

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

ФАКУЛТЕТ ОБЩЕСТВЕНО ЗДРАВЕОПАЗВАНЕ
Катедра по хигиена и епидемиология

Д-р Иван Георгиев Енев

**Микронутриентна суплементация при пациенти с диабет
тип II на лечение с метформин**

АВТОРЕФЕРАТ

за

Дисертационен труд за присъждане на
образователна и научна степен „ДОКТОР“

Научна специалност – „Хигиена” (вкл. Хранене и диететика)

Научен ръководител:

Проф. д-р Дарина Найденова Христова, д.м.

Варна, 2025 г.

Дисертационният труд съдържа 163 страници и е онагледен с 30 таблици, 15 фигури и 9 приложения.

Библиографската справка включва 315 източници, от които 4 са на кирилица и 311 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден на катедрен съвет на Катедрата по хигиена и епидемиология към МУ-Варна на 27.02.2025 г. и е одобрен и насочен за публична защита пред Научно жури в състав:

Външни членове:

1. Проф. д-р Веселка Лалева Дулева, д.м.
2. Проф. д-р Мария Миткова Орбецова, д.м.
3. Проф. д-р Людмила Бориславова Иванова, д.м.

Резервен външен член:

Доц. д-р Ваня Атанасова Бойчева-Бирданова, д.м.

Вътрешни членове:

1. Проф. д-р Ружа Златанова Панчева-Димитрова, д.м.
2. Доц. д-р Росица Христова Станчева-Чамова, д.м.

Резервен вътрешен член:

Доц. д-р Светлана Христова Христова, д.м.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на **06.06.2025 г. от 09.30 часа** в зала „Докторантско училище“ на Медицински университет – Варна, ул. Марин Дринов 55.

Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на МУ-Варна и са публикувани на интернет страницата на университета.

Съдържание

АВТОРЕФЕРАТ	1
Използвани съкращения.....	4
Въведение.....	5
Цел и задачи	9
Материали и методи	10
Резултати	18
Обсъждане.....	55
Изводи.....	64
Заключения и препоръки към институции	65
Приноси.....	69
Публикации и участия в научни форуми	71

Използвани съкращения

BMI – Индекс на телесна маса

EFSA – Европейски орган по безопасност на храните

DPP4 – дипептидил-пептидаза 4

GLP-1 – глюкагоноподобен пептид

HbA1c – гликиран хемоглобин

НОМА-IR – оценка на хомеостазния модел- изчислена инсулинова резистентност

IR – инсулинова резистентност

MTHFR – метилентетрахидрофолат редуктаза

K⁺ – калий

Na⁺ – натрий

ЗД2 – захарен диабет тип 2

ИАЛ – Изпълнителна агенция по лекарствата

НЗОК – Национална здравноосигурителна каса

НСОПЛБ – Национално сдружение на общопрактикуващите лекари в България

НСПВС – нестероидни противовъзпалителни средства

ОПЛ – общопрактикуващ лекар

СН – сърдечна недостатъчност

Въведение

Захарният диабет е метаболитно заболяване, характеризиращо се с хипергликемия, която е резултат от нарушение в инсулиновата секреция, в инсулиновото действие или в двете заедно [Alberti K.G.M.M, 1998].

Това е социално значимо заболяване, като в България от захарен диабет боледуват около 9% от населението, или около 500 000 пациенти. Огромната част от тях (около 90%) боледуват от ЗД2.

ЗД2 се характеризира с развитие на инсулинова резистентност (IR) и често, но не винаги, се съчетава с наднормено тегло или затлъстяване, артериална хипертония, дислипидемия и други маркери на метаболитен синдром.

ЗД2 е хронично заболяване, което изисква големи разходи, контрол и съвременно лечение на неговото протичане, а така също за превенция и лечение настъпилите късни усложнения. Според различни експертни оценки, здравното обслужване на хората със захарен диабет струва поне 2.5 пъти повече от това на хората без диабет на същата възраст.

Основната цел на лечението и мониторинга на болните от ЗД2 включва контрол на хипергликемията и превенция на усложненията – дислипидемия, макроангиопатия, микроангиопатия, нефропатия и невропатия.

Основните подходи в лечението на захарния диабет включват:

- Обучение на пациента за естеството на заболяването, определяне на лични здравни цели, мотивация за промяна в начина на живот и хранене.
- Препоръки за дозирана физическа активност и хранене.
- Лекарствена терапия с перорални антидиабетни лекарства (метформин, сулфонилурейни препарати, тиазолинидниони).

- При изчерпване на възможностите на пероралната терапия се преминава към лечение с DPP-4 – инхибитори, GLP-1 рецепторни агонисти, SGLT2 инхибитори, инсулин, инсулинови аналози.

Профилактичното и лечебно хранене при ЗД2 (medical nutrition therapy) се основават на консумацията на разнообразни храни, доставящи всички необходими микронутриенти. Проучванията намират връзка между неадекватния витаминен внос, гликемичния контрол и прогресията на ЗД2. Различните витамини се намесват на различни етапи в метаболитни процеси при захарния диабет. В същото време, хранителният статус на пациентите със ЗД2 и нивата на мастно- и водноразтворимите витамини нерядко се използват от вниманието както на лекарите, така и на техните пациенти.

Метформин остава „златен стандарт“ като средство на първи избор за моно- и комбинирана терапия, вкл. с инсулин, при пациентите със ЗД2.

При правилна употреба, лечението с метформин има благоприятни плейотропни ефекти, нисък риск от хипогликемия и незначителния риск от лактацидоза при правилна употреба. Наред с това, хроничното лечение с метформин може да индуцира дефицит на витамин В₁₂ и фолиева киселина. Дефицитът на витамин В₁₂ може да доведе до или да задълбочи и влоши протичането на когнитивни нарушения, депресия, периферна полиневропатия, в някои случаи макроцитна анемия. При диабетиците на лечение с метформин се установяват по-лоши когнитивни показатели, в сравнение с диабетици, които не провеждат лечение с метформин и в сравнение с лица, неболедуващи от ЗД2.

Дефицитът на фолиева киселина води до мегалобластна анемия, влошаване на сърдечно-съдови болести, старческа деменция и

рак. Дефицитът на фолиева киселина е особено неблагоприятен за болни с пролиферативна диабетна ретинопатия.

При съчетан дефицит на витамин В₁₂ и фолиева киселина се покачват нивата на хомоцистеин, което е свързано с токсични за съдовия ендотел, особено за ендотела на ретината. Дори краткосрочното лечение с метформин води до намаляване на нивата на фолиева киселина и витамин В₁₂ и до покачване на нивата на хомоцистеин.

При захарен диабет тип 2 са описани и редица други дефицити на микронутриенти – витамин D, магнезий, витамин K, които оказват влияние на метаболитния контрол на заболяването.

В България няма целенасочени и всеобхватни изследвания върху микронутриентния статус при ЗД2 и изобщо при това хронично заболяване, особено през последните години. Самият захарен диабет е заболяване, при което се наблюдава дефицит на някои микроелементи, но този въпрос не е достатъчно системно проучен. Заместването на недостига (дефицита) на необходими микронутриенти остава встрани от консенсусите за лечение на ЗД2.

Съгласно изискванията на НЗОК, диспансеризацият лекар (ОПЛ), който наблюдава болния от ЗД2, назначава веднъж годишно изследване на креатинин и микроалбуминурия и изследване на гликиран хемоглобин – на 6 месеца, както и по преценка веднъж на 6 месеца – кръвно-захарен профил.

Общопрактикуващият лекар насочва веднъж годишно пациента за консултация при ендокринолог, ако нивото на гликирания хемоглобин (HbA1c) е $\geq 8\%$. В останалите случаи консултацията с ендокринолог се прави по преценка. Ако заболяването протича с усложнение, НЗОК заплаща един път на две години допълнителна консултация със съответния профилен специалист (невролог, офталмолог, съдов хирург или хирург).

Световните литературни данни за честотата на редица микронутриентни дефицити специално в групата пациенти, които провеждат лечение с метформин са противоречиви, а в България такива системни изследвания липсват.

Към момента няма общоприет модел на суплементация при пациенти със ЗД2 в световен мащаб – нито по отношение на търсенето и диагностицирането на евентуални микронутриентни дефицити, нито по отношение на типа суплементацията – дали да бъде с монокомпонентни или с поликомпонентни съставки.

Най-адекватният и ефективен подход би бил индивидуалният. При него, всеки пациент трябва да бъде оценяван и изследван относно рисковете за микронутриентни дефицити.

Персоналната оценка на хранителния и здравен статус трябва да е доминираща в клиничната практика.

Имайки предвид хроничния ход на заболяването и голямата му давност, задълбочаващите се във времето микронутриентни дефицити биха могли да са сериозен фактор както за появата и прогресията на усложнения на ЗД2, така и за влошено качество на живот. С оглед на горепосоченото, както и поради нарастващата честота на ЗД2 е наложително провеждането на настоящето проучване.

Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е да се установи микронутриентния статус на амбулаторни пациенти със ЗД2, провеждащи лечение с метформин като монотерапия, да се разкрият особеностите на хранителните им навици и необходимостта от суплементация.

В тази връзка бяха формулирани следните задачи:

1. Да се установи наличието на дефицити на витамин D, витамин B₁₂, фолиева киселина, магнезий и желязо при пациенти със ЗД2 на монотерапия с метформин.
2. Да се анализира връзката между микронутриентния статус и метаболитния контрол на диабета (гликиран хемоглобин, липиден профил, бъбречна и чернодробна функция).
3. Да се оцени влиянието на хранителния режим върху микронутриентния статус.
4. Да се установи връзката между нивата на витамин B₁₂ и проявите на диабетна невропатия.
5. Да се оцени ефективността на стандартната суплементация за корекция на микронутриентни дефицити и връзката ѝ с клиничната картина.
6. Да се разработят препоръки към ОПЛ и специалисти по ендокринология за мониторинг и корекция на микронутриентния статус при пациенти със ЗД2.
7. Да се създадат въпросници и наръчник за самоконтрол на храненето с цел обучение на пациенти със ЗД2.

Материали и методи

В периода от 20.03.2021 г. до 26.03.2024 г. е проведено проспективно, отворено проучване, обхващащо пациенти с поставена диагноза захарен диабет тип 2 на лечение с метформин и диета.

Методите и процедурите, свързани с настоящото проучване, са осъществени в рамките на редовните диспансерни прегледи на пациентите – веднъж на 3 месеца.

Клиничните прегледи и процедури са осъществявани в кабинета по обща медицина на главния изследовател в ДКЦ 2, ул. „Никола Вапцаров“ 1, в гр. Враца.

Обект на проучването

Обект на проучването са пациенти на възраст над 18 години, боледуващи от ЗД2, с препоръки за следване на диета №9 от ендокринолог, на медикаментозна монотерапия с метформин, назначен също от ендокринолог.

От общо 190 пациенти със захарен диабет тип 2 в лекарската практика са подбрани 48 пациенти, които:

- Провеждат монотерапия с метформин.
- Изразяват и са попълнили информирано съгласие за участие в проучването.
- Са съгласни да заплатят необходимите изследвания и да попълнят изискуемите документи (хранителни дневници и анкети за честота на прием на хранителни продукти).

Общо за периода са направени 1 410 диспансерни прегледи на всички 190 пациенти със ЗД2. На избраните за участие в проучването пациенти за периода са проведени 172 прегледи.

Дизайн на проучването

Проучването е проспективно, отворено (без заслепяване) и експериментално, без контролна група (single-arm). Основната цел е да се проследят ефектите на терапията с метформин върху микронутриентния статус и метаболитния контрол при пациенти със захарен диабет тип 2.

Изследването използва сравнителен дизайн **преди** и **след** лечението, като всяка група участници служи като свой собствен контрол. Пациентите преминават през серия от редовни диспансерни прегледи, при които се измерват различни метаболитни и биохимични показатели, включително нива на микронутриенти и гликиран хемоглобин, в началото и края на изследвания период. Тъй като в проучването няма контролна група, дизайнът му е експериментален, съсредоточен върху наблюдението на промените, настъпващи вследствие на лечението, и изследване на ефектите от терапията върху пациента в реална клинична среда. Лицата са набирано лично от главния изследовател в рамките на лекарската му практика като общопрактикуващ лекар в гр. Враца. Участието на лицата е на доброволен принцип. Критериите за включване и изключване от проучването са оценявани лично от главния изследовател.

Критерии за включване в проучването:

- Диагноза захарен диабет тип II на монотерапия с метформин;
- Възраст над 18 години;
- Местоживеене в гр. Враца, с Главаци и с. Краводер (област Враца);
- Подписано информирано съгласие за участие.

Критерии за изключване от проучването:

- Наличие на доказана и диагностицирана наследствена анемия;
- Пациенти с резекции на горните отдели на стомашно-чревния тракт;
- Пациенти на хронично лечение с блокери на протонната помпа (PPI) като esomeprazole, lansoprazole, omeprazole, pantoprazole и rabeprazole;
- Пациенти на хронично лечение с H2-блокери като ranitidine и famotidine;
- Пациенти, страдащи от хронични заболявания на тънкото черво, пречатстващи резорбцията на микронутриенти (цъолиакия, болест на Crohn, хроничен улцеро-хеморагичен колит и др.);
- Пациенти, страдащи от аутоимуни заболявания, водещи до ускорен метаболизъм – лупус еритематозус, Базедова болест;
- Пациенти с тежки заболявания на опорно-двигателния апарат, ограничаващи възможностите им за амбулаторно изследване;
- Бременни и кърмещи;
- Липса на диагноза ЗД2 на лечение с метформин;
- Преминаване към терапия за диабета различна от метформин;
- Възраст извън посочената;
- Местожителство извън посоченото;
- Липса на подписано информирано съгласие.

