

**АВТОРСКА СПРАВКА (РЕЗЮМЕТА)  
НА ИЗБРАНИ ПУБЛИКАЦИИ**  
извън публикациите за придобиване на ОНС “доктор“

на Д-р Петя Каменова Петкова, дм

Главен Асистент, Катедра по Ендокринология, Медицински Факултет, Медицински Университет - София, Университетска специализирана болница за активно лечение по ендокринология „Акад. Иван Пенчев“

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност доцент в област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, по научна специалност „Вътрешни болести“ за нуждите на Медицински Факултет, Университет “Проф. д-р Асен Златаров” – Бургас обявен в Държавен Вестник бр. 90/20.10. 2020 г.

1. П. Каменова, Д. Коев, Г. Кирилов, Л. Даковска. Клинична приложимост на индексите на инсулинова чувствителност като заместители на хиперинсулинемичната еугликемична кламп техника. Ендокринология 2004; 9(2): 81-88.

P. Kamenova, D. Koev, G. Kirilov, L. Dakovska. Clinical application of indices of insulin sensitivity as surrogate measures of hyperinsulinaemic euglycaemic clamp-technique. Endokrinologia 2004; 9(2): 81-88.

#### Резюме

„Златният стандарт“ за количествено определяне на инсулиновата чувствителност е хиперинсулинемичната еугликемична кламп техника. Този метод е физиологичен, неинвазивен, възпроизводим и високо информативен, но изисква специални знания и умения и е трудно приложим в широкомащабни проучвания. Това поражда интерес към по-прости показатели на инсулинова чувствителност. Цел на проучването бе да се установи дали индексите хомеостазен модел на инсулинова резистентност (HOMAIR), инсулин резистентен индекс на гладно (FIRI) и глюкоза/инсулин (G/I) отношението са реални заместители на инсулиновата чувствителност определена с хиперинсулинемична еугликемична кламп техника. 63 (29 мъже, 34 жени), добре контролирани ( $HbA_{1c}$ - $6,38\pm 0,58\%$ ) пациенти с тип 2 захарен диабет, на възраст  $52,0\pm 8,7$  г., BMI- $31,53\pm 6,32$  kg/m<sup>2</sup>, инсулин на гладно- $14,93\pm 9,82$  mIU/l и 15 лица с нормален глюкозен толеранс, на възраст  $50,1\pm 15,4$  г., BMI-  $30,9\pm 6,0$  kg/m<sup>2</sup>, инсулин на гладно- $16,67\pm 10,66$  mIU/l бяха включени в крос-секционно проучване. Инсулиновата чувствителност бе определена с мануална хиперинсулинемична еугликемична кламп техника и изразена като количество метаболизирана глюкоза (M). Инсулиновата чувствителност на пациентите с тип 2 захарен диабет бе сигнификантно по-ниска-M-  $3,934 \pm 2,744$  mg/kg/min от тази на

лицата с нормален глюкозен толеранс- $M- 6,296 \pm 3,176$  mg/kg/min,  $p < 0,01$ . Медианата на HOMA бе 3,4 на лицата с нормален глюкозен толеранс, а на диабетиците -4,13. Нямаше значима разлика между HOMA и FIRI на лицата с нормален глюкозен толеранс и пациентите със захарен диабет-  $3,48 \pm 2,33$  спрямо  $5,18 \pm 3,55$  и  $3,13 \pm 2,10$  спрямо  $4,66 \pm 3,20$ , последователно. G/I отношението бе сигнификантно по-ниско при лицата с нормален глюкозен толеранс, сравнено с това на диабетиците- $0,44 \pm 0,31$  спрямо  $0,71 \pm 0,43$ ,  $p < 0,05$ . Установихме негативна корелационна зависимост на M с HOMA и FIRI- $r = -0,503$ ,  $p < 0,001$ , независимо от пол, възраст, систолично артериално налягане, диастолично артериално налягане, триглицериди, общ холестерол, HDL холестерол и LDL холестерол и позитивна корелационна зависимост с G/I-  $r = 0,397$ ,  $p < 0,02$  при пациентите с тип 2 захарен диабет. HOMA индексът не корелираше сигнификантно с M при хиперинсулинемия (инсулин на гладно  $\geq 15$  mIU/l), затлъстяване ( $BMI \geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) и централно разпределение на мастната тъкан, изразено чрез обиколка на талията  $\geq 88$  cm и отношение талия/ханш  $\geq 0,85$  при жените и обиколка на талията  $\geq 102$  cm и отношение талия/ханш  $\geq 0,95$  при мъжете. Нашите резултати показват, че индексите HOMA IR, FIRI и G/I отношението не са реални заместители на инсулиновата чувствителност при сравнение между лица с нормален глюкозен толеранс и пациенти с тип 2 захарен диабет. Асоциацията между количеството метаболизирана глюкоза от кламп теста и широко използвания индекс HOMA е зависима от инсулина на гладно, индекса на телесна маса, обиколката на талията и отношението талия/ханш. HOMA не отразява реално инсулиновата чувствителност при хиперинсулинемия и централно затлъстяване.

## Abstract

The “gold standard” for quantitative assessment of insulin sensitivity is the hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique. This method is physiological, noninvasive, reproducible and highly informative, but it requires special knowledge and skills and it is difficult to use in large scale trials. This arises the interest to simpler estimates of insulin sensitivity. The aim of the study was to elucidate whether the indices Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA IR), Fasting Insulin Resistance Index (FIRI) and Glucose/Insulin (G/I) ratio are reliable surrogate measures of insulin sensitivity determined by a hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique. 63 (29 males, 34 females), well controlled ( $HbA_{1c} - 6,38 \pm 0,58\%$ ) type 2 diabetic patients, aged  $52,0 \pm 8,7$  yrs,  $BMI - 31,53 \pm 6,32$  kg/m<sup>2</sup>, fasting insulin -  $14,93 \pm 9,82$  mIU/l and 15 normal glucose tolerant persons, aged  $50,1 \pm 15,4$  yrs,  $BMI - 30,9 \pm 6,0$  kg/m<sup>2</sup>, fasting insulin -  $16,67 \pm 10,66$  mIU/l were enrolled in a cross-sectional study. Insulin sensitivity was assessed by a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as a glucose disposal rate (M). Insulin sensitivity of type 2 diabetic patients was significantly lower - $M - 3,934 \pm 2,744$  mg/kg/min than that of persons with normal glucose tolerance- $M - 6,296 \pm 3,176$  mg/kg/min,  $p < 0,01$ . The median level of HOMA was 3,4 in subjects with normal glucose

tolerance and 4,13 in diabetic patients. There was no a meaningful difference between HOMA and FIRI in normal glucose tolerant subjects and diabetic patients-  $3,48 \pm 2,33$  v/s  $5,18 \pm 3,55$  and  $3,13 \pm 2,10$  v/s  $4,66 \pm 3,20$ , consecutively. G/I ratio was significantly lower in normal glucose tolerant subjects compared to that of diabetic patient- $0,44 \pm 0,31$  vs  $0,71 \pm 0,43$ ,  $p < 0,05$ . We found a negative correlation of M with HOMA and FIRI- $r = -0,503$ ,  $p < 0,001$ , independently of sex, age, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, triglycerides, total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol and positive correlation with G/I-  $r = 0,397$ ,  $p < 0,02$  in type 2 diabetic patients. HOMA did not correlate significantly with M in hyperinsulinaemia (fasting insulin  $\geq 15$  mIU/l), obesity (BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) and central fat distribution expressed by waist circumference  $\geq 88$  cm and waist-to-hip ratio  $\geq 0,85$  in women and waist circumference  $\geq 102$  cm and waist-to-hip ratio  $\geq 0,95$  in men.

Our results indicate that HOMA, FIRI and G/I ratio are not reliable surrogate measures of insulin sensitivity when comparing persons with normal glucose tolerance and type 2 diabetic patients. Association between glucose metabolized from clamp and the widely used index HOMA is dependent on fasting insulin, body mass index, waist circumference and waist-to-hip ratio. HOMA does not reflect insulin sensitivity in hyperinsulinaemia and central obesity.

2. П. Каменова. Показатели на инсулинова чувствителност при пациенти с тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2005; 10(3): 154-162.

P. Kamenova. Determinants of insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus. Endokrinologia 2005; 10(3): 154-162.

#### Резюме:

Значимостта на инсулиновата резистентност като рисков фактор за тип 2 захарен диабет и сърдечно-съдова болест изтъква необходимостта от количествено определяне на инсулиновата чувствителност. Хиперинсулинемичната еугликемична кламп техника представлява златният стандарт за измерване на инсулиновата чувствителност, но нейното приложение е ограничено от комплексността на методологията и високата степен на технически умения, които се изискват за получаване на възпроизводими резултати. Цел на настоящото проучване беше да се установят показатели на инсулинова чувствителност при пациенти с тип 2 захарен диабет, които са лесно приложими в клиничната практика. 63 пациента-29 мъже на средна възраст-  $51,3 \pm 8,5$  год., HbA<sub>1c</sub>- $6,27 \pm 0,55\%$ , BMI -  $28,86 \pm 4,94$  kg/m<sup>2</sup>, обиколка на талия (ОТ)- $101,5 \pm 13,6$  cm, систолично артериално налягане - (САН)  $141 \pm 28$  mmHg, диастолично артериално налягане (ДАН) -  $92 \pm 16$  mmHg и 34 жени на средна възраст -  $52,6 \pm 9,0$  год., HbA<sub>1c</sub>- $6,43 \pm 0,60\%$ , BMI-  $33,81 \pm 6,53$  kg/m<sup>2</sup>, ОТ - $102,1 \pm 15,8$  cm, САН- $153 \pm 25$  mmHg, ДАН  $99 \pm 15$  mmHg бяха включени в проучването. Stepwise множествен линеарен регресионен анализ беше извършен за изтъкване на детерминанти на инсулинова чувствителност (ИЧ) сред показатели, които

сигнификантно корелираха с ИЧ измерена с хиперинсулинемична еугликемична кламп техника, изразена като количество метаболизирана глюкоза (M). Бяха определени и хомеостазният модел на инсулинова резистентност (НОМА IR) и инсулин резистентният индекс на гладно (FIRI). ИЧ на мъжете диабетици –  $M-4,761\pm 3,428$  mg/kg/min беше сигнификантно по-висока, сравнена с тази на жените диабетици-  $M-3,228\pm 1,749$  mg/kg/min ( $p<0,05$ ). При мъжкия пол ИЧ, измерена с кламп техника сигнификантно негативно корелираше с ОТ, BMI, отношение талия/ханш (Т/Х), инсулин на гладно, кръвна захар на гладно, САН, ДАН, НОМА и FIRI. При женския пол ИЧ сигнификантно негативно корелираше с ОТ, BMI, Т/Х, САН, ДАН, триглицериди, отношение триглицериди/HDL холестерол, пикочна киселина, инсулин на гладно, НОМА и FIRI. При мъжете диабетици независими показатели на ИЧ бяха обиколката на талията и диастоличното артериално налягане, определящи 60,4 % от вариацията ѝ. Чрез тези рутинни и достъпни показатели беше определено средно M ниво –  $4,761$  mg/kg/min със стандартно отклонение –  $2,758$  чрез алгоритъм:  $28,349 - [0,168 \times \text{обиколка талия (cm)}] - [0,07136 \times \text{диастолично артериално налягане (mm Hg)}]$ . При жените диабетици, обиколката на талията беше независим предиктор на ИЧ, определяща 50,5 % от вариацията ѝ. Чрез обиколката на талията беше определено средно M ниво- $3,281$  mg/kg/min със стандартно отклонение- $1,301$  чрез алгоритъм:  $11,695 - [0,08242 \times \text{обиколка талия (cm)}]$ . Най-високият процент от вариацията на инсулиновата чувствителност беше определена от триглицеридите, индексът на телесна маса и инсулин резистентният индекс на гладно. Тези фактори определиха средно M ниво -  $3,263$ mg/kg/min със стандартно отклонение –  $1,447$  чрез алгоритъм:

$9,583 - [0,529 \times \text{триглицериди (mmol/l)}] - [0,132 \times \text{BMI(kg/m}^2\text{)}] - 0,146 \times \text{FIRI}$

В заключение, нашите резултати определиха показатели на инсулинова чувствителност, които са лесно приложими и биха били от полза в рутинната клинична практика, давайки възможност на лекарите да идентифицират и своевременно лекуват пациентите с инсулинова резистентност за превенция на сърдечно-съдовия риск.

