдечни размери и ударни обеми, както и по-висока СЧ, което се асоциира с по-голям метаболитен разход. Повишеният метаболизъм в покой при тези пациенти също е източник на оксидативен стрес, независим от генерираните свободни радикали от желязния свръхтовар. (293)

Две български изследвания сред пациенти с БТМ, първото на *М. Димова* от 2017 г. (294) сред възрастни пациенти и второто на *К. Ганева* от 2023 г. (295) сред деца, също не откриват статистически значима разлика между САН при пациенти и здрави контроли.

По отношение на СрАН, нашите резултати са подобни на тези на доц. д-р М. Димова, която съобщава СрАН при пациенти $96,07\pm 11,62$ mmHg и СрАН при здрави контроли – $86,29\pm 9,77$ mmHg ($p=0,01$). Средната възраст на изследваната от нея група е подобна на нашата група пациенти. По отношение на ДАН ($p=0,04$) и СрАН ($p=0,05$) открихме статистически значима разлика между двете групи. Получените от нас резултатите са подобни на публикуваните от *Kostapoulou et al.* през 2014 г. (288) и *Bosi et al.* през 2003 г. (296)

2.2. Сравнителен анализ и обсъждане на лабораторните хематологични показатели

Резултати към задача 2: *Да се извърши сравнителна оценка на някои хематологични параметри (Hb, Ery и Hct) и показатели за желязен свръхтовар (серумен феритин) при деца и млади възрастни с БТМ и здрави контроли.*

На *Табл. 3* са представени хематологичните показатели на пациентите и здравите контроли в проучването.

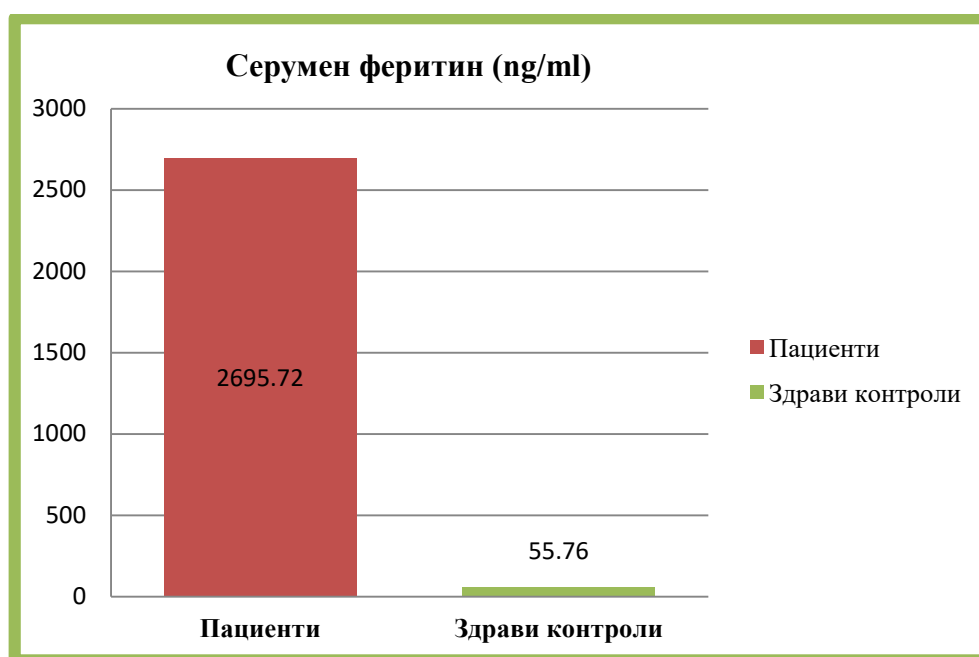
Табл. 3. Лабораторни показатели на участниците в проучването

Показател	Пациенти с БТМ N=38	Здрави контроли N=40	p-value
Нв (g/L)	92,4±10,6	136,1±11,3	p=0.0001
Ery (10 ¹² /L)	3,44±0,45	4,81±0,52	p=0.0001
Hct	0,28±0,03	0,41±0,03	p=0.0001
Серумно желязо (umol/L)	38,20±10,71	15,56±5,35	p=0.0001
ТЖСК (umol/L)	64,95±30,83	55,55±8,08	p=0.009
Серумен феритин (ng/ml)	2695,72±2303	55,76±50,22	p=0.0001

Анализът на хематологичните показатели показва, че между пациентите и здравите контроли се установява статистически значима разлика по отношение на всички изследвани параметри. Очаквано при пациентите с БТМ средните стойности на Нв, Ery и Hct са по-ниски (p=0.0001), а тези на серумно желязо и серумен феритин по-високи (p=0.0001).

Обсъждане:

В групата на пациентите с БТМ средните стойности на серумния феритин са 2695,72±2303 ng/ml, а при здравите контроли – 55,76±50,22 ng/ml, като разликата е сигнификантна (p=0.0001) (Фиг. 5).



Фиг. 7. Средни стойности на серумен феритин в изследваните групи

Получените от нас резултати са съвместими с тези от други проучвания, в които авторите оценяват тези стойности като рискови за развитие на сърдечно-съдови усложнения. (297)(298)(299)(300)

Olivieri et al. през 1994 г. демонстрират в проведено от тях проучване, че стойности на феритина под 2500 ng/ml предполагат отлична прогноза и преживяемост при пациенти с БТМ, които приемат редовно адекватна желязохелатираща терапия, нямат данни за сърдечно заболяване и се придържат към редовен хемотранфузионен режим. (114) *Telfer et al.* през 2000 г. публикуват проучване, в което проследяват пациенти за период от 13,6 години и доказват, че стойности на феритин под 1500 ng/ml са свързани с по-малко усложнения в дългосрочен план. (112) *Nahalis et al.* през 2009 г. изследват 36 пациенти с БТМ и установяват, че след период на проследяване от 12 години нивата на феритин над 2800 ng/ml и LVEF < 60% са независимо свързани със смъртност от ССС заболявания. (273) Десет години по-късно колективът на *Derchi et al.* определя, че стойности на феритина над 3000 ng/ml са свързани с по-висок риск от сърдечни заболявания. (301)

През 2021 г. *Kampridis et al.* провеждат проучване при пациенти с БТМ, оценяващо стойностите на феритина и резултатите от ехокардиографското и МРТ изследване по отношение на преживяемостта за 10-годишен период. Изследователите установяват, че при пациенти с МРТ T2* < 20 ms, феритин над 2000 ng/ml и TR Vmax > 2,8 m/s се наблюдава лоша дългосрочна преживяемост. (302) Авторите правят заключението, че с цел подобряване на общата преживяемост и намаляване на хоспитализациите и смъртността от ССС при пациентите с БТМ е необходимо да се поддържат долни граници на феритин под 1700 ng/ml и на МРТ T2* над 34 ms.

Имайки предвид основните фактори, определящи по-високите феритинови нива при пациенти с ТЗБТ (честота на хемотранфузии, вид на хелатиращия медикамент и придържане към хелатиращото лечение) (13), ние приемаме, че при нашите пациенти основната причина за по-високия феритин е ниската степен на придържане към назначената хелатираща терапия. Недобрият медикаментозен комплайънс при пациенти с хронични заболявания, вкл. с БТМ, е всеизвестен факт и е представян в много публикации. При част от тях се подчертава, че лошият комплайънс се наблюдава по-често при пациенти в тийнейджърска и млада възраст, което съвпада със средната възраст в нашата пациентска група (25.0±10.8 г.). (303)(304)(305)(306)

2.3. Сравнителен анализ и обсъждане на липидния профил при пациентите с БТМ и контролната група

Резултати към задача 3: Да се анализират показателите на липидна обмяна (общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и триглицериди) и някои атерогенни индекси

като маркери за сърдечно-съдов риск при пациенти с БТМ и да се сравнят с тези при здрави контроли.

На Табл. 4 са представени показателите на липидния профил при пациентите и здравите контроли в проучването.

Табл. 4. Липиден профил на участниците в проучването

Показател	Референтни стойности	Пациенти с БТМ	Здрави контроли	p-value
Общ холестерол (mmol/l)	<5,2 mmol/l	3,164±0,83	3,94±0,77	p=0.0001
LDL-холестерол (mmol/l)	<3,36 mmol/l	1,60±0,70	2,11±0,69	p=0.0002
HDL – холестерол (mmol/l)	М > 1,02 mmol/l Ж > 1,29 mmol/l	0,93±0,35	1,50±0,37	p=0.0001
Триглицериди (mmol/l)	<1,7 mmol/l	1,36±0,66	0,68±0,22	p=0.0001

При изследване на липидния профил получихме следните резултати:

- **Общ холестерол:** в групата на пациентите с БТМ средната стойност на общия холестерол е 3,16±0,83 срещу 3,94±0,77 в групата на здравите контроли, като разликата е сигнификантна, **p=0.0001**
- **LDL-холестерол:** в групата на пациентите с БТМ средната стойност на LDL-холестерола е 1,60±0,70 срещу 2,11±0,69 в групата на здравите контроли, като разликата е сигнификантна, **p=0.0002**
- **HDL-холестерол:** в групата на пациентите с БТМ средната стойност на HDL-холестерола е 0,93±0,35 срещу 1,50±0,37 в групата на здравите контроли, като разликата е сигнификантна, **p=0.0001**
- **Триглицериди:** в групата на пациентите с БТМ средната стойност на триглицеридите е 1,36±0,66 срещу 0,68±0,22, като разликата е сигнификантна, **p=0.0001**

Анализът на получените от нас резултати показва, че при пациентите с БТМ средните стойности на общ холестерол, LDL-холестерол и триглицериди са в референтни граници, докато средната стойност на HDL-холестерол (0,93±0,35) е по-ниска и за двата пола (> 1.02 при мъже и > 1.29 при жени). В групата на здравите контроли всички изследвани показатели са в границите на нормата. При сравняване обаче на средните стойности между пациентската и контролната група се установяват статистически значими разлики при всички изследвани параметри. При пациентите с БТМ стойностите на общ холестерол, LDL-холестерол и HDL-холестерол са по-ниски, а стойностите на триглицеридите по-високи.

Обсъждане:

Нашите резултати са съвместими с резултатите, получени от много други автори в световен мащаб, и потвърждават направените от тях заключения за по-ниски липидни нива при пациентите с БТМ.

Maioli et al. от Италия са едни от първите колективи, които проучват липидния профил при 70 пациенти с БТМ и подобно на нас съобщават за по-нисък общ холестерол, LDL-холестерол и HDL-холестерол и по-високи плазмени концентрации на триглицериди при пациенти с БТМ в сравнение със здрави контроли. Те публикуват своите данни през 1997 г. и правят предположението, че тези разлики биха могли да се дължат както на високия железен свръхтовар, така и на вероятно съпътстващи чернодробни и хормонални увреди при пациентите с БТМ. (255)

Няколко години по-късно *Chrysohoou et al.* провеждат проучване на липиден профил при 192 пациенти с БТМ, провеждащи лечение в един от най-големите таласемични центрове в Атина. (128) Осемдесет и осем от пациентите са били мъже на средна възраст 25 ± 6 години, а останалите 104 – жени на средна възраст 26 ± 6 години. За сравнителен анализ са използвани резултатите от проведено през същата година проучване АТТІСА, оценяващо липидния профил на съответстващи по възраст здрави мъже и жени в област Атика, Гърция. (147) Изследователите са установили, че при по-голямата част от пациентите с БТМ нивата на изследваните липиди и липопротеини са били в нормални граници и значително по-ниски в сравнение с общата популация на същата възраст. Най-ниски нива са намерени при изследване на HDL-холестерола, достигащи при 42% от мъжете и при 29% от жените с БТМ под $0,77 \text{ mmol/l}$ (30 md/dl). Изхождайки от правилото, че рискът от миокарден инфаркт е по-висок при индивиди с ниски нива на HDL-холестерол (169), авторите препоръчват съотношението общ към HDL-холестерол да бъде използвано като прогностичен фактор за бъдещи сърдечно-съдови събития при пациенти с БТМ. В подкрепа на направената препоръка авторите цитират и твърдението на други автори, че дори индивиди с нормални нива на общ холестерол са изложени на висок риск от развитие на миокарден инфаркт, ако нивата на HDL-холестерола са ниски. (146)(147)

През 2010 г. *Haghpanah et al.* изследват липидния профил на пациенти с БТМ и БТИ в Южен Иран и ги сравняват със здрави контроли. Средните серумни концентрации на триглицеридите са били по-високи в групата на пациентите с таласемия в сравнение с групата на здравите контроли, но разликата не е била сигнификантна ($p=0,091$). Сигнификантна разлика между двете изследвани групи е открита при сравняване на серумните концентрации на общия и LDL-холестерол ($p<0,001$) и несигнификантна – при сравняване на серумните концентрации на HDL-холестерол. (262)

Две години по-късно *Vefic Arica et al.* провеждат същото по дизайн проучване сред 62 турски пациенти с БТМ на възраст 5-15 г. и установяват по-ниски нива на общ холестерол, HDL-холестерол и LDL-холестерол и по-високи на триглицериди при пациентите в сравнение със здравите контроли. (307) Тези резултати са напълно аналогични с получените в проведеното от нас изследване, както и с резултатите на *Sherief et al.* от Египет (2017 г.) (258) и *Mashaali et al.* (2014 г.) в Ирак. (259)

За по-високи нива на триглицериди при пациенти с БТМ съобщават *Hartman et al.* от Израел за деца и подрастващи (2002 г.) (257) и *Richi et al.* от Италия за възрастни (2009 г.) (265). За разлика от тях в проучване на *Amendola et al.* в Италия (2007 г.) нивата на триглицеридите в двете изследвани групи са почти еднакви. (143)

През 2020 г. *Setoodeh et al.* провеждат проучване на влиянието на оксидативния стрес, желязния свръхтовар и инсулиновата резистентност върху липидния профил сред 48 пациенти от Иран с БТМ на възраст 21.8 ± 6.4 г., като ги сравняват със здрави контроли на възраст 24.1 ± 5.0 г. (308) Подобно на получените от нас резултати, изследователите установяват сигнификантно по-високи нива на триглицериди и значително по-ниски на общия холестерол, HDL- и LDL-холестерола при пациентите с БТМ в сравнение със здравите контроли ($p < 0,001$). Тези резултати са в съгласие и с много други проучвания от Средиземноморския басейн, вкл. тези на *Ragab et al.* (2014 г.) (263) и *Ibrahim et al.* (2020 г.) (309) от Египет и *Boudrahem-Addour et al.* от Алжир (2014 г.). (131) В проучването на *Setoodeh et al.* 49% от пациентите са имали стойности на HDL-холестерол под 30 md/dl ($=0,77$ mmol/l) и нито един от участниците в групата на здравите контроли.

Проучване на *AlSaadi et al.* от 2022 г. изследва липидния профил на 62 пациенти на възраст между 6 мес. и 15 години с БТМ от Ирак, като прави сравнение със 65 съответни по възраст здрави контроли. (310) Подобно на нашето проучване, при по-голяма част от пациентите те регистрират по-ниски стойности на HDL-холестерол в сравнение с контролите и го обясняват с активиран от макрофагите ексцесивен клирънс. По отношение на другите липидни показатели установяват незначително повишени нива на общия и LDL-холестерол в групата на пациентите, което не съответства на нашите данни.

По-ниски стойности на HDL-холестерол са публикували и *Daswanii et al.* през 2021 г., изследвайки липидния профил на 100 пациенти с БТМ в Индия на възраст 1-18 г. (266) Те съобщават и за значително по-ниски стойности на общия холестерол и по-високи на триглицеридите при пациентите в сравнение със здравите контроли, което също е в съгласие с получените в нашето изследване резултати. По отношение обаче на LDL-холестерола, който в нашето проучване е със значително по-ниски нива при пациентите с БТМ, те не откриват съществена разлика при сравняване на двете изследвани групи.

От нашето проучване можем да заключим, че при изследване на липидния профил при деца и млади възрастни с БТМ се установява дислипидемия, проявяваща се в повечето случаи като триглицеридемия и хипохолестеролемия. Получените резултати не се различават от тези, съобщавани в литературата, и имайки предвид тяхната доказана връзка с развитие на сърдечно-съдови заболявания, ние приемаме, че при нашите пациенти има повишен риск от преждевременно настъпване на сърдечни и съдови усложнения. Направеното заключение подкрепяме и с установените много ниски нива на HDL-холестерол, които по литературни данни са независим прогностичен фактор за сърдечно-съдов риск. Имайки предвид гореизложените факти и с цел ранно откриване и предотвратяване на атерогенни сърдечно-съдови усложнения, ние препоръчваме при пациентите с трансфузионнозависима бета-таласемия (ТЗБТ) да се провежда скриниращо изследване на липиден профил след навършване на 5-годишна възраст.

2.4. Сравнителен анализ и обсъждане на липидните индекси при пациентите с БТМ и контролната група

Резултати към задача 3: *Да се анализират показателите на липидна обмяна (общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и триглицериди) и някои атерогенни индекси като маркери за сърдечно-съдов риск при пациенти с БТМ и да се сравнят с тези при здрави контроли.*

На Табл. 5 са представени липидните индекси на пациентите и здравите контроли в проучването.

Табл. 5. Липидни индекси на участниците в проучването

Показател	Референтни стойности	Пациенти с БТМ	Здрави контроли	p-value
Castelli Risk Index I (CRI-I)	<3,5	3.64±1.19	2,75±0.74	p=0.0001
Castelli Risk Index II (CRI-II)	<3,0	1.85±0,91	1.51±0.66	p=0.072
Atherogenic index of plasma (AIP)*	(-0,3 до 0.1)	0.17±0.30	-0,34±0.19	p=0.0001
Atherogenic coefficient (AtC)	<3.0	2.62±1.20	2.45±0.73	p=0.43
non-HDL (mmol/l)	<3,37	2.23±0.78	2.41±0.69	p=0.313

*AIP > 0,24 – висок риск; 0,1-0,24 – среден риск; -0,3 – 0,1 – нисък риск

При изследване на липидните индекси получихме следните резултати:

- **Castelli risk index I (CRI-I):** При сравнението на средните стойности на CRI-I при пациентите с БТМ (3.64 ± 1.19) и здравите контроли ($2,75 \pm 0.74$) се установи статистически значима разлика, **$p=0.0001$**
- **Castelli risk index II (CRI-II):** При сравнението на средните стойности на CRI-II при пациентите с БТМ ($1.85 \pm 0,91$) и здравите контроли (1.51 ± 0.66) не се установи статистически значима разлика, $p=0.072$
- **Atherogenic index of plasma (AIP):** При сравнението на средните стойности на AIP при пациенти с БТМ (0.17 ± 0.30) и здравите контроли ($-0,34 \pm 0.19$) се установи статистически значима разлика, **$p=0.0001$**
- **Atherogenic coefficient (AtC):** При сравнението на средните стойности на AtC при пациентите с БТМ (2.62 ± 1.20) и здравите контроли (2.45 ± 0.73) не се установи статистически значима разлика, $p=0.43$
- **non-HDL-холестерол:** при сравнението на средните стойности на non-HDL-холестерол при пациентите с БТМ (2.32 ± 0.78) и здравите контроли (2.41 ± 0.69) не се установи статистически значима разлика, $p=0.31$.

Анализът на получените от нас резултати показва, че средните стойности на CRI-I, CRI-II, AIP и AtC са по-високи от тези при здравите контроли, но само при CRI-I и AIP се установява сигнификантност, **$p=0,0001$** . Нашите данни не се различават от резултатите, публикувани от други проучвания за деца и млади възрастни с БТМ, които са все още много малко на брой.

Обсъждане:

През 2004 г. *Chrysohoou et al.* от Гърция публикуват резултати от многогодишно проучване върху липидния профил при възрастни пациенти с БТМ. (128) Те са наблюдавали, че 39% от мъжете и 30% от жените с БТМ с нива на общ холестерол под $5,17 \text{ mmol/l}$ и на HDL-холестерол под $0,90 \text{ mmol/l}$ за мъже и под $1,16 \text{ mmol/l}$ за жени, са имали съотношение на TC/HDL (CRI-I) по-високо от нормалната стойност, която е 3,5. При сравняване на тези резултати с резултатите, получени от проучването АТТІСА при здрави възрастни, се установява, че само 19% от мъжете и 12% от жените с нормални нива на общ холестерол са имали и ниски нива на HDL-холестерол. (147) Имайки предвид много по-ниския дял на здравите контроли с нисък HDL-холестерол, авторите правят заключението, че пациентите с БТМ имат много по-висок риск от развитие на коронарна болест. От друга страна, във връзка с проучването АТТІСА те подчертават и значението на TC/HDL (CRI-I) при оценката на липидния статус и за предотвратяване на атеросклеротично заболяване на популационно ниво.

През 2015 г. *Ashar et al.* изследват липидния профил при 36 пациенти с хомозиготна БТМ на средна възраст 12 г. (от 5- до 24-годишна възраст), от които 17 мъже и 19 жени. При 36,1% от пациентите са регистрирани високи стойности на триглицериди и значително по-ниски стойности на HDL- ($0,98 \pm 0,51$) и LDL-холестерол ($2,35 \pm 1,22$ mmol/L). Средните стойности на съотношението TC/HDL-C (CRI-I) е 5,7 при норма < 3.5 . (270) Получените от нас резултати са подобни на съобщените от *Ashar et al.*, като средната стойност на CRI-I не е толкова висока и почти се доближава до нормата.

Три години по-късно *Nasir et al.* (2018 г.) провеждат проучване на липидния профил и липидните индекси при деца с БТМ в Индонезия, като търсят корелации между нивата на витамин Д и показателите на липидния метаболизъм. В сравнение със здравите контроли, пациентите с БТМ са имали по-ниски средни стойности на HDL-холестерол и по-високи стойности на съотношението TC:HDL-C (CRI-I) = 4,4. (269)

В проучване на *Ray et al.* (2022 г.) (160) е направен сравнителен анализ на липидния профил и атерогенните липидни индекси при деца с трансфузионнозависима таласемия и здрави контроли. Изследваната група е включвала 72 пациенти с БТМ на възраст между 3 и 14 години и 83 здрави контроли, съответстващи по пол и възраст. Изследван е липидният профил и са изчислени следните липидни индекси: AIP, CRI-I, CRI-II и AtC. Изследователите са установили, че в сравнение с контролната група, средните нива на LDL-, HDL- и общия холестерол са били значително по-ниски в групата на децата с БТМ ($p < 0,001$), а нивата на триглицеридите и липидните индекси значително по-високи ($p < 0,001$). (160) Публикуваните от тях резултати съвпадат напълно с резултатите, получени в нашето изследване. Средната стойност на AIP в изследваната от *Ray et al.* пациентска група е $0,57 \pm 0,25$, което е доста висока стойност и съответства на висок риск според *Dobiasova et al.* (163) (2011 г.) и приетите референтни стойности за възрастни пациенти ($AIP > 0,24$). Авторите съобщават, че не са успели да намерят референтни стойности за педиатричната популация, но въпреки това правят заключението, че получените от тях високи стойности на AIP могат да се свържат с по-висок риск от атеросклероза в тази група. В по-ранни проучвания различни изследователски колективи също установяват по-високи стойности на AIP при деца с ТЗБТМ и сравнявайки ги със стойностите при здрави деца, подчертават техния висок рисков потенциал за развитие на сърдечно-съдови заболявания. (258)(269)

Според *Bersot et al.* при пациенти с БТМ и ниски нива на HDL-холестерол, които се определят като рискови за сърдечно-съдови заболявания, преценката дали подлежат на медикаментозно лечение или на промяна в начина на живот следва да се прави не на базата на отделни липидни параметри, а на база стойностите на съотношението TC/HDL (CRI-I). Според авторите това съотношение е по-добър предиктор на риск от коронарна болест в сравнение с

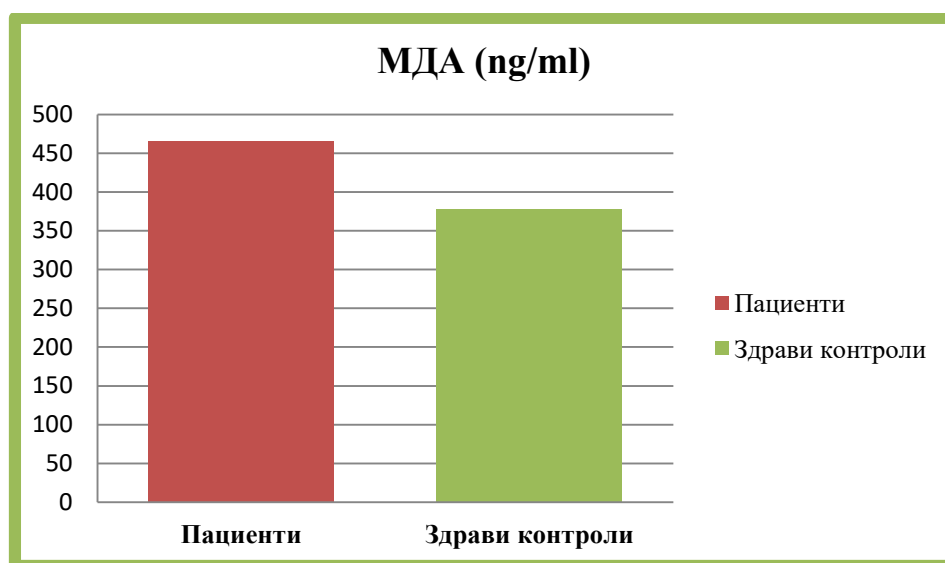
абсолютните стойности на HDL- и LDL-холестерол и чрез него могат да бъдат идентифицирани много повече рискови пациенти. (169)

В проведеното от нас проучване средните стойности на АІР при пациентите с БТМ са 0.17 ± 0.30 , които са значително по-високи от получените при здрави контроли ($p=0.0001$) и съответстват на среден риск за развитие на ССЗ. Значително по-високи в сравнение със здравите контроли са и средните стойности на СRI-I ($p=0.0001$). Тези резултати потвърждават направеното в предхождания раздел заключение, че пациентите с БТМ имат повишен риск от коронарни инциденти и ни дават основание да предложим тяхното включване към панела с липидни показатели, скриниращи риска от ССЗ след навършване на 5-годишна възраст.