От поканените и запознати с информативна брошура за изследването информирано съгласие за участие в проучването са подписали 48 пациенти – 27 жени и 21 мъже.

В рамките на редовните диспансерни прегледи на участниците в проучването, след разяснение на целите на проучването и подписване на информирано съгласие са назначавани:

- Изследвания, включени в наредбата за диспансеризация на болни от ЗД2: ПКК, креатинин, урея, микроалбуминурия, липиден профил, кръвно-захарен профил, гликиран хемоглобин.
- Лабораторни изследвания за диагностициране на електролитни нарушения – натрий, калий, фосфор, калций.
- Допълнителни лабораторни изследвания на биомаркери за микронутриентни дефицити: серумно желязо, ЖСК, витамин D, витамин B₁₂, фолати, хомоцистеин, магнезий, остеокалцин.

Поради COVID-19 пандемията и други логистични причини (цена на изследването, ограничения за прием на определени вещества и др.), повечето пациенти са отказали изследване на хомоцистеин и остеокалцин. Затова статистическа обработка на резултатите от тези два показателя не е осъществена.

За всеки участник в проучването освен клиничния преглед, изискуем по наредбата за диспансеризация, е осъществен:

- Оценка на хранителен статус, антропометрия и водене на хранителен дневник (тридневен рикол);
- Оценка на честота на хранителен прием за определени групи храни.

Всички методи и процедури са осъществявани в следния ред:

Първоначален преглед

При първоначалния преглед се прави клиничен преглед и се назначават лабораторните изследвания. Пациентът се обучава за попълване на хранителен дневник и анкета за приеманите хранителни продукти в рамките на 15 минути. Лабораторните

результати, назначени в този преглед по-нататък са отразени като „първа визита“.

Втори преглед

При втория преглед се обсъждат получените резултати. При установяване на дефицити на микронутриенти се назначава съответната суплементация. При установяване на дефицит на определен микронутриент е назначавана суплементация с лекарствен продукт, регистриран в Изпълнителна агенция по лекарствата (ИАЛ) както следва:

- При установяване на дефицит на витамин D – първоначална суплементация с 2000 UI витамин D3 (Cholecalciferol) дневно, еквивалентни на 50 µg холекалциферол.
- При установяване на дефицит на витамин B₁₂ – първоначална суплементация с 1000 µg витамин B₁₂ (Cyancobalamin) перорално.
- При установяване на дефицит на магнезий – първоначална суплементация с 500 mg магнезиев оротат, еквивалентен на 1.35 mmol или 32.8 mg магнезий.
- При установяване на дефицит на фолиева киселина – първоначална суплементация с 5 mg дневно (5000 µg).
- При установяване на дефицит на желязо – първоначална суплементация с 325 mg жлезен сулфат (ferrous sulphate), таблетки с удължено действие, осигуряващ внос на 105.0 mg елементарно желязо.

На всички пациенти са дадени разяснения за лечебно хранене при захарен диабет тип 2 след анализ на резултатите от хранителния дневник и хранителните предпочитания.

Трети преглед

Третият преглед е провеждан в рамките на следващия пореден диспансерен преглед за ЗД2, за да е по-удобно на пациента и да е достатъчна степента на сътрудничество. При него също се прави клиничен преглед, антропометрия и се назначават контролни лабораторни изследвания. Следва второ попълване на хранителен дневник за три дни и анкета за консумация на определени хранителни продукти. Дават се повторно съвети за хигиенно-диетичен режим. Лабораторните резултати, назначени в този преглед, по-нататък са отразени като „втора визита“.

Четвърти преглед

При четвъртия преглед се прави оценка на резултатите от повторното изследване, корекция на терапията, съвети за хигиенно-диетичен режим. При този преглед отново е провеждана беседа с всеки пациент относно хранителните навици и предпочитания, макро- и микронутриентния състав на консумираната храна, контролът на лабораторните показатели (метаболически статус, гликиран хемоглобин), контролът на мастната маса (телесно тегло, индекс на телесна маса, обиколка на талия) и са обсъждани сърдечно-съдовите рискови фактори.

При повторно установяване на дефицит на съответните микроелементи, дозата на суплементацията е коригирана съответно:

- При установяване на дефицит на витамин D – суплементация с 5000 UI витамин D3 (Cholecalciferol) дневно, еквивалентни на 125 µg холекалциферол.
- При установяване на дефицит на витамин B₁₂ – суплементация с 2000 µg витамин B₁₂ (Cyanocobalamin) перорално, или преминаване към парентерално приложение на витамин B₁₂ 1000 µg мускулно веднъж седмично.

- При установяване на дефицит на магнезий – първоначална суплементация с 3x2 таблетки магнезиев оротат, еквивалентни на 196.8 mg магнезий, последвани от поддържаща доза от 65.6 mg магнезиев оротат (2 таблетки дневно).
- При установяване на дефицит на фолиева киселина – корекция на дозировката с увеличаване на дозата до 10 mg дневно.

При установяване на дефицит на желязо – продължаване на суплементацията без промяна на дозировката. Ако при пациента по време на четвъртия преглед се установява за първи път дефицит на микронутриент, е назначавана суплементация в дози, използвани за първоначално установен дефицит.

Клиничните прегледи и процедури са осъществявани в кабинета по обща медицина на главния изследовател в ДКЦ 2, ул. „Никола Вапцаров“ 1, в гр. Враца.

Лабораторните изследвания са назначавани в рамките на диспансерните прегледи. Допълнителните изследвания, извън покриваните от НЗОК, са заплащани лично от пациента.

Лабораторните изследвания са осъществявани в три сертифицирани лаборатории, сключили договор с НЗОК – „Рамус“, „Цибалаб“ и на територията на ДКЦ 1 в гр. Враца.

Методи

За целите на настоящото изследване са използвани следните методи:

1.1. Клиничен преглед

- Анамнеза, общ клиничен статус, измерване на кръвно налягане, ЕКГ, антропометрия (ръст, тегло, талия)

- **Лабораторни методи:** Пълна кръвна картина, серумна глюкоза, HbA1c, липиден профил, пикочна киселина, креатинин, урея, микроалбуминурия, чернодробни трансаминази (AST, ALT, GGT), електролити (натрий, калий, калций, магнезий, фосфор, серумно желязо, ЖСК,
 - Витамин B₁₂, фолати, витамин D
- 1.2. Оценка на хранителен статус**
- Индекс на телесна маса (BMI), изчислен по стандартната формула $BMI = \text{Тегло (kg)} / \text{ръст}^2 (\text{m}^2)$
- 1.3. Анкетен метод – разработен от главния изследовател**

Хранителен дневник, чийто формуляр се предоставя на пациента, след което същият е обучен как да отговори на въпросите възможно най-точно, и Анкета за честотата на консумация на различни видове храни и хранителни продукти. Обучението за попълване на хранителният дневник е с приблизителна продължителност около 10–15 минути.

1.4. Статистически методи

Използваните статистически методи включват независим t-тест (Independent Samples t-test) за сравнение на средни стойности между две независими групи и неговия непараметричен аналог – тест на Ман-Уитни (Mann-Whitney U test). За сравнение на зависими извадки е приложен сдвоен t-тест (Paired Samples t-test) и неговият непараметричен аналог – тест на Уилкоксън (Wilcoxon Signed-Rank test). Оценката на ефекта на размера за параметричните тестове е извършена чрез коефициента на Коен (Cohen's d) за независими и зависими извадки, а за непараметричните тестове – чрез бисериална ранкова корелация (Rank-Biserial Correlation). За анализ на връзките между променливите са изчислени Пийърсънова корелация (Pearson's r).

Статистическите анализи са проведени с jamovi версия 2.6.

Резултати

Обща характеристика на пациентската извадка – пол, възраст, проценти на дефицити (данни от първата визита)

Възрастово и полово разпределение на пациентите

Възрастовото и полово разпределение на пациентите, включени в изследването, са представени на Фиг. 1.

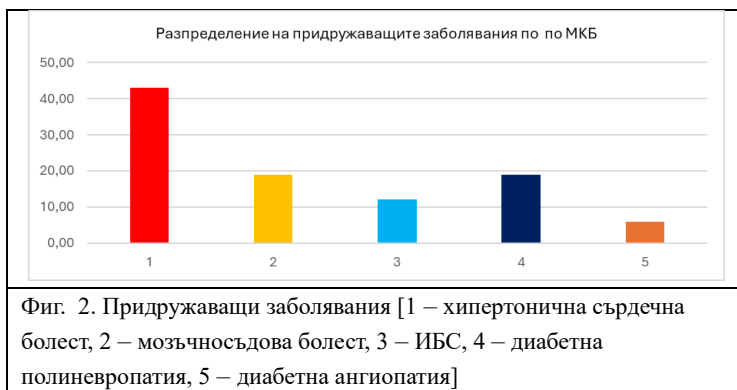


Разпределението по пол е с незначителен превес на женския пол – 56.3% (27 пациентки) са жени, а 43.8% (21 пациенти) са мъже.

Средната възраст на участниците при включване в проучването е 61 години. Най-младата пациентка при включване в проучването е на 34 години, а най-възрастната – на 79 години. Най-младият пациент при включване в проучването е на 25 години, а най-възрастният – на 84 години. Средната възраст на участниците при приключване на проучването е 63 години.

Най-младата пациентка при приключване на проучването е на 35 години, а най-възрастната, на 80 години. Най-младият пациент при включване в проучването е на 26 години, а най-възрастният – на 85 години.

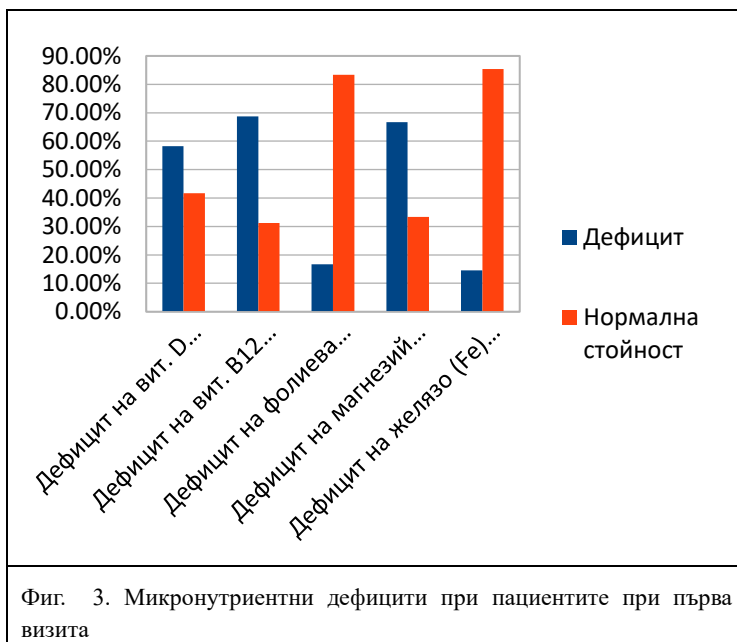
Почти всички пациенти имат от едно до пет придружаващи заболявания (хипертонична сърдечна болест, ИБС, мозъчно-съдова болест, диабетна полиневропатия, диабетна ангиопатия), за които получават съответната терапия (Фиг. 2).



По нозологични диагнози най-голяма е честотата на хипертоничната сърдечна болест, следвана от ИБС и диабетната полиневропатия.

Микронутриентни дефицити, установени след първа визита

При първа визита са назначени и изследвани нивата на витамин D, витамин B₁₂, фолиева киселина, магнезий и желязо при всички 48 участници в проучването. Резултатите са отразени на Фиг. 3, 4 и 5, както и в таблици 2, 3, 4, 5 и 6.



Дефицит на витамин D

При първото посещение нивата на вит. D са измерени при 48 участници. Средната стойност е 18.6 ng/ml (медиана 18.3 ng/ml, SD 7.88), вариращи от 7.10 до 45.5 ng/ml. Адекватни нива на вит. D (>20 ng/ml) се установяват при 41.7 % от участниците в проучването (n=20 пациенти) нивата на вит. D са с адекватни концентрации в кръвта.

Разпределение на пациентите според нивата на витамин D при първа визита		
	Брой	Процент
Нямат дефицит	20	41.7%
Имат дефицит	28	58.3%
Общо	48	100.0:
Табл. 1		

При 28 пациенти (58.3%) е установен дефицит на витамин D. Разпределението на серумните концентрации на витамин D е неравномерно. При 7 пациенти са измерени стойности на витамин D между 7.20 и 9.60 ng/ml, което е показател за тежък дефицит. На всички пациенти с дефицит на вит. D (стойности < 20 ng/ml), независимо от конкретната измерена стойност при пациента (лек или тежък дефицит), е назначена суплементация с 2000 UI Cholecalciferol. Допълнително са дадени указания за диетично хранене и подходящо излагане на слънчева светлина.

Дефицит на витамин B₁₂

При първа визита средната измерена стойност на вит. B₁₂ е 278 pg/ml (SD=122), вариращи от 98 до 615 pg/ml. Адекватни нива на витамин B₁₂ при първа визита (стойности > 300 pg/ml) има при 31.25% от участниците (15 пациенти). Дефицит на витамин B₁₂ (стойности < 300 pg/ml) се установява при 68.75% от участниците в проучването (33 пациенти), (Табл. 2).

