



ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

Списание
на Българското дружество
по ендокринология
(БДЕ)

Journal
of the Bulgarian Society
of Endocrinology
(BSE)

Гл. редактор: Боян Лозанов
Зам. Гл. редактор: Вл. Христов
Секретар: Р. Ковачева

Editor-in-Chief: Bojan Lozanov
Associate-Editor-in Chief: Vl. Christov
Scientific secretary: R. Kovatcheva

Редакционна колегия:

А.-М. Борисова, Ал. Куртев, В. Цанева,
Д. Коев, Ив. Цинликов, К. Христов, К. Копри-
варова, Л. Коева, Л. Дянков, М. Орбецова, М.
Протич, М. Петкова, С. Захариева, Ц. Танкова

Editorial Board:

А.-М. Borissova, Al. Kurtev, V. Tzaneva, L. Koeva, I.
Tzinlikov, D. Koev, K. Koprivarova, K. Hristov,
M. Protich, M. Petkova, L. Dyankov, M. Orbetzova,
S. Zakharieva, Tz. Tankova,

Редакционен съвет:

Ат. Киряков, Г. Кирилов, Е. Рачев, Ж. Геренова,
Ил. Атанасова, И. Даскалова, К. Цачев,
Т. Хаджиева, Т. Сечанов, Ф. Куманов

Advisory Board:

A. Kiriakov, G. Kirilov, E. Rachev, J. Gerenova,
I. Atanassova, I. Daskalova, K. Tzachev,
T. Hadzieva, T. Sechanov, F. Kumanov

Международен научен съвет:

М. Богоев (Скопие), А. Булатов (Москва),
Г. Ердоган (Анкара), Е. Збранка (Яш), А. Изигори
(Рим), Б. Каранфилски (Скопие), П. Кендъл-
Тейлър (Нюкасл на Тайн), М. Кокулеско
(Букурещ), Г. Красас (Солун), Д. А. Кутрас
(Атина), Дж. Лазарус (Кардиф), Е. Нишлаг
(Мюнстер), А. Пинчера (Пиза), С. Рефетоф
(Чикаго), М. Сerrано Риос (Мадрид),
Й. Фьовени (Будапеща)

International Scientific Board:

M. Bogoev (Skopie), A. Bulatov (Moscow),
M. Coculescu (Bucharest), G. Erdogan (Ankara),
J. Fovenyi (Budapest), A. Isidori (Rome),
B. Karanfiski (Scopie), P. Kendall-Taylor (Newcastle
upon Tyne), D. A. Koutras (Athens), G. Krassas
(Thessaloniki), J. H. Lazarus (Cardiff), E. Nieschlag
(Munster), A. Pinchera (Pisa), S. Refetoff (Chicago),
M. Serrano Rios (Madrid), E. Zbranca (Jasi)

Списанието се индексира от/The journal is indexed by:

- *Bulgarian Citation Index*
- *National Library of Medicine, Bethesda*
- *The Librarian Royal Society of Medicine, London*
- *Academic National de medicine Bibliotheque, Paris*
- *British Diabetic Association, London*
- *Who Regional Office for Europe, Copenhagen*
- *Who Health Organization Library (periodicals), Geneva*
- *Canadian Institute for Scientific and Technical Information, Ottawa*

Списание

ЕНДОКРИНОЛОГИЯ

том XIII, книжка 1, 2008

Съдържание

Рубрика на гл. редактор 4

Оригинални статии

А. Шинков, И. Атанасова, А-М. Борисова, Р. Ковачева, Й. Влахов, Н. Асланова, М. Вуков, Л. Даковска

Повишени серумни нива на остеопротегерин, но не и на остеокалцин при болни с хипотиреоидизъм 5

Обзори

Анна-Мария Борисова

Крепки кости и калцирани артерии – има ли връзка между тях? 16

Йоанна Матророва, Сабина Захаријева

Сърдечно-съдов риск и метаболитни нарушения при първичен алдостеронизъм ... 22

Николай Стойнев

Амбулаторно мониториране на артериалното налягане при захарен диабет 31

Мира Сидерова, Кирил Христов

Имуноцитохимични маркери – нова диагностична възможност в уточняването на тиреоидните възли 37

Хроника 48

Указания за авторите 49

Адрес на редакционната колегия: Специализирана болница за активно лечение по ендокринология, нефрология и геронтология „Акад. Иван Пенчев“ ул. „Д. Груев“ №6, 1303 София; тел. (0359) (02) 987 7201; факс (0359) (02) 874 145 Проф. Б. Лозанов – главен редактор (GSM 0888/68 03 43), Доц. Р. Ковачева – научен секретар (GSM 0898/60 86 02)

• Elsevier Bibliographic Databases, Netherlands
• Nagasaki University Medical Library, Nagasaki
• Державна Наукова Медична Библиотека, Київ

• Library, National Institute of Infectious Diseases, Tokio
• ВИНИТИ/РАН-МинНауке России, Москва

ISSN 1310-8131

Journal
ENDOCRINOLOGIA

volume XIII, number 1, 2008

Contents

Editorial 4

Original articles

A. Shinkov, I. Atanassova, A.M. Borissova, R. Kovatcheva, J. Vlahov, N. Aslanova, M. Vukov, L. Dakovska

Increased Serum Osteoprotegerin But not Osteocalcin in Subjects with Hypothyroidism 5

Reviews

Anna-Maria Borissova

Brittle Bones and Bonded Arteries – is There a Link 16

Joanna Matrozoza, Sabina Zacharieva

Cardiovascular Risk and Metabolic Disorders in Patients with Primary Aldosteronism 22

Nikolay Stoynev

Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Diabetes Mellitus 31

Mira Siderova, Kiril Hristozov

Immunocytochemical Markers – A New Diagnostic Approach in Refining the Cytological Diagnosis of Thyroid Nodules 37

Chronicle 48

Instructions to Authors 49

Editorial Board: Clinical Center of Endocrinology and Gerontology

6, D. Gruev Str., 1303 Sofia, Bulgaria; Tel (0359) (02) 987 7201; Fax (0359) (02) 874 145
Prof. B. Lozanov, Editor-in-chief (GSM 0888/68 03 43), Assoc. Prof. R. Kovatcheva
– Sci. Secretary (GSM 0898/60 86 02)



УВАЖАЕМИ КОЛЕГИ,

Списание „Ендокринология“ навърши 12 години от основаването му през 1996 г. или както е прието то е достигнало вече „възрастта на утвърждаване“ (confirmation). Настоящият брой, който гържите в ръцете си, е брой 1^{-ви} от 13^{-ти} том/2008 година.

Издадените досега 48 книжки (над 3000 страници) съдържат огромен брой оригинални статии, научни обзори и други материали, отразяващи най-важните съвременни проблеми на научната и практическа ендокринология, както и нейното развитие у нас. Същите присъстват във всички научни публикации, дисертационни и хабилитационни трудове на колегите, които са защитили своята научна степен и академично звание през посочения период. Много от тях са цитирани не само у нас, но и в редица чужди научни издания, които следят и реферират списанието.

Като официален орган на Българското гружество по ендокринология сп. „Ендокринология“ е достъпно за всички членове на гружеството. То има несъмнен принос за повишаване на научните и практически аспекти на тяхната професионална квалификация.

Редакцияната Колегия смята да положи допълнителни усилия за разширяване на спектъра от публикации с цел обхващане на максимално широк кръг актуални въпроси на специалността, интересуващи българските ендокринологични. Същевременно ние се надяваме на по-голяма научна активност от страна на научно-преподавателските и научни кадри в университетските центрове, чиято роля за развитието и обучението на ендокринологите има определящо значение.

Пожелавам на всички Вас успех в попрището и творческо дълголетие!

Главен редактор
проф. д-р Боян Лозанов

Повишени серумни нива на остеопротегерин, но не и на остеокалцин при болни с хипотиреозидизъм.

А. Шинков, И. Атанасова, А-М. Борисова, Р. Ковачева, Й. Влахов, Н. Асланова, М. Вуков, Л. Даковска

Клиничен център по ендокринология, Медицински университет – София

Increased Serum Osteoprotegerin but not Osteocalcin in Subjects with Hypothyroidism.

A. Shinkov, I. Atanassova, A-M. Borissova, R. Kovatcheva, J. Vlahov, N. Aslanova, M. Vukov, L. Dakovska

Clinical Center of Endocrinology, Medical University – Sofia

Резюме

Хипотиреозидизмът е сред най-честите ендокринни заболявания и е свързан с повишена сърдечносъдова заболеваемост. През последните години се доказва при хипотиреозидизъм повишение на редица маркери на сърдечносъдовия риск, включително и остеопротегерина (ОПГ) – фактор на костния метаболизъм и съдов метаболизъм, който се напоследък се свързва с ИБС и с прогресията на съдовите лезии.

Целта на настоящото проучване беше да се изследват нивата на ОПГ и груг костен метаболит – остеокалцин при лица с изявен (ИХТ) и субклиничен хипотиреозидизъм (СХТ) и да се потърси асоциация със сърдечносъдовата болестност. Изследвани бяха 95 лица с повишен ТСХ, (22-23,2%) с ИХТ и 73 (76,8%) със СХТ). Нямаше госто-

Abstract

Hypothyroidism is among the most common endocrine disorders and is associated with increased cardiovascular morbidity. Recently an elevation of a number of serum markers of cardiovascular risk were described in hypothyroid subjects, including osteoprotegerin (OPG) – a factor of bone and vascular metabolism, related to CHD and progression of vascular lesions.

The aim of the current study was to investigate the levels of OPG and osteocalcin (OC) in subjects with overt (OHT) and subclinical hypothyroidism (SHT) and to seek association with cardiovascular morbidity. Ninety-five subjects with elevated TSH were studied, 22 (23,2%) with OHT and 73 (76,8%) with SHT. Twenty-five age-matched subjects with TSH 0,39-2,0 mU/l served as a control group. No differenced in age, waist circumference and BMI

верни разлики между групите във възрастта, ИТМ и обиколка на талията. Средните стойности на ОПГ бяха съответно $6,18 \pm 3,65$, $5,37 \pm 2,62$ и $3,79 \pm 0,93$, разликите с контролната група са значими и за СХТ, и за ИХТ, $p < 0,01$. ОПГ корелираше с ТСХ ($r = 0,416$, $p < 0,01$), и с възрастта ($r = 0,643$, $p < 0,001$). При ОК не се намери подобна зависимост. Анамнеза за ИБС дадоха 4 (18,2%) от болните с ИХТ, 17 (23,3%) със СХТ и нито един от контролите (хи квадрат $p = 0,007$). Честотата на ИБС показва зависимост от възрастта ($p < 0,001$), и от ОПГ ($p = 0,051$). Артериална хипертония се откри при 14 (63,6%) от ИХТ, 44 (60,3%) от СХТ и при 11 (44%) от контролите (хи квадрат $p = 0,096$). При трите групи общият холестерол беше висок ($p = NS$). Не се намери връзка между него и фракциите му с ТСХ, СТ4, ОПГ, ИБС или АХ.

Заклучение: Установявиха се значимо по-високи нива на ОПГ сред болните с изявен и със субклиничен хипотиреоидизъм, корелиращи с по-висока честота на ИБС, но не и на артериалната хипертония и захарния диабет. Остеокалцинът не следва зависимостта от ОПГ, вероятно в резултат на други регулаторни механизми. Необходимо е разширяване на изследването и лонгитудинално проследяване за изясняване на значението на установените закономерности в еволюцията на заболяването.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: субклиничен хипотиреоидизъм, остеопротегерин, сърдечносъдов риск,

Хипотиреоидизмът е едно от най-честите ендокринни разстройства. Засяга около 4,6% от общото население, като 70-90% е субклиничен. (13) Хипотиреоидизмът е заболяване с голяма клинична и социална значимост, тъй като освен че е чест, се свързва с дислипидемия, ускорена атерогенеза и увеличен сърдечно-съдов риск, психични разстройства и влошено качествена живот. (8,23) Промените обикновено са

was found. Mean OPG levels were $6,18 \pm 3,65$, $5,37 \pm 2,62$ and $3,79 \pm 0,93$, both groups differed significantly with the controls ($p < 0,01$). OC showed no such correlation. OPG correlated with TSH ($r = 0,416$, $p < 0,01$) and age ($r = 0,643$, $p < 0,001$). CHD was reported by 4 (18,2%) of OHT subjects, 17 (23,3%) of SHT and none of the controls (chi square $p = 0,007$). CHD prevalence was associated to age ($p < 0,001$) and marginally to OPG ($p = 0,051$). Arterial hypertension (AH) was present in 14 (63,6%) of OHT, 44 (60,3%) of SHT and 11 (44%) of the controls (chi square $p = 0,096$). Total cholesterol levels were high in all groups ($p = NS$). No association was found between cholesterol and its fractions and TSH, FT4, OPG, CHD or AH.

Conclusion: OPG levels were significantly higher in both OHT and SHT and they correlated with higher CHD but not AH prevalence. OC did not follow OPG, probably due to different regulatory mechanisms. Further work is necessary with longitudinal follow up to elucidate the role of these observations in the disease evolution.

KEY WORDS: subclinical hypothyroidism, cardiovascular risk, osteoprotegerin,

обратими при коригиране на тиреоидната функция. (19)

Щитовидната жлеза освен това играе важна роля в изграждането на костния скелет и в поддържането на костната маса. Т3 стимулира директно и остеокластите, и остеобластите (32), регулира диференцирането на остеобластите като повлиява експресията на специфични гени, например остеокалцин (ОК).(25) При хипотирео-

изидиум се установява забавен костен обмен с по-ниски биохимични маркери от тези при еутиреоидни лица (27) и увеличаване на дебелината на кортикалната кост. Заместителното лечение с левотироксин води до нормализиране на тези показатели. (21) Тези наблюдения се обясняват както с ефекта на тиреоидните хормони върху клетките в костта, така и с директното въздействие на ТСХ посредством рецептори за ТСХ (ТСХ-Р) върху прекурсорите на остеокластите и на остеобластите. ТСХ инхибира узряването на остеокластите като потиска стимулацията на рецептора на транскрипционния фактор NFκB (RANK) при свързване с RANKL. (16) ТСХ освен това стимулира независимо и синтеза на остеопротегерин (ОПГ), (11) който представлява фалшив лиганд за RANK. ОПГ се продуцира от остеобластите и от други класове клетки, свързва се с RANK и инхибира активирането на NFκB (28). Така костната обмяна се регулира фино от равновесието на тези фактори. (12) Повишаване на ОПГ се наблюдава както при хипертиреоидизъм, така и при хипотиреоидизъм. (2) В първия случай високите ОПГ нива се съпътстват от повишено ниво на биохимичните маркери за костен обмен: костна алкална фосфатаза, СТХ и др. (2,20) При хипотиреоидизъм основна роля за повишението на ОПГ играе вероятно ТСХ.

ОПГ се намира в значителни концентрации и в съдовата стена и някои скорошни изследвания намират връзка между ендотелната увреда и нивата на ОПГ. (3,34) Повишените локални и циркулиращи нива на ОПГ могат да отразяват степента на ендотелна дисфункция и напредването на атеросклеротичния процес с калциеви отлагания, като остава неясно дали ОПГ е рисков или протективен фактор. (4,22) Няма данни и за значението на тези процеси при субклиничния хипотиреоидизъм.

Целта на настоящото проучване беше да се изследват и сравнят нивата на остеопротегерин и остеокалцин при болни с изявен и субклиничен хипотиреоидизъм и здрави контроли и да се потърси асо-

циация с тежестта на хипотиреоидизма и със съпътстващите сърдечносъдови заболявания.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Обект на изследването бяха 95 лица с новооткрит, спонтанен хипотиреоидизъм на средна възраст $55,13 \pm 14,82$ години (Група А). От тях 70 жени, на средна възраст $53,57 \pm 14,59$ г (28-92), ТСХ $13,38 \pm 19,32$ mU/l и 25 мъже на средна възраст $59,48 \pm 14,86$ г (23-84), ТСХ $13,11 \pm 19,89$ mU/l. Разликите мъже/жени във възрастта и в средните стойности на ТСХ не са сигнификантни (Т-тест, $p=0,09$)

За контроли послужиха 25 лица на възраст $47,6 \pm 10,40$ години (32-71), с ТСХ $0,39-2,0$ mU/l, негативни ТРО антитела и без анамнеза за заболяване на щ. жлеза, нито прием на лекарства, повлияващи функцията и: 9 мъже на средна възраст $47,78 \pm 10,63$ години (35-71) и 16 жени на средна възраст $47,50 \pm 10,62$ години (32-69). Разликата във възрастите също не е значима ($p=0,951$)

Беше изследван ТСХ, свободен тироксин, серумен остеопротегерин (ОПГ) и остеокалцин (ОК), общ холестерол, LDL, HDL, триглицериди. Беше измерено артериално кръвно налягане и снета анамнеза за артериална хипертония, исхемична болест и ритъмни нарушения, както и прием на съответни медикаменти. Наличие на исхемична болест се прие при данни за прекаран остър инфаркт на миокарда или мозъчен инсулт и/или настоящ прием на антиангиозни медикаменти. Наличие на АХ се прие при настоящ прием на антихипертензивни медикаменти и/или измерено артериално кръвно налягане над 140 mmHg систолно и 90 mmHg диастолно. Потърси се анамнестично наличие на захарен диабет и при всички се изследва кръвна захар нагладно и при повишени стойности – ОПГ с изследване на 120 минута. Захарен диабет се прие при всички, които дадоха анамнеза за установен такъв и включено антидиабетно лечение и при тези, при които изследванията дадоха основание да се приеме новооткрит диабет (по критериите на ADA 2004).

Група А се раздели според типа на хипотиреоидизма – изявен или субклиничен според нивата на СТ4. Сравниха се между групите: СТ4, ОПГ, ОК, холестерол, LDL, HDL, триглицериди, както и честотата на артериалната хипертония, исхемичната болест на сърцето и захарния диабет. ТСХ и СТ4 бяха изследвани посредством микропартикуларен метод. Референтни раници за ТСХ 0,39-4,20 mUI/L. Референтни граници за СТ4 9,0-17 pmol/l. ОПГ и ОК се изследваха с ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA).

СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ

Количествените променливи са представени като средни стойности със стандартни отклонения, минимални и максимални стойности. Категориините променливи са описани като честоти – абсолютен брой и проценти.

Статистическата значимост на разликите в количествените променливи между групите беше оценена посредством непараметричен тест на Kruskal-Wallace при повече от две групи и t-тест за независими извадки за изследване на разликите между отделните двойки групи. За оценка на дисперсията се приложи тест на Levene.

За изследване на честотите на категориините променливи се приложи хи квадрат.

При търсене на връзки между променливите се приложи корелационен анализ (Spearman или Pearson) като предварително нормалността на разпределението се оцени с теста на Kolmogorov-Smirnov. За преценка на влиянието на множество променливи върху зависима категориинна променлива се приложи логистичен регресионен анализ. За оценка на влиянието на множество количествени променливи върху зависима количествена – линеен регресионен анализ.

Подходящите статистически закономерности бяха представени в съответен графичен вид според типа на данните – като средни с интервал на доверителност, показващ наличие или липса на статистически значима разлика, или като честоти. За статистически значимо се прие $p \leq 0,05$. Интервалите на доверителност са 95%, освен когато е указано друго.

РЕЗУЛТАТИ

От 95 лица с измерен повишен ТСХ, при 22 (23,2 %) се установи изявен хипотиреоидизъм (ИХТ), а при 73 (76,8%) – субклиничен хипотиреоидизъм (СХТ).

Средните стойности на ТСХ, СТ4 и ТРО в отделните групи и подгрупи са представени в таблица 1.

Таблица 1. Средни стойности и стандартни отклонения на ТСХ, СТ4 и ТРО в подгрупите с изявен хипотиреоидизъм (ИХТ), субклиничен хипотиреоидизъм (СХТ) и контролната група. Подробностите са дадени в текста.

Table 1. Mean values and standard deviations of TSH, FT4 and TPO in the groups with overt hypothyroidism (OHT), subclinical hypothyroidism (SHT) and the control group. Details are presented in the text.

	Изявен хипотиреоидизъм overt hypothyroidism		Субклиничен хипотиреоидизъм subclinical hypothyroidism		Контролна група Controls	
	Средно mean	SD	Средно mean	SD	Средно mean	SD
СТ4 /FT4 (pmol/l)	7,41	2,41	12,06	1,42	13,47	2,08
ТСХ /TSH (mUI/l)	24,105	28,066	6,725	3,985	1,357	0,565
ТРО/ТРО (kU/l)	550,458	437,164	350,002	403,258	8,632	4,882

ТСХ показва сигнификантна разлика между групата с изявен хипотиреозидизъм и останалите две групи ($p < 0,001$) (Kruskal-Wallis, independent samples t-test между отделните двойки групи). Раликите в СТ4 бяха статистически значими между изявения хипотиреозидизъм и останалите две групи ($p = 0,001$).