2.5. Сравнителен анализ и обсъждане на стойностите на малондиалдехид при пациентите с БТМ и контролната група

Резултати към задача 4: Да се определят серумните концентрации на МДА при пациенти с БТМ и да се сравнят с тези на здрави контроли.

На Фиг. 6 са представени средните стойности на МДА на пациентите и здравите контроли в проучването.



Фиг. 8. Средни стойности на МДА при пациенти с БТМ и здрави контроли

Анализът на получените от нас резултати показва, че средната стойност на МДА в групата на пациентите е $464,76 \pm 395,56$ ng/ml, докато при здравите контроли средната стойност е $377,89 \pm 342,15$ ng/ml, като разликата е несигнификантна, $p=0,302$

Обсъждане:

Средната стойност на МДА при пациентите с БТМ в нашето проучване е по-висока в сравнение със здравите контроли, но за разлика от по-голямата част от изследванията на други автори не се открива сигнификантна разлика, ($p=0,302$). Интересът към този прооксидантен

биомаркер е известен още от 90-те години на миналия век (80)(311) и продължава да е обект на много проучвания от целия свят. (131)

В проучване, проведено от *Caroline et al.* през 2021 г., средното ниво на МДА при пациентите с БТМ е 0,43 $\mu\text{mol/L}$, а това на здравите контроли е 0,14 $\mu\text{mol/L}$. (312) Тези статистически значими резултати са в съответствие с получените от *Sengsuk et al.* (313) и *Abed Mahdi* (314), които отчитат значително по-високи нива на МДА при пациенти с БТМ на редовен хемотрансфузионен режим в сравнение със здрави контроли. *Jabbar et al.* също установяват повишен серумен МДА при пациенти с БТМ в сравнение със здрави контроли. (254) Подобен резултат са получили *Patne et al.* (315) в Индия и *Gunarish et al.* в Индонезия. (316)

През 2021 г. *Basu et al.* публикуват метаанализ на всички проучвания по типа „случай-контрол“, които изследват и сравняват стойностите на МДА и серумен феритин при пациенти с БТМ и здрави контроли. Резултатите от метаанализа са показали, че серумните нива на МДА и серумен феритин са по-високи при пациентите с БТМ ($p < 0,001$), независимо от тежест на заболяването, възраст, пол и честота на хемотрансфузии. (136)

Atmakusuma et al. (2021 г.) инициират проучване, което има за цел да сравни нивата на МДА като маркер за ОС при пациенти с ТЗБТ и нетрансфузионнозависима бета-таласемия преди и след трансфузия. Това е и първото проучване, в което се търси корелация между нивата на серумния феритин и трансферин с плазмения МДА преди и след трансфузия. (317) Авторите установяват, че и при двете групи пациенти не се открива значителна разлика както в нивата на МДА, така и в корелациите на МДА с нивата на серумните маркери за ЖСН преди и след хемотрансфузия. Те изказват предположение, че липсата на плазмено увеличение на МДА след кръвопреливане при някои субекти може да е свързано с рутинно добавяне на антиоксиданти.

Липсата на сигнификантна разлика в стойностите на МДА в изследваните от нас пациенти с БТМ и здрави контроли, бихме могли да обясним с приема на по-голямо количество антиоксиданти от пациентите в изучавания период, който съвпада с пандемията от COVID-19. Съобразявайки се с препоръките за хранене по време на инфекции за допълнителен внос на микронутриенти (318)(319)(320) и със становището на ТИФ и други експерти, че пациентите с хемоглобинопатии са изложени на повишен риск от развитие на тежки усложнения от COVID-19 (320)(321)(322)(323)(324)(325), всички пациенти с БТМ от нашия център са приемали продължително време мултивитами и хранителни добавки, включващи и антиоксидантите вит. Е, вит. С и вит. Д. В подкрепа на нашето предположение за връзката на екзогенните антиоксиданти с оксидативния стрес е проучването на *Trangsuwan et al.*, в

което авторите доказват, че ниските нива на вит. Е могат да бъдат повишени чрез продължителен прием на медикаментозен вит. Е. (326)

Обсъждайки възможните причини за липсата на сигнификантност при сравняване на стойностите на МДА в двете изследвани групи, ние приемаме за слабост на нашето проучване пропуснатата възможност за сравнително изследване на серумните нива на антиоксидантните витамини и тяхното съпоставяне със стойностите на МДА. Тези изследвания не бяха включени в дизайна на проучването поради обстоятелството, че научният проект по темата беше одобрен от Комисията по етика на научните изследвания (КЕНИ) към Медицински университет – Варна преди настъпването на епидемията от COVID-19. За потвърждение и обяснение на подозираната от нас причина за несигнификантност на стойностите на МДА при пациентите с БТМ и здравите контроли, ние препоръчваме провеждане на допълнително проучване.

2.6. Сравнителен анализ и обсъждане на echo-tracking показатели на каротидните артерии при пациентите с БТМ и контролната група

Резултати към задача 5: *Да се измери и сравни локалната артериална ригидност на двете каротидни артерии посредством echo-tracking (ET) методика при пациенти с БТМ и здрави контроли.*

На Табл. 6 са представени ET показатели на дясна обща каротидна артерия на пациентите и здравите контроли в проучването.

Табл. 6. ET показатели на дясна обща каротидна артерия на участниците в проучването

Показател	Пациенти с БТМ	Здрави контроли	p-value
β -stiffness index (R)	4,63±2,38	4,46±1,53	p=0.716
PWV β (R) (m/s)	4.35±1,07	4.24±0,75	p=0.795
E _p (R) (kPa)	53,10±26,6	49,42±18,6	p=0.864
AIx (R) (%)	15,29±21,29	21,10±29,80	p=0.096
AC (R) (mm ² /kPa)	1,54±0,75	1,23±0,41	p=0.05

(R): дясна обща каротидна артерия

При изследване на ET показателите на дясна обща каротидна артерия получихме следните резултати:

- **β -stiffness index (R):** средните стойности на β -stiffness index (R) в групата на пациентите е 4,63±2,38, а при здравите контроли е 4,46±1,53. Разликата не е сигнификантна, p=0.716
- **PWV β (R):** средните стойности PWV β (R) в групата на пациентите е 4.35±1,07, а при здравите контроли е 4.24±0,75. Не се установи значима разлика, p=0.795

- **Er (R):** средните стойности Er (R) в групата на пациентите е $53,10 \pm 26,6$, а при здравите контроли е $49,42 \pm 18,6$. Не се установи значима разлика, $p=0.864$
- **AIx (R):** При пациентите с БТМ измерените средни стойности на AIx (R) са $15,29 \pm 21,29$, а при здравите контроли съответно $21,10 \pm 29,80$. Разликата не е сигнификантна, $p=0.096$
- **АС (R):** средните стойности на АС (R) в групата на пациентите е $1,54 \pm 0,75$, а при здравите контроли е $1,23 \pm 0,41$, като нивото на значимост е гранично, **$p=0.05$** .

Анализът на ET показателите на дясна обща каротидна артерия установи гранично ниво на значимост само при АС (R), **$p=0.05$** .

На Табл. 7 са представени ET показатели на **лява обща каротидна артерия** на пациентите и здравите контроли в проучването.

Табл. 7. ET показатели на лява обща каротидна артерия на участниците в проучването

Показател	Пациенти с БТМ	Здрави контроли	p-value
β-stiffness index (L)	$4,51 \pm 2,46$	$4,26 \pm 1,24$	$p=0.582$
PWVβ (L) (m/s)	$4,29 \pm 1,13$	$4,16 \pm 0,75$	$p=0.975$
Er (L) (kPa)	$51,89 \pm 28,90$	$47,15 \pm 15,54$	$p=0.996$
AIx (L) (%)	$14,13 \pm 22,51$	$11,77 \pm 21,83$	$p=0.720$
АС (L) (mm²/kPa)	$1,56 \pm 0,79$	$1,26 \pm 0,41$	$p=0.107$

(L): лява обща каротидна артерия

При изследване на ET показателите на **лява обща каротидна артерия** получихме следните резултати:

- **β -stiffness index (L):** средните стойности на β -stiffness index (L) в групата на пациентите е $4,51 \pm 2,46$, а при здравите контроли е $4,26 \pm 1,24$. Разликата не е сигнификантна, $p=0.582$
- **PWV β (L):** средните стойности PWV β (L) в групата на пациентите е $4,29 \pm 1,13$, а при здравите контроли е $4,24 \pm 0,75$. Не се установи значима разлика, $p=0.975$
- **Er (L):** средните стойности Er (L) в групата на пациентите е $51,89 \pm 28,90$, а при здравите контроли е $47,15 \pm 15,54$. Не се установи значима разлика, $p=0.996$
- **AIx (L):** При пациентите с БТМ измерените средни стойности на AIx (L) са $14,13 \pm 22,51$, а при здравите контроли съответно $11,77 \pm 21,83$. Разликата не е сигнификантна, $p=0.720$
- **АС (L):** средните стойности АС (L) в групата на пациентите е $1,56 \pm 0,79$, а при здравите контроли е $1,26 \pm 0,41$, без значима разлика, $p=0.107$.

Анализът на ET показателите на лява обща каротидна артерия не установи статистически значима разлика при сравняваните показатели.

Обсъждане:

При анализа на резултатите от ехографското изследване на каротидните артерии не открихме сигнификантна разлика между двете изследвани групи по отношение на средните стойности на β -stiffness index-a и на стойностите на PWV β и при двете каротидни артерии, но стойностите при пациентите са по-високи. По отношение на параметрите Ер и AIx също не се откри статистически значима разлика. Разлика е открита само при сравняване на средните стойности на AC на дясна каротидна артерия – $1,54 \pm 0,75$ при пациентите с БТМ спрямо $1,23 \pm 0,41$ при контролите, ($p=0.05$). Вероятно обяснение би могло да бъде по-малката възраст на нашите пациенти.

Cheung et al. през 2002 г. провеждат проучване, в което са включени 30 пациенти с БТМ на възраст $22,2 \pm 7,4$ г. без изявено сърдечно заболяване и съответен брой здрави контроли. Целта, която си поставя изследователският колектив, е да потърси ехокардиографски промени в миокарда и да оцени ендотелната функция на участниците чрез кръвоток-медирана вазодилатация на каротидната и брахиалната артерия. (271) *Cheung et al.* съобщават, че при пациентите с БТМ е измерена значително по-голяма мускулна маса на лявата камера, повишена ригидност на каротидната артерия и намалена пулсова скорост на брахиалната артерия и нарушена кръвоток-медирана дилатация. Авторите обясняват получените резултати с високия железен свръхтовар, тъканната увреда от натрупването на свободни кислородни радикали и ниските нива на азотен оксид в групата на пациентите. Гореспоменатите фактори са причина за увеличена съдова ригидност, ендотелна съдова дисфункция с нарушено камерно-съдово куплиране и левокамерна мускулна хипертрофия, които водят до диастолна дисфункция на лява камера, а впоследствие и систолна таласемична кардиомиопатия. В проучването на *Cheung et al.* индексът на ригидност (stiffness индексът) на каротидната артерия е значително по-висок при пациентите ($8,1 \pm 3,5$) спрямо контролите ($5,5 \pm 1,6$), $p=0,001$. Също така брахиорадиалната PWV е била по-висока при пациентите ($8,9 \pm 2,4$ m/s) спрямо контролите ($7,9 \pm 1,7$ m/s), $p=0,03$.

Получените от нас резултати са подобни на съобщените от *Cusmà Piccione et al.* през 2013 г., при 32 пациенти (23 жени, средна възраст 35 ± 8 години) с БТМ и 33 здрави контроли (20 жени, средна възраст 35 ± 6 години). Целта на проведеното изследване е била да се оцени левокамерната миокардна деформация и ригидността на каротидните артерии с помощта на двуизмерен стрейн и echo-tracking изследване при асимптоматични пациенти с БТМ и да се потърсят субклинични сърдечно-съдови промени. Била е измерена дебелината на каротидния интима-медия комплекс при двете групи, без да бъде открита съществена разлика в средните

стойности ($0,67 \pm 0,20$ mm срещу $0,66 \pm 0,15$ mm). След приложение на echo-tracking методиката изследователите откриват, че β -stiffness index-а на пациентите е $6,16 \pm 1,31$, а този на здравите контроли е $4,65 \pm 0,82$, като разликата е сигнификантна, ($p < 0,001$). Подобно на получените от нас резултати, разликата на стойностите на PWV между двете групи не е сигнификантна, но въпреки това стойностите при пациентите са по-високи спрямо контролите, ($p = 0,07$). Изводът, който изследователите правят, е, че двуизмерният стрейн и echo-tracking методиките са по-точни от стандартното ехокардиографско и доплерово изследване на каротиди за идентифициране на ранни белези на сърдечно-съдово засягане. (278) Данните, които те са получили, са в съгласие с предишни открития и потвърждават, че дори при добре хелатирани пациенти се развива ранна съдова увреда, представяща се като повишена артериална ригидност. Авторите доказват също, че измерването на дебелината на комплекса интима-медия на каротидните артерии много често не може да отрази наличието на най-ранните съдови промени и препоръчват да бъдат изследвани други параметри, като артериална ригидност, за да се оцени по-прецизно съдовото засягане при пациенти с БТМ. (278)

3. Корелационни зависимости в групата на пациентите с БТМ

3.1. Корелационни зависимости между нивата на серумния феритин и показателите от липидния профил и липидните индекси.

Резултати към задача 6: Да се изследват корелациите между нивата на серумния феритин и показателите на липидната обмяна и някои атерогенни липидни индекси при пациенти с БТМ.

На Табл. 8 са представени корелационните зависимости между стойностите на серумния феритин и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ.

Табл. 8. Корелационни зависимости между стойностите на серумния феритин и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
Серумен феритин	Pearson correlation (r)	.602 ^{**}	.656 ^{**}	-.222	.401 [*]
	p	0.0001	0.0001	0.187	0.014

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на общия холестерол (**$r = 0,602$, $p = 0.0001$**)

- Силна положителна корелация между стойностите на серумния феритин и LDL-холестерола (**$r=0,656$, $p=0.0001$**)
- Липса на значима корелация между стойностите на серумния феритин и HDL-холестерола ($r=-0,222$, $p=0.187$)
- Умерена положителна корелация между стойностите на феритина и триглицеридите (**$r=0,401$, $p=0.014$**).

На Табл. 9 са представени корелационните зависимости между стойностите на серумния феритин и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ.

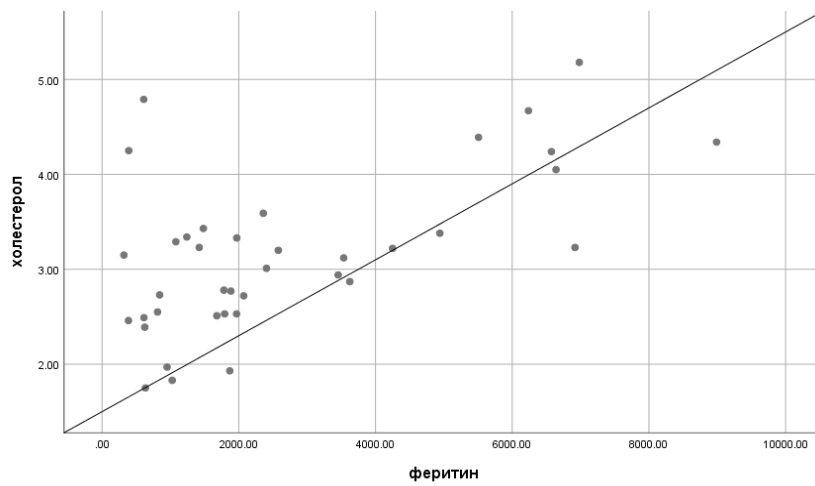
Табл. 9. Корелационни зависимости между стойностите на серумния феритин и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
Серумен феритин	Pearson Correlation (r)	.702 ^{**}	.722 ^{**}	.282	.709 ^{**}	.746 ^{**}
	p	0.0001	0.0001	0.091	0.0001	0.0001

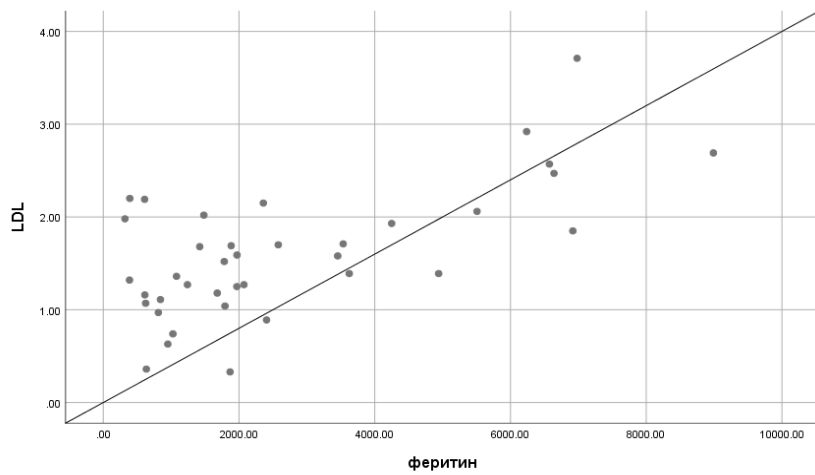
При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна корелация между стойностите на серумния феритин и CRI-I, (**$r=0,702$, $p=0.000$**) и CRI-II. (**$r=0,722$, $p=0.0001$**)
- Липса на значима корелация между стойностите на серумния феритин и AIP, ($r=0,282$, $p=0.091$)
- Силна положителна корелация между стойностите на серумния феритин и AtC, (**$r=0,709$, $p=0.0001$**)
- Силна положителна корелация между стойностите на серумния феритин и non-HDL-холестерол, (**$r=0,746$, $p=0.0001$**).

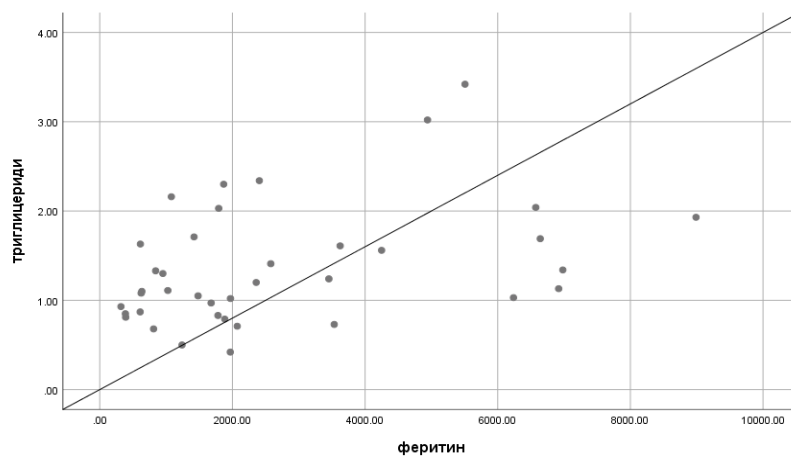
Анализът на получените от нас резултати доказва, че по-високите нива на серумния феритин при деца и млади възрастни с БТМ имат силна позитивна корелация с голяма част от показателите на липидната обмяна и липидните индекси като общ холестерол, LDL-холестерол, триглицериди, CRI-I, CRI-II и AtC. Статистически значимите корелации са представени и в графичен вариант (Фиг. 9 до Фиг. 15):



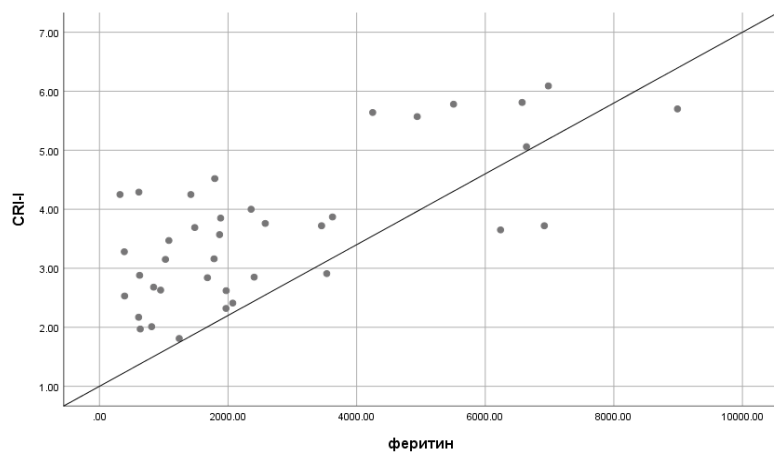
Фиг. 9. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на общия холестерол ($r=0,602$, $p=0.0001$)



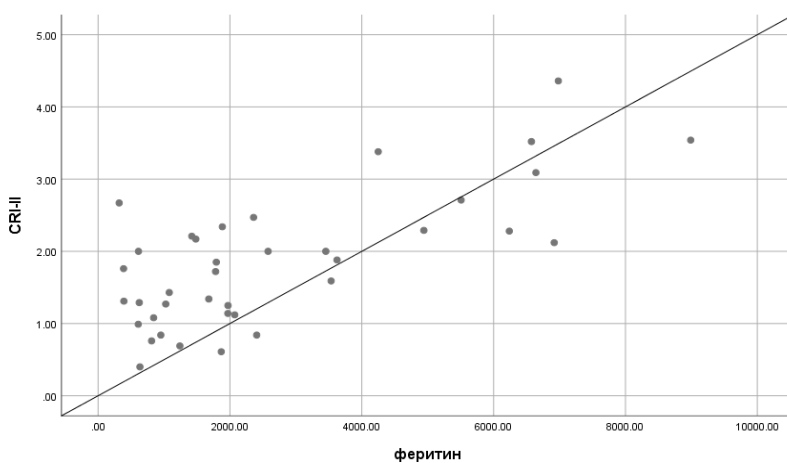
Фиг. 10. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на LDL-холестерола ($r=0,656$, $p=0.0001$)



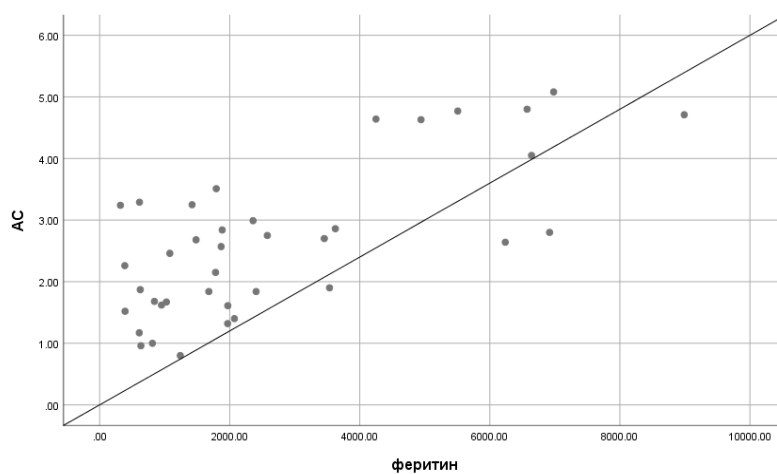
Фиг. 11. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на триглицеридите ($r=0,401$, $p=0.014$)



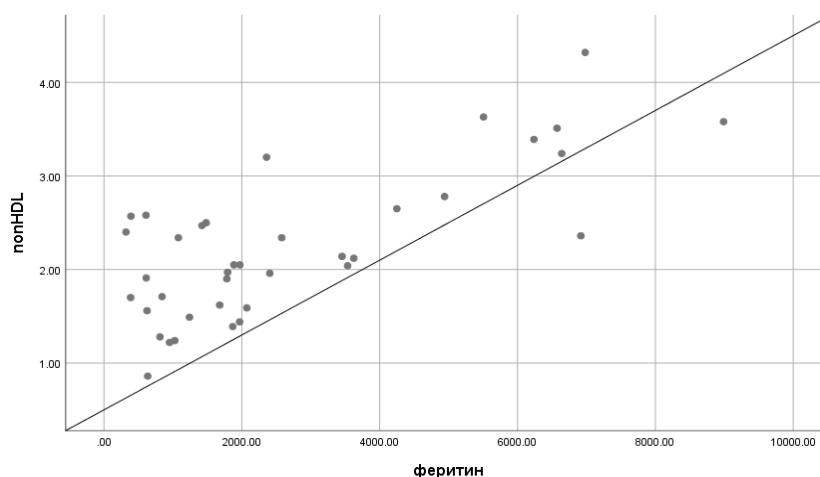
Фиг. 12. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на CRP-I
($r=0,702$, $p=0.0001$)



Фиг. 13. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на CRP-II
($r=0,722$, $p=0.0001$)



Фиг. 14. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на AtC
($r=0,709$, $p=0.0001$)



Фиг. 15. Корелация между стойностите на серумния феритин и стойностите на non-HDL (r=0,746, p=0.0001)

Обсъждане:

Подобна зависимост при пациенти с БТМ е установена и от много други автори. През 2008 г. в Йордания *Mansi et al.* са описали положителна корелация между нивата на серумен феритин и на триглицериди, характеризирайки това като „важен предиктор на атеросклероза“. (327) В по-късни проучвания *Ragab et al.* от Ирак (2014 г.), *Sherief et al.* от Египет (2017 г.) и *Suman et al.* от Индия (2017) също доказват положителна корелация между феритин и триглицериди и подкрепят хипотезата за тяхното участие в патогенезата на окисляването на LDL-холестерола. (258)(263)(328) При съпоставянето на тези показатели в нашето проучване ние получихме подобни корелационни зависимости ($r=0,401$, $p=0.014$), които не се различават и от публикуваните през 2012 г. от *Arica et al.* Тяхното проучване е проведено при 85 деца с БТМ и 55 здрави контроли в Турция, при което установяват сигнификантна корелация между нивата на триглицеридите и серумния феритин. (307)

Shams et al. през 2009 г. в Иран изследват 78 деца с хомозиготна БТМ на възраст 16 ± 6 год., които се лекуват в техния център и получават редовна желязохелатираща терапия. В проучването са включени и 122 здрави деца на възраст 14 ± 4 год., които са без данни за хематологично или друго хронично възпалително заболяване. На двете групи участници е изследван липиден профил, серумен феритин, чернодробни ензими, инсулин и глюкоза на гладно. Стойностите на общия холестерол в групата на пациентите са значително по-ниски от тези на контролите ($3,4 \pm 1,2$ срещу $4,1 \pm 0,7$ mmol/L, $p=0,0001$). (260) Публикуваните данни са в съгласие с получените от нас резултати, вкл. и за сигнификантността между средните стойности на общия холестерол в двете изследвани групи – $3,16\pm 0,83$ mmol/L срещу $3,94\pm 0,77$ mmol/L ($p=0.0001$). За разлика от нас, авторите не откриват статистически значима корелация

между стойностите на общия холестерол и феритина. В нашето прочуване тази корелация е силно положителна ($r=0,602$, $p=0.0001$).