## Abstract

The importance of insulin resistance as a risk factor for type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease has pointed out the necessity of quantification of insulin sensitivity. The hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique represents the gold standard for measurement of the insulin sensitivity however its application is limited by the complexity of the methodology and the high degree of technical expertise required to provide reproducible results. The aim of the present study was to establish easily applicable in clinical practice determinants of insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. 63 patients-29 men of mean age на средна възраст-  $51,3\pm 8,5$  yrs HbA<sub>1c</sub>- $6,27\pm 0,55\%$ , BMI - $28,86 \pm 4,94$  kg/m<sup>2</sup>, waist circumference (WC)-  $101,5\pm 13,6$  cm, systolic blood pressure

(SBP)-141±28 mmHg, diastolic blood pressure (DBP)- 92±16 mmHg and 34 women of mean age- 52,6±9,0 yrs, HbA<sub>1c</sub>-6,43±0,60%, BMI- 33.81±6.53 kg/m<sup>2</sup>, WC-102,1±15,8 cm, SBP- 153±25 mmHg, DBP- 99±15 mmHg were included in the study. Stepwise multiple linear regression analysis was done to elucidate determinants of insulin sensitivity (IS) among variables significantly correlated with IS measured with a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique, expressed as an amount of glucose metabolized (M). Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA IR) and fasting insulin resistance index (FIRI) were defined as well. IS of the diabetic men- M-4,761±3,428 mg/kg/min was significantly higher compared to that of the diabetic women- M-3,228±1,749 mg/kg/min (p<0,05). In male sex IS measured with the clamp technique was significantly negatively correlated with WC, BMI, waist-hip ratio (WHR), fasting insulin, fasting blood glucose, SBP, DBP, HOMA and FIRI. In female sex IS was significantly negatively correlated with WC, BMI, WHR, SBP, DBP, triglycerides, triglycerides/HDL cholesterol ratio, uric acid, fasting insulin, HOMA and FIRI. In diabetic men independent determinants of IS were waist circumference and diastolic blood pressure explaining 60,4 % of its variance. By these routine and accessible variables mean M value- 4,761 mg/kg/min with standard deviation- 2,758 was determined via the algorithm: 28,349 – [0,168 x waist circumference (cm)] -[0,07136 x diastolic blood pressure (mm Hg)]. In diabetic women waist circumference was an independent predictor of IS explaining 50,5 % of its variance. By waist circumference mean M value -3,281 mg/kg/min with standard deviation-1,301 was determined via the algorithm: 11,695 – [0,08242 x waist circumference (cm)]. The highest percent of variance of IS was defined by triglycerides, body mass index and fasting insulin resistance index. These factors determined mean M value-3,263mg/kg/min with standard deviation 1,447 via algorithm:

$$9,583 - [0,529 \times \text{triglycerides (mmol/l)}] - [0,132 \times \text{BMI(kg/m}^2\text{)}] - 0,146 \times \text{FIRI}$$

In conclusion, our results indicated determinants of insulin sensitivity which are easily applicable and could be useful in routine clinical practice allowing physicians to identify and treat patients with insulin resistance earlier for prevention of cardiovascular risk.

3. P. Kamenova. Waist circumference-predictor of insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology, Rio De Janeiro, Brazil, November 8-12, 2008. Editors Amelio Godoy-Matos, John Wass, Medimond International Proceedings, Medimond SR1, Bologna, Italy, ISBN-13: 978-8875874728 (Jan, 2010), pp. 309-312.

## Summary

Objective of the study was to elucidate easily applicable in routine clinical practice predictors of insulin sensitivity (IS), determining the highest percent of its variation in type 2 diabetic patients (T2D pts). Sixty three T2D pts of mean age:

52.0±8.7 yrs participated in the study. The quantification of IS was done by a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as a glucose disposal rate (M). Stepwise multiple regression analysis elucidated waist circumference (WC) as an independent predictor of IS in diabetic women. In diabetic men predictors of IS were WC and diastolic blood pressure (DBP). This study elucidated determinants of IS which are easily applicable allowing physicians to identify and treat patients with insulin resistance earlier for reduction of cardiovascular risk.

4. **Petya Kamenova.** Surrogate measures of insulin sensitivity useful in clinical practice. Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2017 February; 5(2): 086-092. **IF 1.257**

#### **Abstract**

Insulin resistance or reduced insulin sensitivity is a key pathogenetic defect of type 2 diabetes mellitus and well established cardiovascular risk factor. The determination of insulin sensitivity and identification of insulin resistant individuals could improve their cardiovascular prognosis by effective treatment. The aim of the study was to elucidate easily applicable in routine clinical practice surrogate measures of insulin sensitivity, determining the highest percent of its variation in type 2 diabetic patients (T2D pts). Sixty three T2D pts of mean age 52.0±8.7 yrs, in good glycaemic control (glycated hemoglobin 6.38±0.58%) on a diet and oral antidiabetic drugs, participated in a cross-sectional study. The quantification of insulin sensitivity was done by the "gold standard"- a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as a glucose disposal rate (M, mg/kg/min). Stepwise multiple linear regression analysis elucidated waist circumference (WC) as an independent predictor of insulin sensitivity in diabetic women explaining 50.5% of its variation. In diabetic men predictors of insulin sensitivity were WC and diastolic blood pressure explaining 60.4% of its variation. This study determined surrogate measures of insulin sensitivity which are easily applicable in routine clinical practice, allowing physicians to identify and treat patients with insulin resistance effectively for a reduction of cardiovascular risk.

5. **Petya Kamenova.** Improvement of insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus after oral administration of alpha-lipoic acid. Hormones, 2006, 5(4): 251-258. **IF 2.097**

#### **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Amelioration of insulin resistance could improve both glycaemic control and cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. Alpha-lipoic acid has been shown to improve insulin action after parenteral administration. **OBJECTIVE:** The aim of the study was to assess the effect of

oral administration of alpha-lipoic acid on insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. DESIGN: Twelve patients (mean±sD; age 52.9±9.9 yrs; body mass index 33.9±7.4kg/m<sup>2</sup>) were treated with oral alpha-lipoic acid, 600mg twice daily over a period of 4 weeks. Twelve subjects with normal glucose tolerance served as a control group in terms of insulin sensitivity (IS). IS was measured by a 2h manual hyperinsulinaemic (insulin infusion rate-40mU/m<sup>2</sup> body surface area/min) euglycaemic (blood glucose kept at 5mmol/l) clamp technique and expressed as a glucose disposal rate (M) and insulin sensitivity index (ISI). RESULTS: At the end of the treatment period, IS of diabetic patients was significantly increased: M from 3.202±1.898 to 5.951±2.705mg/kg/min (mean±SD), p<0.01; and ISI from 4.706±2.666 to 7.673±3.559mg/kg/min per mIU/lx100 (mean±SD), p<0.05. The difference was not statistically significant between the IS of diabetic patients after alpha-lipoic acid therapy and control subjects. CONCLUSION: Short-term oral alpha-lipoic acid treatment increases peripheral insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus.

6. П. Каменова. Фактор анализ на компонентите на метаболитния синдром при тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2005; 10(4): 218-227.

P. Kamenova. Factor analysis of the components of metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus. Endokrinologia 2005; 10(4): 218-227.

## РЕЗЮМЕ

Метаболитният синдром се разглежда като общ предшественик на тип 2 захарен диабет и сърдечно-съдовата болест, която е водеща причина за смъртност при диабетичите. Целта на проучването беше да се изследва причинният фактор, обединяващ сърдечно-съдовата съвкупност на метаболитния синдром при пациенти с тип 2 захарен диабет. 63 пациента (29 мъже, 34 жени) със следната характеристика-средна възраст-52.0±8.7 год., HbA<sub>1c</sub>-6.38±0.58%, индекс на телесна маса (BMI)-31.53±6.32 kg/m<sup>2</sup>, систолично артериално налягане (САН)-148±27 mmHg, диастолично артериално налягане (ДАН)-96±16 mmHg, инсулин на гладно-14.93±9.82 mIU/l, триглицериди (ТГ)-2.11±1.31 mmol/l, HDL-холестерол (HDL-C)-1.11±0.44 участваха в проучването. Периферната инсулинова чувствителност беше определена с мануална хиперинсулинемична еугликемична кламп техника и изразена като инсулин медирано количество метаболизирана глюкоза (M). Фактор анализ беше извършен в тристъпен процес-принципен компонентен анализ, Varimax ротация и интерпретация на факторите. Компонентите, определящи поне 15 % от тоталната вариация с фактора, съответстваща на фактор loadings (Pearson's корелационни коефициенти) ≥0.40 бяха използвани за интерпретация. Ниво на p <0.05 (Student's t test) бе прието за сигнификантно.

Четири фактора бяха излъчени при всички пациенти, обясняващи 69.8% от вариацията на данните. Фактор 1 се характеризираше със сигнификантно позитивно натоварване за обиколката на талията, BMI, инсулинът на

гладно, отношението талия/ханш и пикочната киселина и негативно натоварване за инсулиновата чувствителност. Той обясняваше най-високият процент от вариацията на данните-23%. Фактор 1 би могъл да бъде дефиниран като инсулинова чувствителност/телесно тегло/разпределение на мастна тъкан/пикочна киселина фактор. Фактор 2 сигнификантно позитивно корелираше с BMI, САН, ДАН, ТГ и негативно с инсулиновата чувствителност и беше определен като инсулинова чувствителност/телесно тегло/ артериално налягане/триглицериди фактор. Фактор 3 се характеризираше със сигнификантно позитивно натоварване за ТГ/HDL-C индекс, ТГ и 24ч. албуминова екскреция и негативно натоварване за HDL-C. Той бе интерпретиран като липиди/албуминурия фактор. Фактор 4 сигнификантно позитивно корелираше с ТГ и кръвната захар на гладно (триглицериди/кръвна захар) фактор.Имайки пред вид корелационната зависимост на компонентите с факторите и патофизиологичните механизми, които те разкриват, тези фактори биха могли да бъдат интерпретирани както следва: Фактор 1- инсулинова резистентност/централно затлъстяване/хиперурикемия Фактор 2: инсулинова резистентност/централно затлъстяване/артериална хипертония/хипертриглицеридемия; Фактор 3: дислипидемия/албуминурия и Фактор 4:хипертриглицеридемия/хипергликемия. При диабетичите жени, инсулиновата резистентност, изразена чрез количеството метаболизирана глюкоза и хиперинсулинемия корелираше с три фактора. Най-значимият фактор при мъжете диабетичи беше дефиниран като инсулинова резистентност/централно затлъстяване фактор.

В заключение, фактор анализът разкри повече от един патофизиологичен процес в основата на метаболитния синдром при пациенти с тип 2 захарен диабет. Инсулиновата резистентност би могла да се разглежда като причинният фактор, обединяващ сърдечно-съдовата съвкупност при жените диабетичи.

## Abstract

Metabolic syndrome has been thought as a common antecedent of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease, which is a leading cause of mortality of diabetic patients. The aim of the study was to investigate the causal factor, unifying cardiovascular cluster of the metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. 63 patients (29 men, 34 women) with the following characteristics- mean age-52.0±8.7 yrs., HbA<sub>1c</sub>-6.38±0.58%, body mass index (BMI)-31.53±6.32 kg/m<sup>2</sup>, systolic blood pressure (SBP)-148±27 mmHg, diastolic blood pressure (DBP)-96±16 mmHg, fasting insulin (FI)-14.93±9.82 mIU/l, triglycerides (TG)-2.11±1.31 mmol/l, HDL- cholesterol (HDL-C)-1.11±0.44 mmol/l participated in the study. Peripheral insulin sensitivity (IS) was determined by a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as an insulin mediated amount of glucose metabolized (M). Factor analysis was performed in a three step process: principal component analysis, Varimax rotation and interpretation of factors. Components sharing at least 15 % of total



variance with the factor, corresponding to factor loadings (Pearson's correlation coefficients)  $\geq 0.40$  were used for interpretation. A p value  $< 0.05$  (Student's t test) was considered significant.