Разликите в ТРО бяха сигнификантни между изявения хипотиреозидизъм и контролната група. При групата със СХТ се наблюдаваха статистически значими разлики в сравнение с контролите. ТРО между групите с изявен и субклиничен хипотиреозидизъм обаче не показва разлика.

Остеопротегерин

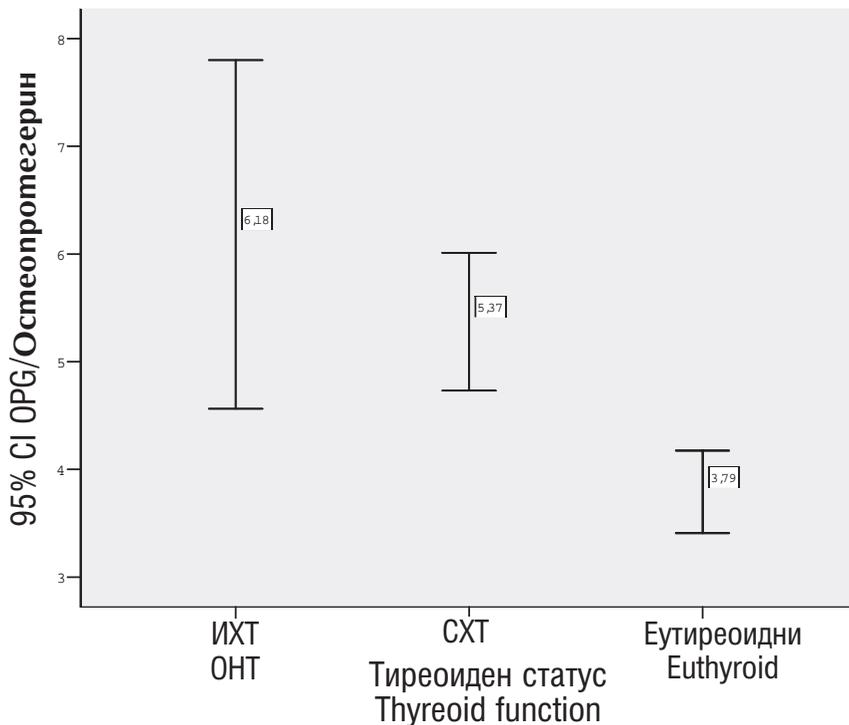
Изследването на ОПГ показва значимо по-високи стойности при групата с повишен ТСХ ($p < 0,001$), като разликите спрямо контролната група са значими и при подгрупата с изявен, и при тази със субклиничен хипотиреозидизъм (Фигура 1, и в двата случая $p < 0,001$). При

непараметричния тест на Spearman се установи значима положителна корелация между двата показателя (ОПГ и ТСХ, $r = 0,416$, $p < 0,01$).

ОПГ показва и достоверно нарастване с увеличаване на възрастта (Фигура 2, коефициент на корелация на Pearson 0,643, $p < 0,001$). При линейния регресионен модел възрастта се оказа основният предиктор за нивата на ОПГ.

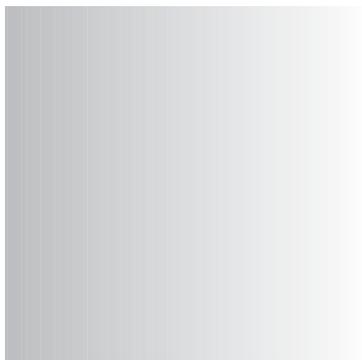
Остеокалцин

Стойностите на остеокалцина са представени на Фигура 3. Групите с изявен и субклиничен хипотиреозидизъм не показват разлики помежду си или с контролната група ($p = NS$). Не се установиха разлики между половете, нито пре- и постменопаузалните нива при жените. За разлика от ОПГ зависимостта от възрастта макар и значима, не е така изразена ($p = 0,034$). Установи се значима корелация на ОК с нивата на СТ4 (коефициент на корелация на Pearson 0,251, $p = 0,003$), но не и с тези на ТСХ ($p = NS$).



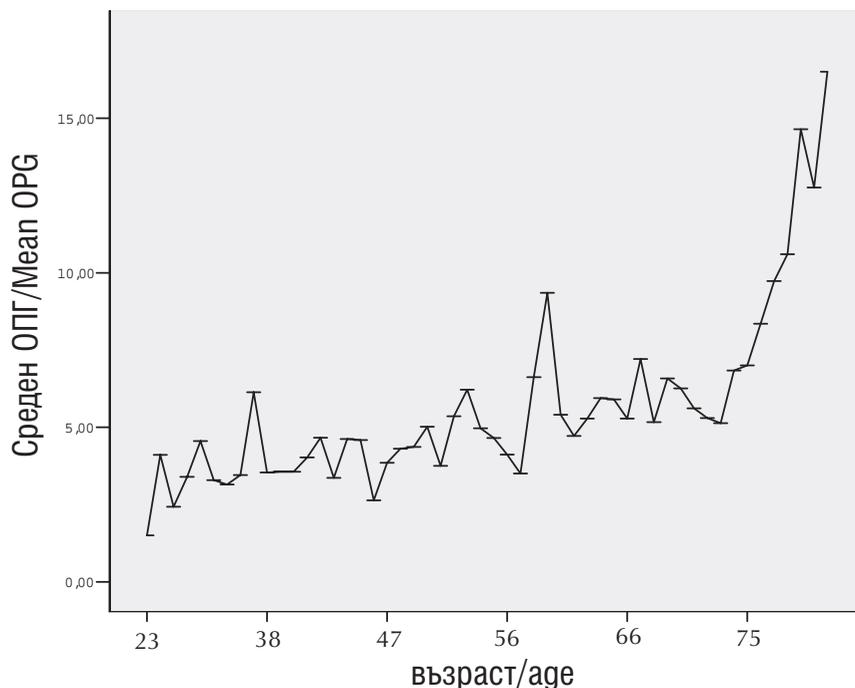
Фигура 1. Средни стойности на ОПГ в групите с ИХТ и СХТ и в контролната група. Разликите са статистически значими между ИХТ и контроли ($p < 0,001$) и между СХТ и контроли ($p < 0,001$).

Figure 1. Mean OPG levels in the groups with subclinical hypothyroidism (SHT), overt hypothyroidism (OHT) and the control group. Differences are significant between SHT and controls ($p < 0,001$) and between OHT and controls ($p < 0,001$).



Фигура 2. Зависимост на нивата на ОПГот възрастта. Забелязва се ясно нарастване на с увеличаване на възрастта, най-отчетливо след 60-годишна възраст.

Figure 2. Correlation between OPГ levels and age of the subjects. There is a marked increase in OPГ with age, most pronounced after the age of 60.



Липиди

Стойностите на серумните холестерол, LDL, HDL и триглицериди са представени в Таблица 2. Не се установиха значими разлики между групите в нивата на общия холестерол, LDL, HDL холестерола и триглицеридите между трите групи. Корелационният анализ не показва и връзка с нивата на ТСХ, СТ4 или ОПГ, нито с обиколката на талията и ИТМ.

Сърдечносъдови заболявания

Артериална хипертония (прием на антихипертензивни и/или измерено повишено АН) беше налице при 14 (63,6%) от лицата с изявен хипотиреоидизъм, при 44 (60,3%) от тези със СХТ и при 11 (44%) от контролите. Разликите между групите не са значими. (хи квадрат $p=0,096$). Логистичният регресионен модел показва зависимост на артериалната хипертония от въз-

Таблица 2. Средни стойности със стандартни отклонения на общия холестерол, LDL, HDL и триглицериди в трите изследвани групи.

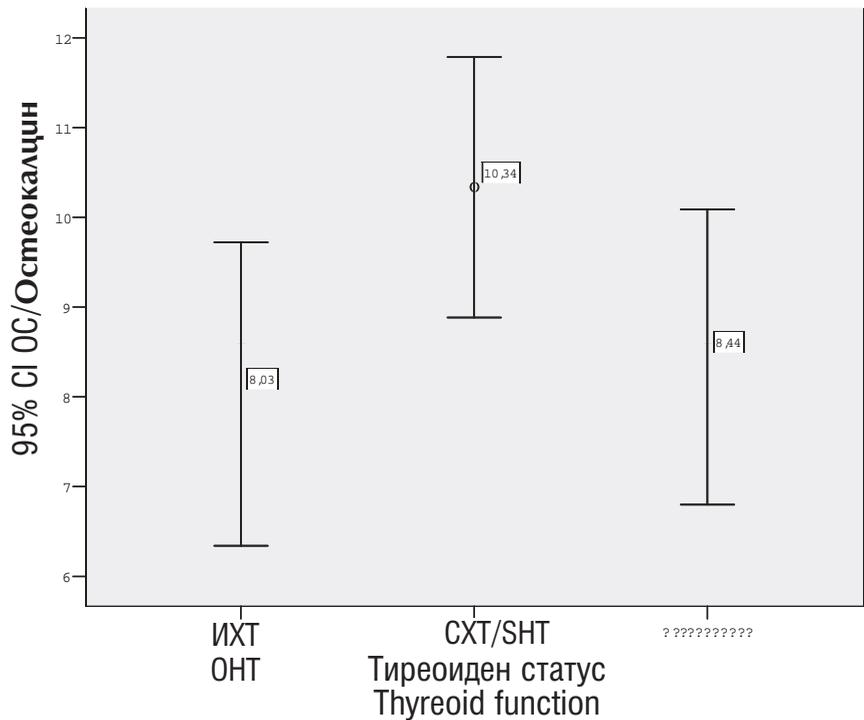
Table 2. Mean values and standard deviations of serum total cholesterol, LDLcholesterol, HDL cholesterol and triglycerids the three studied groups.

	Изявен хипотиреоидизъм overt hypothyroidism		Субклиничен хипотиреоидизъм subclinical hypothyroidism		Контролна група Controls	
	Средно mean	SD	Средно mean	SD	Средно mean	SD
Холестерол Cholesterol	5,76	1,55	5,83	1,28	5,91	1,50
HDL	1,39	0,27	1,47	0,39	1,48	0,42
LDL	3,47	1,10	3,30	1,08	3,47	1,06
Триглицериди triglycerids	1,60	1,49	1,46	1,38	1,29	0,82



Фигура 3. Средни стойности на ОК в групите с ИХТ и СХТ и в контролната група. Разликите между групите не са статистически значими.

Figure 3. Mean OC levels in the groups with subclinical hypothyroidism (SHT), overt hypothyroidism (OHT) and the control group. The differences between the groups are not significant.



растта ($p < 0,001$), но не и от другите изследвани параметри (ОПГ, ОК, ТСХ, липиди, обиколка на талията, ИТМ).

Данни за исхемична болест бяха налице при 21 (22,1%) от лицата с хипотиреоидизъм (4 (18,2%) от болните с ИХТ, 17 (23,3%) от тези със СХТ) и при нито едно от контролната група (хи квадрат $p = 0,007$). Основен фактор в множествения логистичен регресионен анализ беше възрастта ($p < 0,001$), но и ОПГ, който показва гранична значимост ($p = 0,051$). На Фигура 4 са представени нивата на ОПГ при лицата с и без анамнеза за исхемична болест в отделните групи. С останалите изследвани фактори, включително серумните липиди, не се потвърди асоциация.

Захарен диабет се установи при 10 (10,5%) от лицата с хипотиреоидизъм и при нито едно от контролната група. Нарушен въглехидратен толеранс беше налице при 10 (10,5%) от групата с хипотиреоидизъм и при 2 (8,0%) от контролната група. Разликите не са статистически значими. Множественият логистичен регресионен анализ показва зависимост от ИТМ ($p = 0,027$) и обиколката на талията

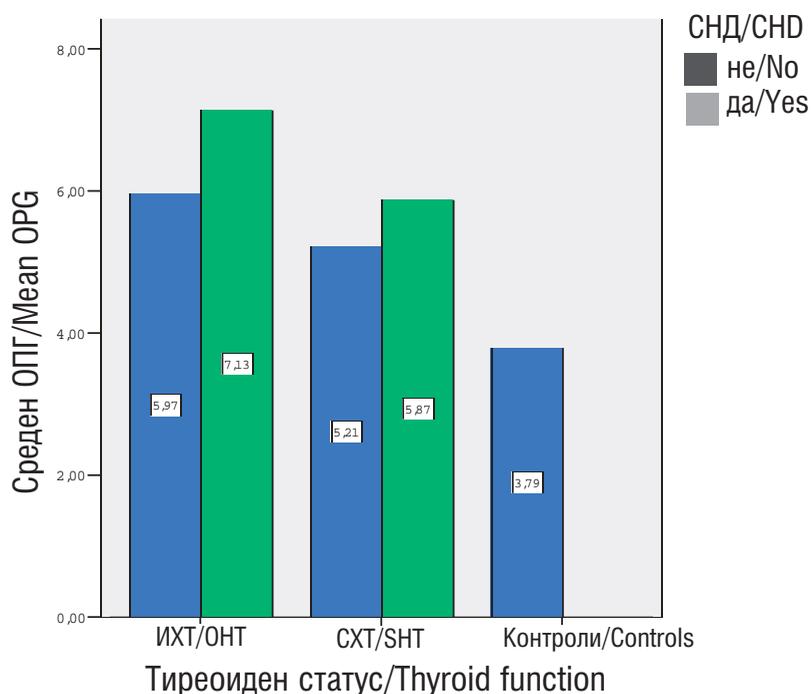
($p = 0,019$), но не от ОПГ, ТСХ и възрастта.

ОБСЪЖДАНЕ

Ролята на остеопротегерина в патологията през последните години е обект на много изследвания, често с противоречиви резултати. Установяването на повишени серумни нива при болни с исхемична болест на сърцето поставя въпроса за патогенетичната роля на ОПГ при това състояние. (7,15,26,17) Известно е, че ОПГ се произвежда и от ендотелните, и от съдовите гладкомускулни клетки, от клетките в кожата, стомаха, червата и плацентата. Някои скорошни проучвания показват връзка между повишените нива на ОПГ и процеса на калцификация в съдовата стена. Orita Y и сътр. (24) обаче демонстрират индукция на масивно отлагане на калциеви соли в съдовата стена при липса на ОПГ и изтъкват възможната му протективна роля. Хипотиреоидизмът се свързва с повишен сърдечносъдов риск и с увеличени нива на ОПГ и връзката между тези два феномена засега не е ясна. Проблем при изследване на нивата на ОПГ е невъзмож-

Фигура 4. Нива на ОПГ при лицата с и без анамнеза за ИБС по групи – Изявен хипотиреоидизъм (ИХТ), субклиничен хипотиреоидизъм (СХТ) и контроли. Разликите не са значими.

Figure 4. OPG levels in subjects with and without history of CHD in the groups – overt hypothyroidism (OHT), subclinical hypothyroidism (SHT) and controls. Differences are not significant



ността да се определи източника му в серума – дали е предимно от костен, съдов или друг произход. Може да се спекулира, че хипотиреоидизмът води до генерализирано повишаване на продукцията му, при което ендотелът е изложен на по-високи циркулиращи нива с последващ възможно позитивен ефект върху атеросклеротичния процес. В нашия материал се установи положителна асоциация между по-високи серумни нива на ОПГ и увеличена честота на исхемична болест при лицата с хипотиреоидизъм. Поради малката бройка еутиреоидни контроли данните не позволяват по-генерализирани обобщения. Най-вероятно определящия тази асоциация причинен фактор сред нашите пациенти е хипотиреоидизмът.

Изследвания върху нивата на остеопротегерина при субклиничен хипотиреоидизъм има малко. Guang-da и сътр. (10) изследват малка група здрави лица и болни със СХТ и ИХТ и откриват повишение на ОПГ при СХТ и при ИХТ, което се нормализира след включване на заместително лечение. Значението обаче на този показател в еволюцията на заболяването не е изследвано.

Резултатите от настоящото проучване показват значимо повишени нива на ОПГ както при лицата с изявен хипотиреоидизъм, така и при тези със субклиничен и по този начин потвърждават данните на цитираните автори. Анализът демонстрира и връзка между нивата на ОПГ и сърдечно-съдовата болестност, която е по-висока в групите със СХТ и ИХТ. Въпреки недвусмислената асоциация на ОПГ и на ИБС с възрастта, връзката между двата показателя остава значима при контролиране за възраст. Ограничение на настоящото проучване е анкетната форма за оценка на сърдечносъдовия статус. С цел намаляване на потенциалната неточност наличие на исхемична болест не беше прието при пациентите с неясна анамнеза или прием на медикаменти в минал период. Възможно е този подход да доведе до недооценка на реалната честота на заболяването. По тази причина е трудно да се определи дали по-високите нива на циркулиращия ОПГ при хипотиреоидизъм корелират и с тежестта на атеросклеротичния процес, както твърдят някои автори,(4,22) без обективно и пространно кардиологично

изследване. Възможно е такава да се организира на по-нататъшен етап в рамките на дългосрочно и разширено проследяване на болните. Също така доколко циркулиращите нива на ОПГ се дължат на продукция от остеобластите или на екстраосална – включително съдова – секреция, на настоящия етап не може да се каже. Поради това и същинското значение на повишения остеопротегерин в атеросклеротичния процес – причинен фактор, резултат или несвързан феномен – остава неясно.

Уетига и сътр. (30) намират положителна, независима от възрастта, връзка между систолното артериално налягане и нивата на остеопротегерин при постменопаузални жени. Авторите не се ангажират с твърда интерпретация на тази находка, като не изключват да се касае за два фактора, свързани независимо с процеса на съдова атеросклероза. Ние не установихме подобна зависимост в изследваната група, която е и по-хетерогенна от цитираната.

За разлика от други автори (14,29,33), ние не установихме и връзка между тиреоидната функция, ОПГ или сърдечносъдовата болестност и серумните липиди. Възможна причина за това е времето на провеждане на проучването. Кръвните проби са взети през зимния сезон, когато алиментарният фактор сред нашето население е най-неблагоприятен и обилната употреба на богати на наситени масти храни е традиционна. В полза на това предположение са хомогенно високите нива на общия холестерол ($>5,2$ mmol/l) и в трите групи. Нивата на остеокалцина (ОК) в настоящото проучване не показаха връзка с функция на щитовидната жлеза, отразена в стойностите на ТСХ, за разлика от тези на ОПГ. Вероятно нехомогенността на групата (мъже, пременопаузални и постменопаузални жени) не позволява да се отсеят допълнителните фактори. Явно е, че ако тиреоидната функция и нивата на ТСХ влияят на секрецията на ОК, то този ефект е по-дискретен, за да може да се измери в рамките на настоящото проучване. Установи се

слаба, но значима корелация ($r=0,194$, $p=0,045$, непараметричен тест на Spearman) на ОК с ОПГ. Разбира се, в случая не може да се изключи отново ефекта на възрастта, от която и двата маркера показват значима зависимост. Въз основа на нашите находки може спекулативно да се допусне, че докато ТСХ е фактор за продукцията и серумната наличност на ОПГ, то за синтеза на ОК играят роля повече типично „костни“ фактори, което обяснява и разминаването на двата показателя. В подкрепа на тази хипотеза е установената от нас положителна зависимост на ОК от СТ4. Костната обмяна зависи от функцията на щитовидната жлеза и очаквано корелира по-добре с тироксинемията, която по-точно, отколкото с нивата на ТСХ, отразява случващото се на тъканно ниво. Проучванията показват, че ТСХ пряко инхибира костната обмяна посредством активиране на ТСХ рецепторите върху остеобластите и остеокластите.(16,1) Влиянието обаче върху остеобластите е диференцирано и докато хормонът потиска тяхната диференциация и секрецията на колаген тип 1, повлиява положително синтеза на ОПГ, но вероятно не и този на ОК. Погледнато от друг ъгъл, двата маркера имат различно място в костната обмяна. Докато ОПГ е регулаторен фактор, ОК е продукт на костния метаболизъм.

В заключение, в настоящото проучване се установяват значимо по-високи нива на ОПГ сред болните както с изявен, така и със субклиничен хипотироидизъм, корелиращи със значимо по-висока честота на ИБС, но не и на артериалната хипертония и захарния диабет сред тези групи. Остеокалцинът не следва зависимостта от ОПГ, вероятно в резултат на групи регулаторни механизми и липса на пряка връзка с нивата на ТСХ. Необходимо е разширяване на изследваната група и лонгитудинално проследяване за потвърждаване на наблюдаваните резултати и изясняване на значението им в еволюцията на заболяването.

