

## ДИЗАЙН И ОСОБЕНОСТИ НА ПРОУЧВАНЕТО НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВ И МЕТАБОЛИТЕН РИСК ПРИ ДЪЛГОГОДИШЕН ТИП 1 ЗАХАРЕН ДИАБЕТ

Калоян Цочев<sup>1</sup>, Татяна Чалъкова<sup>2</sup>, Йото Йотов<sup>2</sup>, Яна Бочева<sup>3</sup>,  
Наталия Ушева<sup>4</sup>, Мила Бояджиева<sup>5</sup>, Соня Галчева<sup>1</sup>, Виолета Йотова<sup>1</sup>,  
Таня Стефанова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Катедра по педиатрия, Факултет по медицина, Медицински университет - Варна

<sup>2</sup>Първа катедра по вътрешни болести, Факултет по медицина,  
Медицински университет - Варна

<sup>3</sup>Катедра по обща медицина и клинична лаборатория, Факултет по медицина,  
Медицински университет - Варна

<sup>4</sup>Катедра по социална медицина и организация на здравеопазването,  
Факултет по обществено здравеопазване, Медицински университет - Варна

<sup>5</sup>Втора катедра по вътрешни болести, Факултет по медицина,  
Медицински университет - Варна

## DESIGN AND SPECIFIC FEATURES OF A STUDY OF THE LONG-TERM CARDIOVASCULAR AND METABOLIC RISK IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Kaloyan Tsochev<sup>1</sup>, Tatyana Chalakova<sup>2</sup>, Yoto Yotov<sup>2</sup>, Yana Bocheva<sup>3</sup>,  
Natalya Usheva<sup>4</sup>, Mila Boyadzhieva<sup>5</sup>, Sonya Galcheva<sup>1</sup>, Violeta Iotova<sup>1</sup>,  
Tanya Stefanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

<sup>2</sup>First Department of Internal Diseases, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

<sup>3</sup>Department of General Medicine and Clinical Laboratory, Faculty of Medicine,  
Medical University of Varna

<sup>4</sup>Department of Social Medicine and Health Care Organization, Faculty of Public Health,  
Medical University of Varna

<sup>5</sup>Second Department of Internal Diseases, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

### РЕЗЮМЕ

Наред с традиционните рискови фактори за сърдечно съдови заболявания (ССЗ), непрекъснато се търсят нови такива при лица с тип 1 захарен диабет (Т1ЗД) с цел навременна профилактика и лечение. Нарастващото познание за ролята на възпалението и висцералната мастна тъкан (ВМТ) в патогенезата на усложненията при Т1ЗД е неизменна част от работата на водещи европейски центрове. Затлъстяването се явява прогресиращ, рисков фактор и ролята му при

### ABSTRACT

Among the traditional risk factors for cardiovascular diseases (CVD) in individuals with type 1 diabetes mellitus (T1DM), new ones are constantly being sought for timely prophylaxis and treatment. The increasing knowledge of the role of inflammation and visceral adipose tissue in the pathogenesis of T1DM complications is an integral part of the work of leading European centers. Obesity is a progressing risk factor and its role in the cardiovascular pathology of patients with T1DM is unclear. Lack of established practices

пациенти с Т1ЗД в СС патология е недоизяснена. Липсата на установени практики и алгоритми за поведение при тези лица е слабо проучена и застъпена до момента. С превалирането на интензифицирана инсулинова терапия при Т1ЗД, водеща понякога до относително по-високи инсулинови дози, и съвремените хранителни навици на тези пациенти се увеличава рискът от болестност и смъртност. Приоритизирането на проекти с икономическа ефективност и конкретна навременна ангажираност с цел протекция на инвалидизацията при тези заболели е с изключителна важност в научен и здравно-профилактичен план. Цел на настоящата разработка е да представи дизайн на едно проучване на сърдечно-съдовия и метаболитен риск при пациенти с дългогодишен Т1ЗД.