Four factors were retained in the patients, explaining 69.8% of the variance in the data. Factor 1 was characterized by significant positive loading for waist circumference, BMI, FI, waist-to-hip ratio and uric acid and a negative loading for IS. It explained the highest percent of the variance in the data-23%. Factor 1 could be defined as insulin sensitivity/body weight/fat distribution/uric acid factor. Factor 2 significantly positively correlated with BMI, SBP, DBP, TG and negatively correlated with IS and it was defined as insulin sensitivity/body weight/blood pressure/triglycerides factor. Factor 3 was characterized by significant positive loading for TG/HDL-C index, TG and 24-h albumin excretion and a negative loading for HDL-C. It was interpreted as lipids/albuminuria factor. Factor 4 significantly positively correlated with TG and fasting blood glucose (triglycerides/blood glucose) factor. Having in mind the correlation of components with factors and pathophysiological mechanisms they have revealed these factors could be interpreted as follows: Factor 1- insulin resistance/central obesity/hyperuricaemia; Factor-2- insulin resistance/obesity/arterial hypertension/hypertriglyceridaemia; Factor 3-dyslipidaemia/albuminuria and Factor 4- hypertriglyceridaemia/hyperglycaemia. In diabetic women, insulin resistance, reflected by glucose disposal rate and hyperinsulinaemia significantly correlated with three factors. The most pronounced factor in diabetic men was defined as insulin resistance/central obesity factor.

In conclusion, factor analysis revealed more than one pathophysiological process underlying the metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. Insulin resistance could be considered as a causal factor, unifying cardiovascular cluster in diabetic women.

7. П. Каменова, Д. Коев, Л. Даковска, Г. Кирилов. Характеристика на метаболитния синдром при пациенти с тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2004; 9(3): 163-170.

P. Kamenova, D. Koev, L. Dakovska, G. Kirilov. Characteristics of the metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. Endokrinologia 2004; 9(3): 163-170.

#### Резюме:

Цел на проучването бе да се определят характерните черти на метаболитния синдром при представителна група на пациенти с тип 2 захарен диабет. 63 пациента (29 мъже, 34 жени) на средна възраст- $52,0 \pm 8,7$  г., продължителност на захарния диабет- $4,8 \pm 3,9$  г., BMI-  $31,5 \pm 5,3$  kg/m<sup>2</sup>, с добър гликемичен контрол при лечение с перорални средства и/или диета бяха включени в проучване с крос-секционен дизайн. 15 лица с нормален глюкозен толеранс, съпоставими по възраст- $50,1 \pm 15,4$  г., BMI-  $30,9 \pm 6,0$  kg/m<sup>2</sup> участваха като контроли по отношение на инсулиновата чувствителност. Тя бе определена с мануална хиперинсулинемична

еугликемична кламп техника и изразена като количество метаболизирана глюкоза (M). Метаболитният синдром беше дефиниран по наличието на >2 от следните компонента: артериална хипертония (>140/90 mmHg) и/или употреба на антихипертензивни средства, BMI>30 kg/m<sup>2</sup> и/или отношение талия/ханш > 0,9 при мъжете и >0,85 при жените, дислипидемия-триглицериди>1,7 mmol/l и/или HDL холестерол<0,9 mmol/l при мъжете и < 1,0 mmol/l при жените и наличие на микроалбуминурия (СЗО критерии, 1999). Според тези критерии 77,8% от пациентите имаха метаболитен синдром, с по-голяма честота при жените диабетици (88,2%) спрямо мъжете (65,5 %). Най-висок бе процентът на пациентите с 2 компонента (40,8%), следван от тези с три (32,7%) и четири компонента (26,5%) на метаболитния синдром. Дислипидемията бе най-честият сърдечно-съдов рисков фактор (83,7% от пациентите с метаболитен синдром). Тя бе на първо място при диабетичите мъже-89,5% и на второ при диабетичите жени-80% със затлъстяването. Артериалната хипертония бе на първо място при диабетичите жени-83,3 % и на второ със затлъстяването при диабетичите мъже-68,4%. На четвърто място бе микроалбуминурията. Пациентите с метаболитен синдром се характеризираха със сигнификантно по-високи систолично артериално налягане-156±24 спрямо 118±13 mmHg; диастолично артериално налягане-101±14 спрямо 79±5 mmHg; BMI-33,24±5,98 спрямо 25,57±3,01 kg/m<sup>2</sup>; обиколка на талията-105,1±14 спрямо 90,5±9,1 cm (p< 0,001); инсулин на гладно-16,70±10,22 спрямо 8,73±4,51 mIU/l; триглицериди- 2,36±1,35 спрямо 1,25±0,63 mmol/l (p < 0,01) в сравнение с пациентите без метаболитен синдром. Инсулиновата чувствителност бе сигнификантно по-ниска на пациентите с метаболитен синдром-M-3,088±1,839, сравнена с тази на пациентите без метаболитен синдром-M-6,892±3,362 и контролната група-M-6,296±3,176 mg/kg/min, p< 0,001.

В заключение, характерните черти на метаболитния синдром при пациентите с тип 2 захарен диабет бяха инсулинова резистентност, артериална хипертония, цялостно и висцерално затлъстяване и хипертриглицеридемия. Активно лечение на всички рискови фактори се изисква за подобряване сърдечно-съдовата прогноза на тези пациенти.

Abstract:

The aim of the study was to determine the characteristic features of the metabolic syndrome in representative sample of type 2 diabetic patients. 63 patients (29 males, 34 females) of mean age-52,0±8,7 years, diabetes duration - 4,8±3,9 years., BMI- 31,5±5,3 kg/m<sup>2</sup>, well controlled on oral drugs and/or diet were enrolled in a cross-sectional study. 15 subjects with normal glucose tolerance matched for age-50,1±15,4 years., BMI- 30,9±6,0 kg/m<sup>2</sup> served as a control group in terms of insulin sensitivity. It was determined with manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as rate of glucose metabolized (M). The metabolic syndrome was defined by the presence

of  $\geq 2$  of the following components: hypertension ( $\geq 140/90$  mmHg) and/or use of antihypertensive drugs,  $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$  and/or waist-to-hip ratio  $> 0,9$  in men and  $> 0,85$  in women, dyslipidaemia-triglycerides  $\geq 1,7$  mmol/l and/or HDL cholesterol  $< 0,9$  mmol/l in men and  $< 1,0$  mmol/l in women and the presence of microalbuminuria (WHO criteria, 1999). According to these criteria 77,8% of the patients had a metabolic syndrome, with greater prevalence in diabetic women (88,2%) versus men (65,5 %). The highest percent of the patients had two components (40,8%), followed by these with three (32,7%) and four components (26,5%) of the metabolic syndrome. Dyslipidaemia was the commonest cardiovascular risk factor (83,7% of the patients with metabolic syndrome). It was on the first position in diabetic men -89,5% and on the second position in diabetic women - 80% with obesity. Arterial hypertension was on the first position in diabetic women-83.3% and on the second position in diabetic men with obesity-68,4%. On the fourth position was microalbuminuria. Patients with metabolic syndrome were characterized by significantly higher systolic blood pressure-  $156 \pm 24$  v/s  $118 \pm 13$  mmHg; diastolic blood pressure -  $101 \pm 14$  v/s  $79 \pm 5$  mmHg; BMI-  $33,24 \pm 5,98$  v/s  $25,57 \pm 3,01$   $\text{kg/m}^2$ ; waist circumference -  $105,1 \pm 14$  v/s  $90,5 \pm 9,1$  cm ( $p < 0,001$ ); fasting insulin -  $16,70 \pm 10,22$  v/s  $8,73 \pm 4,51$  mIU/l; triglycerides-  $2,36 \pm 1,35$  v/s  $1,25 \pm 0,63$  mmol/l ( $p < 0,01$ ) in comparison with the patients with no metabolic syndrome. Insulin sensitivity was significantly lower in patients with metabolic syndrome -  $M-3,088 \pm 1,839$ , compared to patients without metabolic syndrome -  $M-6,892 \pm 3,362$  and control group -  $M-6,296 \pm 3,176$  mg/kg/min,  $p < 0,001$ .

In conclusion, characteristic features of metabolic syndrome in the patients with type 2 diabetes were insulin resistance, arterial hypertension, overall and visceral obesity and hypertriglyceridaemia. Active treatment of all risk factors is required to improve cardiovascular prognosis of these patients.

8. П. Каменова. Клинична приложимост на дефиницията за метаболитен синдром на Международната Диабетна Федерация при пациенти с тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2006; 11(3): 161-169.

P. Kamenova. Clinical applicability of the definition for metabolic syndrome of the International Diabetes Federation in type 2 diabetic patients. Endokrinologia 2006; 11(3): 161-169.

## Резюме

Имайки пред вид неотложната необходимост от прости и универсално приложими в клиничната практика диагностични критерии за метаболитен синдром, Международната Диабетна Федерация (МДФ) предложи нова дефиниция, която изтъква централното затлъстяване като необходимо изискване и за първи път предостави различни разграничителни нива за затлъстяване при различните етнически групи.

Целта на настоящото крос-секционно проучване бе да се характеризира метаболитния синдром според дефиницията на МДФ при представителна

група пациенти с тип 2 захарен диабет. 63 пациента (34 жени, 29 мъже) със следните показатели-възраст  $52.0 \pm 8.7$  г., BMI  $31.5 \pm 6.3$  kg/m<sup>2</sup>, отношение талия/ханш  $0.90 \pm 0.08$ , обиколка талия  $101.8 \pm 14.7$  cm, систолично артериално налягане  $148 \pm 27$  mmHg, диастолично артериално налягане  $96 \pm 16$  mmHg, триглицериди  $2.11 \pm 1.31$  mmol/l, HDL холестерол  $1.11 \pm 0.44$  mmol/l (средни  $\pm$ SD) участваха в проучването. Метаболитният синдром бе дефиниран със задължителния компонент обиколка талия  $\geq 80$  cm за жените и  $\geq 94$  cm за мъжете и наличието на още два от следните: повишени триглицериди  $\geq 1.7$  mmol/l, понижен HDL холестерол  $< 1.29$  за жените и  $< 1.03$  mmol/l за мъжете, повишено артериално налягане  $\geq 130/85$  mmHg и предишно диагностициран тип 2 диабет. Инсулиновата чувствителност бе определена със златния стандарт-мануална хиперинсулинемична еугликемична кламп техника, изразена като количество метаболизирана глюкоза (M) и хомеостазния модел (НОМА-IR).

Метаболитен синдром бе диагностициран при 51 пациента (80.9%)-30 жени (88.2%) и 21 мъже (72.4%). 19 пациента (37.2%) бяха с 4 компонента на метаболитния синдром, 18 (35.3%)-с 3 и 14 (27.5%) с 5 компонента на метаболитния синдром. Най-висок процент от пациентите (72.5%) се характеризираха с повишено артериално налягане, следвани от тези с повишени триглицериди (58.8%) и понижен HDL холестерол (56.9%). Комбинирана дислипидемия (високи триглицериди и нисък HDL холестерол) бе установена при 31.4% от пациентите. Най-честият компонент на метаболитния синдром при женския пол бе повишеното артериално налягане (80%), а при мъжкия пол-пониженият HDL холестерол (76.2%). Инсулиновата чувствителност на пациентите с метаболитен синдром (M)  $3.238 \pm 1.673$  mg/kg/min бе сигнификантно по-ниска от тази на пациентите без метаболитен синдром-M  $6.893 \pm 3.846$  mg/kg/min,  $p < 0.001$ . НОМА-IR на пациентите с метаболитен синдром  $5.89 \pm 3.60$  бе сигнификантно по-висок от този на пациентите без метаболитен синдром  $2.36 \pm 1.55$ ,  $p < 0.01$ .