КНИГОПИС/REFERENCES

1. Abe E, RC Marians, W Yu, XB Wu, T Ando, Y Li et al. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. *Cell* 115, 2003, 2, 151-162
2. Amato G, Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, Lalli E, Biondi B et al. High serum osteoprotegerin levels in patients with hyperthyroidism: effect of medical treatment. *Bone*. 35, 2004, 3, 785-791.
3. Avignon A, Sultan A, Piot C, Elaerts S, Cristol JP, Dupuy AM. Osteoprotegerin is associated with silent coronary artery disease in high-risk but asymptomatic type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 28, 2005, 9, 2176-2180.
4. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 67, 2005, 1576-1582.
5. Bauer DC, Ettinger B, Nevitt MC & Stone KL. Risk for fracture in women with low serum levels of thyroid-stimulating hormone. *Annals of Internal Medicine*, 134, 2001, 561-568
6. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 16, 2001, 348-360.
7. Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Association of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 2001, 631-637.
8. Cooper DS: Subclinical hypothyroidism. *N Engl J Med* 345, 2001, 260-265.
9. Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Pischinger-Soelkner C. Osteoprotegerin serum levels in women: correlation with age, bone mass, bone turnover and fracture status. *Wien Klin Wochenschr* 115, 2003, 291-297.
10. Guang-da X, Hui-ling S, Zhi-song C, Lin-shuang Z. Changes in plasma concentrations of osteoprotegerin before and after levothyroxine replacement therapy in hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 2005, 10, 5765-5768
11. Hofbauer LC, Kluger S, Kuhne CA, Dunstan CR, Burchert A, Schoppet M et al. Detection and characterization of RANK ligand and osteoprotegerin in the thyroid gland. *J Cell Biochem* 86, 2002, 4, 642-650.
12. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 15, 2000, 2-12
13. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, et al.: Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 87, 2002, 489-499.
14. Ineck BA, Ng TMN. Effects of subclinical hypothyroidism and its treatment on serum lipids. *Ann Pharmacother* 37, 2003, 725-730
15. Jono S, Ikari Y, Shioi A, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation*, 106, 2002; 1192-1194.
16. Kanatani M, Sugimoto T, Sowa H, Kobayashi T, Kanzawa M, Chihara K. Thyroid hormone stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of RANKL-RANK interaction. *J Cell Physiol* 201, 2004, 1, 17-25.
17. Kiechl S, Schett G, Wenning G, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 109, 2004, 2175-2180.
18. Kudlacek S, Schneider B, Woloszczuk W. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone* 32, 2003, 681-686.
19. Martinez-Triguero ML, Hernandez-Mijares A, Nguyen TT, et al.: Effect of thyroid hormone replacement on lipoprotein(a), lipids, and apolipoproteins in subjects with hypothyroidism. *Mayo Clin Proc*, 73, 1998, 837-841.
20. Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, Cioffi M, Pilla P, Biondi B et al. Recombinant human TSH modulates in vivo C-telopeptides of type-1 collagen and bone alkaline phosphatase, but not osteoprotegerin production in postmenopausal women monitored for differentiated thyroid carcinoma. *J Bone Miner Res*, 20, 2005, 3): 480-486.
21. Meier C, Beat M, Guglielmetti M, Christ-Crain M, Staub JJ, Kraenzlin M. Restoration of euthyroidism accelerates bone turnover in patients with subclinical hypothyroidism: a randomized controlled trial. *Osteoporos Int*, 15, 2004, 209-216.
22. Nagasaki T, Inaba M, Jono S, Hiura Y, Tahara H, Shirakawa K et al. Increased levels of serum osteoprotegerin in hypothyroid patients and its normalization with restoration of normal thyroid function. *Eur J Endocrinol*, 152, 2005, 347-353.
23. O'Brien T, Dineen SF, O'Brien PC, Palumbo PJ: Hyperlipidemia in patients with primary and secondary hypothyroidism. *May Clin Proc* 68, 1993, 860-866.
24. Orita Y, Yamamoto H, Kohno N, Sugihara M et al. Role of Osteoprotegerin in Arterial Calcification. Development of New Animal Model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 27, 2007, 2058-2064
25. Ross DS. Hyperthyroidism, thyroid hormone therapy, and bone. *Thyroid* 4, 1994, 319-326.
26. Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, Herzum M, Maisch B, Hofbauer LC. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 2003, 1024-1028.
27. Sheppard MC, Holder R & Franklyn JA. Levothyroxine treatment and occurrence of fracture of the hip. *Archives of Internal Medicine* 162, 2002, 338-343.
28. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89, 1997, 309-319.

29. AE, Pols HAP, Visser TJ, et al.: Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med*, 132, 2000,270-278.

30. Uemura H, Yasui T, Miyatani Y, Yamada M et al, Circulating osteoprotegerin is associated with age and systolic blood pressure, but not with lipid profile or fasting glucose, in postmenopausal women. *Menopause*, 15, 2007, 1-5

31. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F. The incidence of thyroid disorders in the community: A twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clinical Endocrinology*. 43, 1995, 55-68.

32. Varga F, Spitzer S, Klaushofer K. Triiodothyronine (T3) and 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25D3) inversely regulate OPG gene expression in dependence of the osteoblastic phenotype. *Calcif Tissue Int* 74, 2004, 382-387

33. Vierhapper H, Nardi A, Grosser P, et al.: Low-density lipoprotein cholesterol in subclinical hypothyroidism. *Thyroid*, 10, 2000, 981-984.

34. Ziegler S, Kudlacek S, Luger A, Minar E. Osteoprotegerin plasma concentrations correlate with severity of peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 182, 2005, 1, 175-180.

АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Александър Шинков

Клиника по Тиреоидни и метаболитни костни заболявания, Университетска болница по ендокринология

Дамян Груев 6, София – 1303, България

E-mail: shinkovs@abv.bg

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Alexander Shinkov

Department of Thyroid and Metabolic bone diseases, University Hospital of Endocrinology

6 Damian Gruev Str, Sofia – 1303, Bulgaria

E-mail: shinkovs@abv.bg

Крепки кости и калцирани артерии – има ли връзка между тях?

Анна-Мария Борисова

Клиника по тиреоидни и метаболитни костни заболявания,
Клиничен център по ендокринология и геронтология,
Медицински университет – София

Brittle Bones and Boned Arteries – is There a Link

Anna-Maria Borissova

Department of Thyroid and Bone Mineral Diseases,
„Acad. I. Pentchev“ Clinical Center of Endocrinology,
Medical University – Sofia, Bulgaria

Резюме

Остеопорозата и атеросклерозата са хронични дегенеративни заболявания, които съществуват независимо и обичайно нарастват с напредване на възрастта. Налице са много факти, които показват корелация между сърдечно-съдовите заболявания и остеопорозата независимо от възрастта. Болестността и смъртността при остеопороза са свързани с фрактурите. При атеросклероза има висока болестност и особено висока смъртност, които са свързани с клиничните ѝ последици – ангина пекторис, остър миокарден инфаркт, инсулт, периферна съдова недостатъчност. При атеросклероза има нат-

Abstract

Osteoporosis and atherosclerosis are chronic degenerative diseases which have been considered to be independent and whose common characteristic is increasing incidence with age. At present, growing evidence indicates the existence of a correlation between cardiovascular disease and osteoporosis, irrespective of age. The morbidity and mortality of osteoporosis is mainly related to the occurrence of fractures. Atherosclerosis shows a high rate of morbidity and especially mortality because of its clinical repercussions such as angina pectoris, acute myocardial infarction, stroke, and peripheral vascular insufficiency. Atherosclerotic disease is characterized by the accumulation of lipid mate-

рупване на липиди в съдовата стена, поради автоимунни и възпалителни процеси. Над 90% от липидните плаки претърпяват калцификация. Корелацията между остеопорозата и атеросклерозата е оценена по основните патофизиологични механизми, патобиохимични пътища и рискови фактори за съдово заболяване и висока честота на ниска костна минерална плътност. Механизмът на съдова калцификация прилича на процеса на остеогенеза, който включва различни клетки, протеини и цитокини, всички водещи до тъканна минерализация. Направен е преглед на факторите отговорни за атеросклероза, корелацията с ниска костна минерална плътност.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: остеопороза, атеросклероза, сърдечно-съдов риск

rial in the arterial wall resulting from autoimmune and inflammatory mechanisms. More than 90% of these fatty plaques undergo calcification. The correlation between osteoporosis and atherosclerosis is being established by studies of the underlying physiopathological mechanisms, which seem to coincide in many biochemical pathways, and of the risk factors for vascular disease, which have also been associated with a higher incidence of low-bone mineral density. The mechanism of arterial calcification resembles the process of osteogenesis, involving various cells, proteins and cytokines that lead to tissue mineralization. The author reviews the factors responsible for atherosclerotic disease that correlate with low-bone mineral density.

KEY WORDS: osteoporosis, atherosclerosis, cardio-vascular risk

*„В крайно напреднала възраст артериите, главният инструмент на циркулацията, стават твърди и тъй като са **вкостени**, загубват своята сила да се свиват и не могат повече да придвижват кръвта, дори и през най-широките канали, в резултат на което настъпва естествена смърт.“*
(Проповед 57 на Джон Уесли, 1703 - 1791).

Понастоящем артериалната калцификация и остеопорозата се наричат „калцификационен парадокс“ – “calcification paradox” и често се срещат при постменопаузални жени (7).

Остеопорозата и атеросклерозата са два големи обществени здравни проблеми. По данни на СЗО за периода 1950-1998 година лицата над 60-годишно възраст от 8 % са станали 10 % и прогнозата е през

2050 година да достигнат 20 % от населението. За развиващите се страни се очаква броят на възрастните да нарастне 9-кратно до 2050 година (4).

Около 30 % от постменопаузалните жени в САЩ имат остеопороза и около 75-95 % от популацията има някаква степен на коронарна артериална калцификация при аутопсия. Понастоящем много проучвания показват, че има връзка между тези две заболявания (2). Ниската костна минерална плътност (КМП) в менопаузална възраст е рисков фактор за повишена сърдечно-съдова смъртност (ССС) по-късно в живота. Във Framingham study при над 30-годишно наблюдение се установява, че жените с най-ниска костна маса имат и най-висок риск от инциденти от коронарно артериално заболяване (11).

Ретроспективно проучване сред 1000 постменопаузални жени показва, че сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) са зна-

чимо по-чести сред жените с остеопороза (92/154, 60%) в сравнение с тези с остеопения (63/179, 35%), $p < 0.001$ или без остеопороза или остеопения (148/667, 22%), $p < 0.001$ (11). Жените с аортни калцификации имат по-голяма честота на вертебралните фрактури - 4.8 пъти и на бедрени фрактури - 2.9 пъти в сравнение с жени без аортни калцификации (11).

Gupta G, WS. Aronow. (2006) установяват, че артериално съдово заболяване е налице при 51% (31/51) от жените с остеопороза и остеопения, докато при жените с нормална КМП само в 38% (19/50), $p < 0.02$. В изследването на Bagger YZ. et al. (2007) се установява, че КМП на бедрото обратно корелира с тежестта на аортната калцификация. Ниската КМП на бедрото може да бъде важен маркер за атеросклероза при възрастни жени, заключават авторите.

Schulz E. et al. (2004) проследяват в кохорта от 228 лица лонгитудинално годишното нарастване на аортната калцификация и костната загуба (в проценти и в абсолютни стойности). Установени са изходно съдовите калцификати и са проследени. Изследваните са разделени в 4 групи според размера на промените в аортната калцификация. Жените с най-значимо годишно нарастване на аортната калцификация имат 4 пъти по-голяма костна загуба (5,3 срещу 1,3%) в сравнение с жените с най-малко нарастване на аортната калцификация.

Ниската костна маса е по-силен предиктор за ССЗ отколкото други добре известни рискови фактори - холестерол, тютюнопушене. Данните показват, че по-възрастните жени, които бързо губят кост имат и висока смъртност, дължаща се на ССЗ (12).

Атеросклеротичният процес се характеризира с акумулация на липиди в артериалната стена в резултат на автоимунни и възпалителни механизми. Повече от 90% от тези мастни плаки са калцифицирани. Механизмът на артериална калцификация прилича на процеса на остеогенеза, включ-

ващ различни клетки, протеини и цитокини. Всичко това води до тъканна минерализация (4).

Три основни характеристики има остаряващата кост:

✓ повишено ниво на остеокластогенезата - липса на естрогени постменопаузално

✓ намаление на остеобластогенезата - остаряване на костта

✓ повишена костно-мозъчна адипогенеза - остаряване на костта

Това се демонстрира с изместване на диференцирането на костно-мозъчните клетки предимно в адипоцити. Тези промени водят до жълт костен мозък и намалена костна маса (5).

Остеобластите (ОБ) и адипоцити произхождат от общ прекурсор - мезенхимната стем клетка (MSC). MSC може да се диференцира още във фибробласти, хондроцити, миоцити, други клетки от мезенхимен тип при наличие на благоприятни фактори и среда. MSC се диференцират в адипоцит или остеобласт в многобройни стъпки при наличие на няколко растежни фактори и хормони (9).

Стъпка 1: Миграция и сливане на MSC

За тази стъпка са необходими някои фактори: Insulin growth factor I (IGF-1), Platelet-derived growth factor (PDGF), Epidermal growth factor (EGF), Transforming growth factor-alpha (TGF-alpha), Hepatocyte growth factor (HGF), Fibroblast growth factor-2 (FGF-2), Trombin (9). При този процес на миграция и сливане на MSC се увеличава пролиферацията и диференциацията. При остаряване миграцията и сливането са нарушени, защото:

1. намален брой налични MSC за диференциация в костния мозък

2. намалено ниво на остеогенните растежни фактори в локалната микросреда

3. намалява и капацитета за диференциация на MSC в ОБ.

Стъпка 2: Мастна тъкан или кост? Това е въпросът.

Ако MSC са мигрирали и сляли и са при добри условия, клетките ще се диференцират в ОВ при наличие на високо ниво остеогенни транскриптиращи фактори и сред тях основният регулатор на остеогенезата е Core binding factor 1 (Cbfa1). При доминираща експресия на Cbfa1 диференциацията на MSC ще бъде в посока на ОВ. При доминираща експресия на PPARgamma2 диференциацията на MSC ще се насочи в посока на адипоцити. С напредване на възрастта експресията на Cbfa1 в MSC намалява, докато нивото на PPARgamma2 нараства. Така с остаряването в костния мозък настъпва изместване от остеогенеза към адипогенеза.

Роля на оксидативния стрес:

С магнитен резонанс е доказано, че с възрастта намалява кръвотока в костния мозък и това води до намаление в рО₂ там. Увеличават се и маркерите на оксидативния стрес. И адипогенезата и остеобластогенезата се нуждаят от достатъчно ниво на рО₂, но все пак ОВ-прекурсори са по-чувствителни на оксидативния стрес от адипоцитните прекурсори. Ето защо при ниско ниво на рО₂ в костния мозък доминират адипоцитни пред остеогенни прекурсори.

Стъпка 3: Калцитропни хормони

Витамин D стимулира остеогенеза чрез:

1. повишена абсорбцията на калций в червата

2. индуциране остеогенната диференциация на MSC чрез up regulation на:

• *Cbfa1* – необходим за транскрипцията

• *BMP2* и *BMP6* – растежни фактори

3. Инхибиране апоптозата на зрелите ОВ и така се задържа броя на наличните ОВ за реализация на ефективно костно формиране.

Витамин D инхибира адипогенеза чрез:

1. директна инхибиция експресията на PPARgamma2

2. потиска експресията на инхибитори на сигнализиращите пътища

Паратиреоиден хормон (PTH):

1. индуцира диференциацията на MSC в ОВ

2. инхибира диференциацията на MSC в адипоцити – чрез супресия на маркерите на този процес - PPARgamma2 и Lipoprotein lipase

Каква е ролята на мастния костен мозък: приятел или враг?

Има два аспекта в отговора на този въпрос:

1. Каква е неговата потенциална метаболитна роля

Мастният костен мозък е метаболитно неактивен. Той не се използва като енергиен източник с изключение на състояния на екстремна глад. Ролята на мастния костен мозък е просто да се заеме пространството и в същото време намалява хемопоезата и се уврежда архитектурата на костната маса.

2. Какъв е неговия потенциален токсичен ефект върху съседните клетки

Мастният костен мозък отделя адипокини и мастни киселини с потенциален токсичен ефект върху съседните клетки. Подобно е положението и в мастно инфилтрирания панкреас, което води до бета-клетъчната липотоксичност – един от механизмите на тип 2 захаран диабет (Т2ЗД) у възрастни. Липотоксичността в костта се реализира и чрез индуциране на „липоапоптоза“. В остаряващите панкреас и мускул този процес е описан – активиране на апоптозата от адипокини или мастни киселини. Сред адипокините главно TNF-alpha индуцира апоптозата на ОВ. Известно е, че при сенилната остеопороза водещ патогенетичен механизъм е апоптозата на ОВ. Следователно оптималното лечение на сенилната остеопороза трябва да бъде насочено към директна стимулация на остеобластогенезата, намаление на апоптозата остеобласт/остеоцит и инхибиране на адипогенезата. PTH и витамин D [1,25(OH)2D3] са показани именно в тези случаи, защото стимулират активността на ОВ, инхибират апоптозата на ОВ и инхибират адипогенезата. Остаряването на

костта е свързано с:

1. намаление в секрецията на растежни фактори за поддържане броя и сливането на MSC;

2. по-високо ниво на оксидативния стрес;

3. намаление на остеобластогенезата и експресията на *Cbfa1*, които водят до намаление в броя на ОВ, повишение в нивото на адипоцитната диференциация и до повишена експресия на *PPARgamma2*. Всичко това води до намалена диференциация в ОВ и повишена адипогенеза (5).

Матриксни протеини и фактори, участващи в костта и в артериалната стена

ОВ произвеждат костния матрикс, който се състои от:

1. колаген тип-1

2. неколагенови протеини, произведени *in situ* и продукти от циркулацията генесени в матрикса - *osteopontin*, *osteonectin*, *osteocalcin*, *osteoprotegerin* (OPG). Те регулират клетъчната функция, свързват растежни фактори и формират ядра за апатитна минерализация. Неколагеновите протеини в костта са важни за структурата ѝ, но те са налице и в артериалната интима и аортните клапи. Те се синтезират в съдовите клетки и регулират калцификацията и осификацията (8).

Освен матриксните протеини и фактори в костта и артериалната стена участват и транскриптиращите фактори. *Cbfa1*, *Msx2*, *Sox 9* участват в костната биология и в калцифицирани съдови стени и „оркестрират калцификационните процеси“ (8).

Биология на артериалната стена при атеросклероза

Целостта на артериалната стена се определя от интактните ендотелни клетки. Цитокини, хемокини и растежни фактори активират ендотелните клетки и това индуцира прикрепяне и пролиферация на моноцит-макрофаг. Много от тези медиатори са налице и в артериалната стена и в костта. Първоначалният процес е навлизането на циркулиращи моноцити в ар-

териалната интима, следва трансформацията им в макрофаги и се получават foam cells (8).

Възпалението играе ключова роля във всички етапи на атеросклеротичния процес, което се манифестира от циркулиращите серумни маркери (цитокини и специално на *RANKL*). Този процес се наблюдава в костите, но и в съдовите стени от активирани макрофаги. Макрофагите са основният източник и в двете тъкани (8).

Osteoprotegerin (OPG)

Той най-добре илюстрира биологичната връзка кост-артериална стена. OPG е част от системата чрез която ОВ модулира остеокластогенезата по пътя на интерфериране свързването на *RANKL* към *RANK* рецептора. OPG е регулатор на калцификацията в съдовата стена (8). Той е разтворим цитокин, произведен от стромалните клетки на костния мозък, имунната клетъчна система, бял дроб, черен дроб, черва, ОВ, съдови гладко-мускулни клетки и ендотелни клетки. Намира се корелация между серумното ниво на OPG и ССЗ респ. ССС. При дефицит на OPG се развиват тежка остеопороза и съдова калцификация (8). Възпалението е един от обединяващите процеси, повлияващи атерогенезата и костната загуба. Много от възпалителните медиатори, водещи до атерогенеза в съдовата стена е известно, че се намират в циркулацията като маркери на сърдечно-съдовия риск. Те достигат до костта, където с локалните цитокини подтикват ОВ да освободят фактори, потенциращи остеокластогенезата. Ролята на цитокините в костта е да регулират ОВ функции, а кост-резорбиращите ОС се нуждаят да бъдат държани под контрол чрез „супресивни фактори“ – OPG е добър пример. Обратното медиатори от активните костни клетки по пътя на циркулацията засягат и клетките в артериалната интима. (8).

