



# ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

**Списание  
на Българското дружество  
по ендокринология  
(БДЕ)**

**Journal  
of the Bulgarian Society  
of Endocrinology  
(BSE)**

**Гл. редактор:** Боян Лозанов  
**Научен секретар:** Р. Ковачева

**Editor-in-Chief:** Boyan Lozanov  
**Scientific secretary:** R. Kovatcheva

**Редакционна колегия:**

С. Захариева, Ц. Танкова, Д. Коев, З. Каменов,  
Вл. Христов, М. Орбецова

**Editorial Board:**

S. Zakhariyeva, Tz. Tankova, Z. Kamenov, M. Orbetzova, D. Koev, Vl. Christov

**Редакционен съвет:**

А.-М. Борисова, Г. Кирилов, Ф. Куманов, М. Протич, М. Петкова, М. Боянов, К. Коприварова, Ж. Геренова, В. Цанева, В. Йотова, Л. Коева

**Advisory Board:**

A.-M. Borissova, G. Kirilov, F. Kumanov, M. Protich, M. Petkova, J. Gerenova, M. Boyanov, K. Koprivartova, V. Tzaneva, V. Jotova, L. Koeva

**Международен научен съвет:**

М. Богоев (Скопие), А. Булатов (Москва), Г. Ердоган (Анкара), А. Изидори (Рим), Б. Каранфилски (Скопие), П. Кенгъл-Тейлър (Нюкасъл на Тайн), М. Кокулеско (Букурещ), Г. Красас (Солун), П. Лауберг (Дания), Д. А. Кутрас (Атина), Дж. Лазарус (Кардиф), Е. Нишлаг (Мюнстер), А. Пинкера (Пица), С. Рефетоф (Чикаго), М. Серрано 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. Karanfilski (Scopie), P. Kendall-Taylor (Newcastle upon Tyne), D. A. Koutras (Athens), G. Krassas (Thessaloniki), P. Lauberg (Denmark), J. H. Lazarus (Cardiff), E. Nieschlag (Munster), A. Pinchera (Pisa), S. Refetoff (Chicago), M. Serrano Rios (Madrid)

**Списанието се индексира от/The journal is indexed by:**

• *Bulgarian Citation Index*

## Списание

---

# ЕНДОКРИНОЛОГИЯ

---

том XV, книжка 3, 2010

## Съдържание

### Оригинални статии

**А. Еленкова, Х. Jeunemaitre, AP Gimenez-Roqueplo, К. Христов, С. Захариева**

Генотипно-фенотипни корелации при фамилни форми на феохромоцитом ..... 132

**Силвия Вълчева, Мария Андреева, Мария Орбецова, Димитър Чаръкчиев, Георги Кирилов, Атанаска Еленкова, Илиана Атанасова, Емил Начев, Мария Янева, Филип Куманов, Анелия Томова, Марин Маринов, Красимир Калинов, Кирил Христов, Здравко Каменов, Жулиета Геренова, Иван Цинликов, Сабина Захариева**

Акромегалията в България – епидемиологична характеристика чрез национална база данни ..... 142

**Н. Стойнев, Г. Кирилов, Ц. Танкова**

Серумни нива на sFas и sFasL при пациенти със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония) 151

### Обзори

**Драгомир Коев**

Подценена опасност: дефицит на Кобаламин при захарен диабет тип 2 ..... 158

**Людмила Владимирова-Китова, Федея Николов, Жанет Минева, Мария Орбецова**

Статини и остеопороза ..... 172

### Хроника

..... 178

### Указания за авторите

..... 179

Адрес на редакционната колегия: Клиничен център – МБАЛ по ендокринология,  
„Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431 София;  
тел. (02) 985 6001; факс (02) 987 4145; Мобилен: 0888/680 343 (проф. Лозанов),  
Доц. Р. Ковачева – научен секретар (GSM 0898/60 86 02)

- Elsevier Bibliographic Databases, (SCOPUS) Netherlands
- EMBASE

ISSN 1310-8131

Journal  


---

**ENDOCRINOLOGIA**  


---

volume XV, number 3, 2010

**Contents**

**Originale articles**

**A. Elenkova, X. Jeunemaitre, AP Gimenez-Roqueplo, K. Hristozov, S. Zacharieva**  
 Genotype-Phenotype Correlations in Familial Pheochromocytomas ..... 132

**S. Vandeva, M. Andreeva, M. Orbetsova, D. Charakciev, G. Krilov, A. Elenkova, I. Atanasova, E. Nachev, M. Yaneva, Ph. Kumanov, A. Tomova, M. Marinov, K. Kalinov, K. Hristozov, Z. Kamenov, J. Gerenova, I. Tsinlikov, S. Zacharieva**  
 Acromegaly in Bulgaria – Epidemiological Characteristics derived from the National Acromegaly Database .... 142