През 2014 г. *El Gindi et al.* от Египет при търсене на корелационни зависимости между стойностите на серумния феритин и останалите липидни показатели при деца с БТМ намират силна положителна корелация с LDL-холестерол ($r=0,301$, $p=0.003$), силна негативна корелация с HDL-холестерол ($r= -0,326$, $p=0.001$) и липса на корелация със серумните триглицериди. (329) При съпоставянето на получените от тях резултати с тези от нашето проучване, ние установихме съвпадение само по отношение на корелациите с LDL-холестерол, които са силно положителни и в двете проучвания. По отношение на HDL-холестерола корелациите и в двете проучвания са отрицателни, но при нашите пациенти липсва статистическа значимост.

За силна положителна корелация между серумен феритин и LDL-холестерол при пациенти с БТМ съобщават и *Hartman et al.* от Израел (2002 г.). Анализирайки получените резултати, авторите правят заключението, че тази силна зависимост се дължи на високата чувствителност на липидната фракция LDL-холестерол към ефектите на свободното желязо и оксидативния стрес. (257)

През 2014 г. *Boudrahem-Addour et al.* съобщават за положителна връзка между повишените стойности на съотношението TC/HDL-с (CRI-I) с нивата на серумен феритин и триглицериди, особено при млади пациенти с БТМ. (131) Свързвайки по-високите стойности на CRI-I с повишен коронарен риск, авторите правят предложение CRI-I да бъде включен към параметрите за проследяване на пациентите с БТМ, особено за преживелите спленектомия. В проведеното от нас проучване ние установихме силна положителна корелация както между стойностите на серумен феритин и CRI-I ($r=0,702$, $p=0.0001$), така и между серумен феритин и CRI-II ($r=0,722$, $p=0.0001$).

Ray et al. през 2023 г. в Индия съобщават за положителна корелация на CRI-I ($r=0,286$, $p=0.015$), CRI-II ($r=0,273$, $p=0.020$) и AtC ($r=0,286$, $p=0.015$) с нивата на серумен феритин. Тези резултати са в съответствие с получените от нас силни положителни корелации между стойностите на феритина и CRI-I ($r=0,702$, $p=0.0001$), CRI-II ($r=0,722$, $p=0.0001$) и AtC ($r=0,709$, $p=0.0001$). (160)

В заключение, имайки предвид атерогенния потенциал на липидните показатели и установените от нас и други автори позитивни корелации със серумния феритин, ние предлагаме серумният феритин да бъде включен като допълнителен маркер за оценка на риск от ССЗ при пациенти с БТМ. От друга страна, ние приемаме, че нарушеният липиден профил при пациентите с БТМ може да служи като косвено доказателство за наличие на желязен свръхтовар и косвен критерий за оценка на ефекта от хелатиращото лечение.

3.2. Корелационни зависимости между стойностите на хемоглобина и показателите от липидния профил и липидните индекси

Резултати към задача 7: Да се изследват корелациите между стойностите на хемоглобина и показателите на липидния профил и липидните индекси.

На Табл. 10 са представени корелационните зависимости между стойностите на хемоглобина и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ.

Табл. 10. Корелационни зависимости между стойностите на хемоглобина и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
Hb	<i>Pearson Correlation</i>	0.532 **	0.517 **	0.489 **	-0.295
	p	0.001	0.001	0.002	0.072

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна корелация между стойностите на хемоглобина и общия холестерол ($r=0,532$, $p=0.001$)
- Силна положителна корелация между стойностите на хемоглобина и LDL-холестерол ($r=0,517$, $p=0.001$)
- Умерена положителна корелация между стойностите на хемоглобина и HDL-холестерол ($r=0,489$, $p=0.002$)
- Липса на значима корелация между стойностите на хемоглобина и триглицеридите ($r= -0,295$, $p=0.072$).

На Табл. 11 са представени корелационните зависимости между стойностите на хемоглобина и липидните индекси при пациентите с БТМ.

Табл. 11. Корелационни зависимости между стойностите на хемоглобина и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
Hb	<i>Pearson Correlation</i>	-0.046	0.196	-0.466 **	-0.033	0.354 *
	p	0.786	0.239	0.003	0.843	0.029

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значима корелация между стойностите на хемоглобина и CRI-I ($r = -0,046$, $p = 0.786$)
- Липса на значима корелация между стойностите на хемоглобина и CRI-II ($r = 0,196$, $p = 0.239$)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на хемоглобина и AIP (**$r = -0,466$, $p = 0.003$**)
- Липса на значима корелация между стойностите на хемоглобина и AtC ($r = -0,033$, $p = 0.843$)
- Умерена положителна корелация между стойностите на хемоглобина и non-HDL-холестерол (**$r = 0,354$, $p = 0.029$**).

При корелационния анализ на стойностите на хемоглобина и показателите на липидния профил се установи силна положителна сигнификантност със стойностите на общия холестерол и LDL-холестерола, умерена положителна със стойностите на HDL-холестерол и умерена отрицателна със стойностите на AIP. Подобна зависимост е установена и при други проучвания за корелационни зависимости между тези показатели при пациенти с БТМ в световен мащаб.

Обсъждане:

През 2022 г. в Индия *Jabbar et al.* установяват значителна отрицателна корелация на триглицеридите и хемоглобина сред деца с БТМ. При нашата група пациенти тази корелация също е отрицателна, но не е статистически значима. Според *Jabbar et al.* продължителното персистиране на ниски хемоглобинови нива поставя пациентите в повишен риск от намалена екстрахепатална липолитична активност, водеща до високи нива на серумни триглицериди. (254) По отношение на корелациите между стойностите на хемоглобина и общия холестерол нашите резултати за силна положителна зависимост ($r = 0,532$, $p = 0.001$) съвпадат напълно с резултатите от горесцитираното проучване ($r = 0,041$, $p < 0.001$). Те са аналогични и с получените резултати от *Daswani et al.* от Индия (2021 г.), които ги обясняват с повишената консумация на холестерол за изграждане на еритроидната мембрана и наличието на хиперпластична и свръхактивирана ретикулоендотелна система при пациентите с БТМ. (266) *Daswani et al.* съобщават също и за значителна положителна корелация на хемоглобина с LDL-холестерол ($p = 0.033$, $\beta = 1.594$), което се потвърждава и в нашето проучване ($r = 0,517$, $p = 0.001$). За разлика от тях обаче, които не намират корелация между хемоглобина и HDL-холестерол, нашите резултати я доказват в умерена степен на положителна зависимост ($r = 0,489$, $p = 0.002$).

В цитираното в предния раздел на дисертацията проучване на *Ray et al.* от 2023 г. (160) авторите съобщават и за значителна отрицателна корелация на хемоглобина с CRI-I ($r = -0,320$, $p = 0,001$) и CRI-II ($r = -0,266$, $p < 0,001$), AIP ($r = -0,647$, $p < 0,001$) и AtC ($r = -0,320$, $p < 0,001$) при деца с БТМ. (160) За разлика от тях, при нашите пациенти се установи само умерена отрицателна корелация между стойностите на хемоглобина и AIP ($r = -0,466$, $p = 0,003$), с което се доказва, че с намаляване на стойностите на хемоглобина нараства и атерогенният потенциал.

Заклучение:

При пациентите с БТМ липидните индекси (CRI-I, CRI-II, AtC) имат значителна корелация с претрансфузионните нива на хемоглобина и серумните нива на феритина. Пониските претрансфузионни нива на хемоглобина се асоциират с по-тежка дислипидемия, което означава, че неефективната еритропоеза не е потисната и това води до по-високи нива на оксидативен стрес и оттам се засилва и степента на дислипидемията. Тези резултати и открития потвърждават необходимостта претрансфузионните нива на хемоглобина да се поддържат над 95 г/л, както е по препоръки на Международната федерация по таласемия (TIF). Една от обсъжданите причини за тази лабораторна констелация е наличието на повишена консумация на холестерол, необходим за изграждането на клетъчната мембрана и наличието на хиперпластична и свръхактивна ретикулоендотелна система. (265)

3.3 Корелационни зависимости между ЕТ параметрите на двете каротидни артерии с пола, възрастта, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ

Резултати към задача 8: *Да се изследват корелациите на ЕТ параметрите на двете каротидни артерии с пола, възрастта, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ.*

3.3.1 Корелационни зависимости между ЕТ параметрите на двете каротидни артерии и възрастта при пациенти с БТМ

На *Табл. 12* са представени корелационните зависимости между възрастта и ЕТ показателите на **дясна каротидна артерия** при пациентите с БТМ, а на *Табл. 13* – корелационните зависимости между възрастта и ЕТ показателите на **лява каротидна артерия**.

Табл. 12. Корелационни зависимости между възрастта и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (R)	Ep (R)	AIx (R)	AC (R)	PWV β (R)
Възраст	<i>Pearson correlation</i>	.491 ^{**}	.486 ^{**}	.141	-.320	.486 ^{**}
	p	0.002	0.002	0.399	0.050	0.002

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка на възрастта и стойностите на β -stiffness index (R) на пациентите (**r= 0,491, p=0.002**)
- Умерена положителна връзка на възрастта и стойностите на Ep (R) (**r=0,486, p=0.002**)
- Липса на значима корелация между възрастта и стойностите на AIx (R) (r=0,141, p=0.399)
- Умерена отрицателна връзка на възрастта на пациентите с AC (R), (**r= -0,320, p=0.050**)
- Умерена положителна връзка на възрастта на пациентите и стойностите на PWV β (R) (**r=0,486, p=0.002**).

Табл. 13. Корелационни зависимости между възрастта и ET показателите на лява каротидна артерия при пациентите с БТМ

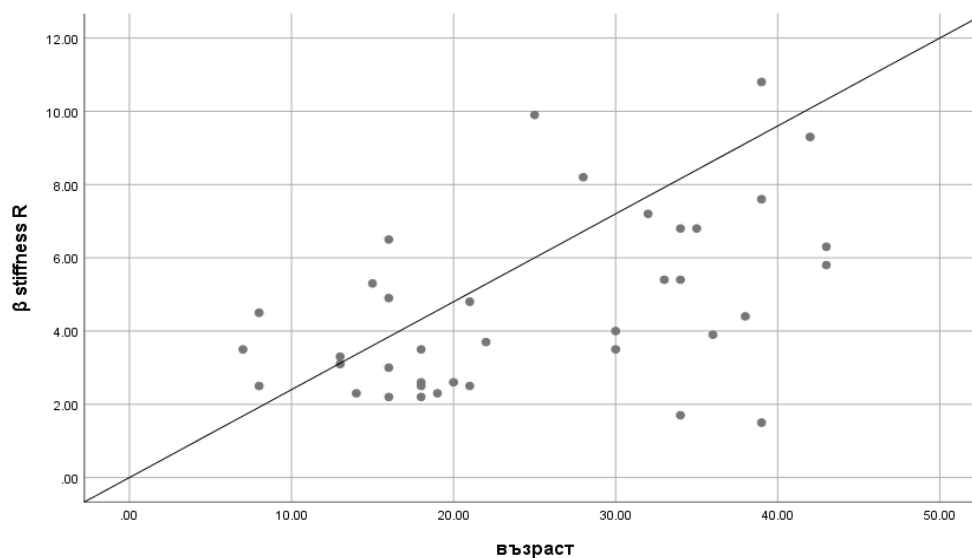
		β -stiffness (L)	Ep (L)	AIx (L)	AC (L)	PWV β (L)
Възраст	<i>Pearson correlation</i>	.609 ^{**}	.572 ^{**}	.107	-.274	.615 ^{**}
	p	0.0001	0.0001	0.522	0.096	0.0001

(L): лява обща каротидна артерия

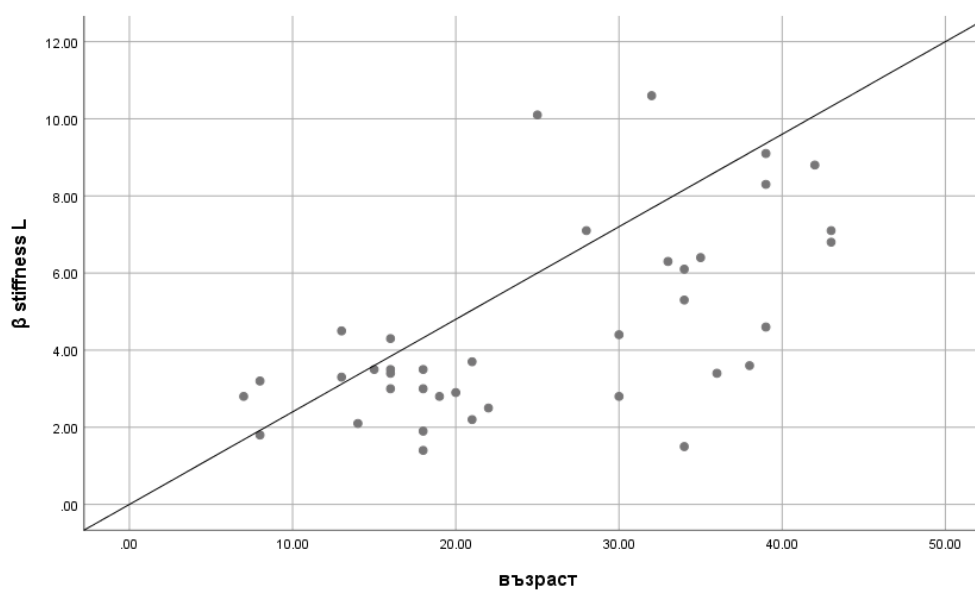
При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна връзка на възрастта и стойностите на β -stiffness index (L) (**r= 0,609, p=0.0001**)
- Силна положителна връзка на възрастта и стойностите на Ep (L) (**r= 0,572, p=0.0001**)
- Липса на значима корелация между възрастта и стойностите на AIx (L) (r=0,107 p=0.522)
- Липса на значима корелация между възрастта и стойностите на AC (L) (r= -0,274 p=0.096)
- Силна положителна корелация на възрастта и стойностите на PWV β (L) (**r= 0,615, p=0.0001**).

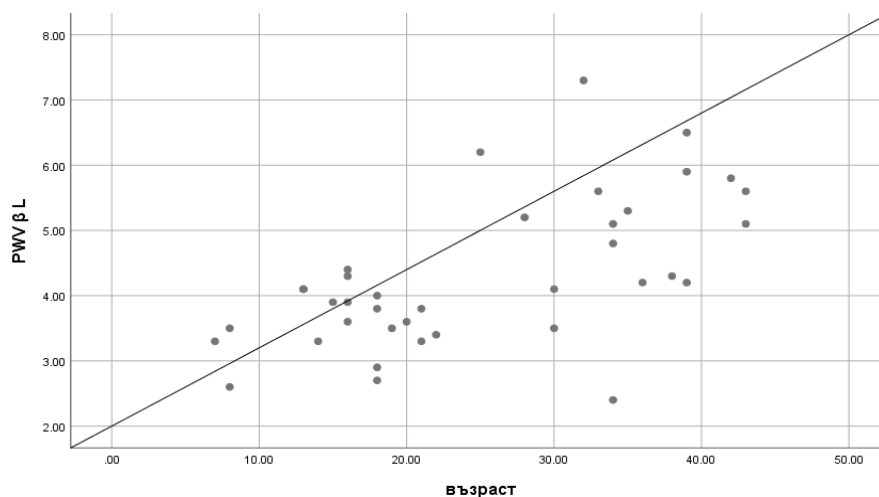
Статистически значимите корелации са представени и в графичен вариант (Фиг. 16 до Фиг. 21):



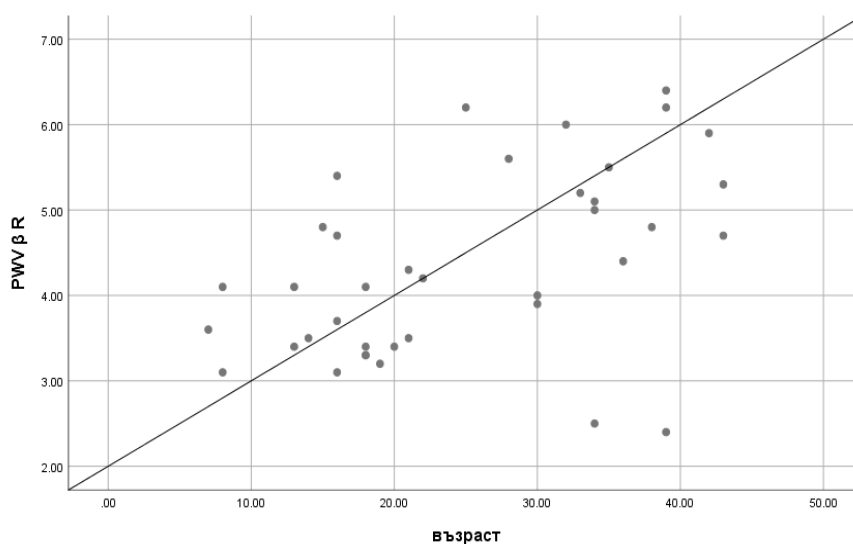
Фиг. 16. Корелация между възрастта и стойностите на β -stiffness index (R) ($r=0,491$, $p=0.002$)



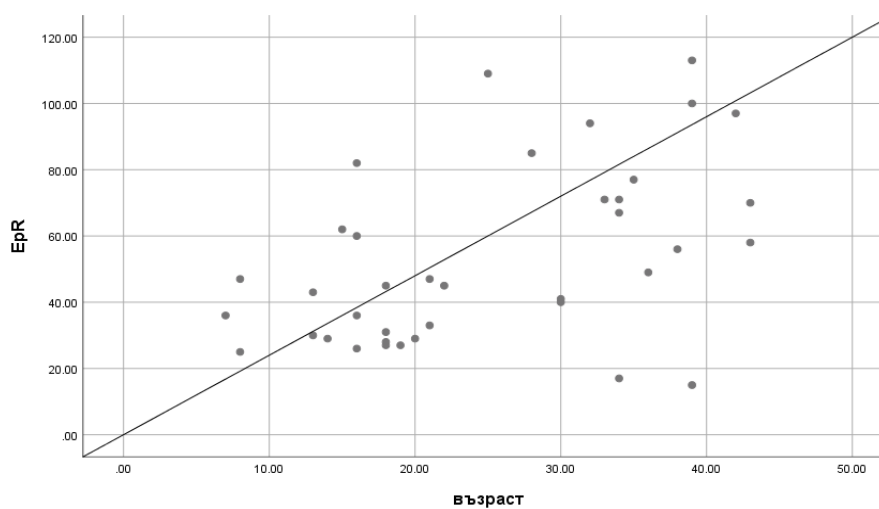
Фиг. 17. Корелация между възрастта и стойностите на β -stiffness index (L) ($r=0,609$, $p=0.0001$)



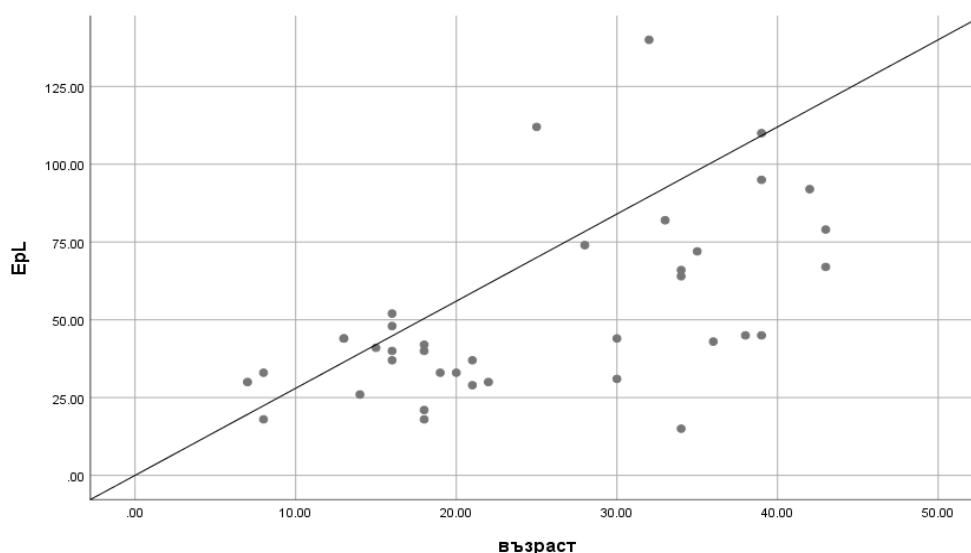
Фиг. 18. Корелация между възрастта и стойностите на $PWV\beta$ (L) ($r=0,615$, $p=0.0001$)



Фиг. 19. Корелация между възрастта и стойностите на $PWV\beta$ (R) ($r=0,486$, $p=0.002$)



Фиг. 20. Корелация между възрастта и стойностите на E_p (R) ($r=0,486$, $p=0.002$)



Фиг. 21. Корелация между възрастта и стойностите на E_p (L) ($r=0,572$, $p=0,0001$)

Обсъждане:

При нашата група пациенти с БТМ се наблюдава умерена положителна корелация на възрастта и стойностите на $PWV\beta$ (R) ($r= 0,486$ $p=0,002$) и силна положителна корелация на възрастта и стойностите на $PWV\beta$ (L) ($r=0,615$, $p=0,0001$). При нашата група пациенти с БТМ се наблюдава умерена положителна корелация на възрастта и стойностите на β -stiffness (R) ($r= 0,491$ $p=0,002$) и силна положителна корелация на възрастта и стойностите на β -stiffness (L) ($r=0,609$, $p=0,0001$). При сравняване на тези показатели при пациентите под и над 26 години също се установяват по-високи стойности в групата с по-голяма възраст. Нашите резултати потвърждават публикуваните в литературата данни, че промените в артериалната еластичност започват в млада възраст и се увеличават с нарастване на възрастта (виж Табл. 14) (271).

Табл. 14. Сравнителен анализ на ET показатели на дясна и лява обща каротидна артерия на пациентите с БТМ под и над 26 год.

Пациенти	Възраст	N	Ср.стойност± SD	Independent t test/p-value	Интервал на доверие
β -stiffness (R)	<26г	21	3.7±1.84	t= -2.97, p=0.005	[-3.53; -0.66]
	>26г	17	5.8±2.50		
PWV β (R)	<26г	21	3.9±0.80	t= -2.98, p=0.005	[-1.59; -0.30]
	>26г	17	4.87±1.15		
β -stiffness (L)	<26г	21	3.30±1.74	t= -3.87, p=0.001	[-1.14; -1.26]
	>26г	17	6.01±2.43		
PWV β (L)	<26г	21	3.72±0.74	t= -4.09, p=0.0001	[-1.90; -0.64]
	>26г	17	4.99±1.15		
	>26г	17	0.71±0.06		

Много проучвания доказват нелинейно повишаване на PWV с възрастта, като акцелерация се наблюдава след 5-ата декада. (330) Повишаването на PWV води и до повишаване на сърдечно-съдовия риск и това се наблюдава както при хипертензивни, така и при нехипертензивни индивиди. (149) Нашите данни, получени чрез методиката ET, установяват, че при пациентите с БТМ артериалната ригидност се увеличава с напредване на възрастта и потвърждават резултатите на други автори, получени чрез използване на поток-медирана вазодилатация. (271)

Noori et al. си поставят за цел да сравнят аортната ригидност при деца и млади възрастни като включват в проучване 130 участници на възраст между 6 и 19 години, от които 65 са пациенти с БТМ и 65 здрави контроли, съответстващи по пол и възраст. За да се определят индексите на артериална ригидност, изследователите са използвали двуизмерна (2D) и доплерова ехокардиография. Подобно на получените от нас резултати авторите съобщават, че индексите за артериална ригидност на аортата се увеличават с възрастта. Следователно втвърдяването на аортата може да се счита за маркер, отразяващ възрастта на артериите и може да се разглежда като основен рисков фактор за сърдечно-съдови събития. (331) *Noori et al.* изказват предположение, че параметрите на артериална ригидност са повлияни повече от възрастта, а не толкова от нивото на АН.