Съдовата стена се калцира чрез механизми подобни на тези при минерализацията на костта. Хидроксипатитът е минералът и

на двете места. Той е структуриран по един и същи начин. Молекулярната биология показва регулирана остеогенеза в някои клетки на съдовата стена – едни с ОБ-потенциал и други с ОС-потенциал (12).

Дислипидемията е един от основните рискови фактори за атеросклерозата. В същото време хиперлипидемията инхибира диференциацията на ОБ в костната тъкан. Повишеното ниво на LDL и намаленото на HDL имат връзка с ниска КМП при постменопаузални жени. Окислените LDL провокират експресия на *monocyte colony-stimulating factor*, който е стимулатор на диференциацията на ОС и с това се подтиква костната резорбция и в същото време супресират диференциацията на стромалните клетки в ОБ. HDL от друга страна инхибира цитокините отговорни за остеогенната диференциация в съдовите клетки (4).

Заклучение:

Диагнозата остеопороза, остеопения или остеопорозни фрактури показва, че е налице повишен сърдечно-съдов риск. Лекарите, които се грижат за болните с остеопороза, трябва да знаят това (10).

4. Danilevicius C.F, JB. Lopes, R.M.R. Pereira. Bone metabolism and vascular calcification. *Braz J Med Biol Res*, April 40; 2007, Vol. (4) 435-442.

5. Duque G.. As a matter of Fat: New Perspectives on the Understanding of Age-Related Bone Loss. *BoneKey-Osteovision* 4; 2007 April (4):129-140.

6. Gupta G, WS. Aronow. Atherosclerotic vascular disease may be associated with osteoporosis or osteopenia in postmenopausal women: a preliminary study. *Arch Gerontol Geriatr*. Sep-Oct; 2006 43(2):285-8.

7. Hak AE, HA. Pols, AM. van Hemert, A. Hofman, JC. Witteman. Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 20; 2000 1926-31.

8. Hamerman D. Osteoporosis and atherosclerosis: biological linkages and the emergence of dual-purpose therapies. *Q J Med* 98; 2005 467-484.

9. Kratchmarova I, B. Blagoev, M. Haack-Sorensen, M. Kassem, M. Mann. Mechanism of divergent growth factor effects in mesenchymal stem cell differentiation. *Science*, June 3; 2005 308(5727):1472-7.

10. Nawroth P, R. Pirzer, B. Fohr, T. Schilling, R. Ziegler, A. Bierhaus, C. Kasperk. Osteoporosis and cardiovascular disease – two sides of the same coin. *Med Klin (Munich)* Aug 15; 200398(8):437-46.

11. Rubin MR. and SJ. Silverberg. Editorial: Vascular Calcification and Osteoporosis – The Nature of the Nexus. *J Clin Endocrin Metab* , 89; 2004(9):4243-4245.

12. Schulz E, K. Arfal, X. Liu, J. Sayre, V. Gilsanz. Aortic Calcification and the Risk of Osteoporosis and Fractures. *J Clin Endocrin Metab* 89; 2004,(9):4246-4253.

КНИГОПИС/REFERENCES

1. Джон Уесли (1703-1791), *Проповед* 57.
2. Adams J, J. Pepping. Vitamin K in the Treatment and Prevention of Osteoporosis and Arterial calcification. *Am J Health-Syst Pharm*. 62; 2005 (15):1574-1581.
3. Bagger YZ, H.B. Rasmussen, P. Alexandersen, T. Werge, C. Christiansen, L.B. Tanko. (PERF Study group). Links between cardiovascular disease and osteoporosis in postmenopausal women: serum lipids or atherosclerosis per se. *Osteoporosis Int* 18; 2007, 505-512.)

АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Проф. Анна-Мария Борисова
УСБАЛЕ
Дамян Груев 6, София – 1303
България

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Prof. Anna-Maria Borissova
University Hospital of Endocrinology
Str. Damian Gruev 6, Sofia – 1303 Bulgaria

Сърдечно-съдов риск и метаболитни нарушения при първичен алдостеронизъм

Йоанна Матрозова, Сабина Захариева

Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология „Акад. Иван Пенчев“, София

Cardiovascular Risk and Metabolic Disorders in Patients with Primary Aldosteronism

Joanna Matroзова, Sabina Zacharieva

Clinical Center of Endocrinology „Akad. Ivan Penchev“

Резюме

В последните години се установи, че първичният алдостеронизъм (ПА) е най-често срещаната форма на ендокринна хипертония, която заема 5-10 % от хипертониците. Увеличената честота на ПА сред пациентите с артериална хипертония обуславя изследването на сърдечно-съдовия риск при тази група болни. Едно скорошно проучване установи повишена честота на сърдечно-съдови инциденти при ПА (миокарден инфаркт, мозъчен инсулт, ритъмни нарушения) в сравнение с пациенти с есенциална хипертония. Възможно е тези усложнения да са свързани с вредните ефекти на алдостерона върху сърдечно-съдовата система или със съпътстващи въглехидратни или липидни нарушения. Все още взаимовръзката между ПА и нарушенията във въглехидратната и липидната обмяна е недоизяснена. Редица проучва-

Abstract

In the last decade it was found out that primary aldosteronism (PA) is the most frequent form of endocrine hypertension that comprises 5-10 % of hypertensive patients. The increased prevalence of PA among patients with arterial hypertension justifies the investigation of their cardiovascular risk. A recent study found an increased rate of cardiovascular events in patients with PA (myocardial infarction, stroke, heart rhythm disturbances) compared to patients with essential hypertension. These cardiovascular complications might be related to the harmful effects of aldosterone on the cardiovascular system or to some carbohydrate or lipid disorders.

The relationship between PA and carbohydrate or lipid metabolic disorders is still not clarified. Several in vitro studies have shown convincing data on the diabetogenic effect of PA and on the link between aldosterone and the

ния *in vitro* представят убедителни данни за диабетогенен ефект на ПА, както и за взаимодействие между алдостерона и мастната тъкан. Данните според клиничните *in vivo* проучвания обаче са недостатъчни и противоречиви.

В контекста на повишения сърдечно-съдов риск при ПА са налице и данни за ендотелна дисфункция и повишен оксидативен стрес, установени чрез изследването на някои инфламаторните цитокини. Интерес представлява и въпросът за изследването на изо-простаните като маркери за оксидативен стрес при ПА.

Първичният алдостеронизъм е заболяване, свързано с повишен сърдечно-съдов риск. Напоследък се обръща внимание и на метаболитните нарушения при ПА, като убедителни данни показват предимно *in vitro* проучванията. Необходими са още клинични проучвания за изясняване на ролята на въглехидратните и липидните нарушения в сърдечно-съдовия риск при тези пациенти.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: първичен алдостеронизъм, сърдечно-съдов риск, въглехидратни нарушения

Доскоро се считаше, че първичният алдостеронизъм (ПА) е рядко заболяване, което се среща при около 1 % от пациентите с артериална хипертония (1). В последните години се налага становището, че ПА е най-често срещаната форма на ендокринна хипертония, която заема 5-10 % от хипертониците (2). Тази увеличена честота се дължи вероятно на използването на нови скринингови диагностични методи като съотношението алдостерон/ренин и на по-широкото прилагане на образни изследвания за търсене на надбъбречни аденоми или хиперплазия, както и на прецизни методи за уточняване на формата на ПА (катетеризация на надбъбречните вени) (3)

adipose tissue. However, data coming from *in vivo* studies are scarce and contradictory. Studies have demonstrated endothelial dysfunction and increased oxidative stress in PA using the measurement of some inflammatory cytokines. The investigation of iso-prostanines as a marker of oxidative stress in PA is also a question of interest.

Primary aldosteronism is associated with increased risk of cardiovascular disease. Several recent reports were focused on the metabolic disorders in PA, but mainly *in vitro* studies showed conclusive results. More clinical studies are needed to clarify the role of carbohydrate and lipid disorders in the cardiovascular profile of patients with PA

KEY WORDS: primary aldosteronism, cardiovascular risk, carbohydrate disorders

Ефекти на алдостерона върху сърдечно-съдовата система

Увеличената честота на ПА сред хипертониците обуславя изследването на сърдечно-съдовия риск при тези пациенти и идентифицирането на асоциирани фактори, които водят до развитието на сърдечно-съдови заболявания. Едно скорошно проучване установи повишена честота на сърдечно-съдови инциденти при ПА (миокарден инфаркт, мозъчен инсулт, ритъмни нарушения) в сравнение с пациенти с есенциална хипертония (ЕХ) (4). Възможно е тези усложнения да са обусловени от вредните ефекти на алдостерона върху сърдечно-съдовата система (развитието на лево-

камерна фиброза, на васкулит и ремоделиране на камерите), изучавани усилено на последък *in vivo* и *in vitro* (5,6,7,8,9). Установено е, че при пациенти с ПА левокамерната хипертрофия е по-изразена в сравнение с пациенти с есенциална хипертония и реновазална хипертония (5) Тези вредни ефекти са независими от повишеното кръвно налягане. При хипертоници прилагането на Спиринолактон в доза, която не нормализира напълно повишеното артериално налягане, води до намаление на сърдечната фиброза (6). Изследванията *in vitro* показват, че алдостеронът стимулира синтеза на колаген в сърдечните фибробласти (7).

При плъхове приложението на алдостерон води до увеличено колагенообразуване не само в лявата камера, но и в дясната, което също показва, че тези ефекти са независими от влиянието на артериалното налягане (8). Според някои проучвания вредните ефекти на алдостерона върху сърцето и съдовете се наблюдават предимно при натоварване на организма с натрий (9). Изследванията показват, че алдостеронът води до увеличаване на сърдечната хипертрофия при високо съдържание на екстрацелуларен натрий чрез минералокортикоиден рецептор в кардиомиоцитите (10). Според експериментални данни алдостеронът действа и в среда с нормално натриево натоварване и води до интерстициална инфилтрация с макрофаги, фокални инфламаторни лезии и увеличен моноцит-хемоатрактант протеин 1 (11). При появата на фиброза на лявата камера вероятно участва и увеличеното образуване на свободни радикали под влияние на алдостерона (12).

Възниква въпросът дали повишеният сърдечно-съдов риск при ПА не е свързан и със съпътстващи възлехидратни или липидни нарушения?

Възлехидратни нарушения при ПА

Според последната класификация на Международната Диабетна Федерация (IDF) (13) диагнозата метаболитен синд

ром може да се постави при наличие на абдоминално затлъстяване /измерено чрез обиколка на талия/ и два от следните показатели: увеличени нива на триглицериди, понижен HDL- холестерол, артериална хипертония и нарушена гликемия на гладно. Епидемиологични проучвания показват, че метаболитният синдром е асоцииран с повишен риск от развитие на захарен диабет тип 2 (14) и сърдечно-съдови заболявания (15). Пациенти с есенциална хипертония (ЕХ) и метаболитен синдром имат по-изразена органична увреда, отколкото болни с есенциална хипертония (16,17,18,19). Установено е, че при пациенти със затлъстяване инсулиновата резистентност, увеличените нива на Апо В и инсулинемията на гладно са независими рискови фактори за коронарна болест (20, 21).

Това означава, че установяването на повишена честота на метаболитния синдром при ПА би могло да обясни отчасти поголемия брой сърдечно-съдови инциденти при тези пациенти. Все още взаимовръзката между алдостерона, хипергликемията и метаболитния синдром са недовъзяснени, което се дължи на малкия брой изследвани болни с ПА в проучванията, хетерогенния характер на заболяването /наличието на аеном или на хиперплазия/ и допълнителни фактори, като възраст, тегло, фамилна анамнеза за захарен диабет и прилагано лечение. Асоциацията между ПА и нарушен възлехидратен толеранс е наблюдавана още от Дж. Кон през 1965г (22), а в класификацията на Американската Диабетна Асоциация от 2006 г ПА е посочен като възможна причина за захарен диабет (23).

Редица **проучвания *in vitro*** представят убедителни данни за диабетогенен ефект на ПА, като според тях е трудно да се установи дали той се дължи на повишеното ниво на алдостерон или на хипокалиемията (24, 25). Според някои проучвания алдостеронът има директно влияние върху инсулиновия рецептор, потиска синтеза и активността му, води до даун регулация на глюкозните транспортери (24, 25). Друго

изследване изказва хипотезата, че е възможно алдостеронът да води до разрушаване на инсулин-рецепторния субстрат (IRS-1) чрез увеличаване на производството на свободни радикали в гладко-мускулните клетки. От своя страна това би могло да доведе до инсулинова резистентност, но е спорен въпросът доколко тези ефекти, наблюдавани в гладко-мускулните клетки оказват ефект върху системния глюкозен метаболизъм (26). Други нови проучвания показват, че алдостеронът по-

тиска транскрипцията на инсулин-рецепторния ген (27, 28). Изказана е хипотезата, че основна роля в случая може да играе минералокортикоидния рецептор като транскрипционен фактор, който се свързва с определени участъци в промотора на гена за рецептора на инсулин и по този начин потиска транскрипцията му. Също така при изследвания *in vitro* е установено, че хипокалиемията, често съпътстваща ПА, от своя страна води до нарушен синтез на инсулин от бета-клетките на панкреаса (29).

Таблица 1. Проучвания върху въглехидратния метаболизъм при първичен алдостеронизъм (ПА) /по Fallo, et al, 2007/

Table 1. Studies on glucose metabolism in primary aldosteronism (PA) /modified from Fallo, et al, 2007/

Проучвания Studies	Брой пациенти с ПА Number of patients with PA	Инсулинова резистентност при ПА в сравнение с ЕХ Insulin resistance in PA compared to patients with EH	Инсулинова резистентност при ПА в сравнение със здрави контроли Insulin resistance in PA compared to healthy subjects	Използван метод Method
Widimsky et al, 2001	36	не / no	нг/ nd	ОГТТ OGTT
Shimamoto et al, 1994	7	нг/ nd	га/ yes	Кламп-техника Clamp
Ishimory et al, 1994	15	нг/ nd	не/ no	ОГТТ OGTT
Shamiss et al, 1992	5	нг/ nd	га/ yes	Кламп-техника Clamp
Šindelka et al.	9	нг/ nd	га/ yes	Кламп-техника Clamp
Skrha et al.	16	нг/ nd	га/ yes	Кламп-техника Clamp
Catena et al.	47	не/ no	га/ yes	НОМА-индекс, Кламп-техника НОМА -index, Clamp
Fallo et al, 2007	40	га/ yes	нг/ nd	НОМА-индекс НОМА -index,
Mosso et al, 2007	30	не/ no	нг/ nd	НОМА-индекс НОМА-index

- ОГТТ- орален глюкозотолерансен тест, НД- няма данни, ЕХ- есенциална хипертония,
- OGTT- oral glucose tolerance test, EH- essential hypertension, nd- no data available

Не така убедително стои въпросът според *проучванията in vivo*. Само едно от изследванията показва, че честотата на метаболитния синдром е по-висока при пациенти с ПА, отколкото при пациенти с есенциална хипертония (30). При друго проучване, което сравнява 36 болни с ПА и 21 контроли с ЕХ не се открива разлика в честотата на захарния диабет и в нивата на кръвната захар между двете групи (31). Още по-убедителни са данните на Catena и сътр, които показват, че група от 47 болни с ПА не се различават от група от 247 пациенти с есенциална хипертония по отношение на нивата на кръвна захар на гладно и нещо повече, че НОМА индексът е по-висок при пациентите с есенциална хипертония. (32). От друга страна други скоршни изследвания показват повишена инсулинова резистентност при пациенти с ПА в сравнение с пациенти с ЕХ (33, 34). Хипотезата за диабетогенното влияние на хипокалиемията обаче не се потвърждава при проучванията върху болни с ПА, тъй като се установява, че инсулиновата резистентност персистира и при пациенти след осъществена инфузия на калий с оглед изключване на влиянието на хипокалиемията върху показателите за инсулинова чувствителност (35).

Първичен алдостеронизъм и липидна обмяна

Множество *in vitro* проучвания изследват връзката между мастната тъкан и алдостерона. Установено е, че алдостеронът директно повлиява основни функции на адипоцитите и стимулира образуването на проинфламаторни адипокини- лептин, моноцит хемоатрактант протеин 1 (36). *In vitro* е наблюдаван стимулиращ ефект на алдостерона върху диференциацията на преадипоцити в мастни клетки (37). След приложение на алдостерон върху клетъчни култури от преадипоцити при мишки се установяват повишени нива на триглицеридите, увеличена активност на GPDH /ензим, специфичен за процеса на диференциация на мастни клетки/ (37). Взау-

модействието алдостерон- мастна тъкан е двустранно, тъй като от своя страна мастната тъкан също взема участие в метаболизма на алдостерона. Допуска се, че компоненти на мастната тъкан вероятно синтезират фактори, стимулиращи синтеза на минералокортикоиди по ендокринен или паракринен път (38).

Малко са **клиничните проучвания**, които изследват липидните показатели при пациенти с ПА. Въпреки че при пациенти с метаболитен синдром има публикувани данни за негативна корелация между алдостерон и HDL-холестерол, при болни с ПА досега не са установени влошени липидни показатели в сравнение със здрави контроли или с пациенти с есенциална хипертония. (30, 32). Съществуват хипотези, че някои белтъци, произвеждани от мастната тъкан биха могли изгряят роля в развитието на инсулинова резистентност и съответно повишения сърдечно-съдов риск. Такъв адипокин е адипонектинът, за който е установена протективна роля по отношение на инсулиновата чувствителност и атеросклерозата (39) и понижени нива при пациенти с ЕХ, захарен диабет, дислипидемия (40). Само при едно проучване досега са изследвани нивата на адипонектин при ПА (33). Сравнени са пациенти с ПА и болни с нискоренинова хипертония, разделени на групи с и без метаболитен синдром. Установяват се понижени нива на адипонектин при пациенти с ПА в сравнение с пациентите с артериална хипертония само в групите без метаболитен синдром, като според авторите е възможно метаболитният синдром да маскира действието на алдостерона върху инсулиновата чувствителност. Изказва се хипотезата, че е възможно понижената инсулинова чувствителност при ПА да е свързана с ниските нива на адипонектин.

От посочените данни се вижда, че ПА е състояние, свързано с увеличен сърдечно-съдов риск, поради самостоятелното вредно влияние на алдостерона върху сърдечно-съдовата система и вероятно поради възможното му съчетание с възлехиг-

ратни и липидни нарушения. В този контекст са налице и данни за ендотелна дисфункция и повишен оксидативен стрес при ПА, установени чрез изследването на специфични маркери.

Оксидативен стрес и маркери на ендотелна дисфункция при ПА

Ендотелната дисфункция се счита за състояние, предшестващо атеросклерозата. Характеризира се с дисбаланс между хуморални и клетъчни фактори, които повлияват функцията и структурата на ендотелната стена. Добре познати рискови фактори като артериална хипертония, дислипидемия, хипергликемия, затлъстяване /в рамките на метаболически синдром и самостоятелно/, тютюнопушене могат да иницират ендотелна увреда- начална стъпка в атеросклеротичния процес. Усилва се продукцията на хемотактични фактори и миграцията на моноцити и други подобни клетки от циркулацията, което води до нискостепенен възпалителен процес, характерен за атеросклерозата. Същевременно се увеличава синтеза на адхезионни молекули и други маркери на тъканно възпаление.

Все още данните за инфламаторните цитокини като маркери на ендотелна дисфункция и оксидативен стрес при ПА са недостатъчни и противоречиви. Едно от последните изследвания в тази насока установява, че при пациенти с ПА са налице повишени нива на остеоопонтин в сравнение с пациенти с ЕХ (41). Остеопонтин е фосфопротеин, ключов цитокин в развитието на съдовото ремоделиране и в регулирането на периваскуларното възпаление в атеросклеротичния процес, изолиран първоначално от костта, а впоследствие от атеросклеротични плаки. Друго проучване в тази насока, проведено наскоро, показва, че няма статистически значима разлика в нивата на фактора на фон Вилебранд, Е-селектин и плазминоген активатор /t-PA/ при пациенти с ПА, ЕХ и феохромоцитом (42).