В заключение, представените данни за честотата на метаболитния синдром при тази представителна група пациенти с тип 2 захарен диабет, според критериите на МДФ, са подобни на предишно публикувани при същата група пациенти, прилагайки критериите на СЗО. Има известна разлика в характеристиката на компонентите между двете дефиниции. Компонентите на дефиницията на МДФ са лесно измерими и достъпни, което я прави полезно диагностично средство за метаболитен синдром при пациентите с тип 2 захарен диабет.

## Abstract

Bearing in mind the urgent need for single and universally accepted in clinical practice diagnostic criteria for metabolic syndrome, International Diabetes Federation (IDF) proposed a new definition that makes central obesity a necessary requirement and, for the first time, provided different obesity cut-off points for different ethnic groups.

The aim of the present cross-sectional study was to characterize metabolic syndrome according to the definition of IDF in representative sample of type 2 diabetic patients. 63 patients (34 females, 29 males) with the following parameters-age  $52.0 \pm 8.7$  yrs, BMI  $31.5 \pm 6.3$  kg/m<sup>2</sup>, waist-to-hip ratio  $0.90 \pm 0.08$ , waist circumference  $101.8 \pm 14.7$  cm, systolic blood pressure  $148 \pm 27$  mmHg, diastolic blood pressure  $96 \pm 16$  mmHg, triglycerides  $2.11 \pm 1.31$  mmol/l, HDL cholesterol  $1.11 \pm 0.44$  mmol/l (mean $\pm$ SD) took part in the study. The metabolic syndrome was defined by the required component waist circumference  $\geq 80$  cm for females and  $\geq 94$  cm for males and the presence of two more of the following: raised triglycerides  $\geq 1.7$  mmol/l, reduced HDL cholesterol  $< 1.29$  for females and  $< 1.03$  mmol/l for males, raised blood pressure  $\geq 130/85$  mmHg and previously diagnosed type 2 diabetes. The insulin sensitivity was determined by the gold standard-a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique, expressed as a glucose disposal rate (M) and homeostasis model assessment (HOMA-IR).

Metabolic syndrome was diagnosed in 51 patients (80.9%)-30 females (88.2%) and 21 males (72.4%). 19 patients (37.2%) were with 4 components of the metabolic syndrome, 18 (35.3%)-with 3 and 14 (27.5%) with 5 components of the metabolic syndrome. The highest percent of the patients (72.5%) were characterized by raised blood pressure, followed by those with raised triglycerides (58.8%) and reduced HDL cholesterol (56.9%). Combined dyslipidaemia (high triglycerides and low HDL cholesterol) was established in 31.4% of the patients. The commonest component of the metabolic syndrome in female sex was raised blood pressure (80%), and in male sex-reduced HDL cholesterol (76.2%). Insulin sensitivity of the patients with metabolic syndrome (M)  $3.238 \pm 1.673$  mg/kg/min was significantly lower from that of the patients with no metabolic syndrome-M  $6.893 \pm 3.846$  mg/kg/min,  $p < 0.001$ . HOMA-IR of the patients with metabolic syndrome  $5.89 \pm 3.60$  was significantly higher from that of the patients with no metabolic syndrome  $2.36 \pm 1.55$ ,  $p < 0.01$ .

In conclusion, presented data about the incidence of the metabolic syndrome in this representative sample type 2 diabetic patients, according to the criteria of IDF, are similar to previously published in the same sample, applying criteria of WHO. There is some difference in components characteristics between two definitions. The components of the definition of IDF are easily measurable and accessible that makes it an useful diagnostic tool for metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus.

9. Петя Каменова. Честота и характеристика на кардио-метаболитните рискови фактори при пациенти с тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2008; 13(3): 143-154.

Petya Kamenova. Prevalence and characteristics of cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. Endokrinologia 2008; 13(3): 143-154.

**Резюме**

Метаболитният синдром е независим предиктор на сърдечно-съдовата болест (ССБ) при пациентите с тип 2 захарен диабет. Тип 2 захарен диабет е водеща причина за смърт от ССБ. Следователно оценката на кардио-метаболитните рискови фактори е първата и решителна крачка към целта за намаление на сърдечно-съдовия риск.

Цел на настоящото проучване беше да се оцени честотата и характеристиката на кардио-метаболитните рискови фактори при пациенти с тип 2 захарен диабет (Т2ЗД) според дефиницията за метаболичен синдром (МетС) на Международната Диабетна Федерация (МДФ).

Триста осемдесет и три пациента с Т2ЗД (194 жени, 189 мъже) на възраст  $62.2 \pm 10.4$  г., давност на ЗД  $7.6 \pm 6.7$  г.,  $HbA_{1c}$   $7.5 \pm 1.4\%$ ,  $BMI$   $30.8 \pm 4.8$   $kg/m^2$ , обиколка талия жени  $98.1 \pm 16.7$  cm, обиколка талия мъже  $101.5 \pm 13.9$  cm (средни  $\pm$ SD) бяха включени в крос-секционно проучване. Наличието на МетС и оценката на кардио-метаболитните рискови фактори бяха определени прилагайки дефиницията за МетС на МДФ.

Метаболичен синдром беше установен при 76.5% от пациентите с Т2ЗД (82% жени, 70.9% мъже). Жените с МетС бяха значимо по-млади от тези без МетС, а мъжете с МетС бяха със сигнификантно по-малка давност на ЗД в сравнение с мъжете без МетС. Сто и десет от общо 293 пациента с МетС бяха с всички 5 компонента на синдрома. Разглеждайки всички пациенти с Т2ЗД, честотата на централното затлъстяване, изразено чрез обиколката на талията бе както тази на МетС-76,8%, докато като индивидуален рисков фактор то бе налице само при 11 от 90 пациента без МетС. Най-честият кардио-метаболичен рисков фактор, изключвайки централното затлъстяване като задължителен компонент на синдрома, беше артериалната хипертония (75.1%). Тя бе на първо място при жените с МетС (84.9%) и на второ при мъжете с МетС (63.4%). Честотата на артериалната хипертония при всички изследвани пациенти бе 66.3%. Ниският HDL холестерол бе на второ място по честота (63.5%) при пациентите с МетС и при всички пациенти с Т2ЗД (55.4%). Той бе най-честият кардио-метаболичен рисков фактор при мъжете с МетС (76.9%). Повишени триглицериди бяха установени при 62.5% от пациентите с МетС и при 53.7% от всички пациенти. Комбинираната дислипидемия (високи триглицериди, нисък HDL холестерол) бе с най-ниска честота при пациентите с МетС и всички пациенти с Т2ЗД.

В заключение, при пациентите с тип 2 захарен диабет, включени в нашето проучване бяха установени множество кардио-метаболични рискови фактори и тяхната сърдечно-съдова прогноза зависи от комбинацията на тези фактори, която е много по-силна от простото им сумиране. Скрининг за метаболичен синдром би трябвало да се прави при всички пациенти с тип 2 захарен диабет и при всички лица с повишен риск за развитие на тип 2 захарен диабет. Лечение на всички рискови фактори е наложително за намаление на глобалния кардио-метаболичен риск.

## Abstract

Metabolic syndrome is an independent predictor of cardiovascular disease (CVD) in patients with type 2 diabetes mellitus. Type 2 diabetes mellitus is a leading cause of death of CVD. Consequently, the assessment of cardiometabolic risk factors is the first and crucial step to the aim for reduction of cardiovascular risk

The aim of the present study was to assess the prevalence and characteristics of cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) according to the definition for metabolic syndrome (MetS) of International Diabetes Federation (IDF).

Three hundred and eighty three patients with T2DM (194 females, 189 males) of age  $62.2 \pm 10.4$  yr, duration of DM  $7.6 \pm 6.7$  yr, HbA<sub>1c</sub>  $7.5 \pm 1.4\%$ , BMI  $30.8 \pm 4.8$  kg/m<sup>2</sup>, waist circumference females  $98.1 \pm 16.7$  cm, waist circumference males  $101.5 \pm 13.9$  cm (mean $\pm$ SD) were included in a cross-sectional study. The presence of the MetS and the assessment of cardiometabolic risk factors were defined applying the definition for MetS of IDF.

Metabolic syndrome was established in 76.5% of patients with T2DM (82% females, 70.9% males). Females with MetS were significantly younger than females without MetS and males with MetS were with a significantly shorter duration of DM in comparison to the males without MetS. One hundred and ten of 293 patients with MetS were with all 5 components of the syndrome. Considering all patients with T2DM, the prevalence of central obesity, expressed by the waist circumference was the same like this of the MetS -76.8%, whereas as an individual risk factor it was presenting just in 11 of 90 patients without MetS. The most common cardiometabolic risk factor, excluding central obesity as a necessary component of the syndrome, was arterial hypertension (75.1%). It was at the first position in females with MetS (84.9%) and at the second position in males with MetS (63.4%). The prevalence of arterial hypertension in all studied patients was 66.3%. Reduced HDL cholesterol was at the second position (63.5%) in patients with MetS and in all patients with T2DM (55.4%). It was the most common cardiometabolic risk factor in males with MetS (76.9%). Raised triglycerides were established in 62.5% of the patients with MetS and in 53.7% of all patients. Combined dyslipidaemia (raised triglycerides, reduced HDL cholesterol) was with the lowest prevalence considering patients with MetS and all T2DM patients.

In conclusion, T2DM patients included in our study were presented with multiple cardiometabolic risk factors and their cardiovascular prognosis is driven by combinations of these factors which are more potent that suggested by their sums. Screening of metabolic syndrome should be done in all type 2 diabetic patients and all subjects at risk for development of T2DM. Treatment of all risk factors is required for reduction of global cardiometabolic risk.

10. **Kamenova P.** Cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus according to the definition for metabolic syndrome of International Diabetes Federation. Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2018 September; 6(9): 316-326. IF 1.325

## Abstract

Identifying type 2 diabetic patients (T2D pts) with metabolic syndrome (MS) enables physicians for early and active treatment of cardiometabolic risk factors. The aim of the study was to assess characteristics of cardiometabolic risk factors in T2D pts according to the definition for MS of International Diabetes Federation (IDF) and to test the hypothesis whether IDF definition for MS could identify T2D pts with insulin resistance. Three hundred and eighty three (194 females, 189 males) T2D pts (mean±SD; age 62.2±10.4 yrs; body mass index 30.8±4.8 kg/m<sup>2</sup>) took part in the study. A manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique was used for a measurement of insulin sensitivity (IS), expressed as a glucose disposal rate (M), and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). According to the definition of IDF, MS was diagnosed in 76.5% of the T2D pts (82% females, 70.9% males). The most common cardiometabolic risk factor in females was raised blood pressure (84.9%) and in males-reduced HDL cholesterol (76.9%). IS of the MS pts M 3.238±1.673 was significantly lower compared to that of non MS pts M 6.893±3.846 (mg/kg/min), p=0.007. HOMA-IR of the MS pts 6.02±1.69 was significantly higher compared to that of non MS pts 3.07±1.27, p<0.001. In conclusion, T2D pts, included in our study, were presented with multiple cardiometabolic risk factors. According to our data, IDF definition for MS could identify T2D pts with insulin resistance. Multiple risk factor treatment strategy is required for reduction of global cardiometabolic risk.

11. Петя Каменова, Ангел Маринчев. Зависимост между дебелината на интима-медия на общата каротидна артерия и инсулиновата чувствителност при тип 2 захарен диабет. Ендокринология 2008; 13(4): 172-182.

Petya Kamenova, Angel Marinchev. Relationship between common carotid artery intima-media thickness and insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus. Endokrinologia 2008; 13(4):172-182.

## Резюме

Дебелината на интима-медия (IMT) е на настоящия етап най-добре проученият сонографски маркер за ранни атеросклеротични лезии на съдовата стена. Инсулиновата резистентност е установен сърдечно-съдов рисков фактор и ключов патогенетичен дефект на тип 2 захарен диабет, а хиперинсулинемичната еугликемична кламп техника-златният стандарт за оценка на инсулиновата чувствителност. Пациентите с тип 2 захарен диабет имат четирикратно по-висок сърдечно-съдов риск. Следователно е обосновано да се открие дали има корелация между IMT и инсулиновата чувствителност при пациенти с тип 2 захарен диабет.