Всеизвестно е, че атеросклеротичният процес причинява промени както в структурата, така и във функцията на артериалното дърво. При възрастни артериалната ригидност е свързана с атеросклеротичните рискови фактори и се е превърнала във важен предиктор на сърдечно-съдови събития и смъртност. (223) (332) Оскъдни са данните за проучвания, измерващи и оценяващи артериалната ригидност в педиатрични популации. (193)(333) Наблюдава се нарастващ интерес към ефектите на възрастта и пола върху дебелината на комплекса интима-медия на каротидите и артериалната ригидност в детска възраст. (334)

Calabro et al. изследват 131 здрави деца на възраст 3-16 години, които са били без сърдечно-съдови рискови фактори и без сърдечна патология. Целта на изследователите е била да определят стойностите на дебелината на комплекса интима-медия на каротидите и да оценят наличието на артериална ригидност чрез ET методиката. Потърсена е връзка между двата показателя и възрастта, пола и ръста на изследваната кохорта от здрави деца с италиански произход. Установена е значима положителна връзка между възрастта и β -stiffness индекса и между ръста и β -stiffness индекса при двата пола като корелационният коефициент е бил по-висок при момчетата. (173) Изследователите наблюдават, че стойностите на β -stiffness индекса прогресивно нарастват през цялото детство, без това да има връзка с пола или ръста, докато дебелината на комплекса интима-медия на каротидите зависи и от двата показателя.

3.3.2 Корелационни зависимости между ET параметрите на двете каротидни артерии и пола при пациенти с БТМ

На Табл. 15 са представени корелационните зависимости между пола и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ, а на Табл. 16 – корелационните зависимости между пола и ET показателите на лява каротидна артерия.

Табл. 15. Корелационни зависимости между пола и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (R)	Ep (R)	AIx(R)	AC (R)	PWV β (R)
Пол	Spearman's rho	.356* жени	.320	-.053	-.437** мъже	.320
	p	0.028	0.050	0.753	0.006	0.050

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка между пола и β -stiffness (R), по-силно изразена при жените (**rho=0.356, p=0.028**)
- Липса на значима корелация между пола и AIx (R) (rho= -.053, p=0.753)
- Умерена отрицателната корелация между пола и AC (R), показваща силна зависимост на високите нива сред мъжете (**rho= -0.437, p=0.006**).

Табл. 16. Корелационни зависимости между пола и ET показателите на лява каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (L)	Ep (L)	AIx (L)	AC (L)	PWV β (L)
Пол	Spearman's rho	.363* жени	.351* Жени	.043	-.464** мъже	.339* жени
	p	0.025	0.031	0.797	0.003	0.037

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка между пола и β -stiffness (L), по-силно изразена при жените (**rho=0.363, p=0.025**)
- Умерена положителна връзка между пола и стойностите на Ер (L), по-силно изразена при жените (**rho=0.351, p=0.031**)
- Липса на значима корелация между пола и AIx (L) (rho= -0.043, p=0.797)
- При AC (L) отрицателната корелация показва силна зависимост на високите нива сред мъжете (**rho= -0.464, p=0.003**)
- Умерена положителна връзка между пола и PWV β (L), по-силно изразена при жените (**rho=0.339, p=0.037**).

Обсъждане:

В изследваната от нас група пациенти се наблюдават по-високи стойности на показателите на артериална ригидност сред жените. Доказана е силна положителна връзка между β -stiffness на дясна и лява каротидна артерия и пола, като по-изразена е при жените. Силна положителна връзка е открита и по отношение на PWV β на лява каротидна артерия и пола, по-силно изразена при жените.

Подобно на други сърдечно-съдови патологии и при артериалната ригидност се наблюдават различия при двата пола. Артериалната ригидност, оценена чрез измерване на каротидо-феморалната PWV, се увеличава с възрастта както при мъжете, така и при жените. (335)(336) Наблюдаваното по-бързо увеличаване на артериалната ригидност при жените след настъпване на менопауза може да се обясни с отстраняването на действието на естрогена и неговото кардиопротективно действие. Смята се, че женските полови хормони (естрогени) имат защитен ефект върху съдовото здраве. Проучвания доказват, че жените в пременопауза са защитени от развитието на ССЗ в сравнение с мъжете на същата възраст и че честотата на ССЗ се увеличава непропорционално след менопауза. (335) *Zaydun et al.* през 2006 г. доказват, че менопаузата е отделен, независим рисков фактор, който допълва свързаното с възрастта развитие на артериална ригидност, оценена чрез измерване на брахио-глезенна PWV и намаляването на AC. (337) Проучване на *Baker et al.* от 2003 г. съобщава за възможността мъжете да развият сърдечно заболяване 10-15 години по-рано от жените поради постепенно намаляване на нивата на естроген след пубертета. Обратно, мъжете на 70 г. възраст имат по-нисък общ сърдечно-съдов риск в сравнение с жените на 50 години (средната възраст на менопауза при жените), което доказва, че спадът в нивата на естроген оказва по-голямо влияние върху риска от ССЗ при жените, отколкото при мъжете. (338)(339)

Възможно обяснение за по-високите стойности на β -stiffness индекса и PWV β сред жените в нашата изследвана група въпреки младата възраст, би могло да се намери в хипогонадизма. Ендокринните жлези са изключително чувствителни към излишъка от желязо

в организма, тъй като имат високи нива на трансферинови рецептори. В развитите страни ендокринните усложнения се развиват обикновено след 10-годишна възраст, но при неоптимално хелатиращо и хемотрансфузионно лечение те биха могли да се проявят и по-рано. (340) При БТМ повечето пациенти са с хипогонадотропен хипогонадизъм, като железният свръхтовар се счита за основен фактор, участващ в неговата патогенеза. (341) Проучвания съобщават за връзка между високи нива на серумен феритин и наличие на хипогонадизъм, както и за по-бърза еволюция на хипогонадизма при пациенти със значителен железен свръхтовар. (342) Проучване на *Chatterjee et al.* от 2000 г. установява, че при пациенти с БТМ, които имат не толкова тежък железен свръхтовар и органични увреди по хода на хипоталамо-хипофизната ос, хипогонадотропният хипогонадизъм може да е обратим. За разлика от тях обаче, при пациентите с тежко желязно натоваарване хипогонадизмът е необратим. (343)

Възможни са и други причини, които да обяснят хипогонадизма при пациентите с БТМ. Изследване, проведено от *Belhoul et al.* през 2012 г., демонстрира, че спленектомията е свързана с наличието на хипогонадизъм, независимо от нивата на серумен феритин, като механизмът на тази връзка не е известен. (342) Тежестта на подлежащия дефект в гена за синтез на бета-глобин, чернодробната дисфункция, захарният диабет, хипотиреоидизмът и пониските нива на хемоглобин също се съобщават като възможни причини за хипогонадизъм при пациентите с БТМ. (344)(345)

Не съществуват преки доказателства, които да свързват ОС с гонадната дисфункция при БТМ, но той би могъл да бъде предполагаемо и разумно обяснение. Изследване, проведено от *Appasamy et al.* през 2008 г. сред пациенти, извършващи асистирана репродукция, доказва, че общият антиоксидантен капацитет е положително свързан с нивата на естрадиол във фоликулната течност, подкрепяйки косвено тезата, че ОС може да има отрицателно въздействие върху развитието на фоликулите. (346) Доказано е също, че отлаганията на желязо в стромалната тъкан на яйчниците се свързва с индуцираното от ОС стареене на яйчниците. (347) Според проучване на *Al-Azemi et al.* от 2009 г. ниските нива на антиоксиданти са свързани с ановулация при жените. (348)

3.3.3 Корелационни зависимости между ЕТ параметрите на двете каротидни артерии и липидния профил при пациенти с БТМ

На *Табл. 17* са представени корелационните зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на дясна каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ, а на *Табл. 18* – корелационните зависимости на β -stiffness индекса на лява каротидна артерия и показателите на липидния профил.

Табл. 17. Корелационни зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на дясна каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
β-stiffness (R)	Pearson Correlation	.301	.304	-.228	.385*
	p	0.067	0.063	0.169	0.017

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значими корелации между β -stiffness (R) и стойностите на общ холестерол ($r=0,301$, $p=0.067$), LDL-холестерол ($r=0,304$, $p=0.063$) и HDL-холестерол ($r= -0,228$, $p=0.169$)
- Умерена положителна корелация между β -stiffness (R) и стойностите на триглицеридите (**$r= 0,385$, $p=0.017$**).

Табл. 18. Корелационни зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на лява каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
β-stiffness (L)	Pearson Correlation	.363*	.318	-.099	.378*
	p	0.025	0.052	0.554	0.019

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна корелация между β -stiffness (L) и стойностите на общия холестерол (**$r=0,363$, $p=0.025$**)
- Липса на значима корелация между β -stiffness (L) и стойностите на HDL-холестерол ($r= -0,099$, $p=0.554$) и LDL-холестерол ($r=0,318$, $p=0.052$)
- Умерена положителна корелация β -stiffness индекс (L) и стойностите на триглицеридите (**$r= 0,378$, $p=0.019$**).

На *Табл. 19* са представени корелационните зависимости между стойностите на $PWV\beta$ на дясна каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ, а на *Табл. 20* – корелационните зависимости между стойностите на $PWV\beta$ на лява каротидна артерия и показателите на липидния профил.

Табл. 19. Корелационни зависимости между стойностите на PWV β на дясна каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
PWV β (R)	Pearson Correlation	.221	.224	-.265	.396*
	p	0.182	0.177	0.108	0.014

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значима корелация между стойностите на PWV β (R) и стойностите на общия холестерол ($r=0,221$, $p=0.182$), LDL-холестерола ($r=0,224$, $p=0.177$) и HDL-холестерола ($r= -0,265$, $p=0.108$)
- Умерена положителна корелация между стойностите на PWV β (R) и стойностите на триглицеридите (**$r=0,396$, $p=0.014$**).

Табл. 20. Корелационни зависимости между стойностите на PWV β на лява каротидна артерия и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ

		TC	LDL	HDL	TG
PWV β (L)	Pearson Correlation	.296	.248	-.119	.377*
	p	0.072	0.133	0.475	0.020

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значима корелация между стойностите на PWV β (L) и стойностите на общия холестерол ($r= 0,296$, $p=0.072$), LDL-холестерола ($r=0,248$, $p=0.133$) и HDL-холестерола ($r= -0,119$, $p=0.475$)
- Умерена положителна корелация между стойностите на PWV β (L) и стойностите на триглицеридите (**$r= 0,377$, $p=0.020$**).

3.3.4 Корелационни зависимости между ЕТ параметрите на двете каротидни артерии и липидните индекси при пациенти с БТМ

На Табл. 21 са представени корелационните зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на дясна каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ, а на Табл. 22 – корелационните зависимости на β -stiffness индекса на лява каротидна артерия и показателите на липидните индекси.

Табл. 21. Корелационни зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на дясна каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
β-stiffness (R)	<i>Pearson</i> Correlation	.514**	.463**	.267	.521**	.457
	p	0.001	0.003	0.105	0.001	0.004

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна корелация между β -stiffness (R) и стойностите на CRI-I (**r=0,514, p=0.001**)
- Умерена положителна корелация между β -stiffness (R) и стойностите на CRI-II (**r=0,463, p=0.003**)
- Липса на значима корелация между β -stiffness (R) и стойностите на AIP (r=0,267, p=0.105)
- Силна положителна корелация между β -stiffness (R) и стойностите на AtC (**r=0,521, p=0.001**)
- Умерена положителна корелация между β -stiffness (R) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r=0,457, p=0.004**).

Табл. 22. Корелационни зависимости между стойностите на β -stiffness индекса на лява каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
β-stiffness (L)	<i>Pearson</i> Correlation	.495**	.442**	.206	.503**	.463
	p	0.002	0.005	0.215	0.001	0.003

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна корелация между β -stiffness (L) и стойностите на CRI-I (**r=0,495, p=0.002**) и CRI-II (**r= 0,442, p=0.005**)
- Липса на значима корелация между β -stiffness (L) и стойностите на AIP, (r= 0,206, p=0.215)
- Силна положителна корелация между β -stiffness (L) и стойностите на AtC, (**r=0,503, p=0.001**)
- Умерена положителна корелация между β -stiffness (L) и стойностите на non-HDL-холестерол, (**r=0,463, p=0.003**).

На *Табл. 23* са представени корелационните зависимости между стойностите на PWV β на дясна каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ, а на *Табл. 24* – корелационните зависимости PWV β на лява каротидна артерия и показателите на липидните индекси.

Табл. 23. Корелационни зависимости между стойностите на PWV β на дясна каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ

		CR-I	CR-II	AIP	AtC	non-HDL
PWV β (R)	<i>Pearson</i> Correlation	.493 ^{**}	.431 ^{**}	.285	.493 ^{**}	.379
	p	0.002	0.007	0.082	0.002	0.019

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна корелация стойностите на PWV β (R) и стойностите на CRI-I (**r=0,493, p=0.002**), CRI-II (**r=0,431, p=0.007**) и AtC (**r=0,496, p=0.002**)
- Липсва значима корелация между стойностите на PWV β (R) и стойностите на AIP (r=0.285, p=0.082)
- Умерена положителна корелация стойностите на PWV β (R) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r=0,379, p=0.019**).

Табл. 24. Корелационни зависимости между стойностите на PWVβ на лява каротидна артерия и показателите на липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
PWVβ (L)	Pearson Correlation	.462 ^{**}	.405	.203	.468 ^{**}	.393
	p	0.004	0.012	0.222	0.012	0.015

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна корелация между стойностите на PWVβ (L) и стойностите на CRI-I (**r=0,462, p=0.004**), CRI-II (**r=0,405, p=0.012**) и AtC (**r=0,468, p=0.003**)
- Липсва значима корелация между стойностите на PWVβ (L) и стойностите на AIP (r=0.203, p=0.222)
- Умерена положителна корелация стойностите на PWVβ (L) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r=0,393, p=0.015**).

На Табл. 25 са представени корелационните зависимости между стойностите на Ер на дясна каротидна артерия и липидните индекси, а на Табл. 26 – между стойностите Ер на лява каротидна артерия и липидните индекси.

Табл. 25. Корелационни зависимости между стойностите на Ер на дясна каротидна артерия и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI -I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
Ер (R)	Pearson Correlation	.501 ^{**}	.446 ^{**}	.280	.505 ^{**}	.397*
	p	0.001	0.005	0.089	0.001	0.014

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Силна положителна корелация между стойностите на Ер (R) и стойностите на CRI-I (**r=0,501, p=0.001**)
- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (R) и стойностите на CRI-II (**r= 0,446 p=0.005**)
- Липса на значима корелация между стойностите на Ер (R) и стойностите на AIP (r= 0,280 p=0.089)

- Силна положителна корелация между стойностите на Ер (R) и стойностите на AtC (**r=0,505, p=0.001**)
- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (R) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r= 0,397 p=0.014**).

Табл. 26. Корелационни зависимости между стойностите на Ер на лява каротидна артерия и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
Ер (L)	<i>Pearson Correlation</i>	.481 ^{**}	.422 ^{**}	.231	.486 ^{**}	.386 [*]
	p	0.002	0.008	0.163	0.002	0.017

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (L) и стойностите на CRI-I (**r= 0,481, p=0.002**)
- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (L) и стойностите на CRI-II (**r=0,422, p=0.008**)
- Липса на значима корелация между стойностите на Ер (L) и стойностите на AIP (r=0,231, p=0.163)
- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (L) и стойностите на AtC (**r=0,486, p=0.002**)
- Умерена положителна корелация между стойностите на Ер (L) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r=0,386, p=0.017**).

На *Табл. 27* са представени корелационните зависимости между стойностите на AC на дясна каротидна артерия и липидните индекси, а на *Табл. 28* – между стойностите AC на лява каротидна артерия и липидните индекси.

Табл. 27. Корелационни зависимости между стойностите на AC на дясна каротидна артерия и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
AC (R)	<i>Pearson Correlation</i>	-.414 ^{**}	-.409 [*]	-.166	-.418 ^{**}	.339 [*]
	p	0.010	0.011	0.318	0.009	0.038

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (R) и стойностите на CRI-I (**r= -0,414, p=0.010**)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (R) и стойностите на CRI-II (**r= -0,409 p=0.011**)
- Липса на значима корелация между стойностите на AC (R) и стойностите на AIP (r= -0,166 p=0.318)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (R) и стойностите на AtC (**r= -0,418, p=0.009**)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (R) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r= -0,339 p=0.038**).

Табл. 28. Корелационни зависимости между стойностите на AC на лява каротидна артерия и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
AC (L)	<i>Pearson</i> Correlation	-.344*	-.388*	-.035	-.345*	-.318*
	p	0.035	0.016	0.834	0.034	0.052

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (L) и стойностите на CRI-I (**r= -0,344, p=0.035**)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (L) и стойностите на CRI-II (**r= -0,388 p=0.016**)
- Липса на значима корелация между стойностите на AC (L) и стойностите на AIP (r= -0,035 p=0.834)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (L) и стойностите на AtC (**r= -0,345 p=0.034**)
- Умерена отрицателна корелация между стойностите на AC (L) и стойностите на non-HDL-холестерол (**r= -0,318 p=0.052**).

Обсъждане:

В нашето проучване беше използвана ET методика за оценка на артериалната ригидност на общите каротидни артерии. Получените резултати доказват силна статистически значима положителна корелация на PWV β на дясна и лява каротидна артерия и показателите CRI-I, CRI-II, AtC и триглицериди, както и положителна корелация на β -stiffness параметъра при двете общи каротидни артерии и същите липидни показатели. Стойностите на β -stiffness параметъра, измерен на лява каротидна артерия, корелират положително и със средните стойности на общия холестерол.

Липидните параметри са тези, които до голяма степен допринасят за развитието на атеросклерозата и това ги прави свързани с развитието на артериална ригидност. Различни проучвания изучават връзката между различните липидни параметри и ригидността на съдовете. Ролята на неблагоприятния липиден профил в развитието на атеросклерозата е добре позната, но асоциациите на плазмените липиди с показателите за артериалната ригидност все още са обект на проучвания и не са съвсем изяснени. Както се вижда и от получените от нас резултати, въпреки доминиращата роля на LDL-холестерола за възникването и развитието на атеросклероза, връзката му с PWV β е доста слаба. (349)

Подобни на получените от нас резултати съобщават и *Zhan et al.* през 2019 г. Авторите провеждат проучването си сред китайци на средна и напреднала възраст, за които е известно, че имат по-високо разпространение на артериална ригидност и установяват, че тези от тях, които имат по-високи стойности на брахио-глезенна PWV, имат съответно и по-високи стойности на CRI-II. Описана е положителна права връзка между двата показателя, подобно на получената от нас. (159) *Kilic et al.* през 2020 г. провеждат проучване сред възрастни пациенти (58,8 \pm 14,2 год.) и също доказват значително по-високи стойности на CRI-II при пациентите с високи стойности на PWV.(284)

Vallee et al. включват в проучване 602 пациенти, част от които са имали предходни сърдечно-съдови инциденти. Повечето от участниците са имали нужда от рутинно проследяване, а останалите са били насочени от личен лекар за рутинен сърдечно-съдов преглед, поради наличие на един или няколко сърдечно-съдови рискови фактори. На всички участници са изследвани липиден профил, направена е електрокардиограма (ЕКГ), измерено е АН и аортна PWV чрез аплантационна тонометрия. Изследователите са установили, че общият холестерол (p=0,03), LDL-холестерол (p=0,03), non-HDL-холестерол (p=0,03), CRI-I (p=0,01) и CRI-II (p=0,03) корелират значително с PWV. (350) Според други проучвания, тези от участниците, които са имали повишена брахио-глезенна PWV са имали и по-високи стойности на CRI-I. (284)(351)(155)(352) В проучването на *Wen et al.* наличието на по-високи стойности на брахио-глезенната PWV е значително и независимо предсказано от съотношението CRI-I. Проучването на *Wen et al.* от 2019 доказва положителната връзката

между CRI-I и артериалната ригидност, независимо от нивата на LDL-холестерола, дори когато те са били под 70 mg/dl. (283)

3.4 Корелационни зависимости между ET параметрите на двете каротидни артерии с нивата на серумен феритин и МДА при пациенти с БТМ

Резултати към задача 9: Да се изследват корелациите на ET параметрите на двете каротидни артерии с нивата на серумен феритин и малондиалдехид (МДА) при пациенти с БТМ.

3.4.1 Корелационни зависимости между ET параметрите на двете каротидни артерии и нивата на серумен феритин при пациенти с БТМ

На Табл. 29 са представени корелационните зависимости между стойностите на серумния феритин и ET показателите на дясна каротидна артерия, а на Табл. 30 корелационните зависимости между стойностите на серумния феритин и ET показателите на лява каротидна артерия.

Табл. 29. Корелационни зависимости между стойностите на серумния феритин и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (R)	Ep (R)	AIx (R)	AC (R)	PWV β (R)
Серумен феритин	Pearson Correlation	.318	.268	.090	-.260	.273
	p	0.052	0.104	0.590	0.114	0.098

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка между стойностите на феритина и стойностите на β -stiffness (R) (**r=0.318, p=0.052**)
- Липса на значима корелация между стойностите на феритин и останалите ET показателите на дясна каротидна артерия.

Табл. 30. Корелационни зависимости между стойностите на серумния феритин и ET показателите на лява каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (L)	Ep (L)	AIx (L)	AC (L)	PWV β (L)
Серумен феритин	Pearson Correlation	.257	.208	-.052	-.209	.187
	p	0.120	0.210	0.756	0.209	0.260

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значима корелация между стойностите на феритин и ET показателите на лява каротидна артерия.

3.4.2 Корелационни зависимости между ET параметрите на двете каротидни артерии и нивата на МДА при пациенти с БТМ

На *Табл. 31* са представени корелационните зависимости между стойностите на МДА и ET показателите на дясна каротидна артерия, а на *Табл. 32* – между стойностите на МДА и ET показателите на лява каротидна артерия

Табл. 31. Корелационни зависимости между стойностите на МДА и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (R)	Ep (R)	AIx (R)	AC (R)	PWV β (R)
МДА	<i>Pearson Correlation</i>	.144	.134	.030	.077	.101
	p	0.387	0.423	0.858	0.644	0.546

(R): дясна обща каротидна артерия

Табл. 32. Корелационни зависимости между стойностите на МДА и ET показателите на лява каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (L)	Ep (L)	AIx (L)	AC (L)	PWV β (L)
МДА	<i>Pearson Correlation</i>	.197	.177	-.080	.003	.166
	p	0.236	0.634	0.634	0.986	0.319

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Pearson* получихме следните резултати:

- Липса на значима корелация между стойностите на МДА и ET показателите на дясна каротидна артерия.
- Липса на значима корелация между стойностите на МДА и ET показателите на лява каротидна артерия.

Обсъждане:

Получените от нас резултати не доказват статистически значима корелация между ET показателите за артериална ригидност и лабораторните стойности на МДА. По отношение на

серумния феритин, статистически значима положителна корелация се доказва само с β -stiffness index за дясна каротидна артерия ($p=0,052$). Възможна причина за липсата на корелации между тези параметри би могла да бъде свързана с малката група изследвани пациенти.

През 2016 г. *Merchant et al.* провеждат проучване върху каротидния интима-медия комплекс и stiffness index-а при 53 пациенти с БТМ (средна възраст 21.85 ± 4.58 год.) и ги сравняват с 25 съответстващи по възраст здрави контроли. Допълнително са потърсени и корелационни зависимости между тези параметри и средните стойности на серумния феритин и показателите за сърдечен и чернодробен железен свръхтовар, документирани чрез МРТ T2*.(353) Авторите не откриват корелация между дебелината на интима-медия комплекса на каротидните артерии и МРТ T2* показателите за железен свръхтовар и обясняват това с младата възраст на участниците и малкия размер на извадката. При пациентите обаче те съобщават за по-високи стойности на stiffness index-а в сравнение със здравите контроли, с което доказват техния по-висок риск от развитие на атеросклероза и ССЗ. При пациентите с БТМ се доказва и положителна корелация между stiffness index-а и сърдечния МРТ T2*. Според авторите получените резултати дават информация не само за степента на железния свръхтовар в сърдечната мускулатура, но и за нарушената еластичност на съдовете. Подобно на нашите данни и в тяхното проучване не е открита връзка между стойностите на серумния феритин и stiffness index-а, който резултат ние приемаме като доказателство, че самостоятелното изследване на серумния феритин не може да бъде достатъчен и надежден маркер за съдово здраве.