Интерес представлява въпросът за изследването на изо-простаните като маркери за оксидативен стрес. Оксидативният стрес участва в развитието на атеросклерозата, захарния диабет и затлъстяването - рискови фактори за сърдечно-съдови заболявания (43). *8-изо ПГ Ф2 алфа* принадлежи към групата на изопростаните, изомери на традиционните простагландини (44). Те се произвеждат *in vivo* под влияние на свободните радикали чрез пероксидация на полиненаситени мастни киселини (44). Ролята на липидната пероксидация в развитието на атеросклеротичния процес се потвърждава от присъствието на изопростани и други окислени липидни продукти в атеросклеротичните лезии (45). Многочислени проучвания установяват, че *8-изо ПГ Ф2 алфа* представлява маркер на оксидативен стрес, който е подходящ показател поради химичната си стабилност и бързото развитие на чувствителни методи за измерване (46, 47, 48). При изследване на 93 пациенти със сърдечно-съдово заболяване и 93 здрави контроли се установява, че *8-изо ПГ Ф2 алфа* е чувствителен и независим рисков фактор за развитие на коронарна болест (49). До момента има данни, че изопростаните са увеличени при състояния като есенциална хипертония (50), хиперлипидемия (51), затлъстяване (52), диабет (53). При изследване на пациенти с метаболически синдром се установяват повишени интерелевкени, CRP, хомоцистеин, sICAM и *8-изо ПГ Ф2 алфа* в сравнение със здрави контроли (54). В същото проучване се наблюдават повече случаи на субклинична атеросклероза, измерена чрез дебелината интима-медия, при пациенти с метаболически синдром в сравнение със здрави контроли. Вижда се също така, че нивата на *8-изо ПГ Ф2 алфа* корелират със стойностите на интима-медия дебелината (54).

Досега не са извършвани изследвания на нивото на *8-изо ПГ Ф2 алфа* при пациенти с ПА. Извършването на таква проучване ще бъде от интерес с оглед на факта, че

установяването на повишени нива на изопростани ще покаже наличието на оксидативен стрес и увеличен сърдечно-съдов риск при тези пациенти.

Клиничното значение на ендотелната дисфункция при ПА бе демонстрирано наскоро при проучване на Роси и сътр, в което са сравнени албинурията и гломерулната филтрация при пациенти с ПА и с ЕХ (55). Установява се увеличена албуминова екскреция при пациентите с ПА, което показва по-ранно и по-изразено бъбречно увреждане. В същото време при пациентите с ПА не се установява гломерулна хиперфилтрация, което дава основание да се предположи, че е възможно увеличените нива на албумин в урината да се дължат на ендотелна дисфункция при пациентите с ПА.

Първичният алдостеронизъм е заболяване, свързано с повишен сърдечно-съдов риск. В публикуваните досега проучвания е установена възможна роля на алдостерона по отношение на вредните ефекти върху сърдечно-съдовата система. Напоследък се обръща внимание и на метаболитните нарушения при ПА, като убедителни данни показват предимно ин витро проучванията. Необходими са още клинични проучвания върху пациенти за изясняване на ролята на възлехидратните и липидните нарушения в сърдечно-съдовия риск при тези пациенти.

КНИГОПИС/REFERENCES

1. Kaplan NM: Primary aldosteronism, in Kaplan NM (ed): Clinical Hypertension, 6th ed. Williams&Wilkins, Baltimore, 1994, 389-408
2. Mulatero P, M Stowasser, KC Loh, et al. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89, 1045-1050
3. Plouin PF, X Jeunemaitre. Would wider screening for primary aldosteronism give any health benefits? *Eur J Endocrinol*, 2004, 151(3), 305-8
4. Milliez P, X Girerd, PF Plouin, J Blacher, ME Safar, JJ Mourad. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45(8), 1249-50.
5. Matsumura K, Fujii K, Oniki H, Iida M, Role of Aldosterone in Left Ventricular Hypertrophy in Hypertension. *AJH* 2006; 19:13-18
6. Brilla CG, LS Matsubara, KT Weber. Antifibrotic effects of spironolactone in preventing myocardial fibrosis in systemic arterial hypertension. *Am J Cardiol* 1993, 71, 12A-16A.
7. Brilla CG, KT Weber. Reactive and reparative myocardial fibrosis in arterial hypertension in the rat. *Cardiovasc Res*, 1992, 26, 671-677
8. Brilla CG, R Pick, LB Tan, JS Janicki, KT Weber. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circ Res*, 1990, 67, 1355-1364
9. Yamamuro M, M Yoshimura, M Nakayama, K Abe, M Shono, S Suzuki, T Sakamoto, Y Saito, K Nakao, H Yasue, H Ogawa. Direct effects of aldosterone on cardiomyocytes in the presence of normal and elevated extracellular sodium. *Endocrinology*, 2006, 147(3), 1314-21.
10. Matsumura K, K Fujii, H Oniki, M Oka, M Iida. Role of aldosterone in left ventricular hypertrophy in hypertension. *Am J Hypertens*, 2006, 19 (1), 13-8.
11. Yoshida K, S Kim-Mitsuyama, R Wake, Y Izumiya, Y Izumi, T Yukimura, M Ueda, M Yoshiyama, H Iwao. Excess aldosterone under normal salt diet induces cardiac hypertrophy and infiltration via oxidative stress. *Hypertens Res*, 2005, 28(5), 447-55.

12. Rossi G, M Boscaro, V Ronconi, JW Funder. Aldosterone as a cardiovascular risk factor *Trends Endocrinol Metab.* 2005, 16(3), 104-7.
13. The IDF consensus Worldwide definition of the metabolic syndrome. Vol 2005, *International Diabetes Federation*, 2005
14. Laaksonen DE, HM Lakka, LK Niskanen, GA Kaplan, JT Salonen, TA Lakka. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol*, 2002, 156(11), 1070-7.
15. Lakka HM, DE Laaksonen, TA Lakka, LK Niskanen, E Kumpusalo, J Tuomilehto, JT Salonen. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002, 288(21), 2709-16
16. Schillaci G, M Pirro, G Vaudo, F Gemelli, S Marchesi, C Porcellati, E Mannarino. Prognostic value of the metabolic syndrome in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004, 43(10), 1817-22.
17. Cuspidi C, S Meani, V Fusi, B Severgnini, C Valerio, E Catini, G Leonetti, F Magrini, A Zanchetti. Metabolic syndrome and target organ damage in untreated essential hypertensives. *J Hypertens.* 2004, 22(10), 1991-8.
18. Leoncini G, E Ratto, F Viazzi, V Vaccaro, D Parodi, A Parodi, V Falqui, C Tomolillo, G Deferrari, R Pontremoli. Metabolic syndrome is associated with early signs of organ damage in nondiabetic, hypertensive patients. *J Intern Med*, 2005, 257(5), 454-60.
19. Lopez- Candales A. Metabolic syndrome X: a comprehensive review of the pathophysiology and recommended therapy. *J Med.*, 2001, 32(5-6), 283-300
20. Depres J-P, B Lamarche. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease, *N Engl J Med*, 1996, 334, 952-957
21. Fontbonne A, MA Charles, N Thibult, JL Richard, JR Claude, JM Warnet, GE Rosselin, E Eschwège. Hyperinsulinemia as a predictor of coronary heart disease mortality in a healthy population: the Paris Prospective Study, 15 -year follow-up. *Diabetologia*, 1991, 34(5), 356-61.
22. Conn JW. Hypertension, the potassium ion and impaired carbohydrate tolerance. *N Engl J Med* 1965, 273, 1135-43
23. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2006, 29 Suppl 1, S43-8.
24. Giacchetti G, LA Sechi, S Rilli, RM Carey. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. *Trends Endocrinol Metab*, 2005, 16(3), 120-6
25. Corry DB, ML Tuck. The effect of aldosterone on glucose metabolism. *Curr Hypertens Rep* 2003, 5, 106-9
26. Hitomi H, H Kiyomoto, A Nishiyama, T Hara, K Moriwaki, K Kaifu, G Ihara, Y Fujita, T Ugawa, M Kohno. Aldosterone suppresses insulin signaling via the downregulation of insulin receptor substrate-1 in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 2007, 50(4), 750-5.
27. Campion J, B Maestro, S Molero, N Davila, MC Carranza, C Calle. Aldosterone impairs insulin responsiveness in U-937 human promonocytic cells via the downregulation of its own receptor. *Cell Biochem Funct* 2002, 20, 237-245
28. Campion J, B Maestro, F Mata. Inhibition by aldosterone on insulin receptor mRNA levels and insulin binding in U-937 human promonocytic cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999, 70, 211-8.
29. Henquin JC. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*, 2000, 49, 1751-1760
30. Fallo F, G Federspil, F Veglio, P Mulatero. The metabolic syndrome in primary aldosteronism. *Curr Hypertens Rep*, 2007, 9(2), 106-11.
31. Widimsky J Jr, B Strauch, G Sindelka, J Skrha. Can primary hyperaldosteronism be considered as a specific form of diabetes mellitus. *Physiol Res.* 2001, 50(6), 603-7.
32. Catena C, R Lapenna, S Baroselli, E Nadalini, G Colussi, M Novello, G Favret, A Melis, A Cavarape, LA Sechi. Insulin sensitivity in patients with primary aldosteronism: a follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(9), 3457-63
33. Fallo F, P Della Mea, N Sonino, C Bertello, M Ermani, R Vettor, F Veglio, P Mulatero. Adiponectin and insulin sensitivity in primary aldosteronism. *Am J Hypertens*, 2007, 20(8), 855-61.
34. Mosso LM, CA Carvajal, A Maiz, EH Ortiz, CR Castillo, RA Artigas, CE Fardella. A possible association between primary aldosteronism and a lower beta-cell function. *J Hypertens.* 2007, 25(10), 2125-30
35. Sindelka G, J Jr Widimsky, T Haas, et al. Insulin action in primary hyperaldosteronism before and after surgical or pharmacological treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2000, 108, 21-25
36. Masuzaki H et al. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science*, 2001, 7, 294(5549), 2166-70
37. Rondinone CM, D Rodbard, ME Baker. Aldosterone stimulated differentiation of mouse 3T3-L1 cells into adipocytes. *Endocrinology*, 1993, 132(6), 2421-6.
38. Ehrhart-Bornstein M et al. Human adipocytes secrete mineralocorticoid-releasing factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 25, 100(24), 14211-6.
39. Vettor R, G Milan, M Rossato, G Federspil. Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2005, 22 (Suppl 2), 3-10.
40. Goldstein BJ, R Scalia R. Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89, 2563-2568
41. Irita J, T Okura, S Manabe, M Kurata, K Miyoshi, S Watanabe, T Fukuoka, J Higaki. Plasma osteopontin levels are higher in patients with primary aldosteronism than in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*, 2006, 19(3), 293-7
42. Petrak O, J Jr Widimsky, T Zelinka, J Kvasnicka, B Strauch, R Holaj, T Stulc, T Kvasnicka, J Bilkova, J Skrha. Biochemical markers of endothelial dysfunction in patients with endocrine and essential hypertension. *Physiol Res.* 2006, 55(6), 597-602.

43. Dhalla NS, RM Temsah, T Netticadan. Role of oxidative stress in cardiovascular disease. *J Hypertens*, 2000, 18, 655–673.
44. Morrow JD, KE Hill, RF Burk, TM Nammour, KF Badr, LJ Roberts. A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(23), 9383-7.
45. Witztum JL, JA Berliner. Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 1998, 9(5), 441-8.
46. Cracowski JL, T Durand, G Bessard. Isoprostanes as a biomarker of lipid peroxidation in humans: physiology, pharmacology and clinical implications. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23, 360–366.
47. Morrow JD. The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev*, 2000, 32, 377–385
48. Lawson JA, J Rokach, GA FitzGerald. Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation. *J Biol Chem*, 1999, 274, 24441–24444.
49. Schwedhelm E, A Bartling, H Lenzen, D Tsikas, R Maas, J Brummer, FM Gutzki, J Berger, JC Frolich, RH Boger. Urinary 8-iso-prostaglandin F2alpha as a risk marker in patients with coronary heart disease: a matched case-control study. *Circulation*, 2004, 4, 109(7), 843-8.
50. Minuz P, P Patrignani, S Gaino, et al. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease. *Circulation*, 2002, 106, 2800–2805.
51. Davi G, P Alessandrini, A Mezzetti, et al. In vivo formation of 8-iso-prostaglandin F2 is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17, 3230–3235.
52. Davi G, MT Guagnano, G Ciabattini, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA*, 2002, 288, 2008–2014.
53. Gopaul NK, EE Anggard, AI Mallet, DJ Betteridge, SP Wolff, J Nourooz-Zadeh. Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.*, 1995, 17, 368(2), 225-9.
54. Gomez-Fernandez P, M Eady Alonso, A Ruiz, MR Conde Lozano, V Sanchez-Margalet, M Almaraz Jimenez. Biomarkers of vascular inflammation and subclinical atherosclerosis in the metabolic syndrome. *Med Clin (Barc)*, 2004, 25,123(10), 361-3
55. Rossi GP, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mannelli M, Matterello MJ, Montemurro D, Palumbo G, Rizzoni D, Rossi E, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Participants. Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study. *Hypertension*, 2006, 48(2), 232-8.

АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Йоанна Матрозова

Клиничен център по Ендокринология и Геронтология

ул. Дамян Груев 6-8, 1303 София

e-mail: jmatroзова@abv.bg

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Dr. Joanna Matroзова

Clinical Center of Endocrinology and Gerontology

6, Damian Gruev Str, 1303 Sofia, Bulgaria

e-mail: jmatroзова@abv.bg

Амбулаторно мониториране на артериалното налягане при захарен диабет

Николай Стойнев

Клиника по Диабетология, Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология, Медицински Университет, София

Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Diabetes Mellitus

Nikolay Stoynev

Department of Diabetology, Clinical Center of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

Резюме

Повишеното артериално налягане е един от основните рискови фактори за развитие на хроничните усложнения на захарния диабет. Адекватният контрол на артериалното налягане значително намалява тяхната честота и тежест.

Амбулаторното мониториране на артериалното налягане показва по-добра корелация с увредата на таргетните органи в сравнение с измереното в кабинета на лекаря. С този метод могат да се изследват показатели като средни 24-часови, средни дневни и средни нощни стойности на артериалното налягане, пресорно натоварване, „dipping“ профил. Амбулаторното мониториране на артериалното налягане е основният метод за откриване на хипертония на бялата престилка и маскирана хипертония - състояния, свързани с повишен сърдечно-съдов риск.

При диабетици се наблюдават по-ви-

Abstract

Hypertension is one of the main risk factors for the development of the chronic complications of diabetes mellitus. The adequate blood pressure control significantly decreases their incidence and severity.

Ambulatory blood pressure monitoring shows better correlation with target organ damage than office blood pressure measurements. This method allows study of parameters as mean 24-h, daytime and nighttime blood pressure values, pressure load, „dipping“ pattern. Ambulatory blood pressure monitoring is the main diagnostic method for white-coat hypertension and masked hypertension – conditions associated with increased cardiovascular risk.

Elevated daytime and nighttime values of blood pressure are observed in diabetic patients. The increase in nighttime blood pressure values above normal range significantly increases the risk for onset and progression of the chronic complications of diabetes. Some authors consid-

соки дневни и нощни стойности на артериалното налягане. Повишението на нощните стойности на артериалното налягане над нормата сигнификантно повишава риска от възникване и прогресия на хроничните усложнения на диабета. Според някои автори повишението на средното нощно диастолично налягане е ранен белег с предиктивна стойност. Все още няма категорични данни за самостоятелното значение на „non-dipping“ профила при нормални средни стойности на артериалното налягане при диабетици. Освен това, той понякога се променя в зависимост от метаболитната компенсация на заболяването. Честотата на хипертонията на бялата престилка сред диабетици все още не е достоверно установена. Голямата честота на маскирана хипертония сред диабетиците дава основание за приложение на амбулаторното мониториране на артериалното налягане при всички нормотензивни диабетици.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: амбулаторно мониториране на артериалното налягане, хипертония, диабет, циркадианен ритъм, сърдечно-съдов риск

Промени в артериалното налягане и захарен диабет
Повишеното артериално налягане е един от основните рискови фактори за възникване и прогресия на хроничните усложнения на захарния диабет. Артериалната хипертония е обичайно явление при захарен диабет тип 2 – според литературни данни честотата ѝ е около 30 % при откриване на диабета и достига до 73 % в хода на заболяването (10). Адекватното и своевременно третиране на артериалната хипертония и оптимизирането на гликемичния контрол имат за резултат първична пре-

er increased mean nighttime diastolic blood pressure to be an early sign with predictive value. No convincing data are found about the independent importance of „non-dipping“ pattern in diabetics with normal mean blood pressure values. Furthermore, this pattern sometimes changes depending on the metabolic control of the disease. The prevalence of white-coat hypertension in diabetics is still not properly evaluated. The high prevalence of masked hypertension in diabetics supplies ground for the use of ambulatory blood pressure monitoring in all normotensive diabetics.

KEY WORDS: ambulatory blood pressure monitoring, hypertension, diabetes, circadian rhythm, cardiovascular risk

венция на диабетната ретинопатия и диабетната нефропатия. Според резултатите от United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) понижаването на артериалното налягане от 154/87mmHg до 144/82mmHg е намалило с 37 % развитието на микроваскуларни усложнения, докато интензивното лечение на хипергликемията е довело до намаление с 25 % (8,20).

При лица със захарен диабет тип 1 дори слабо изразени изменения в 24-часовите стойности на артериалното налягане показват положителна корелация с риска от развитие на микроалбинурия. Повише-

ните нощни стойности на систоличното артериално налягане предхождат появата на микроалбуминурията и според някои автори имат пряка връзка с нейното развитие и прогресиране до изявена нефропатия (6,12). Повишение на артериалното налягане обаче може да съществува и при лица със захарен диабет без признаци за бъбречно засягане (11). Съчетанието на артериална хипертония и диабет сигнификантно повишава риска от „тихи“ церебрални инфаркти (4).

Холтер-мониторирание на артериално налягане при захарен диабет

Амбулаторното мониториране на артериалното налягане показва по-добра корелация с увредата на таргетните органи в сравнение с артериално налягане измерено в лекарския кабинет (10). Освен това, то позволява разграничаването на отделни показатели като средни 24-часови, дневни и нощни стойности на систоличното и диастоличното артериално налягане, пресорно натоварване, нощен спад на артериалното налягане, както и откриването на маскирана хипертония и на т.нар. хипертония на бялата престилка. Праговете стойности при холтер мониториране на артериалното налягане са 130/80 mmHg за средно 24-часово артериално налягане, 135/85 mmHg за средно дневно артериално налягане и 120/70 за средно нощно артериално налягане. Липса на нормален нощен спад на артериалното налягане се определя като понижаване на нощните стойности с по-малко от 10% спрямо дневните (19,21). В своите препоръки Европейското общество по хипертония (European Society of Hypertension – ESH) препоръчва по-нисък праг за средно 24-часово артериално налягане – 125/80 mmHg (1). Процентът на стойностите на артериалното налягане над 140/90 mmHg за дневния период и над 120/80 за нощния определя т.нар. пресорно натоварване. В норма този показател е под 20%, стойности между 20 % и 50 % са

умерено повишени и над 50% се определят като високи. Пресорното натоварване е в пряка корелация с увредата на таргетните органи (10).

При лицата със захарен диабет тип 1 се откриват по-високи 24-часови стойности както на систоличното, така и на диастоличното артериално налягане, в сравнение със здрави контроли. Връзка между диабетната нефропатия и повишени абсолютни стойности на артериалното налягане е наблюдавана дори в ранните фази на бъбречна увреда. Проучване при лица със захарен диабет тип 1 показва, че нормоалбуминурия в комбинация с хиперфилтрация е свързана с по-високи нощни стойности на диастоличното артериално налягане в сравнение с пациентите с нормоалбуминурия и нормална филтрация (16). Други изследвания показват връзка между по-високи стойности на албуминурията и по-високи 24-часови стойности на систоличното артериално налягане, които се наслаждат допълнително към повишеното 24-часово и нощно диастолично артериално налягане (10). Отклоненията в 24-часовите и нощните стойности на диастоличното артериално налягане са ранен белег и според някои автори имат предиктивна стойност по отношение на бъбречното засягане (12).

При пациенти с диабет тип 2 се наблюдава сигнификантна положителна корелация на средните 24-часови стойности на артериалното налягане и пулсовото налягане с уринната екскреция на албумин и левкокамерната маса (9,11). Повишени 24-часови стойности на систоличното и диастоличното артериално налягане, пулсовото налягане и пресорното натоварване са описани при прогресия на диабетната нефропатия към макроалбуминурия (10,11) и при развитието на макроваскуларни увреждания (9).