Разпределение на пациентите според нивата на вит. B₁₂ при първа визита		
	Брой	Процент
Нямат дефицит	15	31.3%
Имат дефицит	33	68.8%
Общо	48	100.0%
Табл. 2		

Разпределението на измерените стойности вит. B₁₂ по пациенти е неравномерно. Повечето от пациентите са с нива на витамин B₁₂ малко под долна референтна стойност (< 300 pg/ml), но при някои пациенти се измерват изключително ниски нива на витамин B₁₂. Тежък дефицит (стойности < 200 pg/ml) се установява при 13 пациенти, като стойностите варират в широки граници – от 98.00 до 185 pg/ml.

На всички пациенти с дефицит на вит. B₁₂ (стойности < 300 pg/ml) е назначена перорална суплементация с 1000 µg Cyancobalamin. Допълнително са дадени указания за диетично хранене.

Дефицит на фолиева киселина

При първа визита дефицит на фолиева киселина се установява при 8 пациенти, или при 16.67% от участниците в проучването. На всички пациенти с установен дефицит на фолати е назначена суплементация с 5 mg фолиева киселина. Освен на тези 8 пациенти, при които е доказан дефицит на фолиева киселина, суплементация е назначена и на пациенти, чиито стойности на фолатите са близки до долната референтна граница, макар да не отговарят на критериите за дефицит. Затова при първа визита суплементация с фолиева киселина е назначена при 13 пациенти (27.1 %). Без суплементация остават 35 пациенти от всички участници в проучването (72.9 %). Допълнително са дадени указания за диетично хранене.

Дефицит на магнезий

В изследваната от нас група установихме дефицит на магнезий при 32 пациенти от 48 участници, т.е. при 66.7% от всички обхванати лица. На всички пациенти с установен дефицит на магнезий е назначена суплементация с 500 mg магнезиев оротат, еквивалентен на 1.35 mmol или 32.8 mg магнезий. Допълнително са дадени указания за диетично хранене.

Дефицит на желязо

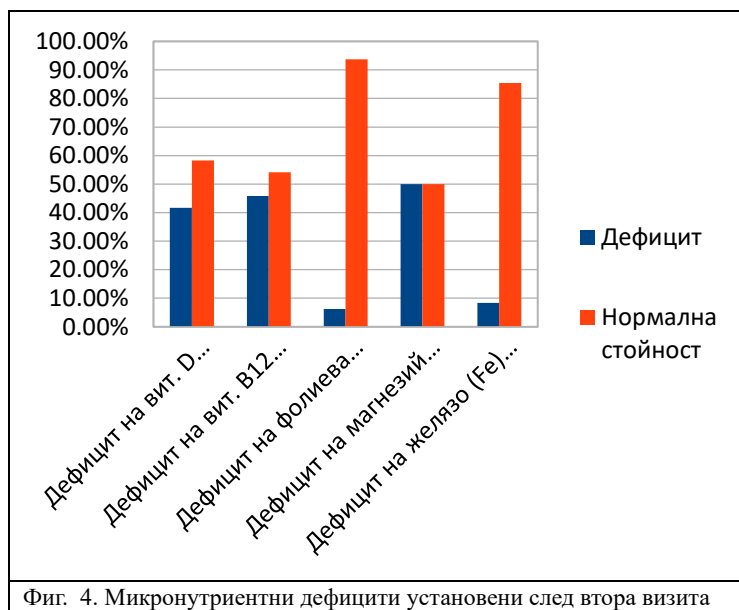
Дефицит на желязо (стойности < 6.0 µmol/L) установихме при 7 пациенти, или 14.59% от участниците в проучването). На всички пациенти с дефицит на серумно желязо е назначена суплементация с 325 mg жлезен сулфат (ferrous sulphate), таблетки с удължено действие, осигуряващ внос на 105.0 mg

елементарно желязо. Допълнително са дадени указания за диетично хранене.

Микронутриентни дефицити след втора визита

Резултатите показват, че има статистически значимо и клинично релевантно подобрене в нивата на витамин D, витамин B₁₂ и магнезий между двете визити, с умерен ефективен размер. Това предполага, че интервенциите между двете визити са имали положителен ефект върху тези параметри. При втора визита е направено контролно изследване на серумните нива на витамин D, витамин B₁₂, фолиева киселина, магнезий и желязо при всички 48 участници в проучването.

Резултатите от изследванията са отразени на Фиг. 4 и в Табл. 3.



Дефицит на витамин D

Въпреки назначената суплементация с 2000 UI витамин D₃, след втора визита все още се установява дефицит на витамин D, макар и при по-малък брой пациенти. Почти при никой от пациентите не е постигната таргетна стойност на вит. D от 40 ng/ml, препоръчвана за пациенти със ЗД2. Броят на пациенти с недостиг на витамин D в проучваната група е намалял от 28 на 20, т.е. от 58.3% при първа визита до 41.7% при втора визита. Компенсация на дефицита с доза от 2000 UI витамин D е настъпила при 8 от 28 пациенти с дефицит. При кръстосано сравнение на нивата на витамин D втора визита спрямо първа визита се установява, че от регистрираните след първа визита 28 пациенти с дефицит на витамин D, след назначената суплементация от 2000 UI Cholecalciferol, дефицитът е преодолян при 13 пациенти (Табл. 3).

Дефицит на витамин D – първа спрямо втора визита					
			Дефицит на вит. D – втора визита		Общо
			Няма	Има	
Дефицит на вит. D – първа визита	Няма	Брой	15	5	20
		%	31.3%	10.4%	41.7%
	Има	Брой	13	15	28
		%	27.1%	31.3%	58.3%
Общо		Брой	28	20	48
		%	58.3%	41.7%	100%
Табл. 3					

При 15 от пациентите дефицитът на витамин D не е преодолян и затова при втората визита се регистрират стойности < 20 ng/ml. Това налага продължаване на суплементацията или преосмисляне на дозата. На тези пациенти, които са имали дефицит при първата визита и продължават да имат такъв след втората визита и назначена суплементация с 2000 UI витамин D, дозата за суплементация е повишена до 5000 UI дневно. При нови 5 пациенти е установен за първи път дефицит на витамин D, затова

общият брой пациенти с дефицит на втора визита $n=20$. На тези 5 пациенти с новооткрит дефицит на витамин D е назначена първоначалната суплементация с 2000 UI Cholecalciferol.

При второто посещение разпределението на суплементацията се е променило – 16 пациенти (33.3%) не са получили суплементация, докато 32 пациенти (66.7%) са получили назначение за суплементация. Въпреки това, средните нива на вит. D при втората визита са сходни между групите – 21.1 ng/ml за несуплементираните (медиана 22.5 ng/ml, SD 8.21) и 21.0 ng/ml за суплементираните (медиана 21.6 ng/ml, SD 7.17).

T-тестът не показва статистически значима разлика между двете групи ($t(46) = 0.0714$, $p = 0.943$), като ефектът е пренебрежимо малък (Cohen's $d = 0.0209$).

Дефицит на витамин B₁₂

Нивата на витамин B₁₂ се повишават значително между първа и втора визита (средна стойност при първа визита: 277.67 ± 121.5 ; при втора визита: 386.00 ± 285.0 ; $p = 0.004$), с умерен ефективен размер (-0.4812). Това предполага, че интервенциите между двете визити са имали положителен ефект върху нивата на витамин B₁₂.

От друга страна, свързаните с витамин B₁₂ нива на хемоглобин и среден обем на еритроцита (MCV) не показват клинично значими промени. Нивата на хемоглобин остават стабилни между двете визити (средна стойност при първа визита: 144.33 ± 14.6 ; при втора визита: 144.48 ± 17.3 ; $p = 0.894$), с незначителен ефективен размер (0.0229). Това показва, че няма значителна промяна в еритропоезата. При MCV също няма значителна разлика (средна стойност при първа визита: 90.53 ± 5.21 ; при втора визита: 91.72 ± 5.96 ; $p = 0.268$), с малък ефективен размер (-0.1845), което предполага, че няма значителна промяна в средния корпускулярен обем на еритроцитите.

След първото посещение 37.5% (n=18) от участниците не са приемали допълнително витамин В₁₂, защото са имали нива > 300 pg/ml. Суплементация е била предписана на 62.5% (n=30) от участниците в проучването. Тринайсет пациенти с дефицит (6.25% от общия брой участници) са отказали назначената суплементация, защото стойностите на вит. В₁₂ са били близки до долната референтна стойност.

При втора визита дефицит на витамин В₁₂ продължава да е налице, но в процентно съотношение броят на пациентите с установен дефицит намалява от 68.75% до 45.83%.

При първа визита дефицит на витамин В₁₂ е имало при 33 пациенти (68.8% от общия брой изследвани). При втора визита дефицит на витамин В₁₂ се установява при 22 пациенти (45.83% от общия брой изследвани). При някои пациенти става дума за новопоявил се дефицит на вит. В₁₂ (Табл. 4).

Дефицит на витамин В12 – първа спрямо втора визита					
			Дефицит на вит. В12 – втора визита		Общо
			Няма	Има	
Дефицит на вит. В12 – първа визита	Няма	n	10	5	15
		%	20.8%	10.4%	31.7%
	Има	n	16	17	33
		%	33.3%	35.4%	68.8%
Общо		n	26	20	48
		%	54.2%	45.8%	100%
Табл. 4					

Компенсация с достигане на стойности > 300 pg/ml е постигната при n=9 пациенти от всички с дефицит (40% от пациентите с дефицит, или 18% от общия брой участници в проучването). Нарастване на стойностите, но без достигане на долна референтна граница(300 pg/ml), се установява при n=6 пациенти, които при първа визита също са имали дефицит. Така, непълна компенсация на дефицита се установява при 27.27% от

пациентите с дефицит, или 12,5% от общия брой участници в проучването. При n=9 от участниците в проучването (18.75% от общия брой участници) при втора визита се установява намаляване на нивата на витамин В₁₂ в сравнение с първата визита. От тях, при n=4 пациенти (8.33% от общия брой участници) се установяват ниски нива на витамин В₁₂ за първи път, след като при първата визита са имали стойности над референтните 300 pg/ml.

При второто посещение делът на несуплементираните намалява до 27.1% (n=13), а този на суплементираните се увеличава до 72.9% (n=35).

Дефицит на фолиева киселина

Нивата на фолати не показват значителна промяна (средна стойност при първа визита: 9.38 ± 4.91 ; при втора визита: 9.90 ± 4.62 ; $p = 0.369$), с малък ефективен размер (-0.1309). Доверителният интервал (-0.414 до 0.1539) потвърждава, че разликата е минимална. От общо 8 пациенти с дефицит на фолиева киселина, корекция на дефицита е настъпила при 6 (12% от общия брой участници в проучването), а при 2 пациенти (4.2% от общия брой пациенти) при втората визита продължава да е налице дефицит на фолиева киселина, което налага продължаване на суплементацията. При фолиевата киселина разпределението на суплементацията остава непроменено между първото и второто посещение – 72.9% (n=35) от участниците не са приемали добавки, а 27.1% (n=13) са били суплементирани. (Табл. 5)

Дефицит на фолиева киселина(ФК) – първа спрямо втора визита					
			Дефицит ФК – втора визита		Общо
			Няма	Има	

Дефицит на ФК – първа визита	Няма	n	39	1	40
		%	81.3%	2.1%	83.3%
	Има	n	6	2	8
		%	12.5%	4.2%	16.7%
Общо		n	26	20	48
		%	93.8%	6.3%	100%
Табл. 5					

Дефицит на магнезий

Нивата на магнезий също показват значително увеличение (средна стойност при първа визита: 0.76 ± 0.12 ; при втора визита: 0.82 ± 0.12 ; $p = 0.014$), с умерен ефективен размер (-0.4073). Това предполага, че промяната е клинично значима. При втора визита, въпреки назначената суплементация, дефицит на магнезий се установява при 50% от участниците в проучването. При по-голямата част от пациентите са достигнати стойности над препоръчаните минимални за общата популация (0.62 mmol/l), но не се достигат минималните стойности, препоръчвани за пациенти със ЗД2 (0.80 mmol/l). При кръстосано съпоставяне на стойностите на магнезий при втора спрямо първа визита се установява, че при първа визита дефицит на магнезий е имало при 32 пациенти (66.7%) от участниците в проучването. При втора визита дефицит на магнезий се установява при 24 пациенти (50%) от участниците в проучването. От тях 14 пациенти са имали дефицит и при първа визита, т.е. при тях постигната е незадоволителна суплементация. При 10 пациенти имат **новоустановен** дефицит на магнезий. При 18 пациенти от всички 32 пациенти с дефицит, описан при първа визита, е постигната компенсация и не се установява недоимък (Табл. 6).