---

**Ключови думи:** тип 1 захарен диабет, сърдечно съдов риск, микро- и макроvascularни усложнения

---

*and algorithms for management in these individuals has been poorly studied and presented to date. With prevalence of intensified insulin therapy in T1DM, leading sometimes to relatively high doses, and with the contemporary habits of eating, the patients' risk of morbidity and mortality increases. Prioritization of cost-effective projects and specific timely commitment to protect disability in these patients is of utmost importance in scientific and healthcare aspects. The aim of this article is to present the design of the study of the cardiovascular and metabolic risk in patients with long-term T1DM.*

---

**Keywords:** type 1 diabetes mellitus, cardiovascular risk, micro and macrovascular complications

---

Неинфекциозните заболявания продължават да бъдат водеща причина за болестност и смъртност в Европа. С нарастване на урбанизацията и централизиране на населението към големите градове в Европа и изобщо по света, се наблюдава все по-хаотично разпределяне на отговорностите към медицинските специалисти, осъществяващи наблюдението на пациентите с хронични заболявания. Броят на пациентите с диабет непрекъснато се увеличава, като данни на IDF показва че броят им към 2024 ще нарастне на 629 милиона, като същевременно се удължава тяхната продължителност на живот, а с това и инвалидизацията им (1).

Тип 1 захарен диабет (Т1ЗД) е метаболитно заболяване с нарастваща честота, при което основен патофизиологичен механизъм е липсата на инсулин. Има разлика и в рисковия профил на болните с Т1ЗД и Т2ЗД. Докато хипергликемията и лошият контрол на диабета са важни фактори за сърдечно съдови заболявания (ССЗ), болестност и смъртност и при двата типа ЗД съществуват някои особености в честотата и степента на изява на останалите традиционни рискови фактори за развитие

на ССЗ и на коронарна болест на сърцето (КБС) по-специално (2).

Наличието на Т1ЗД премахва протективната роля на пола при млади жени с диабет. Те са склонни по-често да имат ССЗ и КБС, отколкото мъжете с диабет, и преди 40-год. възраст имат еднаква честота на ССЗ. В мета-анализ на 26 проучвания при Т1ЗД с над 210000 участници, обобщеното стандартизирано отношение за смъртност жени/мъже е било 1.86 за ССЗ, а за новопоявила се КБС е било 2.54. При по-възрастни отношението е обратно. Почти двойно по-висок риск от заболяемост от мозъчен инсулт се отчита при Т1ЗД – 0.3-0.74% годишно, в сравнение с общата популация – 0.2-0.3% (3). Резултатите от наблюдателни и интервенционални проучвания, които касаят Т1ЗД, са оскъдни или са екстраполирани от доказателства при Т2ЗД. Такъв подход не задоволява, тъй като са налице доказателства, че патогенезата на атеросклерозата (основен фактор на ССЗ) се различава при двата основни типа диабет (4).

Възрастта на проявление на ССЗ е различна при Т1ЗД и Т2ЗД, като те се явяват по-рано в живота на болните с Т1ЗД (5). Наблюдаваните различия в продължител-

ността и естествената еволюция на ССЗ при болни с Т13Д и Т23Д подсказват необходимостта да се започне профилактика на ССЗ по-рано при по-младите пациенти с Т13Д. За момента съществуващите модели за предсказване на риска от ССЗ при Т13Д не са достатъчно проучени. Създават се нови рискови скали, които по-добре да отразяват спецификата на рисковия профил при Т13Д, като тази на Стено 2 е вече приложима за различни популации (6). В България не ни е известно да са прилагани подобни оценъчни инструменти до момента.

Съвременен показател за повишен микроваскуларен риск са т.нар. напреднали продукти на гликирането (Advanced Glycation Endproducts, AGEs,) (7). Като най-добър самостоятелен предиктор за ССЗ смъртност с възрастта при индивиди с диабет, AGEs корелират сигнификантно със степента на съдова увреда и със СС усложнения при периферна съдова болест. Освен трудно достъпното и не достатъчно валидирано лабораторно измерване, напоследък са създадени иновативни уреди за лесното им измерване (8). Възможността за неинвазивно отчитане на AGEs и сравнението с нивата им в кръвта ще изясни ролята им като предиктор на риска от съдови усложнения в рутинното проследяване при Т13Д.