В нашето проучване не е открита връзка между артериалната ригидност и серумния феритин, с което се потвърждават публикуваните през 2002 г. данни от *Cheung et al.* за липсваща корелация между тях. (271) В друго проучване обаче, проведено от *Gedikli et al.* през 2007 г. сред турски пациенти с БТМ, се доказва, че параметрите на аортната ригидност могат да имат значителна връзка със стойностите на серумния феритин. (354)

Артериалната ригидност е обект на изследване и търсене на корелационни зависимости не само при симптоматични пациенти с БТМ. В проучване на *Stakos et al.* се установява, че при асимптоматични пациенти с таласемия, които нямат значителен железен свръхтовар, тя е свързана с увеличена маса на лявата камера и дилатация на лявото предсърдие. На базата на тези резултати авторите правят заключението, че артериалната ригидност може да се използва като маркер за ранно сърдечно-съдово заболяване и съдово засягане при асимптоматични пациенти с БТМ без значително натоварване с желязо. (277)

3.5 Корелационни зависимости между спленектомията и ET параметрите на двете каротидни артерии, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ

Резултати към задача 10: Да се изследват корелациите между спленектомията и ET параметрите на двете каротидни артерии, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси при пациенти с БТМ.

3.5.1 Корелационни зависимости между спленектомията и ET параметрите на двете каротидни артерии при пациенти с БТМ

На Табл. 33 са представени корелационните зависимости между спленектомията и ET показателите на дясна каротидна артерия, а на Табл. 34 – корелационните зависимости между спленектомията и ET показателите на лява каротидна артерия.

Табл. 33. Корелационни зависимости между спленектомията и ET показателите на дясна каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (R)	Ep (R)	AIx (R)	AC (R)	PWV β (R)
Спленектомия	Spearman's rho	.301	.273	-.003	-.240	.266
	p	0.066	0.097	0.988	0.146	0.107

(R): дясна обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Липса на значими корелации между спленектомията и показателите от echo-tracking методиката при дясната обща каротидна артерия.

Табл. 34. Корелационни зависимости между спленектомията и ET показателите на лява каротидна артерия при пациентите с БТМ

		β -stiffness (L)	Ep (L)	AIx (L)	AC (L)	PWV β (L)
Спленектомия	Spearman's rho	.407*	.395*	.063	-.266	.382*
	p	0.011	0.014	0.706	0.107	0.018

(L): лява обща каротидна артерия

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка между спленектомията и стойностите на β -stiffness (L) ($\rho=0.407$, $p=0.011$)

- Умерена положителна връзка между спленектомията и стойностите на Ер (L) (**rho=0.395, p=0.014**)
- Липса на значима корелация между спленектомията и нивата на АІх (L) (rho=0.063, p=0.706) и АС (L) (rho= - 0.266, p=0.107)
- Умерена положителна връзка между спленектомията и стойностите на РWVβ (L) (**rho=0.382, p=0.018**).

3.5.2 Корелационни зависимости между спленектомията и показателите на липидния профил и липидните индекси при пациенти с БТМ

На Табл. 35 са представени корелационните зависимости между спленектомията и показателите на липидния профил при пациентите с БТМ, а на Табл. 36 – корелационните зависимости с липидните индекси.

Табл. 35. Корелационни зависимости между спленектомията и показателите на липидния профил

		TC	LDL	HDL	TG
Спленектомия	Spearman's rho	.564**	.599**	.073	.422
	p	0.0001	0.0001	0.661	0.422

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Силна положителна връзка между спленектомията и стойностите на общия холестерол (**rho=0.564, p=0.0001**)
- Силна положителна връзка между спленектомията и нивата на LDL-холестерол (**rho=0.599, p=0.0001**)
- Липса на значима корелация между спленектомията и стойностите на HDL-холестерол (rho=0.599, p=0.661) и триглицеридите (rho=0.422, p=0.422)

Табл. 36. Корелационни зависимости между спленектомията и липидните индекси при пациентите с БТМ

		CRI-I	CRI-II	AIP	AtC	non-HDL
Спленектомия	Spearman's rho	.298	.422**	-.033	.281	0.567**
	p	0.069	0.008	0.845	0.088	0.0001

При провеждане на корелационен анализ по метода на *Spearman* получихме следните резултати:

- Умерена положителна връзка между спленектомията и нивата на CRI-II (**rho=0.422, p=0.008**)

- Силна положителна връзка между спленектомията и нивата на non-HDL-холестерол (**rho=0.567, p=0.0001**)
- Липса на значима корелация между спленектомията и стойностите на CRI-I (rho=0.298 p=0.069), AIP (rho= -0.033, p=0.845) и AtC (rho=0.281, p=0.088).

Обсъждане:

Получените от нас резултати демонстрират силна положителна връзка между спленектомията и стойностите на LDL-холестерол (rho=0.599, p=0.0001) и общия холестерол (rho=0.564, p=0.0001). Силна положителна връзка на спленектомията е установена и с нивата на non-HDL-холестерол (rho=0.567, p=0.0001), а умерена положителна – с нивата на CRI-II (rho=0.422, p=0.008). По отношение на връзката между спленектомията и показателите за артериална ригидност се установява умерена положителна връзка със стойностите на β -stiffness (L) (rho=0.407, p=0.011), с Ep (L) (rho=0.395, p=0.014) и с PWV β (L) (rho=0.382, p=0.018). Получените от нас резултати са съвместими с публикуваните данни от други експериментални и клинични проучвания и базирайки се на тяхната сигнификантност, ние приемаме, че рискът от ССЗ е по-голям при спленектомирани в сравнение с неспленектомирани пациенти с БТМ.

Още през 70-те години на миналия век *Robinette u Fraumeni Jr.* наблюдават по-големи промени в липидния профил и по-висока смъртност от кардиоваскуларни събития при войници, които са били спленектомирани по време на Втората световна война. (355) В следващите години са провеждани многобройни проучвания с животни и с хора, които показват идентични резултати. Една от причините за това е намалената активност на ретикулоендотелната система при спленектормираните индивиди, което нарушава катаболизма на LDL-холестерола. Нашите резултати са в подкрепа на това твърдение, установявайки по-високи нива на LDL-холестерол при пациентите със спленектомия (rho=0.599, p=0.0001) *Asai et al.* през 1988 г. установяват, че при спленектомирани зайци се развива атеросклероза по-често в сравнение с неспленектомирани поради по-високите серумни нива на триглицериди, общ холестерол и LDL-холестерол и по-ниските на HDL-холестерол. (356) *Petroianu et al.* през 2006 г. също наблюдават по-ниски стойности на HDL-холестерол и по-високи на общ холестерол и LDL-холестерол при женски плъхове. Авторите доказват, че парциалната спленектомия не води до подобни метаболитни промени, което доказва важната роля на слезката за липидния метаболизъм. (357)

През 2012 г. *Bordbar et al.* изследват липидния профил на 100 пациенти с БТМ на възраст 21.1 ± 4.6 г. в Иран и подобно на получените от нас резултати съобщават за по-високи стойности на общ холестерол и LDL-холестерол при спленектомирани пациенти. (264) Няколко години по-късно *Hezaveh et al.* провеждат подобно проучване в Иран сред 41

спленектомирани и 42 неспленектомирани пациенти с БТМ на възраст между 18 и 30 г. Сред спленектомираните пациенти се установяват по-високи стойности на LDL-холестерол, триглицериди, CRI-I и CRI-II и по-ниски стойности на HDL-холестерол. Техните резултати са подобни на тези, получени в нашето и други проучвания и потвърждават направените изводи, че спленектомираните пациенти имат по-висок риск от развитие на кардиоваскуларни събития. (358)

Boudrahem-Addour et al. изследват липидния профил и нивата на ОС при 46 пациенти с БТМ на средна възраст 19 г. като ги сравняват със здрави контроли. Подобно на получените от нас резултати стойностите на CRI-II са били по-високи сред спленектомирани пациенти ($p < 0,05$). За разлика от нас, изследователският екип доказва и по-високи стойности на CRI-I, ($p < 0,05$). (131)

Получените от нас по-високи стойности на LDL-холестерол, non-HDL-холестерол, CRI-II, $PWV\beta$ (L), β -stiffness (L) и E_p (L) при преживелите спленектомия пациенти с БТМ в сравнение с неспленектомираните ни дава основание да направим заключението, че спленектомията е допълнителен рисков фактор за сърдечно-съдови усложнения при БТМ. Имайки предвид това обстоятелство, ние препоръчваме при тези пациенти мониториращите процедури за оценка на липидния и сърдечно-съдовия статус да бъдат провеждани чрез адаптиран риск-специфичен алгоритъм.

VI. Изводи

1. Сравнени със здрави контроли, пациентите с БТМ се презентират с достоверно по-високи стойности на сърдечна честота (СЧ), диастолично налягане (ДАН) и средно артериално налягане (СрАН). Липсват значими различия за систолно артериално налягане (САН) и пулсово налягане (ПН).
2. Сравнени със здрави контроли, пациентите с БТМ се презентират с достоверно по-ниски стойности на хематологичните показатели Hb, Ery и Hct и достоверно по-високи стойности на серумно желязо и серумен феритин.
3. Сравнени със здрави контроли, пациентите с БТМ демонстрират достоверни разлики в параметрите на липидната обмяна – по-ниски стойности на общ холестерол, LDL-холестерол и HDL-холестерол и по-високи стойности на триглицериди. Налице са достоверно по-високи стойности на атерогенните липидни индекси CRI-I и AIP.
4. Сравнени със здрави контроли, пациентите с БТМ демонстрират по-високи серумни концентрации на малондиалдехид (МДА) без наличие на статистическа достоверност.
5. Сравнени със здрави контроли, по отношение на echo-tracking (ET) параметрите, пациентите с БТМ демонстрират достоверно по-високи стойности на артериален комплайънс (AC)(R). Липсват значими различия при параметрите за локална артериална ригидност (AR) на каротидните артерии двустранно – β -stiffness index, PWV β , модул на еластичност (Er) и аугментационен индекс (AIx).
6. При пациенти с БТМ е налице достоверна позитивна корелация на нивата на серумен феритин с някои показатели на липидната обмяна – общ холестерол, LDL-холестерол и триглицериди и с липидните индекси CRI-I, CRI-II, AtC и non-HDL-холестерол.
7. При пациенти с БТМ е налице достоверна позитивна корелация на стойностите на хемоглобина с някои показатели на липидната обмяна – общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол и липидните индекси AIP и non-HDL-холестерол.
8. При пациенти с БТМ е налице достоверна корелация между някои echo-tracking (ET) параметри за артериална ригидност на двете каротидни артерии с възрастта, пола, показателите на липидната обмяна и атерогенните липидни индекси:
 - позитивна корелация между възрастта и β -stiffness index (R), β -stiffness index (L), PWV β (R), PWV β (L), Er (R), Er (L), AC (R)
 - позитивна корелация между пола и β -stiffness (R), β -stiffness (L), Er (L) и PWV β (L), по-силно изразена при жените
 - отрицателна корелация между пола и AC (R) и AC (L), със силна зависимост на високите нива сред мъжете

- позитивна корелация между β -stiffness индекса на двете каротидни артерии и общ холестерол, LDL-холестерол, HDL-холестерол, триглицериди, CRI-I, CRI-I и AtC.
9. При пациенти с БТМ липсват значими зависимости между ET показателите за артериална ригидност с нивата на серумен феритин и МДА.
10. При пациенти с БТМ е налице достоверна позитивна корелация между спленектомията и някои ET показатели за артериална ригидност – β -stiffness (R), β -stiffness (L), Ep (L) и PWV β (L). Значими позитивни корелации са налице и с общ холестерол, LDL-холестерол, CRI-II и non-HDL-холестерол.

VII. Приноси на дисертационния труд

С оригинален характер

- За първи път в България се прави оценка на липидните профили и липидните индекси при пациенти с БТМ и се анализира връзката им с показатели за железен свръхтовар, оксидативен стрес и артериална ригидност.
- За първи път в България се измерва ригидността на каротидните артерии при пациенти с БТМ посредством echo-tracking методика.

С научно-практичен характер

- Изчисляването на липидните индекси е потенциален клиничен инструмент за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациенти с БТМ.
- Определянето на ригидността на каротидните артерии чрез ехографската методика echo-tracking е достъпен, неинвазивен и полезен метод оценка на съдовото здраве при деца и млади възрастни и може да се включи в алгоритъма за проследяване на пациентите с БТМ.
- Идентифицирането на субклинична съдова увреда е потенциален подход за скрининг и превенция на сърдечно-съдови усложнения при пациентите с БТМ.

С потвърдителен характер

- При деца и млади възрастни с БТМ се наблюдават промени в липидния профил и липидните индекси.
- При деца и млади възрастни е налице положителна корелация между липидните индекси и показателите за артериална ригидност.
- Скоростта на пулсовата вълна и артериалната ригидност се увеличават с възрастта.
- Спленектомията корелира с по-тежка дислипидемия и артериална ригидност.

VIII. Заключение

Напредъкът в хематологичния контрол и увеличената продължителност на живот при пациенти с БТМ резултира през последните декади в прогресивно нарастване на риска от акцелерирана атеросклероза и сърдечно-съдови заболявания. Изхождайки от тази проблематика, ние формулирахме мотивите на дисертационния труд в мониторирането на съдовото здраве, клиничните специфики на ранните съдови промени и предикцията за терапевтичното им повлияване.

Нашите сравнителни анализи върху пациенти с БТМ от българска популация предоставят възможност за лабораторни и клинични паралели с вече общоприети парадигми за съдово увреждане и прогнозиране на риска. Биохимичната оценка на липидните профили/индекси и промените в еластичността/ригидността на каротидните артерии се оказват ефективни подходи за стратифициране на сърдечно-съдовия риск. От друга страна, намерените от нас конкретни параметри и корелации са потенциален субстрат за риск-базирани алгоритми за проследяване и избор на лекарствени превенции.

Анализирайки патофизиологичната верига – от оксидативен стрес, ендотелна дисфункция, променена съдова еластичност до артериална ригидност, нашите резултати и заключения предлагат достъпен, мултимодален и повторяем клиничен ракурс към проблема за модерна съдова грижа при пациенти с БТМ.

IX. Научни публикации и съобщения, свързани с дисертационния труд

Публикации:

1. Ганева К., Шивачев П., **Петрова К.** Промени в сърдечната функция, свързани с железен свръхтовар при млади пациенти с бета-таласемия майор – какво сме научили до момента. Нови методи за ранна диагностика. *Педиатрия 2021; Supplementum: 22-26*
2. **Петрова К.**, Ендотелна дисфункция при бета-таласемия. *Варненски медицински форум 2023*; т. 12, Online first
3. **Петрова К.**, Ганева К. Оксидативен стрес при пациенти с бета-таласемия майор. *Педиатрия 2023*; 2:13-16

Участия:

1. **К. Петрова.** Оксидативен стрес при бета-таласемия майор. Първа работна среща *Редки доброкачествени хематологични заболявания*. Сливен, 18-20.03.2022
2. **К. Петрова.** Оксидативен стрес и ендотелна дисфункция при деца и млади възрастни с бета-таласемия майор. Научна конференция *60 години Катедра „Педиатрия“, МУ-Варна*. Свети Влас, 6-8.10.2023

Благодарности

В заключение изказвам благодарности на:

- Научния ми ръководител проф. д-р Валерия Калева – за търпението и съветите, за вярата в моите възможности, за оказаната помощ за разработването и написването на настоящия дисертационен труд
- Научния ми ръководител доц. д-р Мария Димова – за това, че беше неотлъчно до мен при навлизането ми в непознатия свят на доплеровата ехография и за оказаната помощ при осъществяването на образните изследвания
- Проф. д-р Яна Бочева и колегите от Клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Марина“ – за извършването на експерименталното изследване на нивата на оксидативен стрес. Благодаря за съдействието!
- Доц. Силвия Николова – за помощта при обработката на получените данни и за окуражителните думи в труден момент
- Всички пациенти и здрави доброволци, които дадоха съгласието си за участие в научноизследователския проект, послужил като основа на настоящия дисертационен труд
- Веселин Младенов и д-р Яница Димитрова – за това, че извървахме този път заедно
- Моето семейство – за подкрепата и разбирането в трудните моменти.

Х. Приложения

Приложение 1

Лист 1

I. ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕН АЛГОРИТЪМ

1. ЛЕКАРСТВЕНИ ПРОДУКТИ, включени в Приложение 1 на ПЛС, които НЗОК заплаща в съответствие с действащите нормативни документи.

INN	МКБ	ДОЗА
DEFEROXAMINE	D56.1	<ul style="list-style-type: none"> 20 – 40 mg/kg.т.м. при деца (до спиране на растежа) 35 – 60 mg/kg.т.м. при възрастни
DEFERIPRONE	D56.1	<ul style="list-style-type: none"> 75 – 100 mg/kg.т.м. дневно
DEFERASIROX	D56.1, D58.9, D61.0, D64.0, D64.4	<ul style="list-style-type: none"> 7 – 28 mg/kg.т.м. дневно

2. ПРОСЛЕДЯВАНЕ:

Показатели	Изходни стойности при започване на първото хелатиращо лечение	+ 3 м.*	+ 6 м.*	+ 12м.*	+24 м.*
Кръвна картина + АНБ	x	x	x	x	x
Феритин	x	x	x	x	x
Креатинин (само за пациенти на Deferasirox)	x	x	x	x	x
Съотношение протеин/креатинин (само за пациенти на Deferasirox)	x		x	x	
ALAT, ASAT, GGTP	x	x	x	x	x
Билирубин, LDH	x	x	x	x	x
Протеинурия	x	x	x	x	x
Абдоминална ехография	x			x	x
Аудиометрия (> 10 г. само за пациенти на Deferoxamine)	x			x	x
Зрение (> 10 г само за пациенти на Deferoxamine)	x			x	x
Ca, P, PTH (> 12 г.)	x			x	x
FT4, TSH (> 12 г.)	x			x	x
Пуберт. p-e (> 12 г., до завършване на пубертета)	x			x	x
HCV, HBsAg, HIV	x			x	x
EKG, EchoKG + ФИ (> 10г.)	x			x	x
MPT на сърце	x				x
MPT на черен дроб	x				x
Кръвна захар	x		x	x	x
I люкзотолерантен тест (> 10 г.)	x			x	x
Костна възраст: китка (< 12 г.)	x			x	x
DEXA scan (> 18 г.)	x			x	x
Тегло	x		x	x	x
Ръст	x		x	x	x
Консулти (кардиолог, ендокринолог, гастроентеролог)	x		x	x	x

+ 3 м.* - извършват се на всеки 3 месеца; + 6 м.* - извършват се на всеки 6 месеца; + 12 м.* - извършват се на всеки 12 месеца; + 24 м.* - извършват се на всеки 24 месеца.

По клинични показания интервалите между изследванията могат да бъдат скъсени.

Изследванията се представят на оригинални бланки (или заверени и подписани копия) с давност до 1 месец преди кандидатстването; при наличие на хоспитализация се прилага епикриза с номер на ИЗ с давност до 1 месец преди кандидатстването, подписана от лекар със специалност клинична хематология / детска клинична хематология и онкология.



ИЗСЛЕДВАНИЯ НА НЗОК ЗА ПРОВЕЖДАНЕ НА ХЕЛАТИРАЩА ТЕРАПИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С БЕТА ТАЛАСЕМИЯ, НАСЛЕДСТВЕНА ХЕМОЛИТИЧНА АНЕМИЯ, КОНСТИТУЦИОНАЛНА АПЛАСТИЧНА АНЕМИЯ, НАСЛЕДСТВЕНА СИДЕРОБЛАСТНА АНЕМИЯ И КОНГЕНИТАЛНА ДИЗЕРИТРОПОЕТИЧНА АНЕМИЯ В ИЗВЪНБОЛНИЧНАТА ПОМОЩ – в сила от 1 февруари 2020 година

12

II. ОБЩИ ИЗИСКВАНИЯ

1. Възрастовата граница се изчислява в навършени, включително към датата на издаване на протокола от специализираната комисия.
2. При назначаване на терапия по протокол задължително се съобразяват възрастовите ограничения, съгласно кратката характеристика на съответния лекарствен продукт, утвърдена по реда на ЗЛПХМ.
3. НЗОК не заплаща лечение извън указаната възрастова граница в кратката характеристика на продукта.
4. НЗОК не заплаща лечение с дози над максимално разрешените по кратка характеристика на продукта.
5. В случай на настъпила подозирана нежелана лекарствена реакция, лекарят уведомява ИАЛ по реда на чл.184 от ЗЛПХМ. Копие от съобщението се прилага към медицинската документация на ЗОЛ при кандидатстване за лечение.
6. СПЕЦИАЛИЗИРАНАТА КОМИСИЯ издава Решение след проведена Амбулаторна процедура №38 „Определяне на план на лечение и проследяване на терапевтичния отговор при пациенти, получаващи скъпоструващи лекарствени продукти по реда на чл.78, т.2 ЗЗО“ на основание чл.53 и чл.303 от Национален рамков договор за медицинските дейности между Националната здравноосигурителна каса и Български лекарски съюз за 2018 г. (обн., ДВ, бр.28 от 29.03.2018 г.; изм. и доп., бр.34 от 2018 г., бр.4 от 2019 г.) и предоставена от ЗОЛ медицинска документация. Специализираната комисия съхранява един екземпляр от Решението. При издаване на протокол на ЗОЛ, съхранява втори екземпляр на протокола, всички необходими документи за издаването му и копие от приложение 1 на настоящите изисквания, попълнено по съответната точка и подписано от членовете на специализираната комисия.

Настоящите изисквания са разработени на основание чл. 58 от Национален рамков договор за медицинските дейности между Националната здравноосигурителна каса и Български лекарски съюз за 2018 г. (обн., ДВ, бр. 28 от 29.03.2018 г.; изм. и доп., бр.34 от 2018 г., бр.4 от 2019 г.), влизат в сила от 01.02.2020г. на основание решение № РД-НС-04-8/20.01.2020г. и отменят действащите изисквания, в сила от 01.04.2015г.



**ИНФОРМИРАНО СЪГЛАСИЕ ЗА УЧАСТИЕ В НАУЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ТЕМА:
„Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и
млади възрастни с бета-таласемия майор“**

Бяха ми обяснени целта на изследването, всички необходими изследвания и възможните рискове, свързани с тях. Имах достатъчно време да прочета внимателно информацията и възможност да задам въпроси.

Съгласен/на съм аз и/или моето дете да участвам/участва в проучването и разбирам, че то е доброволно и можем да се оттеглим по всяко време, без да посочвам причина, както и че оттеглянето няма да повлияе на медицинските грижи или на законните ни права.

Информиран/а съм, че поверителността по време на изследването е гарантирана, както и че аз или моето дете няма да бъдем разпознати при които и да са следващи доклади или публикации. Информирани/а съм, че в случай на необходимост от допълнителна информация мога да се свържа с главния изследовател д-р Кристина Петрова или с доц. д-р Мария Димова.

Декларирам, че съм прочел/а настоящия формуляр и съм наясно с неговото съдържание.

.....
Участник (три имена, възраст, подпис)

.....
Родител/настойник (три имена и подпис)

Подпис на родител/настойник: Дата://

.....
Изследовател (име и фамилия)

Подпис на изследовател: Дата://

ИНФОРМАЦИЯ ЗА УЧАСТНИК В ПРОУЧВАНЕТО

Уважаеми участници (родители),

Вие (Вашето дете) сте поканени да се включите в изследване на пациенти с бета-таласемия майор (БТМ) на тема „**Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и млади възрастни с бета-таласемия майор**“.

Изследването е с продължителност 3 години и ще се проведе на територията на Експертния център по хемофилия и редки анемии (ЕЦКРА) към Клиниката по детска клинична хематология и онкология при УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна. Ще бъдат поканени да вземат участие пациенти от 5 до 44 години с доказана бета-таласемия майор и контролна група от доброволци без наличие на хронична анемия или сърдечно-съдови заболявания от същия възрастов диапазон.

Преди да вземете решение и да се съгласите Вие (Вашето дете) да участвате в това изследване, е важно да разберете какво се включва в проекта и защо се прави.

Моля, прочетете следната информация и отправяйте въпроси от всякакво естество, които Ви вълнуват преди да попълните приложението формуляр за информирано съгласие.

Участието Ви (Вашето дете) е напълно доброволно. Можете да се оттеглите от изследването по всяко време, без да посочвате причина, като оттеглянето няма да повлияе на оказваната ви медицинската помощ или на законните ви права.

Ако сте съгласни Вие (Вашето дете) да вземете участие в изследването, моля, направете всичко възможно да следвате инструкциите, които ще Ви бъдат дадени.

Обща информация за заболяването

Бета-таласемия е наследствено заболяване, което се характеризира с дефект в синтеза на бета-веригата на хемоглобина, водещ до анемия. Тежката форма на заболяването се нарича бета-таласемия майор (анемия на Кулей) и се характеризира с трансфузионно-зависима анемия, увеличени размери на черен дроб и слезка и скелетни промени. Съвременното лечение включва провеждането на редовни кръвопреливания и прилагане на медикаменти (хелатори) за извличане на освободеното от хемотрансфузиите желязо. При липса на адекватно лечение към гореизброените симптоми се добавят сърдечни, чернодробни и ендокринни увреждания, изоставане във физическото развитие и др. усложнения, свързани с хроничната анемия и натрупаното в организма желязо.

Увреждането на сърцето и на сърдечно-съдовата система са най-честите усложнения при пациентите с БТМ и в голяма степен определят неблагоприятната прогноза на заболяването. Това обстоятелство налага необходимостта от провеждането на комплексна оценка на сърдечно-съдовия статус при деца и млади възрастни с БТМ с цел ранно откриване на предклинични нарушения преди изявената клинична картина на сърдечна увреда.

Основна информация

По време на изследването ще се извършат следните процедури:

- Физикален преглед с оценка на антропометричните показатели ръст, тегло и индекс на телесна маса.