Подобна е връзката с 24-часовите стойности на артериалното налягане и при диабетната ретинопатия. В началните фази на това усложнение се наблюдават предимно отклонения в 24-часовите и

нощните стойности на диастоличното налягане, за които се счита, че имат предиктивна стойност за развитието и прогресията на очните изменения. По-изразените увреждания при диабетна ретинопатия често са свързани с по-високи стойности и на систоличното налягане (18).

Липса на нормален „dipping“ профил на 24-часовото артериално налягане и захарен диабет

Нормалните 24-часови стойности на артериалното налягане се характеризират с нощно спадане на артериалното налягане с 10 до 20%. Лица с такъв денонощен профил се означават като „dippers“. При спад на артериалното налягане с по-малко от 10% определяме лицата като „non-dippers“ (19,21). Значението на профила на артериалното налягане с нощен спад по-голям от 20% при т.нар. „extreme dippers“ все още не е достатъчно проучено. Недостатъкът или липсващ нощен спад на артериалното налягане е значително по-чест при лица със захарен диабет в сравнение с лица без диабет (10). Освен това, при захарен диабет се наблюдава значително по-голяма повторемост на „non-dipping“ профила на артериалното налягане (над 90%) при повторно амбулаторно мониториране на артериалното налягане в сравнение със здравите контроли (65%) (3). При диабетици честотата на „non-dipping“ профила е по-висока при декомпенсация на заболяването. Хипергликемията променя циркулиращия плазмен обем и повлиява бъбречната хемодинамика и разпределението на кръвния поток. Освен това инсулинът има важна роля в регулацията на автономната нервна система. При захарен диабет тип 1 са наблюдавани понижение на 24-часовите стойности на артериалното налягане и увеличаване на нощния спад след 7-дневно подобрене в гликемичния контрол (10).

Правени са проучвания за честотата на „non-dipping“ профила сред поколенията на лица със захарен диабет и не са ус-

тановени значими разлики със здравите контроли. Все пак в една подгрупа на лица без захарен диабет, но с фамилна анамнеза за диабет тип 2 и с изявена автономна невропатия, се наблюдава по-малък нощен спад на артериалното налягане (5). Други проучвания показват положителна корелация на „non-dipping“ профила с развитието на диабетна невропатия и микроалбуминурия (15). Като цяло, самостоятелната роля на намаления нощен спад на артериалното налягане за възникването и прогресията на хроничните усложнения не може да се счита за доказана. Резултатите на различните автори в тази насока са противоречиви – някои установяват наличие, а други липса на корелация. Противоположни са и резултатите от двете проведени до момента проспективни проучвания (10).

Хипертония на бялата престилка при захарен диабет

За хипертония на бялата престилка се говори при повишени стойности на артериалното налягане при измерване в кабинета на лекаря и нормална средна 24-часова стойност на артериалното налягане при амбулаторно мониториране. Общоприето е схващането, че такива пациенти не се нуждаят от антихипертензивна терапия и установяването на нормално артериално налягане чрез амбулаторно мониториране спестява излишното им лечение. Методът е приложен в тази насока при пациенти в ранна фаза на захарен диабет тип 1 с установени високи стойности на артериалното налягане при измерване от лекар. 24-часовото холтер мониториране е установило хипертония само при 32% от тях (7). По-нови данни, обаче показват, че лицата с хипертония на бялата престилка имат по-голяма честота на левокамерна хипертрофия и сърдечно-съдова смъртност, и имат по-голяма степен на увреда в таргетните органи в сравнение с нормотензивни лица. Антихипертензивната терапия при тях подобрява прогнозата (10). Първоначално се е считало, че честотата

на хипертонията на бялата престилка е много висока при захарен диабет и достига до 74 % при захарен диабет тип 1 и до 51 % при захарен диабет тип 2. Последващо проучване при лица с диабет тип 2 показва значително по-ниски стойности, като при нормоалбинурия честотата е 23 %, при микроалбинурия – 8 % и при макроалбинурия 9 %. По-ниската честота при микро- и макроалбинурия е следствие от развитието на изявена артериална хипертония при голяма част от тези лица (10). Тези данни до момента не са потвърдени от други автори. Необходими са повече проучвания за оценка на реалната честота на това състояние при захарен диабет.

Маскирана хипертония при захарен диабет

Маскираната хипертония е най-новата категория пациенти, изследвани чрез холтер-мониторинг на артериалното налягане. Тя се характеризира с нормални стойности на артериалното налягане при измерване от лекар, но повишени дневни стойности на артериалното налягане (>135/85mmHg) при амбулаторно мониториране. Някои автори използват термина изолирана амбулаторна хипертония (2,14). Това състояние е асоциирано с увеличение на лявата камера и по-голяма дебелина интима-медия на каротидните артерии (13). Сърдечно-съдовият риск при тези лица е сравним с този при изявена артериална хипертония (2,14). Честотата на маскираната хипертония при диабет е по-висока (30%) в сравнение с лица без диабет (10-20%). До момента има проведено едно проучване относно влиянието на това състояние върху хроничните усложнения на диабета. Установена е по-голяма честота на високо-нормална албинурия, микро- и макроалбинурия при тези лица (10).

Индикации за провеждане на амбулаторно мониториране на артериалното налягане при захарен диабет

Основните индикации за провеждане

на холтер-мониторинг на артериалното налягане при лица със захарен диабет не се отличават от тези при лица без диабет (17):

1. При съмнение за хипертония на бялата престилка.
2. Оценка на резистентна на лечение артериална хипертония.
3. Епизодични прояви на хипертония.
4. При съмнение за епизоди на хипотония.
5. Оценка на ефикасността на антихипертензивна терапия.

Предвид голямата честота на маскирана хипертония при захарен диабет и сърдечно-съдовия риск, свързан с това състояние, някои автори препоръчват като допълнителна индикация за амбулаторно мониториране на артериалното налягане наличието на доказан захарен диабет без установени до момента данни за артериална хипертония (10).

В заключение, амбулаторното мониториране на артериалното налягане позволява по-добра стратификация на риска от развитие на хроничните усложнения на захарния диабет. Провеждането на амбулаторно мониториране на артериалното налягане е необходимо за диагностициране на хипертония на бялата престилка и има своето място дори при известни като „нормотензивни“ диабетици за установяване на евентуална маскирана хипертония.

КНИГОПИС/REFERENCES

1. Ben-Dov, I.Z., L. Ben-Arie, J. Mekler, M. Bursztyn Normal ambulatory blood pressure: a clinical practice-based comparison of two recently published definitions. *J Hum Hypertens* 2005; 19(7): 565-567.
2. Bjorklund, K., L. Lind, B. Zethelius, B. Andren, H. Lithell Isolated ambulatory hypertension predicts cardiovascular morbidity in elder men. *Circulation* 2003; 107: 1297-1302.
3. Cuspidi, C., S. Meani, L. Lonati, V. Fusi, C. Valerio, C. Sala, G. Magnaghi, M. Maisaidi, A. Zanchetti Short-term reproducibility of a non-dipping pattern in type 2 diabetic hypertensive patients. *J Hypertens* 2006; 24(4): 647-653.
4. Eguchi, K., K. Kario, K. Shimada Greater impact of coexistence of hypertension and diabetes on silent cerebral infarcts. *Stroke* 2003; 34: 2471-2474.
5. Foss, C.H., E. Vestbo, A. Froland, H.J. Hjessing, C.E. Morgensen, E.M. Damsgaard Autonomic neuropathy in nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects is associated with urinary albumin excretion rate and 24-h ambulatory blood pressure: the Fredericia study. *Diabetes* 2001; 50: 630-636.
6. Hogan, D., E. Lurbe, M.R. Salabat, J. Redon, D. Battlle Circadian changes in blood pressure and their relationships to the development of microalbuminuria in type 1 diabetes. *Curr Diab Rep* 2002; 2(6): 539-544.
7. Holl, R.W., E. Heinze, M. Pavlovic, A Thon Circadian blood pressure during the early course of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 1151-1157.
8. Intensive blood control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet* 1998; 352: 837-853.
9. Knudsen, S.T., P.L. Poulsen, K.W. Hansen, E. Ebbelohj, T. Bek, C.E. Morgensen Pulse pressure and diurnal blood pressure variation: association with micro- and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Am J Hypertens* 2002; 15: 244-250.
10. Leitaо, C.B., L.H. Canani, S.P. Silveiro, J.L. Gross Ambulatory blood pressure monitoring and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88(2): 315-321.
11. Leitaо, C.B., M.P. Molon, L.H. Canani, A.F. Pinotti, P.B. Polson, J.L. Gross Urinary albumin excretion rate is associated with increased ambulatory blood pressure in normoalbuminuric type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2005; 28: 1724-1729.
12. Lengyel, Z., L. Rosivall, C. Nemeth, L.K. Toth, V. Nagy, M. Mihaly, L. Kammerer, P. Voros Diurnal blood pressure pattern may predict the increase of urinary albumin excretion in normotensive normoalbuminuric type 1 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 62(3): 159-167.
13. Longo, D., F. Dorigatti, P. Palatini Masked hypertension in adults. *Blood Press Monit* 2005; 10(6): 307-310.
14. Mancia, G., R. Facchetti, M. Bombelli, C. Grassi, R. Sega Long-term risk of mortality associated with selective and combined elevation in office, home and ambulatory blood pressure. *Hypertension* 2006; 47: 846-853.
15. Pecis, M., M.J. Azevedo, R.S. Moraes, E.L. Ferlin, J.L. Gross Autonomic dysfunction and urinary albumin excretion rate are associated with an abnormal blood pressure pattern in normotensive normoalbuminuric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000; 23: 989-993.
16. Pecis, M., M.J. Azevedo, J.L. Gross Glomerular hyperfiltration is associated with blood pressure abnormalities in normotensive normoalbuminuric IDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20: 1329-1333.
17. Pickering, T.G., D. Shimbo, D. Haas Ambulatory blood pressure monitoring. *N Engl J Med* 2006; 354: 2368-2374.
18. Poulsen, P.L., T. Bek, E. Ebbelohj, K.W. Hansen, C.E. Morgensen 24-h ambulatory blood pressure and retinopathy in normoalbuminuric IDDM patients. *Diabetologia* 1998; 41: 105-110.
19. Staessen, J.A., J. Gasowski, L. Thijs, R. Fagard Diagnostic thresholds for the clinical use of ambulatory blood pressure monitoring. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1999; 24(3): 53-64.
20. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ* 1998; 317: 703-713.
21. Zacharieva, S., M. Orbetzova, A. Elenkova, A. Stoynev, M. Yaneva, R. Shigarminova, K. Kalinov, E. Nachev Diurnal blood pressure pattern in patients with primary aldosteronism. *J Endocrinol Invest* 2006; 29(1): 26-31.

АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Николай Стойнев

Клиника по Диабетология, Клиничен Център
по Ендокринология,
Ул. „Дамян Груев“ №6, София 1303
e-mail: niki_stoynev@abv.bg

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Nikolay Stoynev, MD

Department of Diabetology, Clinical Center of
Endocrinology,
6 Damian Gruev Str., Sofia 1303, Bulgaria
e-mail: niki_stoynev@abv.bg

Имуноцитохимични маркери – нова диагностична възможност в уточняването на тиреоидните възли

Мира Сидерова, Кирил Христов

Клиника по ендокринология, Медицински Университет – Варна

Immunocytochemical Markers – A New Diagnostic Approach in Refining the Cytological Diagnosis of Thyroid Nodules

Mira Siderova, Kiril Hristozov

Department of Endocrinology, Hospital „St. Marina“,
Medical University – Varna, Bulgaria

Резюме

Постиженията на съвременната молекулярна диагностика като имуноцитохимичните методи позволяват задълбочен анализ на материала от тънкоиглените биопсии (ТБ) с оглед разграничаването на бенигнените от малигнените тиреоидни възли, особено в спорни категории като „недетерминирани лезии“. Идентифицирани са множество молекулни маркери, ангажирани в многообразие от биологични процеси (клетъчна трансформация, пролиферация, диференциация, метастазизиране, резистентност към апоптоза). Тези маркери са абнормно експресирани в малигнените тиреоидни клетки и не се откриват в доброкачествените лезии. Сред тях най-обещаващи са Галектин-3, HBME₁ (повърхностно клетъчен мезотелен антиген), цитокератин-19, кератан-сулфат, фибронектин, Ret/PTC, CITED-1, CD44v6, E-кадхерин, виментин. Галектин-3 е бета-галактозид свързващ полипептид, който се експресира в цитоплазмата на малигнените фоликуларни клетки. Той е регулаторен

Abstract

Current molecular diagnostic procedures as immunocytochemistry allow precise analysis of FNAB material in order to distinguish benign from malignant thyroid nodules, especially in the category of „indeterminate lesions“. A variety of molecular markers involved in different biological processes (cell transformation, proliferation, differentiation, metastasis, resistance to apoptosis) have been identified. These molecules are abnormally expressed in malignant thyroid cells and not found in benign lesions. Most promising among them are Galectin-3, HBME₁, Cytokeratin-19 (CK-19), Keratan-sulfate, Fibronectin, Ret/PTC, CITED-1, CD44v6, E-Cadherin, Vimentin. Galectin-3 is a beta-galactoside binding polypeptide, expressed in the cytoplasm of malignant follicular cells. Galectin-3 regulates the cell cycle by inhibiting apoptosis and stimulating cell proliferation. As an adhesion molecule it participates in different stages of tumor progression and metastasis. The cell surface mesothelial antigen, which is recognized by the monoclonal antibody HBME₁, was shown to be a useful marker of follicular-derived malignant

компонент в клетъчния цикъл – инхибира апоптозата и стимулира клетъчната пролиферация. Като адхезионна молекула той играе роля в различните етапи на туморната прогресия и метастазиране. Повърхностно-клетъчният мезотелен антиген, разпознаван от моноклоналното антитяло НВМЕ₁, е сочен от редица автори за маркер, разпознаващ малигнените тиреоидни тумори от фоликуларен произход, както в хистологични, така и в цитологични материали. Цитокератин-19 (СК19) е нискомолекулярен цитокератин, протеин на клетъчния скелет, който е силно и дифузно експресиран при папиларния карцином. Фибронектин-1 е екстрацелуларен матриксен протеин, продуциран от фибробластите. Продукцията му от тиреоидните фоликуларни клетки се асоциира с малигнената им трансформация.

Други молекулни маркери пък са характерни за диференцираните фоликуларни клетки и тяхната експресия е намалена до липсваща при злокачествените лезии. Типични примери в това отношение са тиреоглобулинът (Тg), тиреопероксидазата (ТРО) и тиреоидният транскрипционен фактор 1 (ТТF₁). Експресията на тези молекули може да се докаже със стандартна имуноцитохимия, която лесно може да бъде въведена в рутинното изследване на материала от ТАБ на щитовидни възли.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: имуноцитохимия, тиреоидни възли, Галектин-3, цитокератин, фибронектин

Въведение

Тиреоидни възли се откриват приблизително в 5% от популацията при използване на палпацията като скринингов метод. При провеждане на ултразвуков скрининг този процент нараства десеткратно (5) и може да достигне 20-50% от общата популация (22). По-висока честота на ти-

tumours of the thyroid in both surgical and FNAB cytological samples. CK19 is a low molecular weight cytokeratin, strongly and diffusely expressed in papillary carcinoma. Fibronectin-1 is extracellular matrix protein, produced by fibroblasts. Its positivity in thyroid follicular cells is associated with their malignant transformation. Other molecular markers as thyroglobulin, thyroid peroxidase (TPO) and thyroid transcription factor 1 (TTF₁) are typical of differentiated follicular cells and their expression is decreased or missing in malignant lesions. The expression of these molecules can be evidenced by standard immunocytochemistry that could be easily included in routine thyroid FNAB procedures.

KEY WORDS: immunocytochemistry, thyroid nodules, Galectin-3, Cytokeratin-19, Fibronectin

реоидни възли се наблюдава в ендемичните за гушавост райони (2). Тиреоидните възли са рядко срещани при деца и погротващи, а честотата им нараства линейно с възрастта. Жените са засегнати 2-4 пъти повече от мъжете. Негозната тиреоидна болест е едно хетерогенно нарушение в клиничен, физиологичен и хистологичен аспект: възлите могат да бъдат егу-

нични или множествени, съпроводени с хипер- или хипофункция, доброкачествени или злокачествени.

Тиреоидният карцином е рядко злокачествено заболяване при човека, съставлява до 1% от злокачествените заболявания, но е най-честият ендокринен рак (22). Открива се в около 5% от тиреоидните възли. Годишната заболеваемост от тиреоиден карцином е нарастнала от 3,6/100000 през 1973 до 8,7/100000 през 2002, т.е. 2,4 пъти (11). Много автори смятат, че това увеличение до голяма степен се дължи на подобрената диагностика и увеличението е за сметка на диагностициране на възли под 2 см, като смъртността от тиреоиден карцином не се е променила – 0,5/100000 (11).

Аварията в Чернобил през 1986г. беляза нова ера в заболеваемостта от тиреоиден карцином. Рискът за развитие на рак на щитовидната жлеза, особено в Украйна, Беларус, Западна Русия и съседните гържави, е най-голям за децата, които тогава са били под 9 годишна възраст и особено под 5 годишна възраст и вероятно са приели голяма доза радиоактивен йод чрез млякото и млечните продукти. Изчислено е, че аварията в Чернобил ще доведе до възникване на допълнителни 16000 случая на рак на щитовидната жлеза до 2065 г.(6)

Тиреоидният карцином може да бъде смъртоносна болест: смъртността варира от 10% при добре-диференцираните тумори, до 50% при недиференцираните и медуларния карцином, и до 100% при анапластичните карциноми (5). Следователно ранните диагноза и лечение са от огромно значение за понижаването на смъртността от карцином на щитовидната жлеза.

Ултразвукът е изследване е възприето като първа стъпка в уточняването на тиреоидните възли, както и приложението му като УЗ-контрол при провеждането на ТБ (31). Общоприети са някои ехографски белези, подсказващи малигненост – солидна хипоехогенна структура, неравни очертания, липса на „хало“, микрокалцифи-

кати, интранодулерен Доплеров кръвоток, наличие на увеличени шийни лимфни възли, бързо нарастване на размерите при проследяващото УЗ-изследване (23).

Тънкоиглената биопсия (ТБ) на щитовидната жлеза е описана за първи път през 1948г. и е въведена в клиничната практика от скандинавски автори в началото на 70-те години на ХХ век (5). Днес ТБ е широко призната за сравнително точен и евтин диагностичен метод за разграничаването на доброкачествени от злокачествени тиреоидни възли. Рутинното провеждане на ТБ промени лечението на тиреоидните възли, като позволи да се избегнат ненужните операции на доброкачествени лезии и по този начин намали разходите за лечение. Цитологичните резултати от ТБ на тиреоидни възли се класифицират в четири диагностични категории (Табл. 1).

Защо се налага търсенето на нови диагностични методи?

Основните ограничения на цитоморфологичното изследване са диагностичните категории „недостатъчен клетъчен материал“ и „недетерминирана лезия“ (20). Тези ограничения са повод за разработването на нови методи за подобряване на диагностиката на тиреоидните възли, които се разглеждат в настоящия обзор. В случаите на „неадекватни проби“ се провежда повторна ТБ, която е успешна в около 50%. Препоръчва се ТБ под ехографски контрол с цел да се избегнат зоните на фиброза, калцификати и кистична дегенерация. Използват се и някои модифицирани техники, напр. „само с игла, без аспирация“, многократни прободания, както и проверка на адекватността по време на процедурата (12). Стандартното цитологично изследване е неспособно да класифицира като бенигни или малигни една определена част от възлите, която варира от 15% до 30%. Тези лезии са различно назовавани, например „суспектни“, „подозрителни“ или „недетерминирани“. В тази група

се включват:

- *Т. нар. фоликуларни лезии* със следните хистологични категории: *фоликуларен аденом, фоликуларен аденом с клетъчна атипия, фоликуларна неоплазма с недетерминиран малигнен потенциал, фоликуларен карцином, минимално инвазивен фоликуларен карцином*. Разграничаването например на фоликуларния аденом от минимално инвазивния карцином изисква хистологично верифициране на капсулата и/или съдовата инвазия. Това изключва възможността за предоперативно разграничаване на двата вида лезии на цитоморфологично ниво. В тези случаи много полезни се явяват молекулните маркери, които се експресират различно в бенигнените и малигнените възли (27).

- Друг проблем е *фоликуларният вариант* на папиларния тиреоиден карцином (FVPTC), който съставлява около 20% от всички папиларни карциноми. При него някои от цитологичните характеристики на папиларния карцином са слабо представени, като например псамомните телца, ядрените бразди и псевдовключванията (5).