Дефицит на Mg^{2+} – втора спрямо първа визита					
			Дефицит на Mg^{2+} – втора визита		Общо
			Няма	Има	

Дефицит на Mg^{2+} - първа визита	Няма	n	6	10	16
		%	12.5%	20.8%	33.3%
	Има	n	18	14	32
		%	37.5%	29.2%	66.7%
Общо		n	24	24	48
		%	50.0%	50.0%	100%
Табл. 6					

Дефицит на желязо

При анализ на нивата на желязо също няма значителна разлика (средна стойност при първа визита: 14.08 ± 6.01 ; при втора визита: 13.56 ± 5.43 ; $p = 0.316$), с малък ефективен размер (0.1462). Доверителният интервал (-0.139 до 0.4299) потвърждава, че разликата е статистически и клинично незначителна. След първата визита 89.6% ($n=43$) от участниците не са получавали суплементация, защото нивата на желязо са били над долната референтна стойност ($> 6 \mu\text{mol/l}$), а 10.4% ($n=5$) са били суплементирани. С изключение на един пациент, при който на фона на суплементация се наблюдава спадане на серумното желязо, при останалите пациенти железният дефицит е преодолян. За сметка на това обаче има нови пациенти, които са имали гранични стойности на серумното желязо и в рамките на проследявания период нивото на желязото е спаднало под референтните стойности за дефицит ($< 6 \mu\text{mol/l}$). До второто посещение делът на суплементираните се увеличава до 16.7% ($n=8$). Средните нива на желязо при първата визита са значително по-високи в групата без суплементация (Mean = $15.4 \mu\text{mol/L}$, SD = 5.70) спрямо суплементираните (Mean = $7.62 \mu\text{mol/L}$, SD = 2.23), като разликата е статистически значима ($t = 3.76$, $p = 0.001$, Cohen's $d = 1.46$). Този резултат е отражение на факта, че за да се възстанови серумното желязо при наличен дефицит е необходимо достатъчно време, което може да е повече от трите месеца, през които се извършва наблюдението върху пациента.

Връзка между микронутриенти и метаболитен контрол

Корелации от първата визита

При първата визита се наблюдават някои значими връзки между различните биохимични параметри (Табл. 7).

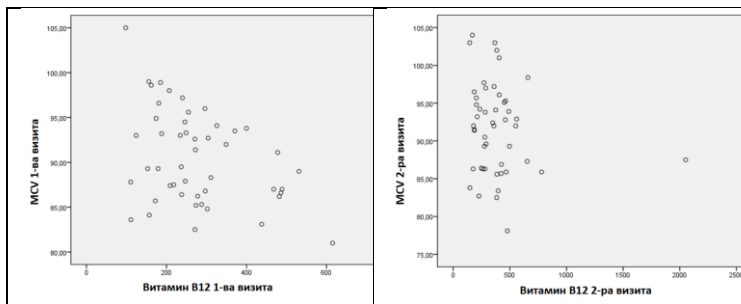
Най-силната корелация е между глюкозата и гликирания хемоглобин – HbA1c ($r = 0.779$, $p < 0.001$), което е очаквано, тъй като HbA1c отразява дългосрочния контрол на нивата на глюкоза в кръвта. Също така, хемоглобинът показва умерена положителна връзка с глюкозата ($r = 0.379$, $p = 0.008$).

Значими корелации между различни показатели при първа визита		
Параметри	Коефициент на корелация (r)	p-стойност
Глюкоза ↔ HbA1c	0.779	< 0.001
Глюкоза ↔ Хемоглобин	0.379	0.008
MCV ↔ Витамин B ₁₂	-0.380	0.008
Фолат ↔ Витамин B ₁₂	0.394	0.006
Желязо ↔ Хемоглобин	0.477	< 0.001
ЖСК ↔ Желязо	-0.707	< 0.001
Табл. 7		

Между MCV и витамин B₁₂ се наблюдава умерена отрицателна връзка ($r = -0.380$, $p = 0.008$). Това може да се обясни с факта, че дефицитът на витамин B₁₂ често води до макроцитоза.

В нашето проучване изследваме наличието или отсъствието на зависимост между на MCV и дефицит на витамин B₁₂. В тази връзка се залага хипотезата, че с намаляването на нивата на вит. B₁₂ би следвало да се покачва средният обем на еритроцитите. При използване на корелационен анализ по Пийърсън се установява наличие на слаба отрицателна връзка между двата

показателя при първа визита и липса на такава връзка при втора визита (Фиг. 5).



Фиг. 5. Съотношение между нивата на витамин В12 и средния обем на еритроцитите (MCV)

Налице е слаба обратна зависимост между изследваните променливи. Установява се статистически значимо повишаване на средния обем на еритроцита (MCV) при пациентите с дефицит на витамин В₁₂, установен при лабораторно изследване. Коефициентът на корелация е статистически значим – $r = -0.380$

Извод: установяването на повишение на $MCV > 96$ fL при пациент със ЗД2 на лечение с метформин може да послужи като маркер за вероятен дефицит на витамин В₁₂ и да даде основание да се назначи допълнително лабораторно изследване. При повторна визита коефициентът на корелация е с отрицателен знак, което показва, че между променливите съществува обратна зависимост, но поради слабата връзка и малкия брой участници в проучването не може да се докаже статистическата значимост на корелационния коефициент. При малкия брой участници в проучването средният обем на еритроцита (MCV) не би могъл да се използва като косвен показател, че дефицитът на витамин В₁₂ при конкретния пациент намалява. Необходимо е да се назначи контролно изследване на нивата на витамин В₁₂.

Фолат и витамин В₁₂ също показват умерена положителна връзка ($r = 0.394$, $p = 0.006$). Това е логично, тъй като и двата нутриенти са важни за правилното функциониране на кръвното образуване и ДНК синтеза.

Желязото и хемоглобинът имат силна положителна връзка ($r = 0.477$, $p < 0.001$), което е очаквано, тъй като желязото е ключов компонент за синтеза на хемоглобин. Накрая, ЖСК и желязото показват силна отрицателна връзка ($r = -0.707$, $p < 0.001$). Това може да се обясни с тяхната взаимовръзка в метаболитните пътища, свързани с кръвното образуване.

Корелации от втората визита

При втората визита се потвърждават някои от наблюденията от първата визита (Табл. 8).

Значими корелации при втора визита		
Параметри	Коефициент на корелация (r)	p-стойност
Глюкоза ↔ HbA1c	0.760	< 0.001
Фолат ↔ Витамин В12	0.476	< 0.001
Желязо ↔ Хемоглобин	0.562	< 0.001
ЖСК ↔ Желязо	-0.753	< 0.001
Табл. 8		

Например, глюкозата и HbA1c отново показват силна положителна връзка ($r = 0.760$, $p < 0.001$), което подчертава стабилността на тази връзка. Фолатът и витамин В₁₂ също показват силна положителна връзка ($r = 0.476$, $p < 0.001$), което потвърждава тяхната взаимозависимост в метаболитните процеси. Желязото и хемоглобинът отново показват силна

положителна връзка ($r = 0.562$, $p < 0.001$), което е в съответствие с ролята на желязото в синтеза на хемоглобин. ЖСК и желязото отново показват силна отрицателна връзка ($r = -0.753$, $p < 0.001$), което потвърждава наблюдението от първата визита. Ново наблюдение при втората визита е слабата отрицателна връзка между MCV и желязото ($r = -0.294$, $p = 0.043$). Това може да се обясни с факта, че ниските нива на желязо могат да доведат до намаляване на размера на червените кръвни клетки (микроцитоза).

Промени в антропометричните показатели на участниците в хода на проучването

В хода на проучването е изследвана промяната в антропометричните показатели на участниците – ръст, тегло, талия, индекс на телесна маса (BMI). Анализираме дали комбинацията от препоръки за спазване на диета №9 и лечение с метформин има ефект върху антропометричните показатели на изследваната група пациенти (индиректно върху масната маса). Приложена е статистическа проверка на хипотезата за разликите между две взаимозависими извадки (Paired t-test) (Табл. 9).

Антропометрични показатели при първа и втора визита				
	Средно	n	SD	Ст. грешка
Тегло – 1 визита	90.34	48	15.750	2.273
Тегло – 2 визита	90.72	48	19.128	2.761
Талия– 1 визита	106.65	48	11.307	1.632
Талия– 2 визита	105.71	48	11.984	1.730
BMI –1 визита	32.661	48	5.56189	0.80279
BMI – 2 визита	33.233	48	10.02118	1.44643
Табл. 9				

Тегло (Weight): $p\text{-value } (0.855/2 = 0.4275) > \alpha$; Разликата е статистически незначима.

Талия (Waist): $p\text{-value } (0.280/2 = 0.140) > \alpha$; Разликата е статистически незначима.

Индекс на телесна маса (BMI): $p\text{-value } (0.524/2 = 0.262) > \alpha$.
Разликата е статистически незначима.

Извод: лечението с метформин оказва слабо, без статистическа достоверност, влияние върху антропометричните показатели на пациентите със ЗД2, участващи в проучването. Не намаляват статистически значимо нито телесното тегло, нито талията, нито индексът на телесна маса (BMI), въпреки добрия контрол на кръвната глюкоза и стабилните показатели на гликирания хемоглобин. Този резултат е в синхрон с характеристиките на медикамента, а именно, че има неутрален ефект по отношение на теглото при хронична употреба.

Връзка между нива на микронутриенти и показатели за метаболитен контрол на ЗД2

Настоящият анализ сравнява средните стойности на биохимични параметри между първа и втора визита, като използва Wilcoxon signed-rank test за непараметрични данни и paired t-test за параметрични данни. Освен статистическата значимост (p-стойност), оценката на ефективния размер (effect size) предоставя информация за практическата значимост на наблюдаваните разлики. Ефективният размер се измерва чрез Cohen's d за t-тестове и rank biserial correlation за Wilcoxon тестове.

Интерпретацията на ефективния размер се основава на следните критерии: **0.2** – малък ефект, **0.5** – умерен ефект, **0.8** – голям ефект (Табл. 10).

Промен- ливи	Средна/ SD (1-ва визита)	Средна/ SD (2-ра визита)	W / t-	P	Rbc/C'd	95% CI
Тегло (kg)	90.34 ± 15.750	90.72 ± 19.128	W = 386	0.855	Rbc: 0.3761	-7.39; 6.15
BMI (kg/m ²)	32.36 ± 5.562	33.23 ± 10.021	W = 405	0.524	Rbc: 0.2841	-0.91; 1.49

Chol (mmol/l)	5.55 ± 1.519	5.30 ± 1.361	W = 700	0.266	Rbc: 0.2411	-0.33; 0.15
HDL (mmol/l)	1.19 ± 0.406	1.15 ± 0.320	W = 659	0.326	Rbc: 0.1684	-0.05; 0.12
LDL (mmol/l)	3.33 ± 0.956	3.23 ± 1.031	t = 0.563, df = 47	0.576	C's d: 0.0813	-0.05; 0.12
TG (mmol/l)	1.88 ± 1.384	2.34 ± 2.835	W = 561	0.228	Rbc: - 0.0459	-0.37; 0.11
UA (μmol/l)	313.31 ± 97.613	317.47 ± 113.765	t = - 0.329. df = 47	0.744	Cohen's d: -0.0475	-8.47; 13.43

Табл. 10

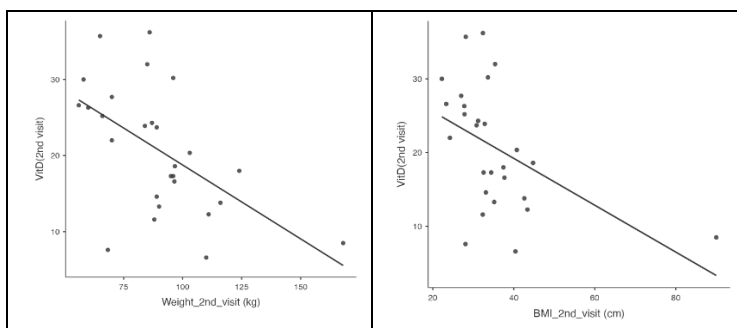
Легенда: Средна = средноаритметична стойност; SD – стандартно отклонение; W = Wilcoxon rank; t- = Paired t-test; Rbc = Rank biserial correlation; C'd = Cohen's d; CI – confidence interval

Извод: При повечето от показателите не се установява статистически значима връзка между нивата на микронутриентите и в метаболитните показатели между първа и втора визита. Изключение прави установената от нас корелация между нивата на вит. D, телното и BMI при жени и между нивата на вит. D, HDL и триглицеридите също при жени.

Липидният профил на участниците не показва статистически значими промени между първата и втората визита. Нивата на общия холестерол, HDL, LDL и триглицеридите остават стабилни през наблюдавания период, без да се наблюдават съществени разлики (p-стойности значително над 0.05). Няма значителни колебания в липидния профил на участниците, което може да предполага, че терапевтичният режим, включващ метформин и

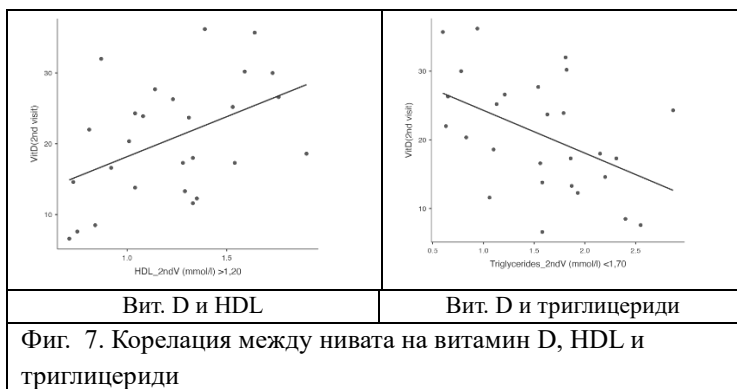
диета, не води до промени в липидните параметри през разглеждания период.