Целта на настоящото проучване беше да се установи асоциацията между дебелината на интима-медия на общата каротидна артерия (IMT-ССА) и инсулиновата чувствителност (ИЧ) при пациенти с тип 2 захарен диабет (Т2ЗД). Четиридесет (21 жени, 19 мъже) пациенти с Т2ЗД на възраст:



58.1±10.2 г., давност на диабета: 10.7±7.8 г., HbA<sub>1c</sub>: 7.2±1.8%, BMI: 30.1±5.8 kg/m<sup>2</sup> (средни±SD) и 74 лица с нормален глюкозен толеранс (НГТ) и без фамилна обремененост от тип 2 ЗД, съпоставими по клинични, антропометрични и метаболитни показатели с пациентите с Т2 ЗД, бяха включени в това проучване. Тридесет и шест (19 жени, 17 мъже) на средна възраст: 57±10.1 г. участваха като контролна група по отношение на ИЧ и 38 (20 жени, 18 мъже) на средна възраст: 57.6±9.4 г., като контролна група по отношение на ИМТ. Инсулиновата чувствителност беше определена, прилагайки 2 ч. мануална хиперинсулинемична (скорост на инсулинова инфузия 40 mU/m<sup>2</sup>/min) еугликемична (плазмена глюкоза 5 mmol/l) кламп техника, изразена като количество метаболизирана глюкоза (M, mg/kg/min). Дебелината на каротидната интима-медия (СІМТ) беше измерена с двуизмерна ултрасонография на по-отдалечената стена на ССА, и на двете: лява (ССАІ) и дясна (ССАг) на 1 см проксимално от бифуркацията в латерална позиция.

При пациентите с Т2 ЗД ИМТ-ССАІ: 0.82±0.21 mm и ИМТ-ССАг: 0.76±0.15 mm бяха сигнификантно по-високи от ИМТ-ССАІ: 0.58±0.10 mm и ИМТ-ССАг: 0.59±0.12 mm на лицата с НГТ, двете p<0.001. Според медианното ниво на M: 6.118 mg/kg/min на лицата с НГТ, пациентите с Т2 ЗД бяха разделени на две субгрупи: инсулин резистентни (ІР) и инсулин чувствителни (ІЧ). Беше установено, че ИМТ-ССАІ: 0.87±0.20 mm на ІР пациенти е сигнификантно по-висока в сравнение с ИМТ-ССАІ: 0.62±0.13 mm на ІЧ пациенти и ИМТ-ССАІ: 0.58±0.10 mm на лицата с НГТ, двете p<0.001; ИМТ-ССАг: 0.79±0.14 mm на ІР пациенти беше сигнификантно по-висока в сравнение с ИМТ-ССАг: 0.67±0.17 mm на ІЧ пациенти, p<0.05 и ИМТ-ССАг: 0.59±0.12 mm на лицата с НГТ, p<0.001. При унивариантен корелационен анализ ИМТ-ССАІ и ИМТ-ССАг сигнификантно обратно корелираха с ІЧ (M), съответно: r= -0.566, p<0.001, r= -0.507, p=0.001. При стъпковиден множествен линеарен регресионен анализ с ИМТ-ССАІ като зависим показател и ІЧ (M) заедно със сърдечно-съдови рискови фактори като независими показатели, ІЧ показва сигнификантна независима асоциация с ИМТ-ССАІ при мъжете диабетици, определяйки 38.5 % от нейната вариация.

В заключение, инсулиновата резистентност би могла да се обсъжда като значим фактор за повишената дебелина на интима-медия на общата каротидната артерия при пациенти с тип 2 захарен диабет. Според нашите данни инсулиновата чувствителност, изразена като количество метаболизирана глюкоза, е независим предиктор за дебелината на каротидната интима-медия при мъжете диабетици.

## Abstract

The intima-media thickness (IMT) is a marker for early atherosclerotic vascular wall lesions and insulin resistance is an important cardiovascular risk factor. The aim of the present study was to establish the association between intima-media thickness of the common carotid artery (IMT-CCA) and insulin sensitivity (IS) in patients with type diabetes mellitus (T2 DM pts). Forty (21 females, 19 males) T2

DM pts of age:  $58.1 \pm 10.2$  yrs, duration of diabetes:  $10.7 \pm 7.8$  yrs, HbA<sub>1c</sub>:  $7.2 \pm 1.8\%$ , BMI:  $30.1 \pm 5.8$  kg/m<sup>2</sup> (mean $\pm$ SD) and 74 subjects with normal glucose tolerance (NGT) matched on anthropometric, metabolic and clinical parameters to T2 DM pts, were included in that study. Thirty six (19 females, 17 males) of mean age:  $57 \pm 10.1$  yrs participated as a control group in terms of IS and 38 (20 females, 18 males) of mean age:  $57.6 \pm 9.4$  yrs, as a control group in terms of IMT. The insulin sensitivity was determined using the "gold standard" a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique, expressed as a glucose disposal rate (M, mg/kg/min). Carotid intima-media thickness (CIMT) was measured by B-mode ultrasonography of the far wall of CCA both: left (CCAI) and right (CCAr).

In T2 DM pts IMT-CCAI:  $0.82 \pm 0.21$  mm and IMT-CCAr:  $0.76 \pm 0.15$  mm were significantly higher than IMT-CCAI:  $0.58 \pm 0.10$  mm and IMT-CCAr:  $0.59 \pm 0.12$  mm of NGT subjects, both  $p < 0.001$ . According to the median level of M: 6.118 mg/kg/min of NGT subjects, T2 DM pts were divided into two subgroups: insulin resistant (IR) and insulin sensitive (IS). It was established that IMT-CCAI:  $0.87 \pm 0.20$  mm of IR pts was significantly higher in comparison to IMT-CCAI:  $0.62 \pm 0.13$  mm of IS pts and IMT-CCAI:  $0.58 \pm 0.10$  mm of NGT subjects, both  $p < 0.001$ ; IMT-CCAr:  $0.79 \pm 0.14$  mm of IR pts was significantly higher in comparison to IMT-CCAr:  $0.67 \pm 0.17$  of IS pts,  $p < 0.05$  and IMT-CCAr:  $0.59 \pm 0.12$  mm of NGT,  $p < 0.001$ . In univariate correlation analysis a significant inverse correlation was established between both: IMT-CCAI and IS (M):  $r = -0.566$ ,  $p < 0.001$ ; IMT-CCAr and IS(M):  $r = -0.507$ ,  $p = 0.001$ . In stepwise multivariate regression analysis with IMT-CCAI as a dependent variable and IS (M) along with cardiovascular risk factors as independent variables, IS showed a significant independent contribution to IMT-CCAI in diabetic males accounting for 38.5 % of its variance.

In conclusion, insulin resistance could be considered as an important factor for increased intima-media thickness of the common carotid artery in type 2 diabetic patients. According to our data insulin sensitivity, expressed as a glucose disposal rate, is an independent predictor of carotid intima-media thickness in diabetic males.

12. **P. Kamenova** and A. Marinchev. Common carotid artery intima media thickness is associated with insulin resistance in type 2 diabetic patients. Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology, Rio De Janeiro, Brazil, November 8-12, 2008. Editors Amelio Godoy-Matos, John Wass, Medimond International Proceedings, Medimond SR1, Bologna, Italy, ISBN-13: 978-8875874728 (Jan, 2010), pp. 305-308.

## Summary

Objective of the study was to investigate the independent association between common carotid artery intima media thickness (CCA<sub>IMT</sub>) and insulin resistance (IR) in type 2 diabetic patients (T2D pts). Forty T2D pts and 36 normal glucose tolerant (NGT) subjects participated in the study. CCA<sub>IMT</sub> was assessed by a

high resolution B-mode ultrasonography. Insulin sensitivity (IS) was measured with a manual hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique. In stepwise multivariate regression analysis, IS showed a significant independent contribution to CCAIMT accounting for 38.5% of its variation in T2D males. In conclusion, IR could be considered as an independent risk factor for carotid atherosclerosis in T2D males.

13. Каменова П., Кирилов Г., Атанасова И. Ефект на метформин върху инсулиновата секреция и инсулинова резистентност при лица с метаболитен синдром, нормален глюкозен толеранс и хиперинсулинемия. *Ендокринология* 2013; 3: 141-150.

Kamenova P., Kirilov G., Atanasova I. Effect of metformin on insulin secretion and insulin resistance in persons with metabolic syndrome, normal glucose tolerance and hyperinsulinemia. *Endokrinologia* 2013; 3:141-150.

## Резюме

Метаболитният синдром е рисков фактор за тип 2 захарен диабет и сърдечно-съдова болест. Хиперинсулинемията е най-ранният стадий в развитието на тип 2 диабет и значим сърдечно-съдов рисков фактор. Механизмът отговорен за превенция на тип 2 диабет включва лечение на хиперинсулинемията, респ. инсулиновата резистентност. Целта на настоящото проучване беше да се установи ефекта на метформин върху инсулиновата секреция и инсулинова резистентност при лица с метаболитен синдром, нормален глюкозен толеранс и хиперинсулинемия.

52 лица (32 жени, 20 мъже) на средна възраст  $40.1 \pm 14.2$  г., с метаболитен синдром според дефиницията на МДФ, нормален глюкозен толеранс при орален глюкозен толерансен тест (ОГТТ) и хиперинсулинемия – серумен инсулин на гладно  $> 25$  mIU/l и/или серумен инсулин на 2h след глюкозния стимул  $> 3$  пъти от изходното ниво бяха включени в проспективно едногодишно наблюдателно клинично проучване. На 3-месечни интервали бе проведен ОГТТ с 75 г. глюкоза и изследвани плазмена глюкоза и серумен инсулин на 60, 120 и 180 мин. Инсулиновата резистентност бе определена с хомеостазния модел на инсулинова резистентност (НОМА-IR). Метформин бе прилаган в начална доза 500 mg титрирана до максимална 3 g, средна доза  $2.55 \pm 0.2$  g дневно.

Серулният инсулин на гладно  $24.1 \pm 15.3$  mIU/l значимо намалю на 6 месец  $17.2 \pm 8.8$  mIU/l ( $p=0.012$ ) от лечението с метформин и на първата година бе  $11.6 \pm 6.0$  mIU/l ( $p<0.0001$ ). Инсулинът на 60 мин. след глюкозния стимул  $136.8 \pm 67.6$  mIU/l значимо намалю на 3 месец  $94.9 \pm 52.2$  mIU/l ( $p=0.009$ ) и на първата година бе  $54.5 \pm 51.4$  mIU/l ( $p<0.0001$ ). Инсулинът на 120 мин. след глюкозния стимул  $62.6 \pm 43.2$  mIU/l значимо намалю на 3 месец  $45.1 \pm 26.6$  mIU/l ( $p=0.04$ ) и на първата година бе  $27.6 \pm 21.6$  mIU/l ( $p<0.0001$ ). Инсулинът на 180 мин. след глюкозния стимул  $23.2 \pm 11.7$  mIU/l значимо намалю на 6 месец  $13.3 \pm 7.1$  mIU/l ( $p<0.0001$ ) и на първата година бе  $9.7 \pm 5.8$  mIU/l ( $p<0.0001$ ). НОМА-IR  $5.74 \pm 3.77$  бе сигнификантно намален

на 6 месец от лечението с метформин  $4.01 \pm 2.13$  ( $p=0.011$ ) и на първата година бе  $2.58 \pm 1.40$  ( $p<0.0001$ ).

В заключение, метформин намалява инсулиновата резистентност и възстановява физиологичната инсулинова секреция при лица с нормален глюкозен толеранс и висок риск от развитие на тип 2 захарен диабет и сърдечно-съдова болест-наличие на метаболитен синдром и хиперинсулинемия.

## Abstract

Metabolic syndrome is a risk factor for type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Hyperinsulinemia is the earliest stage in the development of type 2 diabetes and a strong cardiovascular risk factor. The mechanism responsible for prevention of type 2 diabetes refers to the treatment of hyperinsulinemia or insulin resistance respectively. The aim of the present study was to investigate the effect of metformin on insulin secretion and insulin resistance in persons with metabolic syndrome, normal glucose tolerance and hyperinsulinemia.