- Изследване на сърдечно-съдовата система с оценка на сърдечна дейност, сърдечна честота и артериално налягане.
- Ехографско изследване на сърце
- Сонографско изследване на каротидни артерии – *това е неинвазивен, напълно безвреден за Вас (Вашето дете) метод на ехографско изследване на кръвоносните съдове, целящо определяне на тяхната проходимост и оценка на съдовата стена.*
- Вземане на венозна кръв за изследване на: пълна кръвна картина, феритин, серумно желязо, ТЖСК, трансферинова сатурация, СРП, липиден профил, малондиалдехид (MDA), човешка супероксид дисмутаза 1 (SOD1) и исхемия модифициран албумин (IMA).

Цел на клиничното проучване

Целта на изследването е да се установят белези на ранна субклинична съдова увреда и времето на нейната поява при деца и млади възрастни с бета-таласемия майор.

По време на проучването

Първо ще бъдете помолени да прочетете този информационен лист и след това да зададете въпроси, в случай че възникнат такива. След това ще бъдете помолени да подпишете формуляр за съгласие, ако сте съгласни Вие (Вашето дете) да участвате.

Ползи от проучването

Проучването ще даде възможност да се оцени състоянието на съдовата стена чрез сонографско изследване на каротидните артерии на деца и млади хора с БТМ и да се съпостави с измененията в липидния профил и показателите за оксидативен стрес. Ще могат да се идентифицират рискови пациенти за бъдещи сърдечно-съдови усложнения и да се създаде алгоритъм за проследяване на съдовия статус при пациентите с БТМ от най-ранна възраст.

Потенциални рискове и неудобства

Не съществуват потенциални рискове за участниците, тъй като предвидените изследвания нямат инвазивен характер. Венозните манипулации за вземане на кръв ще се извършват от квалифицирани лекари, сестри или лаборанти от УМБАЛ „Св. Марина“.

Поверителност

Вашата самоличност или самоличността на детето Ви ще се пази в тайна през цялото време на изследването и ще бъде достъпна само на специалистите, работещи по проекта. Цялата информация и получените резултати ще се пазят в тайна. След като се съгласите да участвате в проучването, трябва да знаете, че информацията, която давате, ще се вземе поверително и няма да бъдете идентифицирани в случай на изнасяне на доклади или публикации.

Личната информация, която ще бъде регистрирана, са ЕГН, имена и адрес. Изследователите ще запазят тази информация по време на периода на проучването.

Закон за компютърната база данни

Всички данни от изследването ще се съхраняват в рамките на 5 години. Ще са на хартиен носител в заключен шкаф и съхранени в личния компютър на главния изследовател. Ако сте съгласни да участвате в проучването, Вие се съгласявате и с това, личните Ви данни да се пазят в електронен вариант. Целта е да има възможност при нужда конкретни данни да се свържат с конкретния човек.

Данни на главния изследовател:

д-р Кристина Петрова, тел. 0883 355 853

Адрес, гр. Варна, бул. „Христо Смирненски“ 1,
УМБАЛ „Св. Марина“, ет. 6

Данни за алтернативен контакт:

д-р Елина Петева, тел. 0888 061 621

Адрес, гр. Варна, бул. „Христо Смирненски“ 1,
УМБАЛ „Св. Марина“, ет. 6

КЛИНИЧНА КАРТА НА УЧАСТНИКА

№ на участника:

Трите имена на участника:

Дата на раждане ден/месец/година):

Години:

ЕГН:

Мъжки пол/Женски пол: М / Ж

Дата на посещението:

Дата на подписване на Информираното съгласие (ден/месец/година):

Височина (см): см Тегло (кг): кг ВМІ:

АН (mmHg): mmHg СЧ (уд./мин):уд./мин.

Тютюнопушене: Да / Не

Сърдечно-съдов статус:

.....

По време на проучването ще се осъществи най-малко едно посещение в Експертния център по коагулопатии и редки анемии (ЕЦКРА) при УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна.

При посещението ще се проведе:

1. Преглед на включващи и изключващи критерии:

➤ Критерии за включване на пациенти:

- Възраст: 5-44 години
- Потвърдена диагноза бета-таласемия майор, посредством електрофореза на хемоглобин
- Подписано информирано съгласие

➤ Критерии за включване на контроли:

- Възраст: 5-44 години
- Липса на подлежащо сърдечно заболяване и анемиен синдром
- Подписано информирано съгласие

➤ **Исключващи критерии за пациенти:**

- Възраст под 5 години и над 44 години
- Не потвърдена чрез електрофореза диагноза бета-таласемия майор
- Отказ от подписване на информирано съгласие

➤ **Исключващи критерии за контроли:**

- Възраст под 5 години и над 44 години
- Наличие на подлежащо сърдечно заболяване или анемиен синдром
- Отказ от подписване на информирано съгласие

2. Физикален преглед с оценка на антропометричните показатели: ръст, тегло, индекс на телесна маса. Оценка на сърдечно-съдов статус – сърдечна дейност, сърдечна честота, артериално налягане

3. Ехокардиографско изследване – резултатите ще бъдат нанасяни в отделни, специално създадени бланки, според нуждите на изследването

4. Сонографско изследване на каротидни артерии

5. Вземане на венозна кръв за лабораторни показатели:

- Пълна кръвна картина
- Феритин
- Серумно желязо, ТЖСК, трансферинова сатурация
- СРП
- Липиден профил
- MDA, SOD, IMA

6. Изчисляване на атерогенен плазмен индекс (AIP)

7. Анализ на резултатите и съпоставка между ехокардиографската находка, лабораторните показатели за желязен свръхтовар и оксидативен стрес и съдовия статус на участника

Дата: _____ **Изследовател:** _____

Час: _____ **Подпис:** _____

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ВАРНА
„Проф. д-р Параскев Стоянов“

гр. Варна 9002, ул. „Марин Дринков“ 55
тел. +359 52 677 050, факс. + 359 52 650 019
uni@mu-varna.bg; www.mu-varna.bg



MEDICAL UNIVERSITY - VARNA
"Prof. Dr. Paraskev Stoyanov"

55 Marin Drinov Str., Varna 9002 Bulgaria
phone +359 52 650 057, fax + 359 52 650 019
uni@mu-varna.bg; www.mu-varna.bg

Препис-извлечение!

ПРОТОКОЛ / РЕШЕНИЕ № 101
на КОМИСИЯТА ПО ЕТИКА НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ
ПРИ МУ – ВАРНА
Заседание на 24.03.2021 г.

Предвид обявената извънредна епидемична обстановка в страната, свързана с разпространението на COVID-19 и предвид нарастващия брой на заболялите, и на основание чл. 8, ал. 7 от Правилника за работа на Комисията по етика на научните изследвания в МУ – Варна, заседанието на Комисията се проведе чрез платформата Blackboard. В 14.30 ч. започна заседанието, на което дистанционно участваха редовните членове, а именно:

Председател: Проф. Бистра Галунска, д. фарм.

Редовни членове:

1. Проф. д-р Йото Йотов, д.м.
2. Проф. д-р Мария Цанева, д.м.
3. Проф. д-р Албена Керековска, д.м.
4. Проф. д-р Методи Абаджиев, д.м.н.
5. Проф. д.б.н. Диана Иванова
6. Доц. д-р Радосвета Андреева-Борисова, д.м.н.
7. Доц. Веселина Славова, д.ф.
8. Доц. д-р Десислава Ванкова, д.м.
9. Д-р Александър Златаров, д.м.

На заседанието, по уважителни причини, не взе участие: Иванка Кондова – юрист

Заседанието на Комисията по Етика на научните изследвания (КЕНИМУВ) при МУ-Варна има кворум и протече по предварително обявения дневен ред. То беше ръководено от проф. Бистра Галунска, д. фарм. Протоколът води Мирослава Николова от отдел „Административен“ на Научноизследователския институт към МУ-Варна.

Заседанието на Комисията има кворум и се проведе по предварително обявения **дневен ред**:

1.3. „Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и млади възрастни с Бета-таласемия майор“ с гл. изследовател д-р Кристина Петрова – Катедра „Педиатрия“, МУ – Варна

Заседанието на Комисията по Етика на научните изследвания (КЕНИМУВ) при МУ-Варна има кворум и протече по предварително обявения дневен ред. То беше открито и ръководено от проф. Бистра Галунска, д. фарм. Протоколът води Мирослава Николова от отдел „Административен“ на Научноизследователския институт към МУ-Варна.

По т. 1.3. от дневния ред проф. Диана Иванова, д.б.н. представи акценти от доклада си относно заявено научно изследване на тема: „Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и млади възрастни с Бета-таласемия майор“ с гл. изследовател д-р Кристина Петрова – Катедра „Педиатрия“, МУ – Варна.

Комисията изслуша доклада на рецензента, който представя обобщена информация за научното изследване, оценка на етичните аспекти и мотивирано предложение за положително становище.

На базата на приложените документи, доклада на рецензента за оценка на етичните аспекти, Комисията гласува както следва:

Гласували: 10

Одобрили: 10 Против: няма Въздържали се: няма

РЕШЕНИЕ: Комисията по етика на научните изследвания при МУ - Варна одобрява провеждането на научното изследване: „Влияние на оксидативния стрес върху ранната съдова увреда при деца и млади възрастни с Бета-таласемия майор“ с гл. изследовател д-р Кристина Ивайлова Петрова – Катедра „Педиатрия“, МУ – Варна

Във връзка с изискването за извършване на текущ надзор на хода на проучването /съгласно Наредба № 31 за определяне на правилата за добра клинична практика., чл. 203, ал. 5 от Закона за здравето и Правилника на КЕНИ (2012 г.)/

Главният изследовател се задължава:

- Да уведоми писмено Комисията по етика на научните изследвания при МУ-Варна за **стартването** на научното изследване;
- Да представи на Комисията **писмен доклад за прогреса** на проучването - в срок до 1 година от неговото начало, включващ данни относно броя участващи в изследването до момента лица, броя прекратени участия и причините за тях, отчитани ползи и рискове за участниците, направени промени в одобреното изследване и друга важна нова информация, както и очаквана продължителност на проучването;
- Да представи на Комисията **писмен окончателен доклад** при приключване на научното изследване;
- Да информира писмено Комисията при планиране от изследователския екип на **промени** в методите, плана, процедурите или постановката на вече одобреното проучване;
- Местната Комисия по етика на научните изследвания е създадена и работи съгласно правилата на Добрата клинична практика и съобразно изискванията на национални и международни документи в областта на етиката на научните изследвания и научните публикации. Комисията спазва законите и наредбите, действащи на територията на Република България.

Поради изчерпване на дневния ред, заседанието бе закрито от проф. Бистра Галунска, д.фарм.

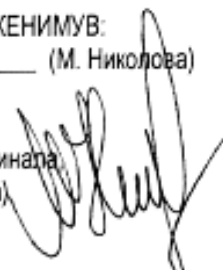
ПРЕДСЕДАТЕЛ КЕНИМУВ:

_____/п/____ (проф. Б. Галунска, д.ф.)

СЕКРЕТАР КЕНИМУВ:

_____/п/____ (М. Николова)

Вярно с оригинала
(М. Николова)



123sonography.com

Diploma

2022, January 24

Kristina Petrova

has successfully completed the Online
Carotid Ultrasound MasterClass

COURSE DIRECTORS



Univ. Prof. Thomas Binder, MD

123sonography.com

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ВАРНА
„Проф. д-р Параскев Стоянов“

Ул. „Марин Дринов“ 55, Варна 9002, България
Тел.: 052/ 65 00 57, Факс: 052/ 65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg



MEDICAL UNIVERSITY - VARNA
“Prof. Dr. Paraskev Stoyanov”

55, Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria
Tel.: +359 52/ 65 00 57, Fax: + 359 52/ 65 00 19
e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg

УДОСТОВЕРЕНИЕ

№ 106-2200 / 01.10.2020г.

Настоящото се издава на

д-р Кристина Ивайлова Петрова

с УИН № 0400003950 в регистъра на БЛС,
за проведена форма на продължаващо медицинско
обучение – индивидуално обучение, от 16.03.2020г.
до 27.03.2020г. с продължителност 10 учебни дни,
на тема:

„Доплерова сонография“



проф. д-р СВЕТОСЛАВ ГЕОРГИЕВ, д.м.
Заместник-ректор „Карьерно развитие“

Библиография

1. В.Калева, Х.Христозова, И.Игнатова КП. Бета-таласемия. Практическа педиатрия. 2015;10:14–20.
2. Eleftheriou A. About Thalassemia. Thalassemia international federation; 2007.
3. Olivieri NF. The Beta-Thalassemias. N Engl J Med. 341(2):99–109.
4. Origa R. β -Thalassemia. Genet Med. 2017;19(6):609–19.
5. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis 2010; 5:1–15.
6. López C, Saravia C, Gomez A, Hoebeke J, Patarroyo MA. Mechanisms of genetically-based resistance to malaria. Gene. 2010;467(1–2):1–12.
7. Митева Ц, Стефанов Р, Калева В, Рангелова М, Стоянова Д, Мануилова К, Стоянова А, Костова Д, Костова С, Чакърров И, Георгиева Р РД. Национален регистър на пациенти с таласемия в България – резултати от първоначално епидемиологично проучване, проведено през периода януари – април 2010. 1-ва Национална конференция за редки болести и лекарства сираци – сборник с постери и презентации, 2010:142.
8. Вродени хемолитични анемии. Бета-таласемии. Методични указания за диагностициране, лечение и проследяване на пациенти със заболявания на кръвта и кръвотворните органи. БНДКТХ, версия 2, 2011.
9. Perisano C, Marzetti E, Spinelli MS, Callà CAM, Graci C, MacCauro G. Physiopathology of bone modifications in β -Thalassemia. Anemia. 2012;2012:1–5.
10. Cooley TB LP. A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. Trans Am Pediatr Soc 1925;3729–30.
11. Piomelli S, Karpatkin MH, Arzanian M, Zamani M, Becker MH, Geneiser N, Danoff SJ KW. Hypertransfusion regimen in patients with Cooley’s anemia. Ann N Y Acad Sci. 1974;232(0):186.
12. Cappellini MD, Porter JB, Viprakasit V, Taher AT. A paradigm shift on beta-thalassaemia treatment: How will we manage this old disease with new therapies? Blood Rev. 2018;32(4):300–11.
13. Farmakis D, Porter J, Taher A, Domenica Cappellini M, Angastiniotis M, Eleftheriou A. 2021 Thalassaemia International Federation Guidelines for the Management of Transfusion-dependent Thalassemia. HemaSphere. 2022;6(8):e732.
14. Taher A, Musallam K, Cappellini D. Beta-thalassemias. N Engl J Med. 2021;11(3):369–73.
15. Калева В. Вродени хематологични заболявания. Бета-таласемия. Редки генетични болести, под редакцията на проф. Драга Тончева. София: Издателска къща “Симелпрес”; 2014. 873–881 р.
16. Angastiniotis M, Lobitz S. Thalassemias: An overview. Int J Neonatal Screen. 2019;5(1):1–11.
17. Modell B, Berdoukas V. The clinical approach to thalassemia. In New York and London: Grune and Stratton; 1984. p. 332–97.
18. Бета - таласемия. Наръчник за клинично поведение. Българско медицинско дружество по клинична и трансфузионна хематология. София; 2007.
19. Dimitriou F, Barbara B, Androulla E, Alassaf A, Michael A, Emanuele A, et al. Management of Transfusion Dependent Thalassaemia (Tdt) a Short Guide. 2022;15–147.

20. Fibach E, Rachmilewitz EA. Pathophysiology and treatment of patients with beta-thalassemia - an update. *F1000Research*. 2017;6(0).
21. Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassemia. *Blood*. 2011;118(13):3479–88.
22. Pinto VM, Forni GL. Management of iron overload in beta-thalassemia patients: Clinical practice update based on case series. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):1–20.
23. Piga A, Perrotta S, Gamberini MR, Voskaridou E, Melpignano A, Filosa A, et al. Luspatercept improves hemoglobin levels and blood transfusion requirements in a study of patients with β -thalassemia. *Blood*. 2019;133(12):1279–89.
24. Cappellini MD, Viprakasit V, Taher AT, Georgiev P, Kuo KHM, Coates T, et al. A Phase 3 Trial of Luspatercept in Patients with Transfusion-Dependent β -Thalassemia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1219–31.
25. Makis A, Voskaridou E, Papassotiriou I, Hatzimichael E. Novel therapeutic advances in β -thalassemia. *Biology (Basel)*. 2021;10(6).
26. Motta I, Scaramellini N, Cappellini MD. Investigational drugs in phase I and phase II clinical trials for thalassemia. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017;26(7):793–802.
27. Origa VV and R. Genetic Basis, Pathophysiology and diagnosis of thalassemia. In: *Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassaemia (Tdt)*. 2014. p. 14–28.
28. Telfer P. Update on survival in thalassemia major. *Hemoglobin*. 2009;33(SUPPL. 1):1–2.
29. Farmakis D, Giakoumis A, Angastiniotis M, Eleftheriou A. The changing epidemiology of the ageing thalassaemia populations: A position statement of the Thalassaemia International Federation. *Eur J Haematol*. 2020;105(1):16–23.
30. Zurlo MG, De Stefano P, Borgna-Pignatti C, Di Palma A, Melevendi C, Piga A, et al. Survival and Causes of Death in Thalassaemia Major. *Lancet*. 1989;334(8653):27–30.
31. Kremastinos DT, Farmakis D, Aessopos A, Hahalis G, Hamodraka E, Tsiapras D, et al. β -thalassemia cardiomyopathy: History, present considerations, and future perspectives. *Circ Hear Fail*. 2010;3(3):451–8.
32. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, Zhao H, Cappellini MD, Del Vecchio GC, et al. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica*. 2004;89(10):1187–93.
33. Taksande A, Prabhu S, Venkatesh S. Cardiovascular Aspect of Beta-Thalassaemia. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2012;10(1):25–30.
34. Borgna-Pignatti C. The life of patients with thalassemia major. *Haematologica*. 2010;95(3):345–8.
35. Taher AT, Cappellini MD. How I manage medical complications of β -thalassemia in adults. *Blood*. 2018;132(17):1781–91.
36. Taher A, Isma'eel H, Mehio G, Bignamini D, Kattamis A, Rachmilewitz EA CM. Prevalence of thromboembolic events among 8,860 patients with thalassaemia major and intermediate in the Mediterranean area and Iran. *Thromb Haemost*. 2006;9(2):488–91.
37. Singer ST, Kuypers FA, Styles L, Vichinsky EP, Foote D, Rosenfeld H. Pulmonary hypertension in thalassemia: Association with platelet activation and hypercoagulable state. *Am J Hematol*. 2006;81(9):670–5.
38. Fabbri E, Forni GL, Guerrini G B-PC. Pseudoxanthoma-elasticum-like syndrome and thalassemia: an update. *Dermatol Online J* 2009 Jul 15;15(7)7.

39. Цветков Н, Бочев П. Свободно-радикални увреждания и перспективи на антиоксидантната профилактика и терапия. 2000: Амадеус;
40. Rebeca Gerschman, Daniel L. Gilbert, Sylvanus W. Nye, Peter Dwyer and W O. F. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science*. 1954;119(3097):623-6.
41. Lushchak VI, Storey KB. Oxidative stress concept updated: Definitions, classifications, and regulatory pathways implicated. *EXCLI J*. 2021;20:956–67.
42. Atanassova M. Биологичноактивни вещества - източници на антиоксиданти (Biologically active substances – sources of antioxidants). 2011.
43. Kiselova-kaneva Y. Биологични ефекти на оксидативния стрес и билките като средство за противодействие. 2015.
44. Nakai K, Tsuruta D. What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? *Int J Mol Sci*. 2021;22(19).
45. Costantini D. Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: The opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol*. 2019;222(13).
46. Bartesaghi S, Radi R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. *Redox Biol*. 2018;14(August 2017):618–25.
47. Венцислава П. Изследване на механизмите за детоксикация на реактивните кислородни видове в митохондрии на дрожди. 2004.
48. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev*. (2020 Apr 23;2020:9829176).
49. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*. 2014;224(October):164–75.
50. Hensley K, Floyd RA. Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: A look back, a look ahead. *Arch Biochem Biophys*. 2002;397(2):377–83.
51. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*. 1984;219(1):1–14.
52. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *AnnuRevNutr*. 1996;16:33-50.
53. Elsayed NM. Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: A dynamic environmental-nutritional interaction. *Nutrition*. 2001;17(10):828–34.
54. Fisher AB. Chairman’s summary: Oxidants and antioxidants: Transatlantic airway conference 2002. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(12 II):2–3.
55. Borrás C, Gómez-Cabrera MC, Viña J. The dual role of p53: DNA protection and antioxidant. *Free Radic Res*. 2011;45(6):643–52.
56. Catalá A. Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the “fluid Mosaic Model” to the “lipid Whisker Model.” *Biochimie*. 2012;94(1):101–9.
57. Desai SN, Farris FF, Ray SD. Lipid Peroxidation. Third Edit. Vol. 2, *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*. Elsevier; 2014. 89–93 p.
58. Marisa Repetto JS and AB. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: *Lipid Peroxidation InTech*; 2012. p. 3–30.
59. Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: Oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation. *Antioxidants*. 2019;8(3).

60. Catalá A, Díaz M. Editorial: Impact of lipid peroxidation on the physiology and pathophysiology of cell membranes. *Front Physiol.* 2016;7(SEP):1–3.
61. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013;62:170–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.016>
62. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res.* 1990;9(1):1–32.
63. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001;30(5):456–62.
64. Moussa Z, M.A. Judeh Z, A. Ahmed S. Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. *Free Radic Med Biol.* 2020;
65. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen.* 2022;2(2):48–78.
66. Helmut Sies, Carsten Berndt DPJ. Oxidative stress. *Vitiligo.* 2010;(April):231–7.
67. Sies H. Oxidative Stress: Introductory Remarks. In: *Oxidative Stress.* Pergamon Press Inc.; 1985. p. 1–8.
68. Sies H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants.* 2020;9(9):1–6.
69. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res DNAAging.* 1992;275(3–6):257–66.
70. Harman D. Aging: A Theory on Free Radical Radiation Chemistry. *J Gerontol.* 1956;11:298–300.
71. Gemma C, Vila J, Bachstetter A, Bickford PC. Oxidative Stress and the Aging Brain: From Theory to Prevention. *Brain.* 2007;
72. Dasgupta A, Klein K. Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases and Other Diseases Related to Aging. *Antioxidants Food, Vitam Suppl.* 2014;167–84.
73. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017.
74. Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(9):689–709.
75. Murphy MP, Bayir H, Belousov V, Chang CJ, Davies KJA, Davies MJ, et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nat Metab.* 2022;4(6):651–62.
76. Геренова ЖБ. Реактивни кислородни видове, антиоксидантна защита и щитовидна жлеза. 2015;XX:1–58.
77. Rani V, Singh Yadav UC. Free radicals in human health and disease. *Free Radicals Hum Heal Dis.* 2015;1–430.
78. Hageman JJ, Bast A, Vermeulen NPE. Monitoring of oxidative free radical damage in vivo: Analytical aspects. *Chem Biol Interact.* 1992;82(3):243–93.
79. Roede JR, Fritz KS. Hepatotoxicity of Reactive Aldehydes. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier Inc.; 2015. 1–14 p.
80. Livrea MA, Tesoriere L, Pintaudi AM, Calabrese A, Maggio A, Freisleben HJ, et al. Oxidative stress and antioxidant status in β -thalassemia major: Iron overload and depletion of lipid-soluble antioxidants. *Blood.* 1996;88(9):3608–14.

81. Fogarasi E, Croitoru MD, Fülöp I, Nemes-Nagy E, Tripon RG, Simon-Szabo Z, et al. Malondialdehyde levels can be measured in serum and saliva by using a fast HPLC method with visible detection. *Rev Rom Med Lab.* 2016;24(3):319–26.
82. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017.
83. Chem JC, Biondi R, Brancorsini S, Egidi MG, Poli G, Capodicasa E, et al. Journal of Clinical Chemistry and Free and Total Malondialdehyde Measured as 2, 4-dinitrophenylhydrazine Adduct by HPLC-UV in Hemodialysis Patient Serum. 2019;2(1):1–9.
84. Shazia Q, Mohammad ZH, Rahman T, Shekhar HU. Correlation of oxidative stress with serum trace element levels and antioxidant enzyme status in beta thalassemia major patients: A review of the literature. *Anemia.* 2012;
85. Pavlova LE., VM. S, HG. P, IP. C. Oxidative Stress in Patients. 2007;154:145–54.
86. Fibach E, Dana M. Oxidative Stress in β - Thalassemia. *Mol Diagn Ther.* 2018;23, 245–26.
87. Voskou S, Aslan M, Fanis P, Phylactides M, Kleanthous M. Redox Biology Oxidative stress in β -thalassaemia and sickle cell disease. *Redox Biol.* 2015;6:226–39.
88. Maria Sposi N. Oxidative Stress and Iron Overload in β -Thalassemia: An Overview. *Beta Thalass.* 2020;
89. Mirlohi MS, Yaghooti H, Shirali S, Aminasnafi A, Olapour S. Increased levels of advanced glycation end products positively correlate with iron overload and oxidative stress markers in patients with β -thalassemia major. *Ann Hematol.* 2018;97(4):679–84.
90. Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci.* 2014;19(2):164–74.
91. Leecharenkiat K, Litanatudom P, Sornjai W, Smith DR. Iron dysregulation in beta-thalassemia. *Asian Pac J Trop Med.* 2016;9(11):1035–43.
92. Rivella S. Iron metabolism under conditions of ineffective erythropoiesis in β -Thalassemia. *Blood.* 2019;133(1):51–8.
93. Hershko C. Pathogenesis and management of iron toxicity in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1202:1–9.
94. Hoffbrand AV, Taher A, Cappellini MD. How I treat transfusional iron overload. *Blood.* 2012;120(18):3657–69.
95. Taher A, Saliba A. Iron overload in thalassemia: different organs at different rates. *Hematology American Society Hematology Education Program. Hematology.* 2017;(1):265–271.
96. Silva AMN, Rangel M. The (Bio)Chemistry of Non-Transferrin-Bound Iron. *Molecules.* 2022;27(6):1–14.
97. Gordan R, Wongjaikam S, Gwathmey JK, Chattipakorn N, Chattipakorn SC, Xie LH. Involvement of cytosolic and mitochondrial iron in iron overload cardiomyopathy: an update. *Heart Fail Rev.* 2018;23(5):801–16.
98. Basu S, Rahaman M, Dolai TK, Shukla PC, Chakravorty N. Understanding the Intricacies of Iron Overload Associated with β -Thalassemia: A Comprehensive Review. *Thalass Reports.* 2023;13(3):179–94.