При първа визита не се установява корелация на нивата на вит. D с нито един показател (тегло, стойности от липидния профил, пикочна киселина). При втората визита вит. D корелира с някои показатели при жените. При тях вит. D показва статистически значима отрицателна корелация с теглото ($r = -0.555$, $p = 0.003$) и BMI ($r = -0.477$, $p = 0.012$). Това показва, че по-високите нива на витамин D са свързани с по-ниско тегло и индекс на телесната маса (Фиг. 6).



Фиг. 6. Корелация между нивата на витамин D, тегло и BMI при жени

Витамин D също така показва статистически значима положителна корелация с HDL холестерола ($r = 0.461$, $p = 0.016$), което предполага връзка между по-високите нива на витамин D и по-високите нива на HDL. Корелацията с триглицеридите е статистически значима и отрицателна ($r = -0.467$, $p = 0.014$), което предполага, че по-високите нива на витамин D са свързани с по-ниски стойности на триглицеридите (Фиг. 7).



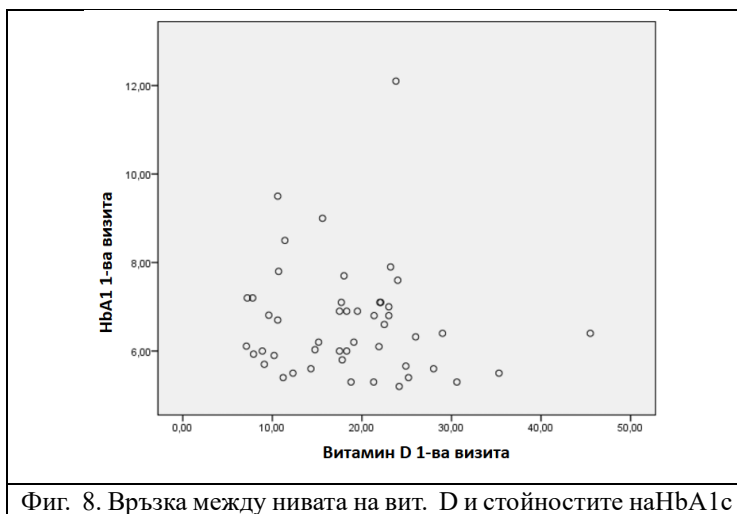
Корелациите с LDL холестерола ($r = 0.042$, $p = 0.836$) и пикочната киселина ($r = 0.160$, $p = 0.426$) не са статистически значими.

При мъжете в изследваната група не се установяват статистически значими зависимости между витамин D, тегло, BMI, липиден профил.

Според данните от литературния обзор, би могла да съществува връзка между нивата на витамин D и гликемичния контрол, отразен с показателя гликиран хемоглобин (HbA1c).

В тази връзка в нашето проучване залагаме хипотезата, че с понижаване на концентрацията на холикалциферол в серума под нормата се увеличава HbA1c. За доказване на тази хипотеза сме използвали корелационен анализ (коефициент на Пийрсън).

Установява се слаба обратна зависимост между двата показателя: намаляването на нивата на вит. D се асоциира с покачване на гликирания хемоглобин. Коефициент на корелация: $r = -0.237$ $H_0: \rho \geq 0$ („po“ = коефициент на корелация за генералната съвкупност) $H_1: \rho < 0$ $p\text{-value} = 0.052 < \alpha = 0.10$ $p\text{-value} = 0.052 > \alpha = 0.05$ $r = -0.237$.



Фиг. 8. Връзка между нивата на вит. D и стойностите наHbA1c

Извод: При равнище на значимост (0.05), т.е. при допускане на грешка 5% няма основание да се отхвърли предположението, че промяната е статистически незначима. Следователно, при 5% риск за грешка не се установява статистически значима обратно-пропорционална зависимост. При равнище на значимост $\alpha = 0.10$ обаче, нулевата хипотеза (H_0) има основание да бъде отхвърлена и коефициентът на корелация е статистически значим. При малкия брой участници в проучването, пациентите със ЗД2 могат да имат ниско ниво на витамин D и нормално ниво на гликирания хемоглобин (добър гликемичен контрол). При по-голям брой участници обаче е възможно да се потвърди хипотезата, че дефицитът на витамин D е фактор, който самостоятелно и независимо влошава гликемичния контрол

Анализ на модела на хранене при пациенти със ЗД2, при които е изследван микронутриентния статус

Известно е, че не съществува ефективно средство за контрол на ЗД2, ако пациентът не промени начина си на хранене [Petrone et al. 2021]. В тази връзка се опитахме да анализираме моделите на

хранене на пациентите, обхванати в изследването. Участниците в проучването попълниха тридневен дневник с консумираните храни (видове храна, приблизително количество, часове на хранене) и анкета за честота на консумираните храни в рамките на един месец.

Анализ на хранителния модел на пациентите въз основа на тридневния рикол

Пациентите представят двукратно дневник на приеманите храни в продължение на най-малко три дни. От представения дневник се анализира приемът на хранителен белтък, фибри, зеленчуци, качеството на консумираните въглехидрати (с нормален или висок гликемичен индекс), моделът на хранене (еднократен, двукратен, трикратен или повече прием на храна). Анализът на данните е направен с направен с непараметричен Хи-квадрат тест.

От хранителните дневници след **първа визита** може да се извади заключението, че 41.7% от пациентите не консумират храна с достатъчно количество протеини, 83.3% от тях консумират храни с висок гликемичен индекс. По отношение консумация на зеленчуци, плодове и фибри може да се извади заключението, че 58.3% от пациентите не консумират достатъчно количество пресни зеленчуци и плодове и 56.3% от пациентите не консумират храни с достатъчно количество хранителни фибри (Табл. 11).

Оценка на консумацията на хранителен белтък, зеленчуци, фибри и въглехидрати- първа и втора визита			
$\chi^2=3.86$. df=1. p=0.049		Протеин	
		Недостатъчно количество в храната	Достатъчно количество в храната

Първа визита	n	20	28
	%	41.7%	58.3%
Втора визита	n	11	37
	%	22.9%	77.1%
$\chi^2=16.2, df=1, p=0.001$		Въглехидрати	
		Нормален GI	Висок GI
Първа визита	n	8	40
	%	16.7%	83.3%
Втора визита	n	27	21
	%	56.3%	43.8%
$\chi^2=12.5, df=1, p=0.001$		Зеленчуци/плодове	
		Недостатъчно	Достатъчно
Първа визита	n	28	20
	%	58.3%	41.7%
Втора визита	n	11	37
	%	22.9%	77.1%
$\chi^2=11.2, df=1, p=0.001$		Фибри	
		Недостатъчно	Достатъчно
Първа визита	n	27	21
	%	56.3%	43.8%

Втора визита	n	11	37
	%	22.9%	77.1%
Табл. 11			

След **втората визита** анализът на хранителните дневници показва, че се увеличава делът на пациентите, които се хранят с храни богати на белтък (77.1%), намалява консумацията на храни с висок гликемичен индекс (от 83.3% до 43.8%), увеличава се делът на пациентите, които са включили в храната си достатъчно зеленчуци и фибри – 77.1%. Тези промени обаче следва да бъдат разглеждани критично, защото при втория преглед пациентите знаят какво се очаква от тях и е твърде вероятно да пренастройват ежедневиия си хранителен режим в контекста на очакваните от лекаря резултати. За целта, сравняваме данните от тридневния хранителен дневник с данните от анкетата за честотата на хранителни продукти. Оказва се, че при анализ на консумацията на определени хранителни продукти на месечна база, няма статистически значима промяна в консумацията зеленчуци и плодове. Единствената статистически значима промяна се наблюдава в консумацията на бобови храни и месо (нарастване на честотата на прием на тези продукти).

Относно режима на хранене, между първа и втора визита се наблюдава статистически значимо покачване на дела на пациентите, които закусват (Табл. 12).

Промяна в режима на хранене – първа и втора визита			
$\chi^2=0.487$. df=1. p=0.001		Закуска	
		Не	Да
Първа визита	n	14	34
	%	29.2%	70.8%

Втора визита	n	11	37
	%	22.9%	77.1%
Табл. 12			

За сметка на това, при втора визита делът на пациентите, които съобщават за нощно хранене (след 22 часа), нараства от 18.8% до 22.9%.

Анализ на информираността на пациентите относно хранителния режим

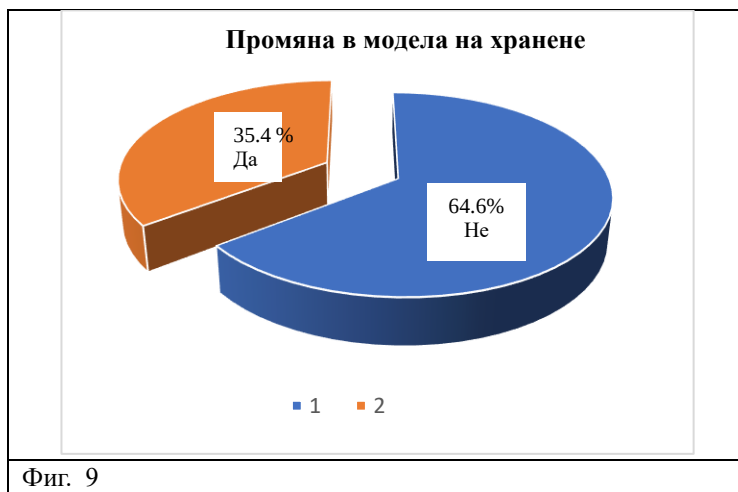
Поради противоречивите данни от тридневния хранителен дневник (рикол) и анкетата за честота на консумация на различни групи хранителни продукти, а така също и поради липсата на значимо повлияване в антропометричните показатели на изследваните пациенти, бе проведена допълнителна анкета. Зададен беше въпрос за самооценка на пациентите относно тяхната информираност за хранителния режим при ЗД2. Освен това бяха зададени въпроси дали искат да бъдат обучени допълнително за правилно хранене или при неблагоприятно развитие на заболяването са склонни по-скоро да разчитат на промяна в лекарственото лечение.

Анализът на анкетата е направен с непараметричен Хи-квадрат тест.

Изводът е, че повечето от половината от пациентите смятат, че разполагат с достатъчно информация за лечебното хранене при диабет и **не желаят** да бъдат обучавани допълнително за това как да се хранят правилно. В същото време, почти половината от тях смятат, че ако заболяването им не се контролира достатъчно добре, трябва по-скоро да се промени лекарствената терапия, отколкото да променят модела си на хранене. При втората визита има леко, но статистически незначимо нарастване на броя пациенти, които са склонни по-скоро да променят модела си на

хранене, отколкото да предприемат смяна на лекарствената терапия.

При втората визита бе направена оценка за това доколко всеки пациент е променил хранителното си поведение в резултат на проведената с него работа (Фиг. 9).



Сътрудничество, изразено в промяна в хранителния режим и състава на консумираните продукти, се наблюдава при 17 пациенти (35.4%). При 31 пациенти (64.6%) не се наблюдава промяна в модела на хранене и състава на консумираните продукти.

Анализ на хранителните навици и предпочитания на пациентите въз основа анкетата за месечен прием

За целта е направено сравнение между двете анкети (визити) с непараметричен тест Хи-квадрат за категорийни данни. Изхожда се от предположението, че след проведения анализ на хранителните дневници и дадените съвети за промяна на приема на определени храни, такава ще настъпи и ще бъде отчетена при следващата анкета. Статистически значими са разликите при $p <$

0.05. Като цяло, значима разлика има само при консумацията на бобови храни и месо. Другите промени в честотата на консумация на хранителни продукти между двете визити не са статистически значими.

Промяна в консумацията на хранителни продукти – първа спрямо втора визита			
Продукти	χ^2	df	p - стойност
Бобови (боб, леща, грах)	11.00	df=4	0.027
Месо (свинско, телешко, агнешко, птиче)	12,94	df=4	0.012
Табл. 13			

Анализ на хранителните навици и наличието или отсъствието на дефицит на витамин В₁₂

В това изследване се опитахме да анализираме наличието или отсъствието на дефицит на витамин В₁₂ при пациенти, които консумират количество по-малко от препоръчителното месни продукти или изобщо не консумират месо, колбаси и риба.

Изследователската хипотеза е, че нивата на В₁₂ са в положителна връзка с честотата на консумация на местни продукти – месо, колбаси и риба. Използван е тест с корелация по Spierman – непараметрична мярка за зависимост, при която се изчислява средната йерархия на наблюденията, разликите се изчисляват на квадрат и се включват във формулата. Класифицираните корелации са непараметрична алтернатива като мярка за зависимост между две променливи, когато не можем да приложим коефициента на корелация на Пийърсън.

При съпоставяне на нивата на вит. В₁₂ с консумацията на месо, риба и колбаси не се установяват статистически значими корелации. Обяснението може да се търси в непроменения начин на хранене на пациентите, което се вижда от анкетата за консумация на различни хранителни продукти (Табл. 14).

Корелации между честотата на консумация на месо, риба, колбаси и нивата на витамин В₁₂			
Променлива	Месо	Риба	Колбаси
Месо	1.000	0.277	0.390**
Риба	0.277	1.000	-0.034
Колбаси	0.390**	-0.034	1.000
Витамин В ₁₂ (1-во посещение)	0.233	0.175	0.096
Витамин В ₁₂ (2-ро посещение)	-0.245	-0.197	-0.270
Табл. 14			

Суплементация на витамин В₁₂ обаче е значимо отрицателно свързана с консумацията на месо ($\rho = -0.381$, $p = 0.007$) и колбаси ($\rho = -0.384$, $p = 0.007$). Това предполага, че лицата, които консумират месо и колбаси имат по-рядко нужда от суплементация с витамин В₁₂ (Табл. 15).