- На цитологично ниво не е възможно и разграничаването на оксифилните (*Хъртъл-клетъчни*) неоплазми – *оксифилен аденом и карцином*, които са с неясен онкологичен потенциал. Изразеността на атипията и полиморфизма не корелира с биологичното поведение (3).

- *Островно-клетъчен карцином*: това е рядък тиреоиден тумор, който съставлява 4-7% от всички карциноми на щитовидната жлеза. Характеризира се с групиране на клетките в гнезда, наречени „острови“, има агресивно протичане и ранно далечно метастазирание. Принадлежността му към групата на „недетерминирани лезии“ се дължи на недобре изразените белези на клетъчна атипия (5).

- *Медуларен карцином*: съставлява приблизително 5% от всички тиреоидни карциноми. Аспиратите са често богати на клетки с характерни цитологични белези – полигонални клетки с ексцентрично

разположено ядро и червеникави цитоплазмени гранули (3). Съществуват обаче различни морфологични варианти. Класифицирането в групата на „недетерминирани“ се дължи на малкия опит с различните варианти на този рядък карцином (5).

Особено внимание заслужават *кистичните и смесените възли*, тъй като те имат онкологичен риск близък до този на солидните нодули, но се характеризират с повече фалшиво негативни резултати (до 17-30%), особено при кисти по-големи от 3 см. Кистичните тиреоидни лезии могат да крият окултен папиларен карцином, който може да бъде пропуснат при ТБ. В тези случаи би било полезно изследването на ограничавания брой фоликуларни клетки за експресията на молекулни маркери за малигненост с оглед по-нататъшното им наблюдение или хирургично лечение (24).

За тази цел постиженията на съвременната молекулярна диагностика като имуноцитохимичните методи позволяват по-задълбочен анализ на материала от ТБ с оглед разграничаването бенигнените от малигнените тиреоидни възли, поставяне на коректна предоперативна диагноза и намаляване на случаите, попадащи в категорията „недетерминирани лезии“ (26). Имунохистохимията (ИНС) и имуноцитохимията (ИСС) са методи, които използват моно- и поликлонални антители за откриване и локализиране на определени антигени в тъканни срези или цитологични материали. Цветното визуализиране се получава след добавяне на ензимно-маркирано второ анти тяло, насочено срещу първото и съответен ензимен субстрат. Ензимната реакция маркира мястото и интензитета на реакцията антиген-анти тяло.

Идентифицирани са множество молекулни маркери, ангажирани в многообразие от биологични процеси (клетъчна трансформация, пролиферация, диференциация, метастазирание, резистентност към апоптозата). Тези маркери са абнормно експресирани в малигнените тиреоидни клетки. Експресията на тези молекули може да се

докаже със стандартна имуноцитохимия, която лесно може да бъде въведена в рутинното изследване на материала от ТБ. Сред тях най-обещаващи са Галектин-3, HBME₁ (повърхностно клетъчен мезотелен антиген), цитокератин-19 (CK19), кератансулфат (KS), фибронектин, Ret/PTC, CITED-1, CD44v6, VEGF (съдовия ендотелен растежен фактор), Е-кадхерин, виментин.

Други молекулни маркери пък са характерни за диференцираните фоликуларни клетки и тяхната експресия е намалена до липсваща при злокачествените лезии. Типични примери в това отношение са тиреоглобулинът (Tg), тиреопероксидазата (ТРО) и тиреоидният транскрипционен фактор 1 (ТТF₁).

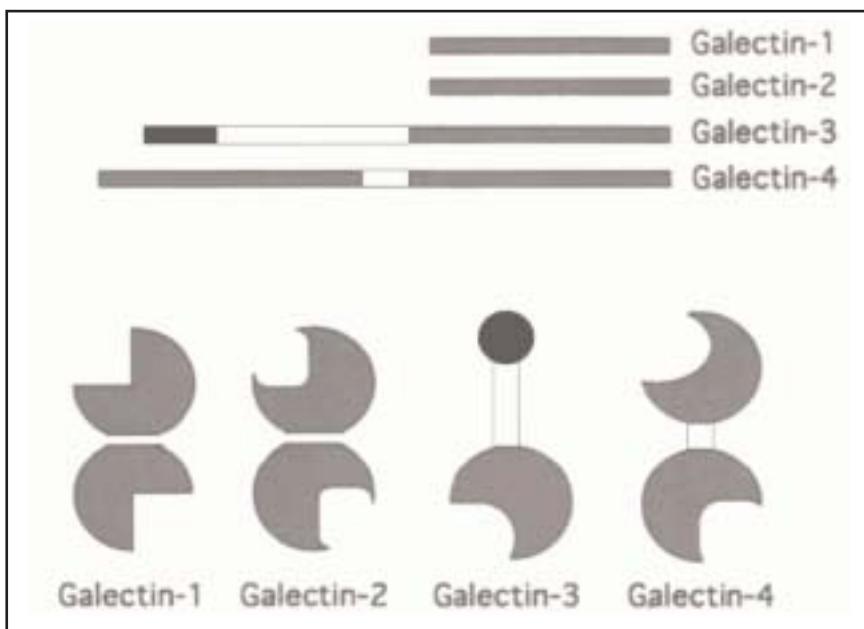
Имуноцитохимията за калцитонин има висока точност с оглед потвърждаване на диагнозата при съмнение за медуларен карцином (5). В повечето случаи на медуларен карцином се установява и пови-

шение на серумния калцитонин и е препоръчително той да бъде изследван при всички „недетерминирани“ цитологични диагнози.

Имуноцитохимични маркери с абнормно повишена експресия при малигнени лезии:

Галектин-3

Галектин-3 е бета-галактозид свързващ полипептид с молекулно тегло 31кДа, принадлежащ към голямото семейство на въглехидрат-свързващите протеини, наречени галектини. Те се характеризират с наличието на поне един въглехидрат разпознаващ домейн (7). До момента при бозайниците са открити 4 галектина: Galectin-1 (известен още като L-14, galaptin, BHL); Galectin-2; Galectin-3 (Mac-2, CBP-35, L-29) и Galectin-4. При човека генът, кодиращ Галектин-3 е открит върху хромозома 1p13. Структурата на галектините е представена схематично на фигура 1.



Фигура 1. Схематично представяне на галектините като полипептидни вериги (горе) и като асамблирани протеини (долу). В сиво е представен въглехидрат-свързващият домейн от около 130 АК. В бяло е междинният богат на пролин, глицин и тирозин участък от 100 АК на галектин-3, както и свързващият участък на галектин-4. В черно е представен N-терминалният домейн на галектин-3, съдържащ 12 АК-остатъка. (Модифицирано по Barondes et al., J Biological Chemistry 1994)

Figure 1. Schematic of the overall structures of galectines as single peptide chains (top) and as assembled proteins (bottom). The carbohydrate-binding domains of about 130 amino acid residues are grey; the proline-, glycine- and tyrosine-rich repeating domain of galectin-3 and the link peptide of galectin-4 are white; and the N-terminal domain of galectin-3 is black. (Barondes et al., J Biological Chemistry 1994)

Галектин-1 и 2 са хомодимери от по две субединици. Всяка субединица съдържа 130 аминокиселини и след синтеза си приема форма на компактен глобуларен домейн, както е показано на фигура 1. Галектин-3 и 4 са хетеродимери. Молекулата на Галектин-3 се състои от 3 участъка: възлехидрат-свързващ C-терминален домейн; един междинен свързващ участък, богат на пролин, глицин и тирозин (колагеноподобна АК-последователност); и къс NH₂-терминален участък от 12 аминокиселини, отговарящ за вътреклетъчното разпределение на галектина (13).

Галектин-3, подобно на другите галектини, има афинитет към лактозата и N-ацетиллактозамина, но освен това може да се свързва и с по-големи олигозахариди като поли-N-ацетил-лактозамино-гликан, съдържащ се в ЕЦМ и по клетъчната повърхност (4). Ламининът, гликопротеин с много полилактозаминни вериги, се сочи като естествен лиганд на Галектин-3. Известно е и взаимодействието на Галектин-3 с IgE и неговите рецептори (4). Други негови лиганди са фибронектин, Мас-2 свързващия протеин, лизозом-асоциирания мембранен протеин, карциноембрионалния антиген (CEA) и някои липополизахариди. Участието на Галектин-3 в множество физиологични и патологични процеси се обяснява с взаимодействието му с различни лиганди (16).

Галектин-3 се експресира в различни тъкани и клетъчни типове. Нормално той се открива в епителните и имунните клетки (18). Аберантната му експресия се среща при голям брой от карциномите при човека (карцином на млечна жлеза, колон, стомах, яйчник, Large-cell лимфом). Пръв Fabio Orlandi през 1998 изследва Галектин-3 в материал от ТАБ на щитовидна жлеза. Той открива селективна експресия на протеина в малигнените лезии и липсваща в бенигнените такива (21). Свърхекспресията на Галектин-3 във фоликуларните тиреоидни клетки се счита за маркер за малигненост и може се използва за предоперативното уточняване на тиреоидните възли (7).

Нормалната тиреоидна тъкан, както и бенигнените лезии не експресират Галек-

тин-3 (27;21). Трябва да се има предвид, че някои клетки на тиреоидната строма, като макрофаги, полиморфонуклеарни възпалителни клетки, фибробласти, хистиоцити, гладкомускулни и ендотелни клетки могат да позитивират Галектин-3 (18;27).

На клетъчно ниво Галектин-3 е локализиран основно в цитоплазмата, но се среща и в ядрото, на клетъчната повърхност и в ЕЦМ около клетките(18;21). Ядрената му локализация се асоциира с пре-мРНК-слайсинга и регулацията на генната експресия (10). Локализацията му по клетъчната повърхност и ЕЦМ обяснява ролята му в клетъчното разпознаване, адхезия и метастазирание. Малигнените клетки експресират Галектин-3 в цитоплазмата, а в някои случаи в цитоплазмата и ядрото. Ядрената локализация обаче сама по себе си не е малигнена характеристика (21).

Експресията на Галектин-3 се модулира от различни онкогенни и трансформационни стимули (21;27). Предполага се, че експресията му е асоциирана с фенотипа на лезията и с малигнената трансформация и прогресия към карцином с метастатичен потенциал (9). Възможно е ядрената локализация на Галектин-3 да е свързана само с клетъчната пролиферация, докато цитоплазменото натрупване представлява истински белег за трансформация към малигнена клетка (27). Това наблюдение съответства и на изводите от други студии и се подкрепя от ядреното присъствие на Галектин-3 при т.нар тиреоидни неоплазми с недетерминиран малигнен потенциал (9). Позитивирането му в някои фоликуларни аденони с клетъчна атипия, при които все още липсва инвазивност показва, че Галектин-3 е екстремно чувствителен и ранен маркер за малигнена трансформация на клетката (27). Необходими са допълнителни проучвания за проверката на тази хипотеза.

Галектин-3 играе важна роля в множество биологични и патологични процеси. Той е регулаторен компонент в клетъчния цикъл – инхибира апоптозата и стимулира клетъчната пролиферация (18). Инхибирайки апоптозата, Галектин-3 осигурява

оцеляването на туморните клетки. Въпреки че точния механизъм на това действие изисква допълнително изучаване, първоначалните данни предполагат взаимодействие между Галектин-3 и вътреклетъчни регулатори на клетъчния растеж и апоптоза, както е Bcl-2. Установено е, че Галектин-3 има значително аминокиселинно сходство с Bcl-2, добре известен супресор на апоптозата. Подобно на него Галектин-3 съдържа NWGR мотив, отговорен за антиапоптозното му действие (32). Антиапоптозната активност на Галектин-3 е свързана със способността му да блокира клетъчния цикъл (19). Въпреки че апоптозата може да бъде активирана на всеки етап от клетъчния цикъл, апоптозната чувствителност на клетката варира значително в различните му етапи. През последните години стана ясно, че Галектин-3 активира циклин D и води до бързо индуциране на клетъчния цикъл извън S-фазата, което предразполага към генетични мутации, способстващи за канцерогенезата (19).

Галектин-3 представлява адхезионна молекула и като такава регулира клетъчно-клетъчните и клетъчно-матриксните взаимодействия (18). ЕЦМ е среда, в която протичат много междуклетъчни взаимодействия, които имат отношение към генната експресия, диференциацията и клетъчното оцеляване. ЕЦМ е комплекс от макромолекули – колагени, ламинин, фибронектин, протеоглигани, много разтворими молекули, растежни фактори. Чрез взаимодействието на Галектин-3 с въглеродсвързващите му лиганди в ЕЦМ и по повърхността на другите клетки се осъществява и модулира клетъчната адхезия и междуклетъчната сигнализация (29). Това обяснява участието на Галектин-3 в процесите на клетъчна миграция, възпаление и имуноен отговор (18).

Счита се, че експресията на Галектин-3 корелира с инвазивността и метастатичния потенциал на различни тумори, включително щитовидни. Като адхезионна молекула той играе роля в различните етапи на туморната прогресия (18). Inohara и

съавтори илюстрират, че взаимодействието на Галектин-3 с един от неговите лиганди - Мас-2 свързващия протеин улеснява образуването на туморни емболи в съдовете, което лежи в основата на метастазирането (15).

Имайки предвид ролята му в туморната прогресия и метастазиране, предстои проучването на Галектин-3 като потенциална таргетна молекула при разработването на антиракова терапия, насочена срещу свързекспресирания Галектин-3 (14). През последните години се натрупа значителен клиничен опит с имунохистохимичното изследване на Галектин-3 при тиреоидни възли.

Според Saggiorato и съавт. чувствителността и специфичността на този молекулен маркер в предоперативното разграничаване на малигнените от бенигнените лезии в категорията фоликуларни неоплазми е съответно 92% и 94% (26). Orlandi установява имунопозитивност за Галектин-3 във всички папиларни и повечето фоликуларни карциноми, които изследва. Според него цитоплазмената експресия е надежден, лесен и евтин маркер за предоперативната диагноза на фоликуларните карциноми и още по-подходящ за папиларните (21). Интерес предизвиква проучването на Coli и съавт., при което всички изследвани метастази от папиларен карцином показват силно изразена и дифузна позитивност за Галектин-3 в 100% от метастатичните клетки (9). Имуноцитохимичното изследване се обсъжда и при кистичните тиреоидни лезии, които могат да крият окултен папиларен карцином, често пропускан при ТАБ. Проучването на Parotti и съавт. при кистични възли доказва, че Галектин-3 представлява надежден предоперативен маркер за установяването на малигненни клетки при тези случаи, при които малкият брой епителни клетки може да доведе до погрешна диагноза. Авторите предлагат бедните на клетки цитологични материали от ТАБ на прости или комплексни тиреоидни кисти да се изследват за имуноекспресия на Галектин-3 с оглед уста-

новяване на кистичен карцином и насочване на болния към оперативно лечение (24).

НВМЕ₁

Повърхностно-клетъчният мезотелен антиген (НВМЕ₁-антиген), разпознаван от моноклоналното антитяло НВМЕ₁, е сочен от редица автори за маркер, разпознаващ малигнените тиреоидни тумори от фоликуларен произход, както в хистологични, така и в цитологични материали (25). Нормалните фоликуларни клетки са НВМЕ₁-негативни (26). Експресията на НВМЕ₁ в малигнените клетки е предимно мембранозна, с луменно усилване (25). Някои автори докладват вариабилна цитоплазмена експресия с предимно апикална локализация (8). Имунопозитивност за НВМЕ₁ е докладвана от много автори при папиларен и фоликуларен тиреоиден карцином, но не и в нормална щитовидна тъкан (25). НВМЕ₁ – позитивността при тиреоидни фоликуларни тумори е белег за малигненост, но не задължително папиларна диференциация (8). Той се експресира предимно в неонкоцитарните (неоксифилните) карциноми (26). Според Cheung и съавт. НВМЕ₁ –реактивността в хистологични материали от суспектни агенони или доминантни хиперпластични възли налага търсенето на други белези за малигненост, като капсулна или съдова инвазия (8).

Цитокератин-19 (СК19)

Цитокератин-19 (СК19) е нискомолекулярен цитокератин, протеин на клетъчния скелет, който се среща в простия епител и в базалните клетъчни слоеве на многослойния епител (26). Експресията му е цитоплазмена. В хистологични, както и в цитологични материали от ТАБ на щитовидна жлеза се открива, че СК19 е силно и дифузно експресира при папиларния карцином. При фоликуларния карцином се наблюдава хетерогенна експресия, а при фоликуларния агенон – липсваща или фокална реакция. Той е особено ценен при онкоцитарни (оксифилни) тумори, където предоперативното му имунохистохимично изследва-

не значително повишава диагностичната стойност на класическата ТАБ (26). СК19 се експресира фокално в някои фоликуларни епителни клетки при тиреоидит на Хашимото. Фокална позитивност се наблюдава в участъците на регенерация в някои бенигнени лезии, което показва реактивната природа на СК19-позитивността (8). Въпреки това дифузната експресия, която е характерна за папиларния рак, има диагностична стойност (8). Според Prasad СК19 е сигнификантно повишен при папиларен тиреоиден карцином и го различава от други малигнени и бенигнени тиреоидни заболявания (25).

Кератан-сулфат (KS)

Кератан-сулфатът (KS) е гликопротеинов комплекс, експесиран изключително при папиларния карцином (26). Според някои автори, откриваните при папиларния карцином специфични KS-съдържащи макромолекули са уникални гликоформи от тиреоглобулин и трансферин. Експресията му е както в клетъчната мембрана, така и в цитоплазмата.

Ret/PTC

Ret-генът, локализиран в хромозома 10q, кодира трансмембрания тирозин киназен рецептор. Нормалните тиреоидни фоликуларни клетки не експесират ret. В по-голяма част от папиларните карциноми възниква генно пренареждане, което поставя интрацелуларния домейн на ret-гена под транскрипционния контрол на един от няколко гена, експесирани в тиреоидния фоликуларен епител (8). Химерният ген, ret/PTC онкоген, е специфичен за папиларните карциноми и кодира протеинов продукт, който съдържа цитоплазмената част на ret. Имунохистохимичната детекция на карбоксилния край на ret-протеина във тиреоидни лезии служи като надежден маркер за откриване на папиларен карцином. В проучването на Cheung и съавт. ret се открива в 69% от папиларните карциноми и в нито един от бенигнените възли (8).

В последните години редица автори изследват в хистологични и цитологични материали чрез RT-PCR специфичните ДНК-увреди като например BRAF мутации и RET/PTC транслокации (1). Това са обещаващи бъдещи методи. Основен недостатък е високата им цена.

Фибронектин

Фибронектин-1 е екстрацелуларен матриксен протеин, продуциран от фибробластите. Продукцията му от тиреоидните фоликуларни клетки се асоциира с малигнената им трансформация (30). Експресията му е цитоплазмена и мембранозна с луменно усилване. Проучванията на Prasad и съавт. показаха, че фибронектин-1 може да служи като точен предоперативен молекулярен маркер за диагностиката на папиларния карцином (25).

Имуноцитохимични маркери с намалена до липсваща експресия при малигнени лезии:

ТПО

Тиреопероксидазата е ензим, присъстващ във всички диференцирани немалигнени тиреоидни фоликуларни клетки. Той е имунологично увреден в раковите клетки и едно от моноклоналните антители срещу интактната ТПО (МоАВ47) не го разпознава в малигнените тиреоидни клетки (28). Нормално над 50% от клетките са с положителна цитоплазмена експресия за ТПО (26). Намалената му експресия под 50% подсказва малигненост.

ТТГ₁ (тиреоиден транскрипционен фактор 1)

Тиреоид-диференцираният фенотип се характеризира с експресията на някои протеини, които специфично се синтезират в тиреоидните фоликуларни клетки. Клонирани са 4 гена, кодиращи тиреоид-специфични протеини: тиреоглобулин, тиреопероксидаза, рецептор за тиреоид-стимулиращия хормон и йодния транспортер. Регулацията на тази характерна тъканна протеинна продукция се осъществява чрез

специфични нуклеарни фактори – ТТГ₁ и ТТГ₂ и PAX₈. Всички те се свързват с промотерите на тиреоглобулина и тиреопероксидазата (17). ТТГ₁ е хомеопротейн, който играе важна роля в развитието, клетъчния растеж и процесите на диференциация.