**N. Stoynev, G. Kirilov, T. Tankova**  
 Serum sFas and sFasL Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Arterial Hypertension .....151

**Reviews**

**Dragomir Koev**  
 Underestimated Danger: Cobalamin Deficiency in Type 2 Diabetes Mellitus ..... 158

**Lyudmila Vladimirova-Kitova, Fedya Nikolov, Ganet Mineva, Maria Orbetzova**  
 Statins and Osteoporosis ..... 172

**Chronicle** ..... 178

**Instructions to Authors** ..... 179

**Editorial Board: Clinical Center of Endocrinology,  
 2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;  
 Tel (+0359) 2-895 6001; Fax C 2-987 4145; Mobil (+0359) 888 680 343 Lozanov,  
 Assoc. Prof. R. Kovatcheva – Sci. Secretary (GSM 0898/60 86 02)**

## Генотипно-фенотипни корелации при фамилни форми на феохромоцитом

А. Еленкова<sup>1</sup>, Х. Jeunemaitre<sup>2</sup>, AP Gimenez-Roqueplo<sup>2</sup>, К. Христозов<sup>3</sup>, С. Захариева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Клиника по хипоталамо-хипофизарни, надбъбречни и гонадни заболявания, Клиничен център по ендокринология и геронтология, Медицински университет, София

<sup>2</sup> Европейска болница „Жорж Помпиду“, Университет „Рене Декарт“, Медицински факултет, Париж V

<sup>3</sup> Клиника по ендокринология, УМБАЛ „Св.Марина“, Медицински университет, Варна

## Genotype-Phenotype Correlations in Familial Pheochromocytomas

A. Elenkova<sup>1</sup>, X. Jeunemaitre<sup>2</sup>, AP Gimenez-Roqueplo<sup>2</sup>, K. Hristozov<sup>3</sup>, S. Zacharieva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Hypothalamo-Hypophyseal, Adrenal and Gonadal Diseases, Clinical Centre of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

<sup>2</sup> Hôpital Européen „Georges Pompidou“, Université „René Descartes“, Faculté de Médecine Paris V

<sup>3</sup> Clinic of Endocrinology, UMHAT „St. Marina“, Medical University, Varna

### Резюме

Герминативни мутации в RET протоонкоген, VHL гена и гените, кодиращи субединиците на сукцинатдехидрогеназата SDHB, SDHD и SDHC са отговорни за приблизително 30% от всички случаи на феохромоцитом. Още по-важен е факта, че по литературни данни 12-24% от пациентите с привидно спорадични феохромоцитом (ASP) и негативна фамилна анамнеза имат вродено заболяване.

### Abstract

Germline mutations in RET proto-oncogene, VHL gene and the genes encoding SDHB, SDHD and SDHC subunits of succinate dehydrogenase are responsible for approximately 30% of all pheochromocytomas. Most importantly, according to literature data, 12-24% of patients with an apparently sporadic pheochromocytoma (ASP) and a negative family history have a hereditary disease. **The aim of this study** was to identify carriers of genetic forms of

---

**Цел на настоящото проучване** беше да се открият носителите на генетично обусловените форми на феохромоцитом (PCC) и катехоламин продуциращ паранглиом (PGL) и да се установят генотипно-фенотипните корелации при тези пациенти.

**Дизайн на проучването:** Участниците в проучването бяха набрани от PCC/PGL база данни, съдържаща електронните медицински записи на 106 пациенти, проследявани към нашия център. Изследвахме 20 пациенти, отговарящи на критериите за генетичен анализ: 13 лица с хистологично потвърден феохромоцитом, 1 фамилия (баща и трите му деца) с абдоминален паранглиом, 1 пациент с паранглиом на пикочния мехур, 1 пациент с множествен паранглиом и 1 жена с катехоламин-продуциращ невробластом. Извърши се директно ДНК секвениране на петте предразполагащи към изява на феохромоцитом гени (RET, VHL, SDHB, SDHD и SDHC) чрез използване на двуетапен алгоритъм.

**Резултати:** Мутации в гените, предразполагащи към развитие на PCC/PGL бяха установени при 35% от изследваните лица. Честотата на фамилните форми в отделните декади беше съответно: 88% при възраст 10-19 год.; 43% при 20-29 год. и 33% при 30-39 год. възраст на диагностициране на заболяването. Открихме 5 фамилии с болест на von Hippel-Lindau и 1 фамилия с мутация в SDHD субединицата на сукцинат дехидрогеназата. Носителите на мутации бяха по-млади, по-често с двустранни и екстраадrenalни тумори от пациентите със спорадични феохромоцитомы в създадената база данни.