Корелации между честотата на консумация на месо, риба, колбаси и нужда от суплементация с витамин В₁₂			
Променлива	Месо	Риба	Колбаси
Месо	1.000	0.277 ($p = 0.052$)	0.390** ($p = 0.004$)
Риба	0.277 ($p = 0.052$)	1.000	-0.034 ($p = 0.788$)
Колбаси	0.390** ($p = 0.004$)	-0.034 ($p = 0.788$)	1.000

Витамин В₁₂ (1-во посещение)	-0.381** (p = 0.005)	-0.221 (p = 0.126)	-0.384** (p = 0.005)
Витамин В₁₂ (2-ро посещение)	-0.187 (p = 0.213)	-0.041 (p = 0.746)	-0.091 (p = 0.490)
Табл. 15			

След втората визита корелациите с месото ($\rho = -0.187$, $p = 0.202$) и колбасите ($\rho = -0.091$, $p = 0.538$) вече не са значими, което може да означава, че фактори като цялостната диета и адаптацията към приема на добавки намаляват тази зависимост.

Анализ на хранителните навици и наличие и/или отсъствие на дефицит на магнезий

Консумацията на плодове и ядки има положителна връзка с нивата на магнезий при първо посещение ($\rho = 0.297$, $p = 0.041$ за плодове; $\rho = 0.328$, $p = 0.023$ за ядки), което подкрепя идеята, че тези храни са важен източник на магнезий (с увеличена консумация на тези храни се повишават и нивата на магнезий) (Табл. 16).

Корелации между честотата на консумация на плодове, зеленчуци, ядки, бобови храни и нивата на магнезий				
Променлива	Зеленчуци	Плодове	Ядки (бадеми, орехи и др.)	Бобови храни (боб, леща и др.)
Зеленчуци	1.000	0.469**	0.178	0.126
Плодове	0.469**	1.000	0.186	0.142
Ядки	0.178	0.186	1.000	0.155
Бобови храни	0.126	0.142	0.155	1.000

Mg2+ (1-во посещение)	0.200	0.297*	0.328*	0.196
Mg2+ (2-ро посещение)	0.101	0.218	0.169	0.113
Табл. 16				

Връзка между нива на витамин В₁₂ и контрол на диабетна полиневропатия

Проверка на хипотезата за връзка между дефицит на В₁₂ и диабетна полиневропатия

Дефицитът на витамин В₁₂ може да се изяви със симптоми на периферна невропатия. Патолофизиологично недостигът на витамин В₁₂ може да причини демиелинизация, изявена с увреждане на бялото мозъчно вещество и периферна невропатия. Симптомите варират според засегнатия нерв: болка, мравучкане, изтръпване, загуба на усещане, намалена двигателна активност или намалена мускулна маса.

В тази връзка в нашето проучване си поставихме за задачи да изследваме доколко при пациентите от изследваната група с диагностицирана диабетна невропатия, (регистрирана в амбулаторния лист с код G63.2 с изписана алфа-липоева киселина), имат регистриран недостиг на витамин В₁₂.

Проверка на хипотезата, че при диабетна полиневропатия е налице дефицит на витамин В₁₂

Изследван е броят на пациентите с клинични прояви на диабетна невропатия, сравнен с броя пациенти с дефицит на витамин В₁₂. Резултатите са отразени в Табл. 17.

Диабетна невропатия спрямо пациенти със суплементация В12 – първа визита					
			Вит. В12 суплементация Първа визита		Общо
			Няма	Има	

G63.2 Първа визита	Няма	Брой	15	19	34
		Очакван брой	12.8	21.3	34
	Има	Брой	3	11	14
		Очакван брой	5.3	8.8	14.0
Общо		Брой	18	30	48
		Очакван брой	18.0	41.7%	100%
Табл. 17					

При първа визита 14 пациенти са регистрирани с диабетна полиневропатия. От тях при 11 е установен дефицит на витамин В₁₂ и е назначена суплементация. При 3 пациенти не е установен дефицит на витамин В₁₂ и суплементация не е назначена.

Статистическият анализ показва, че двете променливи са независими (Табл. 18).

Тест χ^2 за независимост: за сравняване на зависимостта между диабетна полиневропатия (G63.2) и дефицит на витамин В ₁₂					
Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,178 ^a	1	,140		
Continuity Correction ^b	1,318	1	,251		
Likelihood Ratio	2,300	1	,129		
Fisher's Exact Test				,196	,125
Linear-by-Linear Association	2,133	1	,144		
N of Valid Cases	48				
a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.25.					
b. Computed only for a 2x2 table					
Табл. 18					

От регистрираните с диабетна полиневропатия 14 пациенти, дефицит на витамин В₁₂ е установен при 11, а при трима няма измерен недоимък на витамин В₁₂, въпреки че има регистрирани прояви на диабетна полиневропатия.

При статистическия анализ е приложен χ^2 -тест за независимост: Съгласно нулевата хипотеза (H_0) двете променливи са статистически независими, т.е. пациентът може да има диабетна полиневропатия (G63.2) и в същото време да има или да няма недостиг на витамин B_{12} . Съгласно алтернативната хипотеза (H_1) – двете променливи са статистически зависими, т.е. ако има диабетна полиневропатия (G63.2), ще има и дефицит на витамин B_{12} . Избрано е равнище на значимост $\alpha = 0.05$, т.е. вероятност от грешка 5%; $p\text{-value} = 0.140 > \alpha = 0.05$.

Резултат: Двете променливи са независими и няма връзка между тях.

Извод: Диабетната невропатия може да протече с дефицит на витамин B_{12} , но не е задължително такъв да е налице, за да има прояви на диабетна невропатия. Всъщност, този резултат е очакван, като се има предвид многофакторната патогенеза на диабетната невропатия.

Проверка на хипотезата за намаляване на прояви на диабетна полиневропатия при корекция на дефицита на витамин B_{12}

В научните среди няма яснота дали приемането на добавки с витамин B_{12} може да помогне за лечение на вече диагностицирана диабетна невропатия. Едно малко двойно сляпо, плацебо контролирано проучване [Didangelos T, и сътр. 2021] не намира убедителна разлика в симптомите на диабетна невропатия при пациенти, които са приемали една година витамин B_{12} в доза от 1000 μg /дневно. В тази връзка, в нашето проучване се опитахме да проверим хипотезата, че корекцията на дефицита на витамин B_{12} повлиява симптомите на диабетна невропатия.

Резултатите от статистическия анализ са показани в Табл. 19.

Диабетна невропатия спрямо пациенти със суплементация В12 – втора визита					
			Вит. В12 суплементация Втора визита		Общо
			Няма	Има	
G63.2 Първа визита	Няма	Брой	8	23	31
		Очакван брой	8.4	22.6	31.0
	Има	Брой	5	12	17
		Очакван брой	4.6	12,4	17.0
Общо		Брой	13	35	48
		Очакван брой	13.0	35.0	48
Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)
Pearson Chi-Square	,072 ^a	1	,788	1,000	,522
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,072	1	,789		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	,071	1	,790		
N of Valid Cases	48				
a. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.60. b. Computed only for a 2x2 table					
Табл. 19. P-value = 0.135 > α = 0.05					

Резултат: При $p\text{-value} = 0.135 > \alpha = 0.05$ няма основание да се отхвърли нулевата хипотеза (H_0), че двете променливи са статистически независими, в полза на алтернативната хипотеза (H_1), че двете променливи са статистически зависими. Двете променливи са независими и няма връзка между тях. Важно: В една от клетките очакваната честота е по-малка от 5. Анализът не може да се проведе и да бъдат направени заключения от неговото приложение поради малкия размер на извадката.

Извод: От изследваната група пациенти, при вече налични прояви на диабетна невропатия (G63.2), не е ясно дали корекцията на дефицита на витамин В₁₂ ще доведе до намаляване на симптоматиката на диабетна полиневропатия.

Трябва все пак да се има предвид, че доколкото в патогенезата на диабетна невропатия дефицитът на витамин В₁₂ определено играе роля, превенцията на развитие на такъв дефицит може да има роля в забавянето на развитието на клинични прояви на болестта. Това обаче не можем да го докажем в нашето проучване поради малкия брой болни, включени в проучването.

Препоръки за търсене и наблюдение (скрининг и мониториране) на микронутриентния статус при пациенти със захарен диабет тип 2

На база на изводите от проведените изследвания на микронутриентния статус на пациенти със ЗД2 и последващия статистически анализ могат да се извлекат следните препоръки.

Пациентите със ЗД2 на лечение с метформин имат висока честота на дефицит на микронутриенти, в частност на витамин D, витамин В₁₂ и магнезий, и в по-малка степен – на фолиева киселина.

Широкото разпространение на дефицит на витамин D сред обществото и в частност при пациентите със ЗД2 на лечение с метформин налага целенасочено търсене на такъв дефицит и съответната корекция.

Препоръчваните дози от 2000 UI витамин D за корекция на дефицит е възможно да се окажат недостатъчни, затова е необходимо повторно изследване след 3 месеца и корекция на дозата.

Честотата на дефицит на витамин В₁₂ при пациентите със ЗД2 на лечение с метформин е висока.

Необходимо е изследване на изходното ниво на витамин В₁₂ при всеки пациент с новооткрит диабет, при който се предполага назначаване на терапия с метформин.

Установяването на стойности на витамин В₁₂ близки до долната граница (300 pg/ml) преди началото на лечение с метформин или в началото на лечението може да се тълкува като сигурен признак, че в бъдеще пациентът ще развие дефицит на витамин В₁₂. Затова такъв дефицит е необходимо да се търси, установява и компенсира.

Установяването на висок среден обем на еритроцитите (MCV > 96.0 fL) при изследване на пациент със ЗД2 на лечение с метформин следва да се тълкува като вероятен маркер за дефицит на витамин В₁₂. В тези случаи трябва да се назначи изследване, да се установи дефицит и той да се коригира.

Пациентите, които консумират редовно месо, но не месни продукти и риба, имат по-малка вероятност да развият дефицит на витамин В₁₂

Компенсирането със стандартна перорална доза от 1000 µg Суансобаламин води до корекция при половината от пациентите. При останалата група пациенти се налага продължаване на терапията. Като се има предвид, че настъпва насищане на транспортната система за витамин В₁₂, увеличаването на пероралната доза е безпредметно. В случай на продължаващ дефицит е необходимо преминаване към парентерална суплементация или просто да се продължи по-дълго време пероралната суплементация.

При вече започната суплементация с витамин В₁₂ косвените маркери (MCV, анамнестични данни за консумация на месо) не са достатъчно основание да се приеме, че дефицитът е възстановен. Необходимо е повторно измерване на нивата на витамин В₁₂.

Диабетната невропатия може да протече с дефицит на витамин В₁₂, но не е задължително такъв да е налице, за да има прояви на диабетна невропатия. Дефицитът на витамин В₁₂ може да се изяви с множество други симптоми, включително психични – емоционална лабилност, промени в настроението, паметови смущения.

При вече налични прояви на диабетна невропатия (G63.2) не е ясно дали корекцията на дефицита на витамин В₁₂ ще доведе до намаляване на симптоматиката. Доколкото обаче в патогенезата на диабетна невропатия дефицитът на витамин В₁₂ определено играе роля, превенцията на развитие на такъв дефицит може да има роля в забавянето на развитието на клинични прояви на болестта.

По литературни данни, а и съгласно нашия опит, по-подходяща е корекцията на индивидуалните дефицити, отколкото назначаването на комбинирани препарати, съдържащи комбинация от витамини.

В изследваната от нас група пациенти дефицит на фолиева киселина се среща 2 пъти по-често, отколкото е честотата, описана в литературните източници. Дори след корекция, при малък процент от пациентите продължава да се наблюдава дефицит на фолиева киселина, който трябва да бъде компенсиран, вкл. с използване на метилираната му форма.

Дефицитът на магнезий при пациенти със ЗД2 на лечение с метформин е независим рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания. В тази група пациенти дефицитът се среща в над 50% от случаите. Установяване на серумни нива на магнезий < 0.80 mmol/L при пациенти със ЗД2 е достоверен показател, че е налице сериозен дефицит, който подлежи на корекция. При установяване на дефицит е необходимо той да бъде коригиран с достатъчно висока доза магнезий (3x2 таблетки магнезиев оротат), след което да се продължи поддържаща доза с 1–2

таблетки дневно. Ако дозата, назначена за корекция не е достатъчна, вероятността да не се постигне корекция е голяма.

Редовната консумация на бобови храни в нашата извадка от пациенти със ЗД2 на лечение с метформин е свързана с по-високи нива на магнезий.

Обсъждане

Метформин е един от най-широко използваните медикаменти за контрол на кръвната глюкоза при болни от ЗД2. Ползите от него са добър гликемичен контрол, подобряване на инсулиновата чувствителност, нисък риск от хипогликемични епизоди, предпазване от сърдечно-съдови заболявания и намаляване на телесното тегло. При изследваните от нас пациенти не се установява статистически значимо намаляване на телесното тегло, ВМІ и размера на талията. Този резултат подчертава особено важната роля на изработването на правилен, удобен и лесен за спазване хранителен режим при болните от ЗД2. Въпреки добрия лабораторен контрол на кръвната глюкоза и гликирания хемоглобин, наличието на твърде голямо количество мастна маса и висцерална мастна тъкан представлява самостоятелен рисков фактор за влошаване на здравословното състояние на пациентите, върху който е уместно да се акцентира при редовните диспансерни прегледи.