Проследяване на пациентите чрез основния биомаркер при Т13Д – HbA1c% и вариациите в глюкозните нива в обстойни наблюдения още от ерата на проучването DCCT показва, че незадоволителният метаболитен контрол преобладава сред факторите за болестност при дългогодишен Т13Д (9). Същевременно ролята на дневните вариации на кръвно-глюкозните нива е неизяснен фактор в патогенезата на тези усложнения. Редица експериментални екипи работят за откриване на по-точно разкриване на интимните механизми както за микроваскуларните, така и макроваскуларните диабетни усложнения.

Затлъстяването от своя страна е друг рисков фактор, чието значение при Т13Д с голяма давност не е достатъчно проучвано.

Основен фактор за това е липсата на индивиди със затлъстяване в близкото минало поради относително по-лошия диабетен контрол, протичащ с предимно катаболни процеси при засегнатите и липсата на възможност за флексибилен или интензифициран начин на лечение до скоро.

Според резултати от собствени данни в международния регистър DPV- SWEET, процентът на пациенти с ИТМ>95р във възрастта 0-18 г. е около 15% - относителен дял, сходен с честотата на затлъстяване в общата популация. Макар и не толкова честа в сравнение с Т23Д, инсулиновата резистентност може да е налице при Т13Д, а глюкозната нетолерантност е свързана с редица неизвестни досега метаболитни фактори, които представляват научен интерес. В изолирано проучване от последните 10 години оптималният ИТМ при пациенти над 18-годишна възраст с Т13Д, който е свързан с най-ниска смъртност, е бил между 25 и 30 kg/m<sup>2</sup> (2). Макар и не толкова честа в сравнение с Т23Д, инсулиновата резистентност може да е налице при болни с Т13Д, особено през последните десетилетия, когато честотата на затлъстяване при Т13Д е нарастнала от 1 до 31% само за 12 години наблюдение в рамките на проучването DCCT/EDIC (10).

Дислипидемията също се среща често при Т13Д, но за разлика от Т23Д, нивата на LDL-холестерола са по-ниски, HDL-холестеролът е по-висок, а ролята на триглицеридите е все още недостатъчно ясна при Т13Д (3).

В етап на широко обсъждане е ролята на цитокините (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-6b), биохимичните маркери с метаболитна активност (адипонектин, айризин, лептин, свободни мастни киселини) и ролята им в патогенезата на усложненията при пациентите с Т13Д. Наблюдение на Konukoglu D. et al. върху активността на адхезионната молекула ADMA (асиметричния диметиларгинин) и ролята ѝ във възпалението при ендотелна дисфункция са добре проучени при популации с пре-диабет (11). В същото това проучване се споменава, че при

T13Д се отчитат завишени нива на ADMA, но механизмите на взаимовръзката с ендотелната дисфункция и атеросклеротичните промени с напредване на давността се тълкуват като многофакторни и все още недоизяснени. При пациенти с T23Д нивата ѝ дори се асоциират с риска от макроваскуларните усложнения, независимо от съпътстващите СС рискови фактори (12).

Нарастващото познание за ролята на възпалението и висцералната мастна тъкан, най-вече епикардна мастна тъкан (ЕМТ), в патогенезата на усложненията при T13Д е неизменна част от работата на водещи международни колективи. До момента у нас липсват подобни проучвания. ЕМТ е проучена в някои изследвания при T13Д, но недостатъчно по отношение на сърдечната патология. Количествената ѝ оценка посредством ядрено магнитен резонанс (ЯМР) и метода за “фино мазнинно секвениране” би била от изключително значение от гледна точка на фиброинфламаторните промени и нарушенията в енергийния потенциал на сърдечния мускул при дългогодишна заболяемост (13).

Друг образен метод, използван за установяване на СС риск, е измерването на коронарния артериален калциев скор чрез компютър томографско (КТ) изследване. Скенирането за коронарен артериален калций е надеждна неинвазивна техника за изчисляване на общия коронарен товар от атеросклеротични плаки и на сърдечно-съдовия риск. Този метод има някои предимства пред традиционните стрес тестове, включително по-ниска цена, по-голяма чувствителност за доказване на необструктивно коронарно засягане и отлична прогностична стойност, когато се комбинира в системи за оценка на риска, вкл. при лица с T13Д (14).