52 persons (32 females, 20 males) of mean age  $40.1 \pm 14.2$  yrs with metabolic syndrome according to the definition of IDF, normal glucose tolerance during oral glucose tolerance test (OGTT) and hyperinsulinemia- fasting serum insulin  $> 25$  mIU/l and/or 2h post glucose challenge serum insulin  $> 3$  times from baseline were included in a prospective one year observational clinical study. OGTT with 75 g glucose was performed at 3 month intervals with measurement of plasma glucose and serum insulin at 60, 120 and 180 min. Insulin resistance was defined with homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). Metformin was applied at an initial dose of 500 mg titrated to the maximal 3 g, the mean dose of metformin was  $2.55 \pm 0.2$  g daily.

Fasting serum insulin  $24.1 \pm 15.3$  mIU/l decreased significantly at 6 month  $17.2 \pm 8.8$  mIU/l ( $p=0.012$ ) of metformin treatment and at 1 year was  $11.6 \pm 6.0$  mIU/l ( $p<0.0001$ ), 60-min post glucose insulin  $136.8 \pm 67.6$  mIU/l decreased significantly at 3 month  $94.9 \pm 52.2$  mIU/l ( $p=0.009$ ) and at 1 year was  $54.5 \pm 51.4$  mIU/l ( $p<0.0001$ ), 120-min post glucose insulin  $62.6 \pm 43.2$  mIU/l decreased significantly et 3 month  $45.1 \pm 26.6$  mIU/l ( $p=0.04$ ) and at 1 year was  $27.6 \pm 21.6$  mIU/l ( $p<0.0001$ ), 180-min post glucose insulin  $23.2 \pm 11.7$  mIU/l decreased significantly at 6 month  $13.3 \pm 7.1$  mIU/l ( $p<0.0001$ ) and at 1 year was  $9.7 \pm 5.8$  mIU/l ( $p<0.0001$ ). HOMA-IR  $5.74 \pm 3.77$  was significantly reduced at 6 month of metformin treatment  $4.01 \pm 2.13$  ( $p=0.011$ ) and at 1 year was  $2.58 \pm 1.40$  ( $p<0.0001$ ).

In conclusion, metformin reduces insulin resistance and restores physiological insulin secretion in persons with normal glucose tolerance at high risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease-presence of metabolic syndrome and hyperinsulinemia.

14. **Kamenova P, Atanasova I and Kirilov G.** Metformin improves insulin secretion and reduces insulin resistance in people at high risk for development of

type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2016 March; 4(3): 152-161. IF 1.206

### Abstract

The aim of the study was to investigate the effect of metformin on insulin secretion and insulin resistance in hyperinsulinaemic normal glucose tolerant people with metabolic syndrome who represent a high-risk group for development of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Fifty two participants of mean age  $40.1 \pm 14.2$  yrs were included in an open-label prospective one year observational clinical study in which plasma glucose, serum insulin during a 3-h oral glucose tolerance test, Glucose/Insulin ratio (G/I), Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) and Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) at three months intervals following metformin treatment were evaluated. The results showed that fasting serum insulin, 3-h post glucose load (PGL) serum insulin and HOMA-IR significantly reduced at 6, 9 month and at 1 year. Fasting plasma glucose, 1-h and 2-h PGL serum insulin significantly decreased at 3, 6, 9 month and at 1 year. Fasting G/I significantly increased at 9 month and at 1 year. 1-h G/I and QUICKI significantly increased at 3, 6, 9 month and at 1 year. 2-h and 3-h G/I significantly increased at 6, 9 month and at 1 year of metformin treatment (all  $p < 0.001$ ). In conclusion, metformin restores physiological insulin secretion and reduces insulin resistance in hyperinsulinaemic normal glucose tolerant people with metabolic syndrome and could be considered as a therapeutic option for prevention of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease.

15. Каменова П., Атанасова Ил., Кирилов Г. Ефект на метформин върху кардиометаболитните рискови фактори при лица с метаболитен синдром, нормален глюкозен толеранс и хиперинсулинемия. Ендокринология 2013; 3: 131-140.

Kamenova P., Atanasova I., Kirilov G. Effect of metformin on cardiometabolic risk factors in persons with metabolic syndrome, normal glucose tolerance and hyperinsulinaemia. Endokrinologia 2013; 3:131-140.

### Резюме

Метаболитният синдром е съвкупност от фактори, определящи повишен риск от развитие тип 2 захарен диабет и сърдечно-съдова болест. Няма дефинирано лечение на метаболитния синдром освен лечение на всички кардиометаболитни рискови фактори като затлъстяване, хипертония, дислипидемия и хипергликемия. Метформин е първата стъпка в лечението на диабет тип 2 и намалява риска от диабет и метаболитен синдром при индивиди с нарушена кръвна захар на гладно и нарушен глюкозен толеранс. Целта на настоящото проучване беше да се установи ефекта на метформин върху кардиометаболитните рискови фактори при лица с метаболитен синдром, нормален глюкозен толеранс и хиперинсулинемия.

В проспективно едногодишно наблюдателно клинично проучване включващо 52 лица (32 жени, 20 мъже) на възраст  $40.1 \pm 14.2$  г., бяха проследени на 3-месечни интервали телесно тегло, индекс на телесна маса, обиколка талия,, серумни липиди-общ холестерол, триглицериди, HDL холестерол, LDL холестерол и артериално налягане. Критериите за включване бяха наличие на метаболитен синдром според дефиницията на МДФ, нормален глюкозен толеранс при ОГТТ с плазмена глюкоза на гладно  $< 6.1$  mmol/l и на 2h  $< 7.8$  mmol/l и хиперинсулинемия- повишена, несъответна на кръвната захар инсулинова секреция на гладно и/или след глюкозния стимул /серумен инсулин на гладно  $> 25$  mIU/l и/или серумен инсулин на 2h след глюкозния стимул  $> 3$  пъти от изходното ниво/. Метформин бе прилаган в начална доза 500 mg титрирана до максимална 3 g, средна доза  $2.55 \pm 0.2$  g дневно.

Телесното тегло, индексът на телесна маса и обиколката на талията намаляха значимо на 6 месец от лечението с метформин като ефектът продължи до края на наблюдението и на първата година не бе по-изразен в сравнение с 6 месец. Телесното тегло  $97.5 \pm 18.5$  kg намаля до  $89.8 \pm 16.9$  kg на 6 месец ( $p=0.028$ ) и до  $85.3 \pm 16.7$  kg на първата година ( $p=0.001$ ). Индексът на телесна маса  $32.3 \pm 5.2$  kg/m<sup>2</sup> се намали до  $29.9 \pm 4.8$  kg/m<sup>2</sup> на 6 месец. ( $p=0.012$ ) и до  $28.4 \pm 5.0$  kg/m<sup>2</sup> на първата година ( $p=0.0004$ ). Обиколката на талията  $102.8 \pm 14.3$  cm намаля до  $95.3 \pm 12.2$  cm на 6 месец ( $p=0.004$ ) и до  $90.9 \pm 12.5$  cm на първата година ( $p<0.0001$ ). Ефектът на метформин върху триглицеридите, LDL холестерол, систолично и диастолично артериално налягане бе значим на 9 месец от лечението, а върху HDL холестерол на първата година. Лечението с метформин намали триглицеридите от  $2.60 \pm 1.74$  mmol/l до  $1.55 \pm 0.69$  mmol/l на 9 месец ( $p=0.004$ ) и до  $1.44 \pm 0.53$  mmol/l на първата година ( $p=0.0004$ ), LDL холестерол  $3.61 \pm 0.76$  mmol/l намаля до  $2.77 \pm 0.65$  mmol/l на 9 месец ( $p=0.007$ ) и до  $2.74 \pm 0.94$  mmol/l на първата година ( $p=0.001$ ), систоличното артериално налягане се намали от  $131 \pm 18$  mmHg до  $121 \pm 15$  mmHg на 9 месец ( $p=0.008$ ) и до  $119 \pm 12$  mmHg на първата година ( $p=0.0006$ ) и диастоличното артериално налягане намаля от  $85 \pm 11$  mmHg до  $78 \pm 8$  mmHg на 9 месец ( $p=0.0009$ ) и до  $76 \pm 6$  mmHg на първата година ( $p<0.0001$ ). HDL холестерол се увеличи значимо на първата година от лечението-от  $1.10 \pm 0.34$  mmol/l на  $1.44 \pm 0.28$  mmol/l ( $p=0.0005$ ). Не се установиха значими странични ефекти, хипогликемии и промяна в рутинните биохимичните показатели от лечението с метформин.

В заключение, метформин намалява кардиометаболитните рискови фактори при лица с метаболитен синдром, нормален глюкозен толеранс и хиперинсулинемия и би могъл да бъде прилаган за превенция на захарен диабет тип 2 и сърдечно-съдовата болест.

## Abstract

Metabolic syndrome is a cluster of factors which determine an increased risk for development of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. There is

no definitive treatment of the metabolic syndrome except of treatment of all cardiometabolic risk factors as obesity, hypertension, dyslipidaemia and hyperglycaemia. Metformin is the first step in the treatment of type 2 diabetes and reduces the risk of diabetes and metabolic syndrome in individuals with impaired fasting blood glucose and impaired glucose tolerance. The aim of the present study was to establish the effect of metformin on cardiometabolic risk factors in individuals with metabolic syndrome, normal glucose tolerance and hyperinsulinaemia.

In a prospective one year observational clinical study including 52 persons (32 females, 20 males) of age  $40.1 \pm 14.2$  yrs, body weight, body mass index, waist circumference, serum lipids- total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol and arterial pressure at three month intervals were followed. The inclusion criteria were a presence of metabolic syndrome according to the definition of IDF, normal glucose tolerance during OGTT with fasting plasma glucose  $< 6.1$  mmol/l and 2-h plasma glucose  $< 7.8$  mmol/l and hyperinsulinaemia- increased non responsible to the plasma glucose insulin secretion on fasting and/or after glucose challenge /fasting serum insulin  $> 25$  mIU/l and/or 2-h post glucose challenge serum insulin  $> 3$  times from baseline). Metformin was applied at initial dose of 500 mg titrated to the maximal 3 g, the mean dose of metformin was  $2.55 \pm 0.2$  g daily.

The body weight, body mass index and waist circumference decreased significantly at 6 month of metformin treatment as this effect continued to the end of the observation and it was no more pronounced at 1 year compared to the 6 month. The body weight  $97.5 \pm 18.5$  kg decreased to  $89.8 \pm 16.9$  kg at 6 month ( $p=0.028$ ) and to  $85.3 \pm 16.7$  kg at 1 year ( $p=0.001$ ). The body mass index  $32.3 \pm 5.2$  kg/m<sup>2</sup> decreased to  $29.9 \pm 4.8$  kg/m<sup>2</sup> at 6 month ( $p=0.012$ ) and to  $28.4 \pm 5.0$  kg/m<sup>2</sup> at 1 year ( $p=0.0004$ ). The waist circumference  $102.8 \pm 14.3$  cm decreased to  $95.3 \pm 12.2$  cm at 6 month ( $p=0.004$ ) and to  $90.9 \pm 12.5$  cm at 1 year ( $p<0.0001$ ). The significant effect of metformin on triglycerides, LDL cholesterol, systolic and diastolic blood pressure was observed at 9 month of metformin treatment and on HDL cholesterol at 1 year. As a result of metformin treatment triglycerides reduced from  $2.60 \pm 1.74$  mmol/l to  $1.55 \pm 0.69$  mmol/l at 9 month ( $p=0.004$ ) and to  $1.44 \pm 0.53$  mmol/l at 1 year ( $p=0.0004$ ), LDL cholesterol reduced from  $3.61 \pm 0.76$  mmol/l to  $2.77 \pm 0.65$  mmol/l at 9 month ( $p=0.007$ ) and to  $2.74 \pm 0.94$  mmol/l at 1 year ( $p=0.001$ ), systolic blood pressure reduced from  $131 \pm 18$  mmHg to  $121 \pm 15$  mmHg at 9 month ( $p=0.008$ ) and to  $119 \pm 12$  mmHg at 1 year ( $p=0.0006$ ) and diastolic blood pressure reduced from  $85 \pm 11$  mmHg to  $78 \pm 8$  mmHg at 9 month ( $p=0.0009$ ) and to  $76 \pm 6$  mmHg at 1 year ( $p<0.0001$ ). HDL cholesterol significantly increased at 1 year of metformin treatment from  $1.10 \pm 0.34$  mmol/l to  $1.44 \pm 0.28$  mmol/l ( $p=0.0005$ ). There were no observed serious side effects, hypoglycaemias and change in routine biochemical parameters during metformin treatment.