В изследваната група пациенти се установиха статистически значими микронутриентни дефицити – дефицит на витамин В₁₂ (68.75%), дефицит на витамин D (58%), дефицит на магнезий (66.67%) , дефицит на фолиева киселина (16.7%). В по-малка честота беше установен и дефицит на желязо (14.59%). В този смисъл обичайните клиничко-лабораторни параметри при проследяване на болните от диабет (телесно тегло, антропометрия, липиден профил, гликиран хемоглобин) се оказват недостатъчни за добрата клинична оценка на пациента със ЗД2.

Най-известен от микронутриентните дефицити при пациенти на лечение с метформин е дефицитът на витамин В₁₂. По литературни данни, честотата на този дефицит е между 6% и 30%. Според резултатите от някои проучвания, нивата на витамин В₁₂ са в обратно пропорционално съотношение с продължителността на терапията с метформин [Beulens JW и сътр., 2015].

В нашето проучване честотата на дефицит на витамин В₁₂ е почти два пъти по-голяма от установената по литературни данни, а именно 68.75%. Малката група участници в проучването не ни позволи да изследваме и установим дали има или няма статистическа зависимост между дозата на метформин, продължителността на лечение с метформин и степента на дефицит на витамин В₁₂. В литературата няма ясни препоръки през какъв период трябва да се правят контролни изследвания на нивата на В₁₂. Известно е, че намаляването на абсорбцията и нивата на витамин В₁₂ след употреба на метформин обикновено започва още на 4-ия месец след началото на лечение с този лекарствен продукт [Wulffele M, и сътр. 2003]. Следователно, в рамките на първото полугодие след началото на лечение с метформин е препоръчително да се назначи първото изследване на неговото ниво.

Съгласно резултатите от нашето проучване, дефицит на витамин В₁₂ може да бъде заподозрян по нарастване на обема на еритроцитите (MCV) при рутинно изследване на кръвната картина по друг повод. Нашето проучване показва статистически значимо повишаване на средния обем на еритроцита (MCV) при пациентите дефицит на витамин В₁₂. Тази находка може да служи като основание за назначаване на изследване на нивата на витамин В₁₂. MCV обаче не може да служи като надежден маркер за евентуална корекция на дефицита.

В нашето проучване, назначаването на стандартна перорална доза от 1000 µg Суансobalamin води до корекция при половината от пациентите. Като се има предвид, че настъпва насищане на транспортната система за витамин В₁₂, считаме, че увеличаването на пероралната доза при недостатъчна корекция на дефицита е безпредметно. В този случай е оправдано преминаване към парентерална суплементация или просто да се продължи по-дълго време пероралната суплементация.

Продължителността на суплементацията е друг въпрос, по който липсва единно мнение.

При едно двойно сляпо, плацебо контролирано проучване върху диабетна невропатия, суплементацията с витамин В₁₂ е продължила една година. Едва след едногодишно поддържане на нормални нива на витамин В₁₂, според резултатите от проучването, са отчетени подобрение на невропсихичните параметри, качеството на живот, съдомоторната функция и болковите симптоми свързани с диабетната невропатия [Didangelos T. и сътр. 2021]. В нашето проучване, специално за диабетната полиневропатия, не отчетохме подобрение на симптомите при корекция на дефицита на витамин В₁₂, но броят изследвани пациенти е малък, а и продължителността на наблюдение е много по-малка.

Нашето проучване не дава ясен отговор на въпроса колко дълго трябва да продължава суплементацията с витамин В₁₂ и на какъв период трябва да се прави проследяване на пациента. След завършване на проучването повечето от пациентите бяха проследявани през 6 месеца в продължение на две години и тяхното проследяване продължава. Очертава се закономерност: след възстановяване на нивата на витамин В₁₂, при спиране на пероралната суплементация, след около 6 месеца да се развива отново дефицит на витамин В₁₂.

Тук може да се постави и още един интересен въпрос – дали има връзка между дефицита на витамин D и скоростта на развитие на дефицит на витамин В₁₂.

Оказва се, че усвояването на В₁₂ през лигавицата на тънкото черво е зависима от калций, а метформин антагонизира физиологичното действие на калциевите йони върху лигавицата на тънкото черво. В тази връзка, интересни са данните от едно проучване върху животински модел за приложение на витамин D, калций и метформин като лечение на неалкохолна чернодробна

стеатоза [Shojaei Z. и сътр. 2021]. Според резултатите от проучването, добавянето на витамин D и калций към лечението с метформин води до подобряване на предизвиканата от високо липидна и богата на фруктоза чернодробна стеатоза по механизъм, независим от инсулиновата секреция и активираната от аденозин-монофосфат протеинкиназа (AMPK).

За нивата на дефицит на витамин D в България можем да цитираме едно епидемиологично проучване от 2013 г., обхванало 2 032 души, от които 1 076 жени и 956 мъже [Борисова А-М. и сътр. 2013]. Съгласно неговите резултати „дефицит“ на витамин D се установява при 21.3 % от изследваните, а „недостатъчно количество“ при 54.5 % от изследваните. Няма литературни данни, че лечението с метформин само по себе си води до намаление на нивата му. От медикаментозните причини за дефицит на витамин D се подчертава лечението с кортикостероиди, антиепилептични лекарства, орлистат и холестирамин. Има обаче множество проучвания, които потвърждават, че дефицитът D е повсеместно разпространен сред изследваните диабетици и то в по-голяма степен, отколкото сред общото население.

Компенсирането на дефицита изисква търпение и мониториране на дозата. Дози от 2000 UI Cholecalciferol, еквивалентни на 50 µg, бяха в състояние да компенсират само половината от пациентите с 5000 UI Cholecalciferol, еквивалентни на 125 µg с дефицит. Дози до 5000 UI не доведоха до прояви на хипервитаминоза D и разстройства на калциевата обмяна при нито един от пациентите.

Тук трябва да се коментира и „нивото на достатъчност“ на витамин D при болни от ЗД2. В световен мащаб се правят проучвания за целевите стойности на вит. D с цел превенция на диабета. Съгласно едно рандомизирано клинично проучване, обхванало 2 362 участници в продължение на 2.5 години, за да са ефективни усилията за превенция на развитие на предиабета в

диабет, е необходимо да се поддържат нива на витамин D > 40 ng/ml [Chatterjee R. и сътр. 2023].

В нашето проучване установяваме, че суплементация с 2000 UI витамин D₃ е достатъчна само за ½ от пациентите с установен дефицит (нива < 20 ng/ml или 50 nmol/l). При останалите се налага персонализиран подход с мониториране на нивата и корекция на дозата за суплементация.

Наблюдението на пациентите и повторните изследвания показват, че опитът за корекция с препоръчаните от Българското дружество по ендокринология 2000 UI дневно не водят до постигане на нива над 20 ng/ml при почти половината от болните от ЗД2. Според данни на EFSA, количество от 4000 IU (100 µg) без проблем може да се използва ежедневно от възрастни, хора в старческа възраст и деца над 11 години. За зрели индивиди и хора в старческа възраст със затлъстяване, най-високият среден дневен прием на витамин D, който не води след себе си риск от нежелани ефекти, е 10 000 IU (1250 µg). В нашето проучване беше приложена половината от максимално препоръчаната доза без да наблюдаваме странични ефекти на предозиране.

Съгласно литературните данни, ниските нива на витамин D при диабетици се свързват и с по-лош контрол на метаболитния синдром и по-лош метаболитен контрол. Следователно е възможно пациентите да имат лош гликемичен контрол и ниско ниво на витамин D, но добрият гликемичен контрол не изключва наличието на дефицит на витамин D, тъй като статусът на холекалциферол е само един от много фактори, повлияващи протичането и прогресията на ЗД2.

Метформинът директно намалява нивата на фолиевата киселина, като с нарастването на прилаганата доза метформин се увеличава вероятността от дефицит на фолати. Лечение с метформин повече от 6 седмици води до спад в нивата на фолати при 7.02% от пациентите [Mustafa Sahin и сътр., 2007].

В нашето проучване установяваме два пъти по-голяма честота на дефицит на фолиева киселина (16.67%). Въпреки, че честотата на този дефицит е много по-малка отколкото дефицит на витамин В₁₂, магнезий и витамин D, проблемът не трябва да бъде подценяван. Добавянето на фолиева киселина в продължение на поне 12 седмици намалява сигнификантно нивата на инсулина на гладно ($p = 0.002$), като ефектът е по-добър при по-висока доза (при доза ≥ 5 mg/d ; $p = 0.001$). Положителен ефект, зависим от приложената доза, се установява и по отношение HOMA-IR ($p < 0.001$), [Asbaghi **Ои сътр.**, 2021].

В българските препоръки за добра клинична практика при захарен диабет фолиевата киселина се споменава единствено като необходима добавка при бременни с диабет в доза 400 μ g дневно. В някои, но не във всички международни ръководства (гайдлайни), се препоръчва висока доза фолиева киселина (5 mg дневно) да се назначава на всички жени в прекоцепционен период с анамнеза за предшестваш диабет. Препоръката е въз основа на консенсусно мнение и отразява повишения риск от дефекти на невралната тръба при бременни жени с предшестваш диабет [Perera **N и сътр.**, 2023].

В нашето проучване суплементацията с 5 mg фолиева киселина води до бързо възстановяване на нивата. При тази дозировка компенсация на дефицита се постига при 75% от пациентите с регистриран в ИАЛ лекарствен продукт.

По литературни данни дефицитът на витамин В₁₂ и дефицитът на фолиева киселина са свързани с високи нива на хомоцистеин и оттам с негативни ефекти върху организма на пациента. Ние не можахме да потвърдим или отхвърлим тази хипотеза, тъй като много малко пациенти се съгласиха да изследват нивата на хомоцистеин.

Захарният диабет тип 2 е свързан както с извънклетъчен, така и с вътречклетъчен магнезиев (Mg^{2+}) дефицит. Пациентите се считат

за явно хипомагнезиемични при серумни концентрации на $Mg^{2+} \leq 0.61$ mmol/L, концентрации на $Mg^{2+} \leq 0.75$ mmol/L могат да се считат за предклинична хипомагнезиемия. Дефицит на Mg^{2+} може да е налице и без хипомагнезиемия. По литературни данни между 25 и 38% от диабетиците са с хипомагнезиемия [de Lordes et al. – 230].

В нашето проучване дефицит на магнезий установихме в 66.7% от пациентите. Възможно е, високата честота на дефицит на магнезий да е свързана с по-високата възраст на наблюдаваните от нас пациенти. Чревната абсорбция на магнезий е свързана с плазменото съдържание на витамин D. Следователно, колкото по-висока е неговата стойност, толкова по-голяма е абсорбцията на този минерал. Твърде високото съдържание на калциеви йони и фосфат може да доведе до намаляване на абсорбцията на магнезий. От друга страна, всички ензими, които метаболизират витамин D, изглеждат изискват магнезий, който действа като кофактор в ензимните реакции в черния дроб и бъбреците. Ето защо е важно да се поддържа оптимално ниво на магнезий, за да се получат оптималните ползи от витамин D.

Диагностицирането и коригирането на магнезиев дефицит при пациенти с диабет е клинично оправдано. Повишеният риск от развитие на нарушен глюкозен толеранс и/или явен ЗД2 при хора с дефицит на магнезий предполага потенциална полза от добавянето на магнезий при пациенти със ЗД2.

При над половината от участниците в нашето проучване (56.25%) компенсация на дефицита на Mg^{2+} се постига със суплементация от 1 таблетка магнезиев оротат (500 mg, или еквивалент на 32.8 mg магнезий. При 43.75% от пациентите с дефицит той не се компенсира с една таблетка дневно и дозата трябва да се титрира до две-три таблетки дневно. Не беше наблюдавана магнезиева токсичност при нито един от пациентите.

Железен дефицит (стойности $< 6.0 \mu\text{mol/L}$) установихме при 14.59% от участниците в проучването. Съгласно прочуването MASTEMIND, употребата на метформин е свързана с ранен риск от анемия при индивиди със ЗД2. В нашето проучване железният дефицит се преодолява бързо със суплементация, но при продължаващото наблюдение на пациентите се установяват нови пациенти със железен дефицит. Малкият брой участници не ни дава възможност да твърдим, че железният дефицит е свързан.

Не бяха установени статистически значими отклонения от референтните стойности на серумен калий и серумен натрий, серумен калций и фосфор, независимо от наличието или отсъствието на диуретична терапия.

Според данните от нашето проучване микронутриентният статус на пациентите не повлиява статистически значимо липидния профил на участниците. Терапевтичният режим, включващ метформин и диета, не води до промени в липидните параметри през разглеждания период.

Броят на участниците в проучването беше недостатъчен, за да се потвърди статистически значимо влошаване на гликемичния контрол (HbA1c) при дефицит на витамин D и подобряване на гликемичния контрол при корекция на този дефицит. При равнище на значимост $\alpha = 0.10$ обаче нулевата хипотеза (H_0) има основание да бъде отхвърлена и коефициентът на корелация е статистически значим. Това означава, че ако същото изследване се проведе с по-голяма група пациенти, е възможно да се потвърди алтернативната хипотеза.