Данните относно храненето при отраснали пациенти с T13Д, заболели в детска възраст, също са недостатъчни на този етап. Сравнението на хранителните навици с индивиди от същата възрастова група и пол без диабет е важен резултат, който

ще позволи изработване на специфични препоръки.

Всички тези предпоставки доведоха до планирането на проучване относно СС риск и по-специално риска, свързан с висцералната мастна тъкан при пациенти с дългогодишен T13Д, чийто дизайн представяме с настоящата разработка.

## **ЦЕЛ**

Представяне на дизайна на проучване върху риска от ССЗ и съпътстващи метаболитни нарушения при лица с T13Д. Основна цел на програмата е определяне на основополагащи детерминанти в профилактиката на усложненията и наблюдението на деца, юноши и възрастни при голяма давност на заболяването.

## **МЕТОДОЛОГИЯ**

Проучването е планирано като тип сравнение случай-контрола. Ще бъдат изследвани 120 пациента с T13Д и 60 съобразени по възраст и пол контроли без T13Д.

Всеки участник трябва да отговаря на следните включващи критерии :

- ♦ Пациенти с над 15 г. давност на T13Д (за юноши – при завършен растеж и пубертетно съзряване);
- ♦ Здрави доброволци от същия пол и възраст със сходен ИТМ.

Изключващ критерии е наличие на някое от следните състояния: преживян ОМИ или друг съдов инцидент; участие в медикаментозни клинични изпитвания; значима психична увреда или друг вид запрещение за самостоятелно решение за участие; значима инвалидизация и/или обездвижване; над 3% промяна в телесното тегло в последните 3 месеца; остро заболяване/състояние по време на изследването; бременност при жените в репродуктивна възраст (при забавяне на редовен менструален цикъл – изключване чрез проба за бременност); при участниците с диабет - преживени тежки хипогликемии или ДКА в последните 3 месеца; тежки документиранни микроваскуларни диабетни усложнения.

## НАЛИЧНОСТ НА ПАЦИЕНТИ

Важен въпрос при планирането е дали предвижданата пациентска група е налична и може да бъде обхваната в сравнително кратък период от време. По данни на Клиниката по детска ендокринология във Варна средно годишно новодиагностицираните случаи на Т13Д под 18-год. възраст от града са 12-15, което за 30-год. период предполага около 400 нови пациенти. При 8.7% горна граница на смъртност от Т13Д в региона, както и предвидени около 20% миграция и 20% отказ за участие, този брой на предвидените участници (n=120) е 80-100% от всички налични и потенциално желаещи да участват лица с Т13Д (15). Участниците ще се подбират чрез системата на общопрактикуващите лекари и ендокринологи, средствата за масова комуникация и информираност. Представят се лекции на национални конгреси и семинари. В отделните компоненти на програмата са включени водещи специалисти от сферата на медицината - ендокринология, кардиология, образна диагностика, клинична лаборатория, диетология и социална медицина. Предвижда се при недостатъчно активно участие да бъдат поканени пациенти от други градове.

## МЕТОДИ

Изследването ще използва многопрофилно структурно интервю – основна характеристика на участника (пол, възраст) и на неговия диабет (давност, лечение и контрол и пр.), особености в хранителните навици, режим на хранене, социално-икономически статус и качество на живот. Подробен клиничен преглед с аускулация и измерване на физическа активност ще се прилага съобразно утвърдените европейски стандарти (European Society of Cardiology). При юношите особено внимание ще се обръща на наличието на клинични данни за възпалителни процеси, белези на пубертетното развитие и разстройства в растежа и развитието. При възрастните ще се отчитат възможните болестни процеси, които могат да имат значение за моментното състояние, както и клинична оценка

относно стабилността на налично заболяване. Ще се извършва подробна оценка на сърдечен статус, както и наличие на асоциирани с висцералното затлъстяване и лошия метаболитен контрол на диабета белези. Ще се търсят белези на активни аутоимунни процеси.