In conclusion, metformin reduces cardiometabolic risk factors in persons with metabolic syndrome, normal glucose tolerance and hyperinsulinemia and could be applied for prevention of type 2 diabetes and cardiovascular disease.

16. **Petya Kamenova**, Iliyana Atanasova and Georgi Kirilov. Metformin reduces cardiometabolic risk factors in people at high risk for development of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Journal of Diabetes & Metabolism* 2014; 5: 470. doi:10.4172/2155-6156.1000470. **IF 1.54**

### **Abstract**

**Background:** The aim of the study was to investigate the effect of metformin on cardiometabolic risk factors as visceral obesity, hyperinsulinaemia, insulin resistance, dyslipidaemia and arterial hypertension in hyperinsulinaemic normal glucose tolerant persons with metabolic syndrome who represent a high-risk group for development of type 2 diabetes and cardiovascular disease.

**Methods:** 52 participants (20 men/32 women) of mean age  $40.1 \pm 14.2$  yrs were included in an open-label prospective one year observational clinical study in which cardiometabolic risk markers at three months intervals were followed. Metformin was applied at a mean dose of  $2.55 \pm 0.2$  g daily on an usual diet and physical activity.

**Results:** Body mass index, waist circumference, fasting serum insulin and homeostasis model assessment of insulin resistance significantly reduced at 6, 9 month and at 1 year of metformin treatment (all  $p < 0.001$ ). Fasting plasma glucose and 2-h post glucose load serum insulin significantly decreased at 3, 6, 9 month and at 1 year (both  $p < 0.001$ ). Triglycerides, systolic and diastolic blood pressure significantly decreased at 9 month and at 1 year (all  $p < 0.001$ ). LDL cholesterol significantly reduced at 9 month and at 1 year ( $p = 0.001$ ). HDL cholesterol significantly increased at 1 year of metformin treatment ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Metformin reduces cardiometabolic risk factors in hyperinsulinaemic, normal glucose tolerant persons with metabolic syndrome and could be considered as a therapeutic option for prevention of type 2 diabetes and cardiovascular disease.

17. **Petya Kamenova**, Georgi Kirilov. Effect of metformin on body weight management and markers of the metabolic syndrome in persons with normal glucose tolerance. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences*. (in press) (protocol № 1/28.01.2020). **IF 0.343**

### **ABSTRACT**

Treatment of the metabolic syndrome (MS) is essential for prevention of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and cardiovascular disease (CVD). The purpose of this open-label prospective one year observational clinical study was to examine the effects of metformin  $2.55 \pm 0.3$  g/d on body weight management and markers of



the MS in normal glucose tolerant persons with hyperinsulinaemia. Body weight was reduced by 6.8% at 6 month and by 11.1 % at 1 year. The body weight reduction was  $7.2\pm 3.4$  kg at 6 month and  $11.7\pm 4.7$  kg (mean $\pm$ SD) at 1 year. We found a significant correlation of reduction of body weight at 1 year with initial body weight, body mass index, waist circumference and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), all  $p<0.001$ . At 1 year of metformin treatment HOMA-IR, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, systolic and diastolic blood pressure were significantly reduced, all  $p<0.001$  and high-density lipoprotein cholesterol was significantly increased,  $p=0.004$ . Our study show that treatment with metformin alone, without intensive diet and physical activity, could reduce visceral obesity, insulin resistance, dyslipidaemia and arterial hypertension and supports the hypothesis that it could be applied for prevention of T2DM and CVD.

18. **Petya Kamenova**. Therapeutic potential of metformin in normal glucose tolerant persons with metabolic syndrome. *Biotechnology&Biotechnological Equipment* January 2020; 34(1): 30-37. doi: 10.1080/13102818.2019.1711184. IF 1.186

#### ABSTRACT

With an increasing prevalence of metabolic syndrome (MS) early detection and timely management of cardiometabolic risk factors are crucial to prevent complications such as type 2 diabetes mellitus (T2DM) and cardiovascular disease (CVD). There are no defined treatments for MS apart from addressing each of its components such as insulin resistance, hyperinsulinaemia, obesity, dyslipidaemia, hypertension and hyperglycaemia. The mechanism responsible for diabetes prevention is related to improved insulin sensitivity and reduced hyperinsulinaemia. Metformin has been established as a first-line therapy in patients with T2DM because it counteracts hyperinsulinaemia and hyperglycaemia and reduces cardiometabolic risk. Although the cardiovascular benefits with metformin are clearly demonstrated in diabetic and prediabetic patients, the efficacy of metformin in reducing cardiometabolic risk factors in persons with MS and normal glucose tolerance (NGT) remains inconclusive. This review focuses on the evidence base considering the therapeutic potential of metformin in NGT persons with MS representing a high-risk population for development of T2DM and CVD.

19. С. Тодорова, Л. Дянков, М. Андреева, Д. Христова, К. Цачев, П. Каменова. Лечение на болни с постменопаузална и стероидиндуцирана остеопороза с натриев флуорид в комбинация с витамин Д<sub>2</sub> и калциев глюконат. *Вътрешни болести* 1990; 29(1): 77-81.

S. Todorova, L. Dyankov, M. Andreeva, D. Christova, K. Tsachev, P. Kamenova. Treatment of patients with postmenopausal and steroid-induced osteoporosis using sodium fluoride combined with vitamin D<sub>2</sub> and calcium gluconate. *Internal Diseases* 1990; 29(1): 77-81.

## Summary

9 patients with postmenopausal and 5 patients with steroid-induced osteoporosis, mean age  $57.9 \pm 7.76$  years, were treated in the course of one year with sodium fluoride (Fluosen) in a dose of 45 mg/24 h in combination with calcium gluconate (2g/24h) and oil solution of vit. D2 (2 mg/ week). In the course of the treatment a considerable easing of the pains in the most affected parts of the skeleton was found and the height remained at the same level before and after the treatment. This correlates with the statistically significant increase of the serum levels of the total alkaline phosphatase and its bone isoenzyme by keeping a normal kalium-phosphorous balance as well as with the x-ray data for retaining the bone changes liked with the osteoporosis.

20. Др. Коев, Н. Овчарова, П. Каменова, Г. Янкова, П. Лефтерова. Катехоламина ексекреция при диабетно болни на инсулинолечение. Вътрешни болести 1990; 29(4): 34-40.

D. Koev, N. Ovcharova, P. Kamenova, G. Jankova, P. Levterova. Catecholamine excretion in diabetics on insulin treatment. Internal diseases 1990; 29(4): 34-40.

## Summary

In order to find out objective indices for "hidden" hypoglycemia in diabetic patients the urine excretion of the cathecholamines adrenaline, noradrenaline, dopamine and the serum levels of cortisol and somatotrophic hormone (STH) were followed up. 45 diabetics on insulin treatment were included in the study: 32 patients with type I diabetes mellitus and 13 patients with diabetes mellitus type II with secondary resistance to sulfanilurea drugs and insulin. The patients were classified into the following groups: 1. without hypoglycemia-28 patients; 2. with diurnal hypoglycemia-6 patients and 3. with nocturnal hypoglycemia-11 patients. In the patients with hypoglycemia the 24 h adrenaline urine excretion was higher than in the patients without hypoglycemia. No such differences were found for noradrenaline and dopamine. The separate examination in the diurnal and nocturnal cathecholamines excretion showed in all groups that they can not serve as an objective index for determination of hypoglycemia. The STH showed no differences in all groups of diabetics. Disturbances in the circadian rhythm of cortisol secretion in diabetics were found. This could be a good and available marker for detecting "hidden" hypoglycemia in diabetics.

21. Н. Овчарова, П. Каменова, Д. Коев, П. Ангелова-Гатева, А. Киряков. Лечение с метформин на болни от неинсулинозависим захарен диабет с вторична резистентност към сулфониурейни препарати. Ендокринология 1996; 1(1): 37-41.

N. Ovcharova, P. Kamenova, D. Koev, P. Angelova-Gateva, A. Kiriakov. Treatment with metformin of patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus

(NIDDM) with secondary failures of sulfonylureas. *Endocrinologia* 1996;1(1): 37-41.

## Резюме

Лечение с метформин (стажид-табл. по 700 mg) е проведено при 25 болни с неинсулинозависим захарен диабет (НИЗЗД) с вторична резистентност към сулфанилурейни препарати (СУП) и наднормено тегло, без заболявания, обуславящи хронична тъканна хипоксия. Препаратът стажид е даван в начална доза 2,1 g дневно в комбинация с максимална доза СУП. Болните са проследени 3 месеца. Постига се добър метаболитен контрол още на първия месец от лечението. Изходните гликемии от  $X \pm SD$   $12,7 \pm 3,7$  mmol/l се снижават на 3-ия месец на  $7,2 \pm 1,3$  mmol/l,  $p < 0,001$ . Постпрандиалните гликемии също достоверно намаляват, а така също и фруктозаминът и гликозилираният хемоглобин (HbA1). Изходните стойности на фруктозамина от  $4,2 \pm 2,7$  mmol/l в хода на лечението се нормализират и на 3-ия месец са  $2,4 \pm 0,4$  mmol/l,  $p < 0,01$ . Благоприятно се повлиява и мастната обмяна: серумният холестерол от  $7,1 \pm 1,5$  mmol/l намалява на  $6,0 \pm 1,4$  mmol/l ( $p < 0,01$ ), а триглицеридите от  $2,9 \pm 1,4$  mmol/l на  $2,2 \pm 0,9$  mmol/l,  $p < 0,05$ . При лечението с метформин (стажид) не са наблюдавани странични ефекти.

Комбинираното лечение със СУП и метформин е много подходящо при неинсулинозависимия тип захарен диабет с вторична резистентност към СУП и наднормено тегло.

## Abstract

Twenty five overweight patients with noninsulin-dependent diabetes with secondary failure of sulfonylureas have been treated with metformin (Stagid) added to the usual sulfonylureas drugs. The patients investigated were not affected from other diseases influencing the oxygen metabolism. The initial dosage of stagid was 2,1 g/daily.

The good metabolic control for blood glucose was observed after the first month of treatment. The basal values of blood glucose was  $X \pm SD$   $12,7 \pm 3,7$  mmol/l which decreased to  $7,2 \pm 1,3$  mmol/l,  $p < 0,001$  after the 3 rd month of treatment. The postprandial blood glucose levels decreased significantly, as well as the fructosamine and glycosylated hemoglobin (HbA1). The mean value of fructosamine decreased from  $4,2 \pm 2,7$  mmol/l to  $2,4 \pm 0,4$  mmol/l,  $p < 0,01$  after the 3 rd month. The lipid metabolism of the patients was also influenced beneficially. The serum cholesterol value decreased from  $7,1 \pm 1,5$  to  $6,0 \pm 1,4$  mmol/l ( $p < 0,01$ ), and the triglycerides value from  $2,9 \pm 1,4$  mmol/l to  $2,2 \pm 0,9$  mmol/l,  $p < 0,05$  at the end of the observed period. Negative side effects during this period were not observed.

We conclude that the combination therapy of Stagid and sulfonylureas of overweight patients with non-insulin dependent diabetes with secondary failure to sulfonylureas can be recommended for practical use.

22. П. Каменова. Оценка на инсулиновата резистентност при лица с нормален глюкозен толеранс. *Ендокринология* 2006; 11(2): 112-120.

P. Kamenova. Assessment of insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance. *Endokrinologia* 2006; 11(2): 112-120.