Адекватното хранене и подходящата за конкретния индивид физическа активност са ключови компоненти в контрола и лечението на ЗД2.

Диетата при диабет трябва да е индивидуализирана, реална и достъпна, гъвкава и мотивирана. Пациентът трябва да е обучен

като хранителният режим следва да ограничава вноса на доказано вредни за пациента храни (храни с висок гликемичен индекс, атерогенни храни), да намалява гликемичното натоварване, да внася достатъчно количество протеини и зеленчуци.

От литературните данни е известно, че вносът на достатъчно количество хранителен белтък като процент от калорийния прием е важен фактор за добрия гликемичен контрол [Gannon, MC и сътр. 2004]. Препоръчително е зеленчуците да фигурират при всяко хранене. Добавянето само на 20 грама допълнително порция на зеленчуци на ден намалява смъртността при диабетици с 20%.

От данните, получени при анализ на хранителните навици на изследваните пациенти, може да се направи заключението, че тези, които консумират редовно месо, имат по-малък риск да развият дефицит на витамин В₁₂. При вече развит дефицит, промяната в хранителните навици не е достатъчна и налага фармакологична суплементация.

Консумацията на плодове и ядки има положителна връзка с нивата на магнезий при първо посещение ($\rho = 0.297$. $p = 0.041$ за плодове; $\rho = 0.328$. $p = 0.023$ за ядки). Този резултат подкрепя идеята, че тези храни са важен източник на магнезий (с увеличена консумация на тези храни се повишават и нивата на магнезий).

Съгласно самооценката на участниците в проучването, те са „достатъчно добре обучени“ как да се хранят при диабет. В същото време, почти половината от тях смятат, че ако заболяването им не се контролира достатъчно добре, трябва по-скоро да се промени лекарствената терапия, отколкото да променят модела си на хранене.

Анализът на данните от хранителните дневници и анкетата за консумация на храни на пациентите, участващи в проучването показва, че е налице дефицит в информираността им относно

значението на лечебното хранене. Оказва се, че въпреки личната им убеденост, че се хранят правилно, това не е факт.

За да се преодолее дефицитът в тяхната информираност бяха разработени три инструмента: анкета за информираността на пациента със захарен диабет тип 2 относно храненето, анкета за хранителните навици на пациента със захарен диабет и опростен наръчник за здравословно хранене при ЗД2 с чек лист.

Изводи

1. При пациенти със ЗД2 на лечение с метформин се установява недостиг на витамин D при 58% от изследваните.
2. Суплементацията с 2000 UI витамин D₃ успява да компенсира този дефицит само при половината от пациентите. При останалите се налага приложение на витамин D₃ в дози от 5000 UI ежедневно.
3. При пациенти със ЗД2 на лечение с метформин се установява недостиг на витамин B₁₂ в 68.75% от изследваните.
4. Опит за перорална суплементация с 1000 µg Суансобаламин постига корекция само при половината от изследваните в рамките на три месеца. При останалите се налага преминаване към мускулно приложение на Суансобаламин.
5. При пациенти със ЗД2 на лечение с метформин се установява недостиг на фолати в 16.67% от изследваните.
6. Корекцията с 5 mg фолиева киселина дневно успява да преодолее дефицита при 75% от пациентите.
7. При пациенти със ЗД2 на лечение с метформин се установява недостиг на магнезий в 66.67%.
8. За да се осъществи корекция е необходимо назначаване на 3 таблетки магнезиев оротат дневно.

9. Налице е дефицит в информираността на пациентите със ЗД относно значението на лечебното хранене.
10. Разработени са инструменти за подобряване на тази информираност и за облекчаване на работата на общопрактикуващия лекар с пациентите.

Заклучения и препоръки към институции

Към НСОПЛБ

Пациентите със ЗД2 на лечение с метформин имат двукратно повишен риск от дефицит на микронутриенти – витамин D, витамин B₁₂, фолиева киселина, магнезий. Тези дефицити могат да протекат безсимптомно и олигосимптомно, но имат разрушителен ефект върху здравето на пациентите в дългосрочен аспект. При започване на лечение с метформин на новооткрит пациент със ЗД2 е оправдано той да бъде информиран за високия риск от дефицит на тези микронутриенти и необходимостта техните нива периодично да бъдат проследявани. При установяване на недостиг на някой от тях е необходимо той да бъде своевременно коригиран с подходяща доза.

Корекцията на дефицит на витамин D с препоръчителната доза от 2000 UI е възможна само при половината от пациентите с установен дефицит на витамин D. След тримесечен опит за корекция е добре да се направи контролно изследване. Ако не е достигната таргетната стойност от 20 ng/ml, е дозата може да бъде завишена до 5000 UI витамин D₃ ежедневно, без опасност от прояви на хипервитаминоза D.

Корекцията на дефицит на витамин B₁₂ се осъществяват с перорален Суансo balamin в доза от 1000 µg дневно при пациенти, които нямат анамнеза за хронични гастроентерологични заболявания и системен прием на блокери на протонната помпа и други антиацидни средства. Ако след 3 месеца на контролен

преглед не се установи корекция на дефицита, покачането на пероралната доза е безпредметно, защото се насищат транспортните механизми за витамин В₁₂. В тези случаи се преминава към парентерано приложение. В случай, че пациентът има гастроентерологично заболяване, се препоръчва корекция с парентерална форма на Cyancobalamin.

Корекцията на дефицит на фолиева киселина с 5 mg дневно (5000 µg) най-често е напълно достатъчна. В редки случаи, след тримесечна корекция дозата може да се повиши до 10 mg. Трябва да се има предвид, че хранителните добавки с фолиева киселина съдържат само 400 µg в таблетка, затова е добре да се изписва лекарственият препарат.

Дефицитът на магнезий е много често срещан при диабетици, като в България честотата е двукратно по-голяма отколкото описаната в литературните източници. Особено застрашени от магнезиев дефицит са пациентите със затлъстяване, с неправилни модели на хранене и хронично лекувани с диуретици. Магнезиевият дефицит е независим рисков фактор за сърдечно-съдови усложнения при болни от ЗД2 на лечение с метформин.

Корекцията на дефицит на магнезий е най-добре да се започва с магнезиев оротат 3x2 таблетки, за да се постигне бързо запълване на магнезиевите депа.

При всички пациенти със ЗД2 на лечение с метформин е много важно да се проведе интервенция насочена към модела на хранене:

Да се оценят базовите познания на пациента за неговата болест и значението на храненето. Удобен инструмент за това е съставеният от нас „Въпросник за информираността на пациента със ЗД2 относно диетичното хранене“, предназначен за използване от ОПЛ“

Да се оцени готовността на пациента да бъде обучаван как да се храни правилно при ЗД2. Удобен инструмент за това е съставената от нас „Анкета за хранителните навици при ЗД2“

При всеки диспансерен преглед да се разглежда не повече от 1–2 въпроса от анкетата и да се дават не повече от 1–2 изпълними препоръки на пациента. По-важно е постоянството, отколкото засипването на пациента с информация, която той не може да усвои. След като се прецени, че пациентът е готов да сътрудничи с лекаря за да промени в правилна посока своя модел на хранене, усилията му за промяна на модела на хранене могат да се подкрепят със създадения от нас „Кратък наръчник за хранене при ЗД2“.

В връзка с всичко казано по-горе и на база на резултатите от нашето изследване предлагаме:

- Да се популяризират резултатите от това проучване на форумите на НСОПЛБ (национална конференция по обща медицина), за да бъдат запознати общопрактикуващите лекари с риска от микронутриентни дефицити при техните пациенти със ЗД2 на лечение на метформин.
- На сайта на НСОПЛБ да създаде обучителен модул по темата в секцията Електронна академия за продължаващо обучение.

Към НЗОК

Пациентите със ЗД2 на лечение с метформин се диспансеризират предимно от общопрактикуващите лекари. При пациентите, които стартират лечение с метформин, се установяват дефицити на витамин В₁₂ (68.75%), витамин D (58%) и магнезий (66.67%). По-рядко се установява дефицит на фолиева киселина. Изследванията, включени в стандартния пакет за диспансерно наблюдение на пациентите, боледуващи от захарен диабет тип 2, са недостатъчни за обективното проследяване на състоянието на

болните. Изследванията на тези микронутриенти не са включени в пакета изследвания, който ОПЛ може да назначава (нито като направление за остро състояние, нито като направление за диспансерно наблюдение). Навременното откриване и корекция на тези дефицити може да предотврати редица неблагоприятни сценарии на влошаване на здравето на пациенти със ЗД2, които биха стрували много по-скъпо на обществото, отколкото е цената на изследването.

Препоръчваме:

- Да се включи цената на изследване на витамин В₁₂, витамин D, фолиева киселина и магнезий в пакета, реимбурсиран от НЗОК за пациенти със ЗД2 на лечение с метформин веднъж годишно.
- При установяване на дефицит, болният да има право поне веднъж годишно на изследване, реимбурсирано от НЗОК за съответния микронутриент.

В връзка с всичко казано по-горе и на база на резултатите от нашето изследване предлагаме на НЗОК в пакета изследвания, реимбурсирани от НЗОК за пациенти със ЗД2 на лечение с метформин, да се включат показателите витамин В₁₂, витамин D, фолиева киселина и магнезий веднъж годишно. При установяване на дефицит, болният да има право поне веднъж годишно на изследване, реимбурсирано от НЗОК за съответния микронутриент.

Приноси

Научни приноси с оригинален характер:

За първи път в България е направена оценка на микронутриентния статус на пациенти със захарен диабет тип 2 на лечение с метформин в амбулаторната практика.

Намерени са съществени разлики в честота на микронутриентните дефицити. Проучването установява двукратно по-висока честота на дефицит на вит. В₉ и магнезий и неколkokратно по-висока честота на вит. В₁₂ при пациентите със ЗД2 на монотерапия с метформин от съобщените в литературните източници.

Установено е, че стандартната схема на суплементация е достатъчно ефикасна при голяма част от пациентите и е предложена схема за корекция на тежките дефицити.

На база на анализите е установено, че при вече възникнал дефицит на вит. В₉, В₁₂ и магнезий при пациенти на лечение с метформин хранителната интервенция, изразяваща се в повишена консумация на определени хранителни групи, не е достатъчно ефективна и се налага адекватна суплементация в подходяща дозировка за оптимизиране на микронутриентните нива.

Приноси с потвърдителен и приложен характер

Потвърдени са водещите микронутриентни дефицити при пациентите със ЗД2 на монотерапия с метформин: витамин D, витамин В₉, витамин В₁₂, магнезий.

Доказва се висока честота на дефицит на витамин D (58.3%), вит. В₁₂ (68.75%), вит В₉ (16.67%) и магнезий (66.67%) сред пациентите със ЗД2 в амбулаторната практика. Този резултат дава основание за активно търсене и проследяване на микронутриентните дефицити при тези пациенти.

Предложени са насоки за активен скрининг на микронутриентните дефицити сред пациентите със ЗД2 по време на задължителните диспансерни прегледи.

Формулира се препоръка при пациенти със ЗД2 на лечение с метформин лабораторният маркер MCV, който е асоцииран с нивата на вит. В₁₂, да се използва и като удобен и достъпен маркер за вероятен дефицит на витамин В₁₂.

Разработен е „Въпросник за информираността на пациента със ЗД2 относно диетичното хранене”. Той е предназначен за използване от ОПЛ и с цел оптимизиране на работа му в амбулаторната практика.

Изготвен е обучителен материал с въпроси и съвети, насочен към лекарите на първа линия (ОПЛ) за оценка на хранителните навици при пациентите със ЗД2, и нагласата на пациентите за промяна в начина им на хранене.

Съставен е практически ориентиран „Наръчник за самоконтрол на храненето за пациенти с диабет тип 2”. Той е удобен обучителен материал, ориентиран към пациентите със ЗД2 в практиката на ОПЛ и цели подобряване на модела на хранене и контрола на кръвната захар.

Направено е предложение за актуализиране на пакета лабораторни изследвания, заплащани от НЗОК, с допълване на три биохимични маркера: вит. D, вит. В₁₂ и вит. В₉ поне веднъж годишно за пациентите на монотерапия с метформин.

Направено е предложение за повишаване на информираността за микронутриентните дефицити сред ОПЛ, скринингът и мониторирането им, насочено към Националното сдружение на ОПЛ в България (НСОПЛБ).

Публикации и участия в научни форуми

Публикации

- Минерална обмяна, електролити и захарен диабет тип 2, Енев И., Ендокринология, vol. XXVIII 4/2023, pp 162-174
- Роля на мастноразтворимите витамини в протичането и контрола на захарен диабет тип 2, Енев И., Найденова Д., Наука ендокринология, бр. 3, 2023 г.
- Роля на водоразтворимите витамини в протичането и контрола на захарен диабет тип 2, Енев И., Найденова Д., бр. 3, 2023 г.

Участие в научни форуми

- Симпозиум „Морски диетологични дни“, март 2023, Постер „Стрес и въглехидратно хранене“ с авторски състав Т. Матева, И. Енев
- Симпозиум „Алумни клуб и приятели“, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, 2021 г., презентация „Дефицит на витамин В12 в педиатричната практика“, Енев И., Найденова Д., Бойкова Т.
- Симпозиум „Морски диетологични дни“, март 2023 г., Презентация „Популярни диети и алтернативно хранене“, Енев И.
- Симпозиум „Морски диетологични дни“, март 2024 г., Презентация „Хомеопатична подкрепа при инсулинова резистентност“, Енев И.