Katoh и съавт. изследват експресията на ТТГ₁ в неопластични и ненеопластични тъкани от щитовидна жлеза. При имунохистохимичното изследване ядрата на нормалните клетки и клетките от хиперпластични възли реагират във висока степен с антитела срещу ТТГ₁. Не се долавя имунореакция при недиференцираните карциноми (17). Изследването на ТТГ₁ осигурява полезна информация за функционалната активност и/или диференциацията на тиреоидните тумори и може да подпомогне разбирането на онкологичната природа на тиреоидните тумори (17). Според Katoh и съавт. активността на ТТГ₁ се регулира от различни механизми, като фосфорилиране, промяна в редокс-потенциала и др. Вероятно тези фактори липсват в карциномните клетки, което обуславя липсата на ТТГ₁-експресия. Наличието само на ТТГ₁ не е достатъчно, но е необходимо условие за постигане на диференциран фенотип на тиреоидните клетки. Нужни са допълнителни изследвания за уточняване, дали липсата на експресия на тиреоглобулин и ТПО е свързана с понижена или липсваща експресия на ТТГ₁.

В заключение, различията в експресията на гореизброените маркери при бенигни и малигнени възли дават основание за приложението на имуноцитохимичното изследване при болни с тиреоидни нодули. Къде точно е мястото на имуноцитохимията в алгоритъма за третиране на щитовидните възли, както и кои са маркерите с най-голяма диагностична стойност предстои да бъде уточнено. Изследователският интерес се подсилва и от реалната възможност за селекция на тиреоидните лезии, изискващи оперативно лечение, въз основа на молекулни маркери в допълнение към цитологичното изследване.

Таблица 1. Диагностични категории при ТАБ на тиреоидни възли (модифицирано по Христозов, Красналев. *Щитовидна жлеза в норма и патология*, 2007)

Table 1. Diagnostic categories according to FNAB of thyroid nodules (Hristozov, Krasnaliev, 2007)

Диагностични категории при ТАБ	
1	Недиагностичен цитологичен материал - ново изследване*
2	Бенигнен цитологичен материал - медикаментозно лечение и проследяване
3	Подозрителен цитологичен материал - не може категорично да се потвърди или изключи малигненост - проследяване или хирургично лечение
4	Малигнен цитологичен материал - хирургично лечение (при индикации) или медикаментозна и/или радиотерапия.

• Според повечето цитоморфолози е необходимо наличието на 6-8 клетъчни групи с по 10-20 клетки във всяка за да може адекватно да се определи една лезия като бенигнена (диагностична категория 2). Определянето на една лезия като малигнена може да стане и при наличие на по-малък брой клетки, ако са налице характерни цитологични белези за малигненост.

КНИГОПИС/REFERENCES

1. Ковачева Р, Д. Балмаджиева. BRAF^{T769A} мутация при тиреоидните тумори – нова перспектива за диагноза и прогноза на папиларния тиреоиден карцином. *Ендокринология* 2005, 4: 183-189
2. Лозанов Б. *Ендокринология*. Раздел 7 - Щитовидна жлеза, 2000, 261-405
3. Христозов К, И. Красналев. *Щитовидна жлеза в норма и патология*, 2007
4. Barondes SH, DW Cooper, MA Gitt, et al. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins. *J Biological Chemistry* 1994, 269 (33): 20807-10
5. Belfiore A. The use of fine needle aspiration biopsy in thyroid disease. *Thyroid international* 2002, 2
6. Cardis E, Krewski D, Boniol M et al. Estimates of the cancer burden in Europe from radioactive fallout from the Chernobyl accident. *Int J Cancer*. 2006 Apr 20
7. Cecchinelli B, L Laura, C Rinaldo, S Iacovelli et al. Repression of the antiapoptotic molecule Galectin-3 by homeodomain-interacting protein kinase 2 –activated p53 is required for p53-induced apoptosis. *Molecular and Cellular Biology* 2006, 26 (12): 4746-4757
8. Cheung CC, S Ezzat, JL Freeman, IB Rosen, SL Asa. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 2001, 14 (4): 338-342
9. Coli A, G Bigotti, F Zucchetti, F Negro, G Massi. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia. *Histopathology* 2002, 40: 80-87
10. Dagher SF, JL Wang, RJ Patterson. Identification of Galectin-3 as a factor in pre-mRNA slicing. *Biochemistry* 1995, 92: 1213-1217
11. Davis L, HG Welch. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, *JAMA* 2006, May 10; 295 (18): 2164-2167
12. Gharib H, JR Goellner. Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: an appraisal. *Ann Int Med*. 1993; 118: 282-289
13. Gong HC, Y Honjo, P Nangia-Makker et al. The NH2-terminus of Galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. *Cancer Research* 1999, 59: 6239-6245
14. Hunjo Y, P Nangia-Makker, H Inohara, A Raz. Downregulation of Galectin-3 suppresses tumorigenicity of human breast carcinoma cells. *Clinical Cancer Research*, 2001, 7: 661-668
15. Inohara H, S Akahani, K Kohts, A Raz. Interactions between Galectin-3 and Mac-2 binding protein mediate cell-cell adhesion. *Cancer Research* 1996, 56: 4530-34

16. Iurisci I, N Tinari, C Natoli et al. Concentration of Galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clinical Cancer Research* 2000, 6: 1389-93
17. Katoh R, A Kawaoi, E Miyagi et al. Thyroid transcription factor-1 (TTF1) in normal, hyperplastic and neoplastic follicular thyroid cells examined by immunohistochemistry and nonradioactive in situ hybridization. *Mod Pathol* 2000, 13 (5): 570-576
18. Kovacs R B, J F?ldes, G Winkler, M Bodo, Z Sapi. The investigation of galectin-3 in diseases of the thyroid gland. *Eur J Endocrin* 2003, 149: 449-453
19. Lin HM, B Moon, F Yu, HR Choi Kim. Galectin-3 mediates genistein-induced G2/M arrest and inhibits apoptosis. *Carcinogenesis*, 2000, 21 (11): 1941-1945
20. Nguyen GK, Ginsberg J, Crockford PM. Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid. Its value and limitations in the diagnosis and management of solitary thyroid nodules. *Pathol Annu.* 1991; 25(1): 63-91
21. Orlandi F, E Saggiorato, G Pivano et al. Galectin-3 as a presurgical marker of human thyroid carcinoma. *Cancer Research* 1998, 58: 3015-3020
22. Pacini F, M Schlumberger, H Dralle, R Elisei, J W A Smit, W Wiersunga and European Thyroid Cancer Task force. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 2006, 154: 787-803
23. Papini E., R. Guglielmi, A. Bianchini et al. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of Ultrasound and Color-Doppler features. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87: 1941-1946
24. Papotti M, M Volante, E Saggiorato, D Deandreis, A Veltri, F Orlandi. Role of Galectin-3 immunodetection in the cytological diagnosis of thyroid cystic papillary carcinoma. *Eur J Endocrin* 2002, 147: 515-521
25. Prasad ML, NS Pellegata, Y Huang, HN Nagaraja et al. Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol* 2005, 18: 48-57
26. Saggiorato E, R De Pompa, M Volante et al. Characterization of thyroid „follicular neoplasms“ in fine needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers: a proposal for clinical application. *Endocrine-Related Cancer* 2005, 12: 305-317
27. Saggiorato E, S Cappia, P De Guili et al. Galectin-3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 2001, N 11: 5152-5158
28. Savin S, D Cvejic, T Isic et al. Thyroid peroxidase and Galectin-3 immunostaining in differentiated thyroid carcinoma: diagnostic usefulness and clinicopathological correlation. *Hormone Research* 2007, 68 (suppl 3): 23
29. Seetharaman J, A Kanigsberg, R Slaaby et al. X-Ray crystal structure of the human Galectin-3 carbohydrate recognition domain at 2.1-Å resolution. *J Biological Chemistry* 1998, 273 (21): 13074-13052
30. Smit J, H Morreau, J Romijn, YY Liu, N Carrasco. Combined immunostaining with Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME-1, Cytokeratin-19, PPAR-gamma and NIS antibodies for the differential diagnosis of thyroid carcinoma. *Hormone Research* 2007, 68 (suppl 3): 2
31. Tae H J, S K Kang. Diagnostic value of ultrasonography to distinguish between benign and malignant lesions in the management of thyroid nodules. *Thyroid* 2007, 17(5): 461-466
32. Yang RY, DK Hsu, FT Liu. Expression of Galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Immunology* 1996, 93: 6737-6742

АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Мира Сидерова

Клиника по Ендокринология МБАЛ „Св.Марина“
Варна Бул. „Хр.Смирненски“1
9010 Варна, Тел.052/302 851, вътр.247
e-mail:mirasiderova@abv.bg

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Dr. Mira Siderova

Clinic of Endocrinology University Hospital
„St.Marina“ Varna 9010 Varna, bul. Hr.Smirnenski 1
Tel. 052/302 851 e-mail: mirasiderova@abv.bg



12^{та} Национален симпозиум по ендокринология

*„Лечение на усложненията
на диабета“*

БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ



12-14 юни 2008г. Пловдив

Списание
ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ISSN 1310-8131
Българското дружество по
ендокринология (БДЕ)

Адрес на редакционната колегия:

Университетска специализирана болница
за активно лечение по ендокринология,
„Акад. Иван Пенчев“ (УСБАЛЕ)
Проф. Б. Лозанов
ул. „Д. Груев“ 6, 1303 София
тел. (02) 987 7201; факс (02) 874 145
E-mail: bojann_lozanov@hotmail.com

Journal
ENDOCRINOLOGIA ISSN 1310-8131
Bulgarian Society
of Endocrinology (BSE)

Editorial Board Address for Correspondence:

University, Hospital of Endocrinology
Prof. B. Lozanov, Editor in Chief
6, D. Gruev Str., 1303 Sofia - Bulgaria
Tel (0359) (02) 987 7201; Fax (0359) (02) 874
145
E-mail: bojann_lozanov@hotmail.com

Списание „Ендокринология“, издание на Българското научно дружество по ендокринология, излиза в четири книжки годишно. В него се отпечатват оригинални научни статии, казуистични съобщения, обзори, рецензии и съобщения за проведени или предстоящи научни конгреси, симпозиуми и други материали в сферата на клиничната ендокринология. Списание то излиза на български език с подробни резюмета на български и английски. Заглавията, авторските колективи, а също надписите и означенията на илюстрациите и в таблиците се отпечатват и на двата езика. Материалите, предоставени от чужди автори се помещават на английски с цялостен или подбран превод на български.

Материалите трябва да се предоставят в два еднакви екземпляра, напечатани на пишещата машина или на компютър, на хартия формат А4 (21 x 30 см), 60 знака на 30 реда при двоен интервал между редовете (една стандартна машинописна страница).

Обемът на представените работи не трябва да превишава 10 стандартни страници за оригиналните статии, 12 страници – за обзорните статии, 3-4 страници за казуистичните съобщения, 4 страници за информации относно научни прояви в България и в чужбина, както и за научни дискусии, 2 страници за рецензии на книги (монографии и учебници). В посочения обем се включват книгописът и всички илюстрации и таблици. В същия не се включват резюметата на български и английски, чийто обем трябва да бъде около 200 думи за всяко (25-30 машинописни реда).

The journal of the Bulgarian Society of Endocrinology “Endocrinologia” is published in 4 issues per year. It accepts for publication original research articles, case reports, short communications, reviews, opinions on new medical books, correspondence and announcements for scientific events (congresses, symposia, etc) in all fields of clinical Endocrinology. The journal is published in Bulgarian. The detailed abstracts and the titles of the articles, the names of the authors and institutions as well as the legends of the illustrations (figures and tables) are printed in Bulgarian and English. The papers from abroad are published in “in extenso” in English, with complete or selected translation in Bulgarian, provided by the Editorial board.

The manuscripts should be submitted in two printed copies, on standard A4 sheets (21/30 cm), double spaced, 60 characters per line, 30 lines per standard page.

The size of each paper should not exceed 10 pages for original research articles, 12 pages for reviews, 3 pages for case reports, 2 pages for short communications, 4 pages for discussions or correspondence on scientific events on medical books or chronicles. The references or illustrations are included in this size (two 9x13 cm figures, photographs, tables or diagrams are considered as one standard page).

The abstracts are not included in the size of the paper and should be submitted on a separate page with 3 to 5 key words at the end of the abstract. They should reflect the most essential topics of the article, including the objectives and hypothesis of the research work, the procedures, the main findings and

Резюмето се представя на отделни страници. Те трябва да отразяват конкретно работната хипотеза и целта на разработката, използваните методи, най-важните резултати и заключения. Ключовите думи (до 5), съобразени с „Medline“, трябва да се посочат в края на всяко резюме.

Структурата на статиите трябва да отговаря на следните изисквания:

Титулна страница

а) заглавие, имена на авторите (собствено име и фамилия), название на научната организация или лечебното заведение, в което те работят. При повече от едно заведение имената на същите и на съответните автори се маркират с цифри или звездички;

б) същите данни на английски език се изписват под българския текст.

Забележка: при статии от чужди автори българският текст следва английския. Точният превод от английски на български се осигурява от редакцията. Това се отнася и за останалите текстове, включително резюмето на български.

Основен текст на статията

Оригиналните статии задължително трябва да имат следната структура: увод, материал и методи, собствени резултати, обсъждане, заключение или извод.

Методиките следва да бъдат подробно описани (включително видът и фирмата производител на използваните реактиви и апаратура). Същото се отнася и за статистическите методи.

Тези изисквания не важат за обзорите и другите видове публикации. В текста се допускат само официално приетите международни съкращения; при използване на други съкращения те трябва да бъдат изрично посочени в текста. За мерните единици е задължителна международната система SI. Цитатите вЪтрѐ в текста е препорЪчителнo да бЪдат отбелязвани само с номерата им в книгописа.

Илюстрации и таблици

Илюстрациите към текста (фигури, графики, диаграми, схеми и др. – черно-бели копия с необходимия добър контраст и качество) се представят на отделни листове (без обяснителен текст), в оригинал и две копия за всяка от тях. Текстът към фигурите със съответната им номерация (на български и на английски език) се прилага на отделен лист н опис. На гърба на всяка фигура се надписват с молив съответният номер (с арабски цифри), заглавието на статията и името на водещия автор, като се посочва и мястото (горе, долу). Таблиците се представят с готово написани обяснителни текстове на български и на английски, които са

the principal conclusions. The abstracts should not exceed one standard typewritten page of 200 words.

The basic structure of the manuscripts should meet the following requirements:

Title page

The title of the article, forename, middle initials (if any) and family name of each author; institutional affiliation; name of department(s) and institutions to which the work should be attributed, address and fax number of the corresponding author.

Text of the article

The original research reports should have the following structure: introduction (states the aim, summarizes the rationale for the study), subjects and materials, methods (procedure and apparatus in sufficient detail, statistical methods), results, discussion, conclusions (should be linked with the aims of the study, but unqualified statements not completely supported by research data should be avoided). These requirements are not valid for the other types of manuscripts. Only officially recognized abbreviations should be used, all others should be explained in the text. Units should be used according to the International System of Units (S. I. units). Numbers to bibliographical references should be used according to their enumeration in the reference list.

Illustrations

The figures, diagrams, schemes, photos should be submitted separately from the text (one original and two copies) in size 9 x 13 cm, all of them described on the back side with: consecutive number (in Arabic figures); titles of the article and name of the first author. These should be listed together with the corresponding and informative text in the legend (title, keys to symbols, etc.) on a separate sheet in consecutive order. The tables should be presented on separate sheets with Arabic numbers and informative text above each table. Please do not leave any empty space in the text for illustrations. Show with an arrow in the left margin of the respective page the recommended space for them.

References

The references should be presented on a separate page at the end of the manuscript. It is recommended that the number of references should not exceed 15-20 titles for the original articles and 30-35 titles for the reviews; 2/3 of them should be published in the last 5 years. References in Cyrillic should be listed first, followed by the Latin ones in the respective alphabetic order. The number of the reference should be followed by the family name of the first author and then his/her initials, names of the second and other authors should start with the initials

разположени над тях; номерацията им е отделна (също с арабски цифри). Посочените в таблицата данни не трябва да се дублират с тези във фигурите. В текста не се остава място за илюстрациите; същото се посочва със стрелка и съответния номер в лявото бяло поле на листа.

Книгопис

Книгописът се представя на отделен лист. Броят на цитираните източници е препоръчително да не надхвърля 15 (за обзорите до 30), като 2/3 от тях да бъдат от последните 5 години. Подреждането става по азбучен ред (първо на кирилица, после на латиница), като след поредния номер се отбелязва фамилното име на първия автор, след това инициалите му; всички останали автори се посочват с инициалите, последва ни от фамилното име (в обратен ред). Следва цялото заглавие на цитираната статия, след него – названието на списанието (или общоприетото му съкращение), том, година, брой на книгата, началната и крайната страница. Глави (раздели) от книги се изписват по аналогичен начин, като след автора и заглавието на главата (раздела) се отбелязват пълното заглавие на книгата, имената на редакторите (в скоби), издателството, градът и годината на издаване, началната и крайната страница.

Примери:

Статия от списание:

1. McLachlan, S., M. F. Prumel, B. Rapoport. Cell Mediated or Humoral Immunity in Graves' Ophthalmopathy? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78, 1994, 5, 1070-1074.

Глава (раздел) от книга:

2. Delange, F. Endemic Cretenism. In: The Thyroid (Eds. L. Braveman and R. Utiger). Lippincott Co, Philadelphia, 1991, 942-955.

Адрес за кореспонденция с авторите

Той се дава в края на всяка статия и съдържа всички необходими данни (вкл. пощенски код) на български език за един от авторите, който отговаря за кореспонденцията.

Всички ръкописи трябва да се изпращат с придружително писмо, подписани от авторите, с което потвърждават съгласието си за отпечатване в сп. „Ендокринология“. В писмото трябва да бъде отбелязано, че материалът не е бил отпечатван в други научни списания у нас и в чужбина. Ръкописи не се връщат.

Всички материали за списанието се изпращат на посочения адрес на редакцията.

followed by the family names. The full title of the cited article should be written, followed by the name of the journal where it has been published (or its generally accepted abbreviation), volume, year, issue, first and last page. Chapters of books should be cited in the same way, the full name of the chapter first, followed by "In:", full title of the book, editors, publisher, town, year, first and final page number of the cited chapter.

Examples

Reference to a journal article:

1. McLachlan, S., M. F. Prumel, B. Rapoport. Cell Mediated or Humoral Immunity in Graves' Ophthalmopathy? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78, 1994, 5, 1070-1074.

Reference to a book chapter:

2. Delange, F. Endemic Cretenism. In: The Thyroid (Eds. L. Braveman and R. Utiger). Lippincott Co, Philadelphia, 1991, 942-955.

Submission of manuscripts

The original and one copy of the complete manuscript are submitted together with a covering letter granting the consent of all authors for the publication of the article as well as a statement that it has not been published previously elsewhere and signed by the first author. The editors will not be responsible for damages or loss of the papers submitted. Papers returned to the authors for revisions and not received back in 60 days it shall be treated as newly submitted manuscripts. Manuscripts of articles accepted for publication will not be returned to the authors.

Address for sending of manuscripts and other editorial correspondence

Editorial board:
Universit, Hospital of Endocrinology
6, D. Gruev Str.
1303 Sofia, BULGARIA
Prof. B. Lozanov (Editor-in chief)

ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA



Списание
на Българското дружество
по ендокринология
към СНМД в България

Journal
of the Bulgarian Society
of Endocrinology
(BSE)

Главен редактор
Проф. Боян ЛОЗАНОВ
Зам. главен редактор
Вл. ХРИСТОВ
Научен секретар
Р. КОВАЧЕВА

Редактор на английски
Д-р Александър ШИНКОВ
Отговорен редактор
Румен НИНОВ
© *Първа корица и графичен дизайн*
Румен НИНОВ

Editor-in-chief
Prof. Bojan LOZANOV
Associate-Editor-in Chief
VI. CHRISTOV

Scientific secretary
R. KOVATCEVA

English editor
Alexander SHINKOV, MD
Art director Rumen NINOV
© *Cover&Design* Rumen NINOV

Институции-партньори, получаващи сп. Ендокринология Institution/Partners Receiving „Endocrinologia“

- National Library of Medicine, Bethesda
- The Librarian Royal Society of Medicine, London
- British Diabetic Association, London
- Who Regional Office for Europe, Copenhagen
- Who Health Organization Library (periodicals), Geneva
- Academic National de medicine Bibliotheque, Paris
- Elsevier Bibliographic Databases, Netherlands
- Canadian Institute for Scientific and Technical Information, Ottawa
- Library, National Institute of Infectious Diseases, Tokio
- Nagasaki University Medical Library, Nagasaki
- ВИНТИ/РАН-МИННАУКЕ РОССИИ, Москва
- ДЕРЖАВНА НАУКОВА МЕДИЧНА БИБЛИОТЕКА, Киев