## РЕЗЮМЕ

Инсулиновата резистентност е задължителен компонент на метаболитния синдром според дефинициите на Световната здравна организация и Европейската Група за изучаване на Инсулиновата резистентност (EGIR). Целта на настоящото проучване беше да се оцени инсулиновата резистентност при лица с наднормено тегло или затлъстяване и нормален глюкозен толеранс, прилагайки “златния стандарт”- хиперинсулинемична еугликемична кламп техника и индексите-хомеостазен модел на инсулинова резистентност (HOMA-IR) и серумният инсулин на гладно с оглед скрининг за метаболитен синдром. 15 лица (6 мъже, 9 жени) с нормален глюкозен толеранс и без наследствена обремененост от захарен диабет на средна възраст- $50.7 \pm 15.4$  г., BMI- $30.9 \pm 6.0$  kg/m<sup>2</sup>, систолично артериално налягане- $141 \pm 28$  mmHg, диастолично артериално налягане- $88 \pm 11$  mmHg участваха в проучването. Инсулиновата чувствителност бе измерена със “златния стандарт”- хиперинсулинемична еугликемична кламп техника и изразена като количество метаболизирана глюкоза (M) в последните 30 min на кламп теста. Бяха определени и индексите на инсулинова резистентност-серумен инсулин на гладно и HOMA-IR-[Кръвна захар (mmol/l)-0 min x Инсулин (mIU/l)-0 min]/ 22.5. Критериите на C30, EGIR и Американската национална образователна програма за холестерола (NCEP) за дефиниране на метаболитен синдром при лица с нормален глюкозен толеранс бяха приложени. Данните са представени като средни със стандартно отклонение, медиана, граница, минимално и максимално ниво и персантили. Инсулиновата чувствителност, изразена като количество метаболизирана глюкоза (M) бе- $6.296 \pm 3.176$  mg/kg/min (средна $\pm$ SD) при минимално ниво-1.364 и максимално ниво-10.094 mg/kg/min. Серумният инсулин на гладно бе- $16.7 \pm 10.7$  mIU/l (средна $\pm$ SD) при минимално ниво-4.6 и максимално ниво-32 mIU/l, а HOMA-IR бе-  $3.48 \pm 2.33$  (средна $\pm$ SD) при минимално ниво-0.88 и максимално ниво-7.25. Според критериите на C30 за инсулинова резистентност, най-ниският коортил на количеството метаболизирана глюкоза (M) бе  $2.779$  mg/kg/min, а най-високият коортил на HOMA- $5.64$ . Според критерия на EGIR за инсулинова резистентност най-високият коортил на серумния инсулин на гладно беше- $27.3$  mIU/l. Беше установена значима негативна корелационна зависимост между M и HOMA IR- $r=-0.9014$ ,  $p < 0.001$  и между M и серумният инсулин на гладно- $r=-0.9251$ ,  $p < 0.001$  и значима позитивна корелационна зависимост между HOMA IR и серумният инсулин на гладно-  $r=0.9847$ ,  $p < 0.001$ . При пет лица от изследваната група, прилагайки дефиницията на C30, EGIR и NCEP бе

прието наличие на метаболитен синдром. При всички бяха изпълнени критериите на Световната здравна организация.

Настоящото проучване оцени инсулиновата резистентност според нивата на количеството метаболизирана глюкоза, определено с кламп техника, хомеостазния модел на инсулинова резистентност и серумния инсулин на гладно, които биха могли да се имат пред вид при лица с нормален глюкозен толеранс и наднормено тегло или затлъстяване за скрининг на метаболитен синдром.

## ABSTRACT

Insulin resistance is an obligatory component of the metabolic syndrome, according to definitions of World Health Organization and European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR). The aim of the present study was to assess insulin resistance in overweight or obese persons with normal glucose tolerance applying the "gold standard"-hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and indexes- homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and fasting serum insulin for screening of the metabolic syndrome. 15 persons (6 males, 9 females) with normal glucose tolerance and without family history of diabetes of mean age- $50.7 \pm 15.4$  yrs, BMI- $30.9 \pm 6.0$  kg/m<sup>2</sup>, systolic blood pressure- $141 \pm 28$  mmHg, diastolic blood pressure- $88 \pm 11$  mmHg participated in the study. Insulin sensitivity was measured with the "gold standard"-hyperinsulinaemic euglycaemic clamp technique and expressed as an amount of glucose metabolized (M) in the last 30 minutes of the clamp test. Indexes of insulin resistance-fasting serum insulin and HOMA-IR [Glucose (mmol/l)-0 min x Insulin (mIU/l)- 0 min ]/ 22.5 were defined as well. The criteria of WHO, EGIR and National Cholesterol Education Program (NCEP) for definition of the metabolic syndrome in persons with normal glucose tolerance were applied. The data are presented as mean with standard deviation, median, range, minimal and maximal level and percentiles. Insulin sensitivity expressed as an amount of glucose metabolized (M) was- $6.296 \pm 3.176$  mg/kg/min (mean $\pm$ SD) at minimal level-1.364 and maximal level-10.094 mg/kg/min. Fasting serum insulin was- $16.7 \pm 10.7$  mIU/l (mean $\pm$ SD) at minimal level-4.6 and maximal level-32 mIU/l and HOMA-IR was  $3.48 \pm 2.33$  (mean $\pm$ SD) at minimal level 0.88 and maximal level-7.25. According to WHO criteria for insulin resistance, the lowest quartile of the amount of glucose metabolized (M) was 2.779 mg/kg/min and the highest quartile of HOMA was 5.64. According to criterion of EGIR for insulin resistance, the highest quartile of fasting serum insulin was 27.3 mIU/l. It was established a significant negative correlation between M and HOMA IR- $r=-0.9014$ ,  $p < 0.001$  and between M and fasting serum insulin- $r=-0.9251$ ,  $p < 0.001$  and a significant positive correlation between HOMA IR and fasting serum insulin- $r=0.9847$ ,  $p < 0.001$ . In five persons from the study group, applying the definition of WHO, EGIR and NCEP a presence of the metabolic syndrome was accepted. In all of them the criteria of WHO were fulfilled.

The present study assessed the insulin resistance according to the levels of an amount of glucose metabolized, defined with clamp technique, homeostasis

model assessment of insulin resistance and fasting serum insulin which could be in consideration in persons with normal glucose tolerance and overweight or obesity for screening of the metabolic syndrome.

23. Др. Коев, П. Ангелова-Гатева, Н. Овчарова, **П. Каменова**. Серумно ниво на фруктозамина при компенсирани и декомпенсирани захарни диабет. Съвременна медицина 1988; 39(11): 15-19.

Dr. Koev, P. Angelova-Gateva, N. Ovcharova, **P. Kamenova**. Fructosamine serum level in compensated and decompensated diabetes mellitus. Savremenna Medicina 1988; 39(11): 15-19.

### Summary

The fructosamine serum level was examined in 84 diabetic patients, men and women, from 19 to 74 years of age. 22 patients were in a good metabolic state and the remaining 61 patients were in bad metabolic control at the time of the examination. The fasting and the postprandial blood sugar levels were used as criteria for assessment of the degree of metabolic control. The average fructosamine serum level of the group of patients in good metabolic condition is 1,96 mmol/l, hemoglobin A1c is 10.5%, the circulating immune complexes are 108, 78 U. In the group of patients with bad metabolic control the fructosamine serum level is 3, 002 mmol/l, hemoglobin A1c is 14,18%, the circulating immune complexes are 103, 01 U and the average mass molecules are 0,473 U. In the control group the fructosamine serum level is 2,09 mmol/l, hemoglobin A1c is 7,6%, the circulating immune complexes are 70,60 U, the average mass molecules are 0,254.

The data of the study show that fructosamine is a reliable and available index which can be used in the assessment of the degree of metabolic control in diabetic patients as well as for diagnostic screening of diabetes. The method can be used also for the follow up of diabetic patients in outpatient conditions.

24. А-М. Борисова, Ц. Танкова, **П. Каменова**, Л. Даковска, Г. Кирилов, Н. Генов, Р. Ковачева, Б. Милчева, Д. Коев. Сипротерон Ацетат подобрява бета клетъчната функция при постменопаузални жени със захарен диабет тип 2. Акушерство и гинекология 2003; 42(5): 8-14.

A-M. Borissova, Tz. Tankova, **P. Kamenova**, L. Dakovska, G. Kirilov, N. Genov, R. Kovacheva, B. Milcheva, D. Koev. Cyproterone acetate improves beta-cell function in postmenopausal women with diabetes mellitus type 2. Akusherstvo i ginekologija 2003; 42(5): 8-14.

### Резюме

Менопаузата е свързана с два рисковни фактора за развитието на захарен диабет-нарушена инсулинова секреция и инсулинова резистентност. Физиологично естрогените подобряват въглехидратния метаболизъм, но не стои така въпросът с различните прогестини. Целта на проучването е да се

изследва ефектът на cyproterone acetate (прогестоген с прогестеронови и антиандрогенни качества) върху инсулиновата секреция, инсулиновата резистентност, липидите и показателите на оксидативния стрес. Изследвани са 7 жени със захарен диабет тип 2, в менопауза средно от 5 години, BMI-средно  $30.80 \text{ kg/m}^2$ , в добра метаболитна компенсация (средна дневна кръвна захар (СДКЗ)- $7.66 \pm 1.25 \text{ mmol/l}$ ), с дислипидемия, с нормални показатели на калциево-фосфорната обмяна и с остеопения (T-score < 88%). Беше приложен за срок от три месеца Climen (Schering)-estradiol valerate+cyproterone acetate. Бета клетъчната функция се прецени чрез ВГТТ-първа фаза и втора фаза на инсулиновата секреция (ПФИС, респ. ВФИС), както и чрез площите под кривата за съответната фаза. Периферната инсулинова чувствителност (М) се измери чрез мануална еугликемична хиперинсулинемична кламп техника.

Болните със захарна болест тип 2 от нашето проучване не повишиха теглото си в хода на ХЗТ, а дори леко го намалиха с 0.7%. След 3-месечно лечение с Climen отчетливо се подобри инсулиновата секреция-с 16% ПФИС и с 44 % ВФИС, инсулиновата чувствителност с 15%. ТГЛ намалеха с 16 %, HDL- холестеролът се повиши с 27 % и ТАОК се повиши с 7 %. Благоприятно повлияните патофизиологични нарушения се отразиха на метаболитната компенсация и СДКЗ се снижи с 9.7% след 3-я месец, а HbA1c- с 3%.

## Abstract

Menopause is associated with two main risk factors for the development of type 2 diabetes mellitus-impaired beta-cell insulin secretion and insulin resistance. Physiologically estrogens improve carbohydrate metabolism, but this is not the case with different progestogens. The aim of the present was to evaluate this effect of Cyproterone acetate (a progestogen with antiandrogenic activity) on insulin secretion, peripheral insulin sensitivity, lipid parameters and parameters of oxidative stress. Seven type 2 diabetic females, of mean age  $55.4 \pm 4.7$  years and mean BMI  $30.8 \pm 9.39 \text{ kg/m}^2$ , in menopause for average 5 years, in good borderline glycaemic control (mean HbA1c 7.8%), with dyslipidaemia, normal parameters of calcium and phosphate metabolism and with osteopenia (T-score < 88%) were enrolled in the study. They were treated with Estradiol valerate+Cyproterone acetate (Climen, Schering) for three months. Phases of insulin secretion-first phase (FPIS), second phase (SPIS) and AUC for FPIS and SPIS were assessed during IVGTT. Insulin sensitivity was determined with the manual method of euglycaemic hyperinsulinaemic clamp technique. The postmenopausal diabetic women in the present study were with overweight and obesity; they did not increase their body weight during HRT and even decreased it by mean 0.7%. Insulin secretion improved after Climen –FPIS increased by 16% and SPIS by 44%. Insulin sensitivity increased by 15%; triglycerides decreased by 16% and HDL-cholesterol increased by 27%. Total antioxidant capacity of the serum (TAOK) increased by 7%. The favourable effect on the pathophysiological mechanisms improved metabolic control- HbA1c was reduced

by mean 3 % after 3 months. In conclusion, our results suggest that HRT with the progestogen Cyproterone acetate (Climen) should be preferred in postmenopausal type 2 diabetic females with predominant beta-cell insulin secretion defect.

10. 12. 2020 г.

Изготвил: Д-р Петя Каменова Петкова  
Подпис:

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'P' followed by several loops and a final flourish.