Наличието на наднормено тегло и затлъстяване във възрастта до 18 год. ще се определя, използвайки международните IOTF референтни стойности на ИТМ за юноши, в зависимост от пола и възрастта (16). Стадият на пубертетно развитие ще се определи въз основа на вторичните полови характеристики по метода на Tanner. Артериалното налягане ще се регистрира с помощта на електронен дигитален апарат с големина на маншетата, съответстваща на обиколката на мишницата. Посредством AGE Reader, в рамките на 12 сек. ще се измерват AGEs. Акуратността на техниката за измерване на AGEs е валидирана със световни клинични проучвания, неинвазивна и изключително бърза (17). Базирана е на метода тъканна флуоресценция. За обективно измерване на физическата активност (ФА) ще се използват акселерометри, които измерват общото количество, честотата и продължителността на ФА и заседналото поведение за продължителен период от време.

На всеки участник ще се провеждат три вида образни изследвания. Посредством двойно-енергийна абсорбциометрия (DXA) на цялото тяло се извършва оценка на количеството мазнини в тялото, както и на костната плътност. КТ изследване ще се използва за оценка на коронарен калциев скор. Чрез ЯМР ще се дава оценка на епикардна мастна тъкан. На всички участници ще се провеждат лабораторни изследвания на кръвна глюкоза, кръвна картина, пикочна киселина, креатинин, HbA1c, липиден профил, ALT, hsCRP, инсулин, както и маркери за метаболитен риск (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-6-R, sRAGE, osteoprotegerin, irisin, adiponectin, leptin, SHBG, ST2, ADMA, MCP-1, PAI-1, FFA). Оценка на риска от ССЗ ще се извършва чрез използване на валидирани

рискови модели като Стено 2 (Дания) (18). Изчислението му предсказва бъдещия индивидуален 5-10-годишен СС риск (<https://steno.shinyapps.io/T1RiskEngine>).

## ОБСЪЖДАНЕ И ОЧАКВАНИ ПОЛЗИ

Чрез извършването на комплексна оценка на рисковия профил на участниците ще се постигне приемственост между дейността на ендокринолози и на кардиолози за съвместно превантивно наблюдение на пациенти с Т1ЗД и за определяне на най-правилната профилактична или терапевтична стратегия при всеки отделен индивид, започваща още от детска възраст. Въвеждането на нови лабораторни методи за оценка на биомаркери за възпаление и на метаболитни нарушения ще доведе до разширяване кръгозора на клиницистите и на изследователите за потенциалните неблагоприятни връзки с наличие на ССЗ. Оценката на физическата активност и нейната корелация с други рискови фактори ще допринесе за по-значими действия за профилактика на ССЗ при лица с Т1ЗД, като оценката на храненето също може да предостави съществени данни в тази посока.

По време на целия проект ще се извършва оценяване на съотношението цена-полза от специалисти по обществено здравеопазване. Ще се извършва оценка на качеството на живот и на хранителните навици с валидирани инструменти от клиничен психолог и от специалист по хранене.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящото научно изследване обединява вече утвърдени модели на проследяване на риска с иновативни подходи, методики и изследвания с цел да постигне цялостно изграждане на индивидуалния рисков профил на пациента с Т1ЗД, с допълнителен фокус върху ролята на характерната за нашето съвремие висцерална мастна тъкан. Нуждата от подобни научни данни, натрупани за хронично заболяване с такъв инвалидизиращ капацитет, какъвто е Т1ЗД, е стратегия с приоритет и ико-

номическа значимост, особено в страните с влошена здравно-социална ангажираност като нашата.