99. Cabantchik ZI. Labile iron in cells and body fluids: Physiology, pathology, and pharmacology. *Front Pharmacol.* 2014;(March):1–11.
100. Murphy CJ, Oudit GY. Iron-overload cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Card Fail.* 2010;16(11):888–900.
101. Duca L, Cappellini MD, Baronciani D, Pilo F, Targhetta C, Visani G, et al. Non-transferrin-bound iron and oxidative stress during allogeneic hemopoietic stem cell transplantation in patients with or without iron overload. *Am J Hematol.* 2018;93(9):E250–2.
102. Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med.* 1995;18(2):321–36.
103. Breuer W, Ghoti H, Shattat A, Goldfarb A, Koren A, Levin C, et al. Non-transferrin bound iron in Thalassemia: Differential detection of redox active forms in children and older patients. *Am J Hematol.* 2012;87(1):55–61.
104. Rifkind JM, Mohanty JG, Nagababu E. The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions. *Front Physiol.* 2015;6:1–7.
105. Eid R, Arab NTT, Greenwood MT. Iron mediated toxicity and programmed cell death: A review and a re-examination of existing paradigms. Vol. 1864, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research.* Elsevier B.V.; 2017. 399–430 p.
106. Dietzen DJ, Diab Y. *Biochemical and Molecular Basis of Pediatric Disease. Biochem Mol Basis Pediatr Dis.* 2021;477–502.
107. Emerit J, Beaumont C, Trivin F. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. *Biomed Pharmacother.* 2001;55(6):333–9.
108. Andrés Juan C, Manuel Pérez de la Lastra J, Plou FJ, Pérez-Lebeña E, Reinbothe S. Molecular Sciences The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int J Mol Sci.* 2021;22:4642.
109. Bresgen N, Eckl PM. Oxidative stress and the homeodynamics of iron metabolism. *Biomolecules.* 2015;5(2):808–47.
110. Fibach E, Rachmilewitz E. Fibach, E., & Rachmilewitz, E. (2008). The role of oxidative stress in hemolytic anemia. *Current molecular medicine*, 8(7), 609-619.19–609;2008. .
111. Marques VB, Nascimento TB, Ribeiro RF, Broseghini-Filho GB, Rossi EM, Graceli JB, et al. Chronic iron overload in rats increases vascular reactivity by increasing oxidative stress and reducing nitric oxide bioavailability. *Life Sci.* 2015;143:89–97.
112. Telfer PT, Prestcott E, Holden S, Walker M, Hoffbrand A V., Wonke B. Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major. *Br J Haematol.* 2000;110(4):971–7.
113. Kremastinos DT, Farmakis D. Iron overload cardiomyopathy in clinical practice. *Circulation.* 2011;124(20):2253–63.
114. Olivieri N. Survival in medically treated patients with homozygous Beta-thalassemia. *New English J Med.* 1994;331(9):574–8.
115. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008;88(1):7–15.

116. Salman Z, Yılmaz T, Mehmetçik G. The relationship between ferritin levels and oxidative stress parameters in serum of β -thalassemia major patients. *Arch Biochem Biophys.* 2018;659(June):42–6.
117. Davis BA, O'Sullivan C, Jarritt PH, Porter JB. Value of sequential monitoring of left ventricular ejection fraction in the management of thalassemia major. *Blood.* 2004;104(1):263–9.
118. Rachmilewitz BEA, Lubin BH, Shohet SB. Lipid membrane peroxidation in Beta-Thalassemia major. 1976;47(3).
119. Giardini O, Murgia F, Martino F, Mannarino O, Corrado G, Maggioni G. Serum lipid pattern in β -thalassaemia. *Acta Haematol.* 1978;60(2):100–7.
120. Bhagat SS, Sarkar PD, Suryakar AN, Padalkar RK, Karnik AC, Ghone RA, et al. A study on the biomarkers of oxidative stress: The effects of oral therapeutic supplementation on the iron concentration and the product of lipid peroxidation in beta thalassemia major. *J Clin Diagnostic Res.* 2012;6(7 SUPPL.):1144–7.
121. Meral A, Ozbek R, Ozt E. Lipid peroxidation and antioxidant status in β -Thalassemia.. *Pediatr Hematol Oncol.* 2000;17(8):687–93.
122. N. Aziz B, A. Al-Kataan M, K. Ali W. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in β^2 -Thalassemic Patients: Effect of Iron Overload. *Iraqi J Pharm Sci (P-ISSN 1683 - 3597 , E-ISSN 2521 - 3512).* 2017;18(2):8–14.
123. Nasser E, Mohammadi E, Tamaddoni A, Qujeq D, Zayeri F, Zand H. Benefits of Curcumin Supplementation on Antioxidant Status in β -Thalassemia Major Patients: A Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Ann Nutr Metab.* 2018;71(3–4):136–44.
124. Rahul Naithani. Peroxidative Stress and Antioxidant Enzymes in Children With β -Thalassemia Major. *Pediatr Blood Cancer.* 2006;(February):1388–9.
125. Cighetti G, Duca L, Bortone L, S.Sala, Nava I. Oxidative status and malondialdehyde in.pdf. 2002;32:55–60.
126. Attia AMM, Sayed AM, Ibrahim F. Effects of Antioxidant Vitamins on the Oxidant / Antioxidant Status and Liver Function in Homozygous Beta-Thalassemia. *Rom J Biophys.* 2011;21(2):93–106.
127. Abdalla MY, Fawzi M, Al-Maloul SR, El-Banna N, Tayyem RF, Ahmad IM. Increased oxidative stress and iron overload in Jordanian β -thalassemic children. *Hemoglobin.* 2011;35(1):67–79.
128. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Kosma K, Barbetseas J, Karagiorga M, et al. Distribution of serum lipids and lipoproteins in patients with beta thalassaemia major; an epidemiological study in young adults from Greece. *Lipids Health Dis.* 2004;3:1–8.
129. Jindal G, Chavan P, Kaur R, Jaswal S, Singhal KK, Palta A, et al. Carotid intima-media thickness and oxidative stress markers for assessment of atherosclerosis in children with β thalassemia major. 2016;6:5–10.
130. Koca T, Canatan D, Örmeci AR, Koca YS, Duman H, Baykal A, et al. Amino acids and fatty acids in patients with beta thalassemia major. *Acta Biomed.* 2020;91(1):79–84.
131. Boudrahem-addour N, Izem-meziane M, Bouguerra K, Nadjem N, Zidani N, Belhani M, et al. Oxidative Status and Plasma Lipid Profile in β -Thalassemia Patients. 2014;0269:1–6.

132. Abduljalal A, Mehmetçik G. Estimation of MDA, CRP and Some hematological parameters in the mature Cypriot Thalassemia patients. *Zanco J Pure Appl Sci.* 2019;31(s4).
133. Awadallah SM, Atoum MF, Nimer NA, Saleh SA. Ischemia modified albumin: An oxidative stress marker in β -thalassemia major. *Clin Chim Acta.* 2012;413(9–10):907–10.
134. Şimşek F, Öztürk G, Kemahlı S, Erbaş D, Hasanoglu A. Oxidant and antioxidant status in beta thalassemia major patients. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.* 2005;58(3):34–8.
135. Walter PB, Fung EB, Killilea DW, Jiang Q, Hudes M, Madden J, et al. Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with β -thalassaemia or sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2006;135(2):254–63.
136. Basu D, Adhya DG, Sinha R, Chakravorty N. Role of malonaldehyde as a surrogate biomarker for iron overload in the β -thalassemia patient: A systematic meta-analysis. *Adv Redox Res.* 2021;3(August):100017.
137. Rasool M, Malik A, Jabbar U, Begum I, Qazi MH, Asif M, et al. Effect of iron overload on renal functions and oxidative stress in beta thalassemia patients. *Saudi Med J.* 2016;37(11):1239–42.
138. Al-Hakeim HK, Auda FM, Ali BM. Lack of correlation between non-labile iron parameters, total carbonyl and malondialdehyde in major thalassemia. *J Clin Biochem Nutr.* 2014;55(3):203–6.
139. Elsayh KI, Zahran AM, El-Abaseri TB, Mohamed AO, El-Metwally TH. Hypoxia biomarkers, oxidative stress, and circulating microparticles in pediatric patients with thalassemia in upper Egypt. *Clin Appl Thromb.* 2014;20(5):536–45.
140. Goswami K, Ghosh S, Bandyopadhyay M, Mukherjee KL. Iron store and free radicals in thalassemia. *Indian J Clin Biochem.* 2005;20(2):192–4.
141. Samal P, Mohanty J, Das S, Padma S. Serum Lipid Profiles of Patients Having Beta-Thalassemia in a Tertiary Care Hospital. 2021;25(4):14250–7.
142. L.Zannos-Mariolea, M.Papagregoriou-Theodoridou. Relationship between tocopherols and serum lipid levels in children with beta-thalassemia major. 1978;(February):259–63.
143. Amendola G, Danise P, Todisco N, D'Urzo G, Di Palma A DCR. Lipid profile in beta-thalassemia intermedia patients: correlation with erythroid bone marrow activity. *Int J Lab Hematol.* 2007;Jun;29(3):172-6.
144. Goldfarb AW, Rachmilewitz EA, Eisenberg S. Abnormal low and high density lipoproteins in homozygous beta-thalassaemia. *Br J Haematol.* 1991;79(3):481–6.
145. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the Europea. *Atherosclerosis.* 2016;253:281–344.
146. Franceschini G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2001;88(12 SUPPL.):9–13.
147. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Stefanadis C. Status and management of blood lipids in Greek adults and their relation to socio-demographic, lifestyle and dietary factors: The ATTICA Study: Blood lipids distribution in Greece. *Atherosclerosis.* 2004;173(2):351–9.

148. Grundy SM. An international atherosclerosis society position paper: Global recommendations for the management of dyslipidemia. *J Clin Lipidol.* 2013;7(6):561–5.
149. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasani RS, Schnabel R, Pryde MM, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham heart study. *Circulation.* 2008;117(19):2467–74.
150. Fedder DO, Koro CE, L'Italien GJ. New National Cholesterol Education Program III guidelines for primary prevention lipid-lowering drug therapy: Projected impact on the size, sex, and age distribution of the treatment-eligible population. *Circulation.* 2002;105(2):152–6.
151. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: Two prospective cohort studies. *Eur Heart J.* 2017;38(32):2478–86.
152. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, Nestel PJ, Simes RJ, Durrington P, et al. CLINICIAN'S CORNER Association of LDL Cholesterol, Non-HDL Cholesterol, and Apolipoprotein B Levels With Risk of Cardiovascular Events. *Jama.* 2012;307:1302.
153. Jacobson TA, Ito MK, Maki KC, Orringer CE, Bays HE, Jones PH, et al. National Lipid Association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia: Part 1 - Full report. *J Clin Lipidol.* 2015;9(2):129–69.
154. Grover SA, Levinton C, Paquet S. Identifying adults at low risk for significant hyperlipidemia: A validated clinical index. *J Clin Epidemiol.* 1999;52(1):49–55.
155. Baba M, Maris M, Jianu D, Luca CT, Stoian D, Mozos I. The Impact of the Blood Lipids Levels on Arterial Stiffness. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2023;10(3).
156. Choudhary MK, Eräranta A, Koskela J, Tikkakoski AJ, Nevalainen PI, Kähönen M, et al. Atherogenic index of plasma is related to arterial stiffness but not to blood pressure in normotensive and never-treated hypertensive subjects. *Blood Press.* 2019;28(3):157–67.
157. Lamarche F, Agharazii M, Nadeau-Fredette AC, Madore F, Goupil R. Central and Brachial Blood Pressures, Statins, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol A Mediation Analysis. *Hypertension.* 2018;71(3):415–21.
158. The Emerging Risk Factors, Collaboration*. Lipid-Related Markers and Cardiovascular Disease Prediction. *Jama.* 2012;2499–506.
159. Zhan B, Huang X, Wang J, Qin X, Zhang J, Cao J, et al. Association Between Lipid Profiles and Arterial Stiffness in Chinese Patients With Hypertension: Insights From the CSPPT. *Angiology.* 2019;70(6):515–22.
160. Ray S, Saikia D, Vashisht Y, Sharma S, Meena RK, Kumar M. Dyslipidemia and atherogenic indexes in children with transfusion-dependent thalassemia. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2023;(xx):1–7.
161. Kavitha S, Sujatha R. Atherogenic indices in stroke patients: A retrospective study. *Iran J Neurol.* 2017;16(2):78–82.
162. Bhardwaj S, Pharm IJ, Sci B, Bhardwaj S, Bhattacharjee J, Bhatnagar MK, et al. Atherogenic index of plasma, castelli risk index and atherogenic coefficient-new parameters in assessing cardiovascular risk. *Int J Pharm Biol Sci.* 2013;3(3):359–64.
163. Dobiášová M, Frohlich J, Šedová M, Cheung MC, Brown BG. Cholesterol esterification and atherogenic index of plasma correlate with lipoprotein size and findings on coronary angiography. *J Lipid Res.* 2011;52(3):566–71.

164. Frohlich J, Dobiášová M. Fractional Esterification Rate of Cholesterol and Ratio of Triglycerides to HDL-Cholesterol Are Powerful Predictors of Positive Findings on Coronary Angiography. *Clin Chem*. 2003;49(11):1873–80.
165. Wu TT, Gao Y, Zheng YY, Ma YT, Xie X. Atherogenic index of plasma (AIP): A novel predictive indicator for the coronary artery disease in postmenopausal women. *Lipids Health Dis*. 2018;17(1):1–7.
166. Sapunar J, Aguilar-Farías N, Navarro J, Araneda G, Chandía-Poblete D, Manríquez V, Brito R C. Alta prevalencia de dislipidemias y riesgo aterogénico en una población infanto-juvenil. *Rev Med Chil*. 2018;146(10):1112–22.
167. Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: Correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apob-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). *Clin Biochem*. 2001;34(7):583–8.
168. Chen Y, Chang Z, Liu Y, Zhao Y, Fu J, Zhang Y, et al. Triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio and cardiovascular events in the general population: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2022;32(2):318–29.
169. Bersot TP, Pépin GM, Mahley RW. Risk determination of dyslipidemia in populations characterized by low levels of high-density lipoprotein cholesterol. *Am Heart J*. 2003;146(6):1052–9.
170. Millán J, Pinto X, Muñoz A, Zúñiga M. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;(5):757–765.
171. Abid H, Abid Z, Abid S. Atherogenic indices in clinical practice and biomedical research: A short review. *Baghdad J Biochem Appl Biol Sci*. 2021;2(02):60–70.
172. Смъртност по основни причини в Република България. Национален център по здравна информация. София 2009.
173. Calabrò MP, Carerj S, Russo MS, De Luca FL, Onofrio MTN, Antonini-Canterin F, et al. Carotid artery intima-media thickness and stiffness index β changes in normal children: Role of age, height and sex. *J Cardiovasc Med*. 2017;18(1):19–27.
174. Stary HC, Blankenhorn DH, Bleakley Chandler A, Glagov S, Insull W, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions: A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1992;12(1):120–34.
175. И.Груев, А.Тончева. Ултразвуково измерване на intima-media thickness на a.carotis communis за откриване на субклинична атеросклероза при пациенти с възпалителни ревматологични заболявания. *Мединфо*. 09/2009:1–2.
176. Gatto L, Prati F. Subclinical atherosclerosis: How and when to treat it? *Eur Hear Journal, Suppl*. 2020;22:E87–90.
177. Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O. Oxidants and antioxidants in atherogenesis: An appraisal. *J Lipid Res*. 1999;40(12):2143–57.
178. Batty M, Bennett MR YE. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Cells*. (2022 Nov 30;11(23):3843).
179. Kawada T. Oxidative stress markers and cardiovascular disease: Advantage of using these factors in combination with lifestyle factors for cardiovascular risk assessment. *Int J Cardiol*. 2012;157(1):119–20.

180. Anderson C, Milne GL, Park YMM, Sandler DP, Nichols HB. Cardiovascular disease risk factors and oxidative stress among premenopausal women. *Free Radic Biol Med*. 2018;115:246–51.
181. Maiolino G, Rossitto G, Caielli P, Bisogni V, Rossi GP, Calò LA. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: The myths and the facts. *Mediat Inflamm* 2013.
182. Leiva E, Wehinger S, Guzmán L OR. Role of Oxidized LDL in Atherosclerosis. *Hypercholesterolemia InTech* 2015.
183. Loughrey CM, Young IS. Clinical biochemistry of the cardiovascular system. In: *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects: Third Edition*. Third Edit. Elsevier Ltd.; 2014. p. 737–66.
184. Dulce RA, Kulandavelu S, Schulman IH, Fritsch J, Hare JM. Nitric Oxide Regulation of Cardiovascular Physiology and Pathophysiology. Third Edit. *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology: Third Edition*. Elsevier Inc.; 2017. 313–338 p.
185. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol*. 2006;147(SUPPL. 1):193–201.
186. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327(6122):524–6.
187. Furchgott RF, Zawadzki J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373–6.
188. Ignarro LJ. Nitric oxide is not just blowing in the wind. *Br J Pharmacol*. 2019;176(2):131–4.
189. Culotta E, Koshland D. NO news is good news. *Science*. 1992;258(5090):1862-5.
190. Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, Olaetxea JR, Alloza I, Vandenbroeck K, et al. Pathophysiology of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6):1–38.
191. Gianazza E, Brioschi M, Martinez Fernandez A, Casalnuovo F, Altomare A, Aldini G, et al. Lipid Peroxidation in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *Antioxidants Redox Signal*. 2021;34(1):49–98.
192. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(11).
193. Urbina EM, Williams R V., Alpert BS, Collins RT, Daniels SR, Hayman L, et al. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents: Recommendations for standard assessment for clinical research: A scientific statement from the american heart association. *Hypertension*. 2009;54(5):919–50.
194. Николов ПФ. Ендотелна дисфункция и коронарна болест. Пловдив: Лакс Бук; 2019.
195. Goncharov N V., Nadeev AD, Jenkins RO, Avdonin P V. Markers and Biomarkers of Endothelium: When Something Is Rotten in the State. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.
196. Godo S, Shimokawa H. Endothelial Functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(9):e108–14.
197. Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: Role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*. 2004;102(1):87–96.

198. Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Mitchell GF, Vasani RS, Keaney JF, et al. Clinical Correlates and Heritability of Flow-Mediated Dilatation in the Community: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2004;109(5):613–9.
199. Feher A, Broskova Z, Bagi Z. Age-related impairment of conducted dilation in human coronary arterioles. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2014;306(12).
200. Hadi HAR, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag*. 2005;1(3):183–98.
201. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: Cardiac events. *Circulation*. 2005;111(3):363–8.
202. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(2):168–75.
203. Sun HJ, Wu ZY, Nie XW, Bian JS. Role of endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The link between inflammation and hydrogen sulfide. *Front Pharmacol*. 2020;10(January):1–15.
204. Gao J, Pan X, Li G, Chatterjee E, Xiao J. Physical Exercise Protects Against Endothelial Dysfunction in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *J Cardiovasc Transl Res*. 2022;15(3):604–20.
205. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular endothelial cell biology: An update. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18).
206. Gursel O, Tapan S, Sertoglu E, Taşçılar E, Eker I, Ileri T, et al. Elevated plasma asymmetric dimethylarginine levels in children with beta-thalassemia major may be an early marker for endothelial dysfunction. *Hematology*. 2018;23(5):304–8.
207. Денева Т. Серумни маркери за ендотелна дисфункция при атеросклероза. Пловдив, 2022: Лакс Бук;
208. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(7):1149–60.
209. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease. *Circulation*. 2003;108(17):2054–9.
210. Leite AR, Borges-Canha M, Cardoso R, Neves JS, Castro-Ferreira R, Leite-Moreira A. Novel Biomarkers for Evaluation of Endothelial Dysfunction. *Angiology*. 2020;71(5):397–410.
211. Aggeli C, Antoniadis C, Cosma C, Chrysohoou C, Tousoulis D, Ladis V, et al. Endothelial dysfunction and inflammatory process in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia major. 2005;105:80–4.
212. Tousoulis D, Antoniadis C, Stefanadis C. Evaluating endothelial function in humans: A guide to invasive and non-invasive techniques. *Heart*. 2005;91(4):553–8.
213. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010;55(5):1075–85.
214. Igari K, Kudo T, Toyofuku T, Inoue Y. Endothelial Dysfunction of Patients with Peripheral Arterial Disease Measured by Peripheral Arterial Tonometry. *Int J Vasc Med*. 2016;2016.
215. Ras RT, Streppel MT, Draijer R, Zock PL. Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: A systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2013;168(1):344–51.
216. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol*. 2006;101(2):545–8.

217. Bruno RM, Nilsson PM, Engström G, Wadström BN, Empana JP, Boutouyrie P, et al. Early and Supernormal Vascular Aging: Clinical Characteristics and Association With Incident Cardiovascular Events. *Hypertension*. 2020;76(5):1616–24.
218. Olsen MH, Angell SY, Asma S, Boutouyrie P, Burger D, Chirinos JA, et al. A call to action and a lifecourse strategy to address the global burden of raised blood pressure on current and future generations: the Lancet Commission on hypertension. *Lancet*. 2016;388(10060):2665–712.
219. Gkaliagkousi E, Lazaridis A, Dogan S, Fraenkel E, Tuna BG, Mozos I, et al. Theories and Molecular Basis of Vascular Aging: A Review of the Literature from VascAgeNet Group on Pathophysiological Mechanisms of Vascular Aging. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15).
220. Jani B, Rajkumar C. Ageing and vascular ageing. *Postgrad Med J*. 2006;82(968):357–62.
221. Boutouyrie P, Bruno RM. The Clinical Significance and Application of Vascular Stiffness Measurements. *Am J Hypertens*. 2019;32(1):4–11.
222. Nilsson PM, Boutouyrie P, Laurent S. Vascular aging. *Hypertension*. 2009;18.
223. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2588–605.
224. Georgieva V, Dimitrova A. Applanation Arterial Tonometry Assessment Of Arterial Stiffness. *Varna Med Forum*. 2021;10(3):14.
225. Nichols WW. Clinical measurement of arterial stiffness obtained from noninvasive pressure waveforms. *Am J Hypertens*. 2005;18(1 SUPPL.):3–10.
226. Chemla D, Nitenberg A, Teboul JL, Richard C, Monnet X, Le Clesiau H, et al. Subendocardial viability index is related to the diastolic/systolic time ratio and left ventricular filling pressure, not to aortic pressure: An invasive study in resting humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36(4):413–8.
227. Duprez DA, Cohn JN. Arterial stiffness as a risk factor for coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2007;9(2):139–44.
228. Tanaka H. Various Indices of Arterial Stiffness: Are They Closely Related or Distinctly Different? *Pulse*. 2017;5(1–4):1–6.
229. Nichols W, Michael O'Rourke, Charalambos V. McDonald's Blood Flow in Arteries, Sixth Edition: Theoretical, Experimental and Clinical Principles. CRC Press. 2011;9(6):456.
230. Safar ME, London GM. Therapeutic studies and arterial stiffness in hypertension: Recommendations of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2000;18(11):1527–35.
231. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, Duprez D, Plante GE. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens*. 2002;15(5):426–44.
232. Safar ME, O'Rourke MF. Handbook of Hypertension, Volume 23: Arterial Stiffness in Hypertension. Amsterdam: Elsevier; (2006). p. 598.
233. Mikael L de R, de Paiva AMG, Gomes MM, Sousa ALL, Jardim PCBV, Vitorino PV de O, et al. Envelhecimento Vascular e Rigidez Arterial. *Arq Bras Cardiol*. 2017;109(3):253–8.
234. Vríz O, Aboyans V, Minisini R, Magne J, Bertin N, Pirisi M, et al. Reference values of one-point carotid stiffness parameters determined by carotid echo-tracking and brachial pulse pressure in a large population of healthy subjects. *Hypertens Res*. 2017;40(7):685–95.

235. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cífková R, Cosentino F, et al. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation. Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY). *Atherosclerosis*. 2015;241(2):507–32.
236. Kocabay G, Hasdemir H, Yildiz M. Evaluation of pulse wave velocity in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Behçet's disease. *J Cardiol*. 2012;59(1):72–7.
237. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Böck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227–337.
238. Vríz O, Driussi C, La Carrubba S, Di Bello V, Zito C, Carerj S, et al. Comparison of sequentially measured Aloka echo-tracking one-point pulse wave velocity with SphygmoCor carotid–femoral pulse wave velocity. *SAGE Open Med*. 2013;1.
239. Castelli R, Gidaro A, Casu G, Merella P, Profili NI, Donadoni M, et al. Aging of the Arterial System. *Int J Mol Sci*. 2023;24(8):1–15.
240. Cecelja M, Ruijsink B, Puyol-Antón E, Li Y, Godwin H, King AP, et al. Aortic Distensibility Measured by Automated Analysis of Magnetic Resonance Imaging Predicts Adverse Cardiovascular Events in UK Biobank. *J Am Heart Assoc*. 2022;11(23).
241. Giudici A, Khir AW, Reesink KD, Delhaas T, Spronck B. Five years of cardio-ankle vascular index (CAVI) and CAVI0: how close are we to a pressure-independent index of arterial stiffness? *J Hypertens*. 2021;39(11):2128–38.
242. Spronck B, Obeid MJ, Paravathaneni M, Gadela NV, Singh G, Magro CA, et al. Predictive Ability of Pressure-Corrected Arterial Stiffness Indices: Comparison of Pulse Wave Velocity, Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI), and CAVI0. *Am J Hypertens*. 2022;35(3):272–80.
243. Melnikova EA, Avdeeva I V., Oleynikov VE. Echo-Tracking is a novel technology to assess structural and functional properties of carotid arteries (review). *Sovrem Tehnol v Med*. 2016;8(2):119–27.
244. Marinova E. Ultrasound measurement of local arterial stiffness through one-point echo-tracking technique. *Varna Med Forum*. 2020;9(1):41.
245. Uejima T, Dunstan FD, Arbustini E, Łoboz-Grudzień K, Hughes AD, Carerj S, et al. Age-specific reference values for carotid arterial stiffness estimated by ultrasonic wall tracking. *J Hum Hypertens*. 2020;34(3):214–22.
246. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. Vol. 139, *Circulation*. 2019. 56–528 p.
247. Kraml P. The role of iron in the pathogenesis of atherosclerosis. *Physiol Res*. 2017;66:S55–67.
248. Knuiman MW, Divitini ML, Olynyk JK, Cullen DJ, Bartholomew HC. Serum ferritin and cardiovascular disease: A 17-year follow-up study in Busselton, Western Australia. *Am J Epidemiol*. 2003;158(2):144–9.
249. Stefan Kiechl, Johann Willeit, Georg Egger, Werner Poewe, Friedrich Oberhollenzer and 1 for the BSG. Body Iron Stores are Associated, 1997.

250. Salonen JT, Tuomainen TP, Salonen R, Lakka TA, Nyyssönen K. Donation of blood is associated with reduced risk of myocardial infarction: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Epidemiol.* 1998;148(5):445–51.
251. Манолов В, Петрова Ю ВВ. Роля на хепсидина в патогенезата на атеросклерозата. 2017;16–23.
252. Crary SE, Buchanan GR. Vascular complications after splenectomy for hematologic disorders. *Blood.* 2009;114(14):2861–8.
253. Roa-Díaz ZM, Teuscher J, Gamba M, Bundo M, Grisotto G, Wehrli F, et al. Gene-diet interactions and cardiovascular diseases: a systematic review of observational and clinical trials. *BMC Cardiovasc Disord.* 2022;22(1).
254. Jabbar HK, Hassan MK, Al-Naama LM. Lipids profile in children and adolescents with β -thalassemia major. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2022;(xx):1–6.
255. Maioli M, Vigna GB, Tonolo G, Brizzi P, Ciccarese M, Donegà P, et al. Plasma lipoprotein composition, apolipoprotein(a) concentration and isoforms in β -thalassemia. *Atherosclerosis.* 1997;131(1):127–33.
256. Unchern S, Laoharuangpanya N, Phumala N, Sipankapracha P, Pootrakul P, Fucharoen S, et al. The effects of vitamin E on platelet activity in β -thalassaemia patients. *Br J Haematol.* 2003;123(4):738–44.
257. Hartman C, Tamary H, Tamir A, Shabad E, Levine C, Koren A, et al. Hypocholesterolemia in children and adolescents with β -thalassemia intermedia. *J Pediatr.* 2002;141(4):543–7.
258. Sherief LM, Dawood O, Ali A, Sherbiny HS, Kamal NM, Elshanshory M, et al. Premature atherosclerosis in children with beta-thalassemia major : New diagnostic marker. 2017;1–8.
259. K.Mashaali J, Obed FA, Tahir NT. Lipid Profile in Iraqi Children with β -thalassemia Major. *Iraqi J Hematol.* 2014;2(2):48–56.
260. Shams S, Ashtiani MTH, Monajemzadeh M, Koochakzadeh L, Irani H, Jafari F, et al. Evaluation of serum insulin, glucose, lipid profile, and liver function in β -thalassemia major patients and their correlation with iron overload. *Lab Med.* 2010;41(8):486–9.
261. Papanastasiou DA, Siorokou T HF. Beta-Thalassaemia and factors affecting the metabolism of lipids and lipoproteins. *Haematol (Budap)* 1996;27(3)143-53. 1996;
262. Haghpanah S, Davani M, Samadi B, Ashrafi A, Karimi M. Serum lipid profiles in patients with beta-thalassemia major and intermedia in southern Iran. *J Res Med Sci.* 2010;15(3):150–4.
263. Ragab S, Safan M, Sherif A. Lipid profiles in β thalassemic children. *Menoufia Med J.* 2014;27(1):66.
264. Bordbar M, Haghpanah S, Afrasiabi A, Dehbozorgian J, Karimi M. Genotype-phenotype correlation related to lipid profile in beta-thalassemia major and intermedia in southern Iran. *J Clin Lipidol.* 2012;6(2):108–13.
265. Ricchi P, Ammirabile M, Spasiano A, Costantini S, Di Matola T, Cinque P, et al. Hypocholesterolemia in adult patients with thalassemia: A link with the severity of genotype in thalassemia intermedia patients. *Eur J Haematol.* 2009;82(3):219–22.
266. Daswani P, Garg K. Lipid profile in beta-thalassemia major children and its correlation with various parameters. *Indian J Child Health.* 2021;8(1):26–31.

267. Sandip SV, Rai Pooja SK, Ingale Pramod W. Correlation of Serum Ferritin with Lipid Profile in β -Thalassemia Patients. *JK Sci.* 2024;26(1):16–9.
268. Nogay NH. Assessment of the correlation between the atherogenic index of plasma and cardiometabolic risk factors in children and adolescents: Might it be superior to the TG/HDL-C ratio? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017;30(9):947–55.
269. Nasir C, Rosdiana N, Lubis AD. Correlation between 25-hydroxyvitamin d and lipid profile among children with beta thalassemia major. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018;6(10):1790–4.
270. Ashar S, Sultan S, Irfan SM, Sheeraz A. Serum fasting lipid profile in children and adolescents with β -thalassaemia major in southern Pakistan. *Malays J Pathol.* 2015;37(3):233–8.
271. Cheung YF, Chan GCF, Ha SY. Arterial Stiffness and Endothelial Function in Patients With Beta-Thalassemia Major. *Circulation.* 2002;2561–7.
272. Stoyanova E, Trudel M, Felfly H, Lemsaddek W, Garcia D, Cloutier G. Vascular endothelial dysfunction in β -Thalassemia occurs despite increased eNOS expression and preserved vascular smooth muscle cell reactivity to NO. *PLoS One.* 2012;7(6).
273. Hahalis G, Kremastinos DT, Terzis G, Kalogeropoulos AP, Chrysanthopoulou A, Karakantza M, et al. Global vasomotor dysfunction and accelerated vascular aging in β -thalassemia major. *Atherosclerosis.* 2008;198(2):448–57.
274. Nassef S, El Shenoufy M, Rawi R, El Demerdash D, Hassan M, Mustafa H, et al. Assessment of Atherosclerosis in Peripheral and Central Circulation in Adult β Thalassemia Intermedia Patients by Color Doppler Ultrasound: Egyptian Experience. *J Vasc Res.* 2020;57(4):206–12.
275. Akhlaghpour S, Hoseini M, Jafarisepehr A. Association of iron overload based quantitative T2* MRI technique and carotid intima-media thickness in patients with beta-thalassemia: A cross-sectional study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2010;10(1):62.
276. Cheung YF, Chow PC, Chan GC. Carotid intima-media thickness is increased and related to arterial stiffening in patients with beta-thalassaemia major. 2006;732–4.
277. Stakos DA, Margaritis D, Tziakas DN, Kotsianidis I, Chalikias GK, Tsatalas K, et al. Cardiovascular involvement in patients with β -thalassemia major without cardiac iron overload. *Int J Cardiol.* 2009;134(2):207–11.
278. Piccione MC, Piraino B, Zito C, Rigoli L, Ferrau V, Salpietro CD, et al. Early Identification of Cardiovascular Involvement in Patients With β -Thalassemia Major. 2013;
279. Eldor A, Durst R, Hy-Am E, Goldfarb A, Gillis S, Rachmilewitz EA, et al. A chronic hypercoagulable state in patients with β -thalassaemia major is already present in childhood. *Br J Haematol.* 1999;107(4):739–46.
280. Tantawy AAG, Adly AAM, El Maaty MGA, Amin SAG. Subclinical atherosclerosis in young β -thalassemia major patients. *Hemoglobin.* 2009;33(6):463–74.
281. Tomiyama H. Is the carotid intima-media thickness a reliable predictor of future cardiovascular events? *J Atheroscler Thromb.* 2020;27(1):6–7.
282. Castañer O, Pintó X, Subirana I, Amor AJ, Ros E, Hernáez Á, et al. Remnant Cholesterol, Not LDL Cholesterol, Is Associated With Incident Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(23):2712–24.

283. Wen J, Huang Y, Lu Y, Yuan H. Associations of non-high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides and the total cholesterol/HDL-c ratio with arterial stiffness independent of low-density lipoprotein cholesterol in a Chinese population. *Hypertens Res.* 2019;42(8):1223–30.
284. Kiliç A, Baydar O, Elçik D, Apaydin Z, Can MM. Role of dyslipidemia in early vascular aging syndrome. *Turkish J Med Sci.* 2021;51(2):727–34.
285. Wang J, Miao R, Chen Z, Wang J, Yuan H, Li J, et al. Age-specific association between non-HDL-C and arterial stiffness in the Chinese population. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9.
286. Lu Y, Pechlaner R, Cai J, Yuan H, Huang Z, Yang G, et al. Trajectories of Age-Related Arterial Stiffness in Chinese Men and Women. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(8):870–80.
287. Kremastinos DT, Tsiapras DP, Kostopoulou AG, Hamodraka ES, Chaidaroglou AS, Kapsali ED. NT-proBNP levels and diastolic dysfunction in β -Thalassaemia major patients. *Eur J Heart Fail.* 2007;9(5):531–6.
288. Kostopoulou AG, Tsiapras DP, Chaidaroglou AS, De giannis DE, Farmakis D, Kremastinos DT. The pathophysiological relationship and clinical significance of left atrial function and left ventricular diastolic dysfunction in β -thalassemia major. *Am J Hematol.* 2014;89(1):13–8.
289. De Sanctis V, Soliman A, Elsedfy H, Skordis N, Kattamis C, Angastiniotis M, et al. Growth and endocrine disorders in thalassemia: The international network on endocrine complications in thalassemia (I-CET) position statement and guidelines. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013;17(1):8.
290. Skordis N, A Kyriakou. The multifactorial origin of growth failure in thalassaemia. *Pediatr Endocrinol Rev* 2011 Mar;8 Suppl 2271-7. 2011;
291. Metivier F, Marchais SJ, Guerin AP, Pannier B, London GM. Pathophysiology of anaemia: Focus on the heart and blood vessels. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(SUPPL. 3):14–8.
292. Aessopos A, Farmakis D, Hatziliami A, Fragodimitri C, Karabatsos F, Joussef J, et al. Cardiac status in well-treated patients with thalassemia major. *Eur J Haematol.* 2004;73(5):359–66.
293. Wood JC. Cardiac complications in thalassemia major. *Hemoglobin.* 2009;33(SUPPL. 1):1–2.
294. Димова М. Проспективно проследяване на сърдечно - съдовия статус и сърдечно - съдовата патология при пациенти с таласемия майор. 2017.
295. Ганева К. Възможности на някои ехокардиографски техники и микроронки за установяване на субклинична миокардна увреда при деца и млади възрастни с Бета-таласемия майор. 2023.
296. Bosi G, Crepaz R, Gamberini MR, Fortini M, Scarcia S, Bonsante E, et al. Left ventricular remodelling, and systolic and diastolic function in young adults with β thalassaemia major: A Doppler echocardiographic assessment and correlation with haematological data. *Heart.* 2003;89(7):762–6.
297. Mishra AK, Tiwari A. Iron overload in Beta thalassaemia major and intermedia patients. *Maedica (Buchar).* 2013;8(4):328–32.
298. Bhalodiya VR, Valiya LG, Mehta NA, Padhariya BB. Correlation of serum ferritin level in transfusion-dependant thalassemia major patients: a study at a medical college affiliated hospital in Gujarat region. *Int J Contemp Pediatr.* 2023;10(3):330–3.

299. Krittayaphong R, Viprakasit V, Saiviroonporn P, Wangworatrakul W, Wood JC. Serum ferritin in the diagnosis of cardiac and liver iron overload in thalassaemia patients real-world practice: a multicentre study. *Br J Haematol*. 2018;182(2):301–5.
300. Forni GL, Giancesin B, Musallam KM, Longo F, Rosso R, Lisi R, et al. Overall and complication-free survival in a large cohort of patients with β -thalassemia major followed over 50 years. *Am J Hematol*. 2023;98(3):381–7.
301. Derchi G, Dessì C, Bina P, Cappellini MD, Piga A, Perrotta S, et al. Risk factors for heart disease in transfusion-dependent thalassemia: serum ferritin revisited. *Intern Emerg Med*. 2019;14(3):365–70.
302. Kamperidis V, Vlachou M, Pappa Z, Pantelidou D, Karamitsos T, Papadopoulou D, et al. Prediction of long-term survival in patients with transfusion-dependent hemoglobinopathies: Insights from cardiac imaging and ferritin. *Hell J Cardiol*. 2021;62(6):429–38.
303. Mohamed R, Abdul Rahman AH, Masra F, Abdul Latiff Z. Barriers to adherence to iron chelation therapy among adolescent with transfusion dependent thalassemia. *Front Pediatr*. 2022;10.
304. В.Калева. Придържане към лекарствено лечение. *Педиатрия*. 2015;(2):68–9.
305. World Health Organization. Adherence to long-term therapies: evidence for action. 2003. 110 p.
306. Eziefula C, Shah FT, Anie KA. Promoting Adherence to Iron Chelation Treatment in Beta-Thalassemia Patients. *Patient Prefer Adherence*. 2022;16(June):1423–37.
307. Arıca, V. Serum Lipid Values in Children with Beta Thalassemia Major. *Pediatr Ther*. 2012;02(05):2–4.
308. Setoodeh S, Khorsand M, Takhshid MA. The effects of iron overload, insulin resistance and oxidative stress on metabolic disorders in patients with β - thalassemia major. *J Diabetes Metab Disord*. 2020;19(2):767–74.
309. Ibrahim WE, Youssef OI, Alnagar HG. A. Early detection of premature atherosclerosis in bthalassemia patients by measuring carotid intima-media thickness. 2020;113:208–9.
310. AlSaadi EK. Disturbances of Lipid Profile, Hemoglobin and Serum Ferritin Levels in Thalassemia Patients in Misan City, Amara, Iraq. *J Med Chem Sci*. 2022;5(5):779–86.
311. Suttnar J, Čermák J, Dyr JE. Solid-phase extraction in malondialdehyde analysis. *Anal Biochem*. 1997;249(1):20–3.
312. Caroline POL, Widyastiti NS, Ariosta, Pratiwi R, Retnoningrum D, Ngestiningsih D, et al. The differences of 25-hydroxyvitamin d and malondialdehyde levels among thalassemia major and non-thalassemia. *Bali Med J*. 2021;10(2):617–22.
313. Sengsuk C, Tangvarasittichai O, Chantanaskulwong P. Association of Iron Overload with Oxidative Stress , Hepatic Damage and Dyslipidemia in Transfusion-Dependent b - Thalassemia / HbE Patients. 2014;29(3):298–305.
314. Abed Mahdi E. Relationship between oxidative stress and antioxidant. *Acta Chim Pharm Indica*. 2014;4(3):137–45.
315. Patne. Alterations in antioxidant enzyme status with lipid peroxidation in _ thalassemia major patients. 2012;2(7):945–51.
316. Gunarsih A, Amalia P, Boediman I. Variables associated with malondialdehyde level in thalassemia major patients. *Paediatr Indones*. 2012;52(3):125.

317. Atmakusuma TD, Nasution IR, Sutandyo N. Oxidative stress (Malondialdehyde) in adults beta-thalassemia major and intermedia: Comparison between before and after blood transfusion and its correlation with iron overload. *Int J Gen Med.* 2021;14(September):6455–62.
318. Goldberg EK, Neogi S, Lal A, Higa A, Fung E. Nutritional Deficiencies Are Common in Patients with Transfusion-Dependent Thalassemia and Associated with Iron Overload. *Physiol Behav.* 2018;6(10): 674–681.
319. Симова Г, Игнатова И, Калева В. Рационално хранене при пациенти с бета - таласемия. *Педиатрия.* 2015;2:70–2.
320. D'Arqom A, Putri MG, Savitri Y, Rahul Alfaidin AM. Vitamin and mineral supplementation for β -thalassemia during COVID-19 pandemic. *Futur Sci OA.* 2020;6(9).
321. Chowdhury SF, Anwar S. Management of Hemoglobin Disorders During the COVID-19 Pandemic. *Front Med.* 2020;7(June):1–6.
322. Taher AT, Bou-Fakhredin R, Kreidieh F, Motta I, De Franceschi L, Cappellini MD. Care of patients with hemoglobin disorders during the COVID-19 pandemic: An overview of recommendations. *Am J Hematol.* 2020;95(8):E208–10.
323. de Sanctis V, Canatan D, Corrons JLV, Karimi M, Daar S, Kattamis C, et al. Preliminary data on COVID-19 in patients with hemoglobinopathies: A multicentre ICET-A study. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2020;12(1):1–9.
324. Farmakis D, Giakoumis A, Cannon L, Angastiniotis M, Eleftheriou A. COVID-19 and thalassaemia: A position statement of the Thalassaemia International Federation. *Eur J Haematol.* 2020;105(4):378–86.
325. Ghatreh-Samani M, Esmaeili N, Soleimani M, Asadi-Samani M, Ghatreh-Samani K, Shirzad H. Oxidative stress and age-related changes in T cells: Is thalassemia a model of accelerated immune system aging? *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(1):116–24.
326. Trangsuwan D, Wongchanchailert M, Mo-Suwan L, Chotsampancharoen T, Kalpravidh RW, Apiromruck P, et al. Effects of vitamin e on transfusion requirements in transfusion-dependent beta-thalassemia patients. *J Heal Sci Med Res.* 2018;36(3):225–34.
327. Mansi KM, Aburjai TA. Lipid orofile in Jordanian children with β -thalassemia major. *UHOD - Uluslararası Hematol Derg.* 2008;18(2):93–8.
328. Suman RL, Sanadhya A, Meena P, Singh J, Jain R, Meena S. Lipid profile in children of β -thalassemia major and their correlation with serum ferritin. *Int J Contemp Pediatr.* 2017;4(2):543.
329. El Gindi HD, Hassanain AI, Mostafa NO, El Kassas GM, El Wakeel MA, El Batal WH, et al. Oxidative DNA damage in β -thalassemic children. *Med Res J.* 2015;14(2):41–6.
330. Łoboz-Rudnicka M, Jaroch J, Kruszyńska E, Bociąga Z, Rzyckowska B, Dudek K, et al. Gender-related differences in the progression of carotid stiffness with age and in the influence of risk factors on carotid stiffness. *Clin Interv Aging.* 2018;13:1183–91.
331. Noori NM, Teimouri A, Keshavarz K, Moradi M. Assessment of aortic elasticity and the doppler tissue echocardiography in thalassemia major children. *J Child Sci.* 2020;10(1):E63–73.
332. Pereira T, Maldonado J, Pereira L, Conde J. Aortic stiffness is an independent predictor of stroke in hypertensive patients. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100(5):437–43.
333. Riggio S, Mandraffino G, Sardo MA, Iudicello R, Camarda N, Imbalzano E, et al. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children. *Eur J Clin Invest.* 2010;40(3):250–7.

334. Doyon A, Kracht D, Bayazit AK, Deveci M, Duzova A, Krmar RT, et al. Carotid artery intima-media thickness and distensibility in children and adolescents: Reference values and role of body dimensions. *Hypertension*. 2013;62(3):550–6.
335. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;43(6):1239–45.
336. DuPont JJ, Kenney RM, Patel AR, Jaffe IZ. Sex differences in mechanisms of arterial stiffness. *Br J Pharmacol*. 2019;176(21):4208–25.
337. Zaydun G, Tomiyama H, Hashimoto H, Arai T, Koji Y, Yambe M, et al. Menopause is an independent factor augmenting the age-related increase in arterial stiffness in the early postmenopausal phase. *Atherosclerosis*. 2006;184(1):137–42.
338. Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, D'Agostino RB, Beiser A, Wilson PWF, et al. Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. *Circulation*. 2006;113(6):791–8.
339. Rodgers JL, Jones J, Bolleddu SI, Vanthenapalli S, Rodgers LE, Shah K, et al. Cardiovascular risks associated with gender and aging. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019;6(2).
340. Al-Zuhairy TNAHS, Al-Ali ZAJR. Evaluation of reproductive hormones in patients with β -thalassemia major in misan province, iraq. *Medico-Legal Updat*. 2020;20(2):274–9.
341. De Sanctis V, Elsedfy H, Soliman AT, Elhakim IZ, Kattamis C, Soliman NA, et al. Clinical and biochemical data of adult thalassemia major patients (TM) with multiple endocrine complications (MEC) versus TM patients with normal endocrine functions: A long-term retrospective study (40 years) in a tertiary care center in Italy. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2016;8(1).
342. Belhoul KM, Bakir ML, Saned MS, Kadhim AMA, Musallam KM, Taher AT. Serum ferritin levels and endocrinopathy in medically treated patients with β thalassemia major. *Ann Hematol*. 2012;91(7):1107–14.
343. Chatterjee R, Katz M. Reversible hypogonadotrophic hypogonadism in sexually infantile male thalassaemic patients with transfusional iron overload. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53(1):33–42.
344. Chern JPS, Lin K, Tsai W, Wang S, Lu M, Lin D, et al. Hypogonadotropic Hypogonadism and Hematologic. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003;25(7):880–4.
345. Albu AI, Albu D. Hypogonadism in Female Patients with Beta Thalassemia Major. *Thalass Other Hemolytic Anemias*. 2018;
346. Appasamy M, Jauniaux E, Serhal P, Al-Qahtani A, Groome NP, Muttukrishna S. Evaluation of the relationship between follicular fluid oxidative stress, ovarian hormones, and response to gonadotropin stimulation. *Fertil Steril*. 2008;89(4):912–21.
347. Asano Y. Age-related Accumulation of Non-heme Ferric and Ferrous Iron in Mouse Ovarian Stroma Visualized by Sensitive Non-heme Iron Histochemistry. *J Histochem Cytochem*. 2012;60(3):229–42.
348. Al-Azemi MK, Omu AE, Fatinikun T, Mannazhath N, Abraham S. Factors contributing to gender differences in serum retinol and α -tocopherol in infertile couples. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(4):583–90.

349. Cecelja M, Chowienczyk P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: A systematic review. *Hypertension*. 2009;54(6):1328–36.
350. Vallée A, Lelong H, Lopez-Sublet M, Topouchian J, Safar ME, Blacher J. Association between different lipid parameters and aortic stiffness: Clinical and therapeutic implication perspectives. *J Hypertens*. 2019;37(11):2240–6.
351. Wen J, Zhong Y, Kuang C, Liao J, Chen Z, Yang Q. Lipoprotein ratios are better than conventional lipid parameters in predicting arterial stiffness in young men. *J Clin Hypertens*. 2017;19(8):771–6.
352. Si XB, Liu W. Relationship between blood lipid and arterial stiffness in hypertension. *Clin Investig Med*. 2019;42(3):E47–55.
353. Merchant RH, Chate S, Ahmed J, Ahmad N, Karnik A, Jankaria B. Evaluation of carotid artery dynamics & correlation with cardiac & hepatic iron in β -thalassaemia patients. *Indian J Med Res*. 2016;143(April):443–8.
354. Gedikli O, Altinbas A, Orucoglu A, Dogan A, Ozaydin M, Aslan SM, et al. Elastic properties of the ascending aorta in patients with β -thalassemia major. *Echocardiography*. 2007;24(8):830–6.
355. Dennis Robinette C, Fraumeni JF. Splenectomy and Subsequent Mortality in Veterans of the 1939–45 War. *Lancet*. 1977;310(8029):127–9.
356. Asai K, Kuzuya M, Naito M, Funaki C, Kuzuya F. Effects of Splenectomy on Serum Lipids and Experimental Atherosclerosis. *Angiology*. 1988;39(6):497–504.
357. Petroianu A, Alberti LR. Effects of splenis surgeries on lipidogram of rats. 2006;(December 2015).
358. Hezaveh ZS, Hadidi M, Shidfar F. The Splenectomy Effects on Lipid Profile and Glucose Metabolism in the Major Thalassemia Patients. *J Nutr Food Secur*. 2021;6(1):58–64.