*Проучването е подкрепено от Фонд „Научни изследвания“ към Министерство на образованието и науката на България (договор ДН 13/3 от 14.12.2017г.).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. IDF International Diabetes Federation, Diabetes Atlas 2017: [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org), ISBN: 978-2-930229-87-4
2. Conway B, Miller RG, Costacou T, et al. Adiposity and mortality in type 1 diabetes. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:796–805
3. Ferranti SD, Boer IH, Fonseca V, et al. Type 1 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association and American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2014;37:2843-2863
4. Moreno P, Murcia A, Palacios I, Leon M, Bernardi V, Fuster V, et al. Coronary composition and macrophage infiltration in atherectomy specimens from patients with diabetes mellitus. *Circulation* 2000; 102: 2180–2184
5. Miller R, Secrest A, Sharma R, Songer T, Orchard T. Improvements in the life expectancy of type 1 diabetes: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications study cohort. *Diabetes* 2012; 61: 2987–2992
6. Vistisen D, Andersen S, Stevns Hansen C, et al. Prediction of First Cardiovascular Disease Event in Type 1 Diabetes Mellitus The Steno Type 1 Risk Engine. *Circulation*. 2016;133:1058-1066. doi: 10.1161/circulationaha.115.018844
7. Yuan Y, Sun H, Sun Z. Advanced glycation end products (AGEs) increase renal lipid accumulation: a pathogenic factor of diabetic nephropathy (DN). 2017 Jun 28;16(1):126. doi: 10.1186/s12944-017-0522-6
8. Klenovics KS. Reference values of skin autofluorescence as an estimation of tissue accumulation of advanced glycation end products in a general Slovak population, *Diabetic Med*, 2014; 31:581–5
9. Lachin JM, Bebu I, Bergenstal RM, Pop-Busui R, Service FJ, Zinman B, Nathan DM;

- DCCT/EDIC Research Group Association of Glycemic Variability in Type 1 Diabetes With Progression of Microvascular Outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2017 Jun; 40(6): 777-783. doi: 10.2337/dc16-2426.
10. Purnell JQ, Dev RK, Steffes MW, Cleary PA, Palmer JP, Hirsch IB, Hokanson JE, Brunzell JD. Relationship of family history of type 2 diabetes, hypoglycemia, and autoantibodies to weight gain and lipids with intensive and conventional therapy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*. 2003;52:2623–2629.
  11. Konukoglu, D, Firtina, S, Serin O. (2008). The relationship between plasma asymmetrical dimethyl-l-arginine and inflammation and adhesion molecule levels in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Metabolism*, 57(1), 110–115. doi:10.1016/j.metabol.2007.08.013
  12. Krzyanowska W, Mittermayer F, Krugluger W, Schnack C, Hofer M, Wolzt M, et al. Asymmetric dimethylarginine is associated with macrovascular disease and total homocysteine in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 189: 236-40.
  13. Farrelly C, Shah S, Amir D, Aoife N. Keeling and James C. Carr. EXG-Gated Multiecho Dixon Fat-Water Separation in Cardiac MRI: Advantages Over Conventional Fat-Saturated Imaging. doi/full/10.2214/AJR.11.7759
  14. Mark R. Burge R. Philip Eaton. David S. Schade. The Role of a Coronary Artery Calcium Scan in Type 1 Diabetes. doi.org/10.1089/dia.2016.0110
  15. Patterson C, G. Dahlquist, V. Harjutsalo, G. Joner, R.G. Feltbower, J. Svensson, E. Schober, E. Gyürüs, C. Castell, B. Urbonaité, J. Rosenbauer, V. Iotova, A.V. Thorsson, G. Soltész. Early mortality in EURODIAB population-based cohorts of type 1 diabetes diagnosed in childhood since 1989. *Diabetologia* 2007, 50(12): 2439-42, Sep 28; doi 10.1007/s00125-007-0824-8
  16. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000 May 6. doi: 10.1136/bmj.320.7244.1240
  17. Stirban A, Heinemann L. Skin Autofluorescence – A Non-invasive Measurement for Assessing Cardiovascular Risk and Risk of Diabetes. 2014, Aug 28. doi: 10.17925/EE.2014.10.02.106
  18. Vistisen D, Andersen GS, Hansen SC, Adam H, Jan EH; Henning BN, Marit EJ. Prediction of First Cardiovascular Disease Event in Type 1 Diabetes Mellitus The Steno Type 1 Risk Engine. doi.org/10.1161/circulationaha.115.018844. *Circulation*. 2016;133:1058–1066

---

**Адрес за кореспонденция:**

Калоян Цочев  
Факултет по медицина  
Медицински университет - Варна  
ул. Марин Дринов 55  
9002 Варна  
e-mail: kalooyan@abv.bg

---