---

**КЛЮЧОВИ ДУМИ:** фамилен феохромоцитом; паранглиом; герминативни мутации; субединици на сукцинат дехидрогеназата; множествена ендокринна неоплазия; болест на von Hippel-Lindau; неврофиброматоза.

---

pheochromocytoma (PCC) and catecholamine producing paragangliomas (PGL) and assess genotype-phenotype correlations in these patients.

**Study design:** Study participants were recruited from the PCC/PGL database comprising the electronic medical records from 106 patients being followed up at our centre. We investigated 20 patients who met the criteria for genetic analysis: 13 subjects with histologically confirmed pheochromocytomas, 1 family (father and his three children) with abdominal paragangliomas, 1 with a PGL of the urinary bladder, 1 patient with multiple paragangliomas and 1 woman with catecholamine-producing neuroblastoma. Direct DNA sequencing of five major pheo-pgl susceptibility genes (RET, VHL, SDHB, SDHD, and SDHC) was performed using a two-step algorithm.

**Results:** Mutations in PCC/PGL susceptibility genes were found in 35% of investigated patients. The prevalence of familial forms by decades was as follows: 88% in 10-19 yr; 43% in 20-29 yr and 33% in 30-39 age at diagnosis. We have identified 5 families with von Hippel-Lindau disease and 1 family with a mutation in the gene encoding SDHD subunit. Mutation carriers were younger and more frequently had bilateral or extra-adrenal tumors.

---

**KEY WORDS:** familial pheochromocytomas; paragangliomas; germline mutations; succinate dehydrogenase subunits; multiple endocrine neoplasia; von Hippel-Lindau disease; neurofibromatosis

---

Само до преди няколко години в ендокринологичните справочници в раздела „Феохромоцитом“ неизменно присъстваше „правилото на десетките“: 10% двустранен, 10% малигнен, 10% фамилен тумор. Откритието, че мутации в гените, кодиращи три от четирите субединици на сукцинатдехидрогеназата, обуславят фамилни форми на феохромоцитом, отбеляза края на тази дълго просъществувала аксиома. Оказа се, че фамилните форми съставляват около 25-30% от всички случаи на това рядко заболяване. Освен отдавна познатите автозомно доминантни фамилни синдроми множествена ендокринна неоплазия (MEN-2A и MEN-2B); неврофиброматозата на Reglinghausen тип 1 и болестта на von Hippel-Lindau (VHL), към тази категория се отнасят и наследствени феохромоцитомы/параганглиомы, базирани на различни мутации в SDHB, SDHD и SDHC субединиците на сукцинатдехидрогеназата. Още по-важен е факта, че приблизително 15% от пациентите с привидно спорадични феохромоцитомы (ASP) и негативна фамилна анамнеза се оказват с наследствено заболяване (3).

### Цел на проучването

Цел на проучването беше да се установят пациентите с фамилни форми на феохромоцитом/параганглиом и да се определят генотипно-фенотипните корелации при тях.

### Материали и методи

Пациентите бяха набрани от създадената в УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ феохромоцитом/параганглиом (PCC/PGL) база данни. Генетичен анализ беше извършен само на лицата, отговарящи на поне един от следните критерии:

1. ранна изява на заболяването (под 30 год. възраст);
2. двустранни адренални феохромоцитомы;
3. катехоламин-продуциращи тумори с

екстраадренална локализация;

4. съмнение за малигнен характер на тумора;

5. позитивна фамилна анамнеза.

От ДНК анализ бяха изключени лицата с известни фамилни синдроми, както и пациентите с неврофиброматоза тип 1, при които диагнозата беше поставена на базата на наличието на поне 2 от утвърдените фенотипни критерии (табл.1).

След подписано информирано съгласие, генетичният анализ на периферна ДНК, изолирана от венозна кръв, беше извършен в Катедра по генетика, Европейска Болница „Жорж Помпиду“, Париж според утвърдения съвременен алгоритъм на 2 етапа:

**I етап:** скрининг на пациентите с феохромоцитомы чрез директно секвениране на четирите екзона на SDHD, осемте екзона на SDHB и трите екзона на VHL.

**II етап:** лицата, при които не се откриват мутации по горепосочените гени, съобразно тяхната фамилна анамнеза, бяха изследвани за SDHC и RET-протоонкоген (1). Изследвани бяха 20 пациенти, отговарящи на горепосочените критерии: 13 лица с феохромоцитом, 6 лица с параганглиом 1 1 пациентка с катехоламин-продуциращ невробластом. При 18 от пациентите диагнозата беше потвърдена от хистологичния резултат след оперативната интервенция. При 1 пациент операцията предстои. Осем от лицата бяха с позитивна фамилна анамнеза за PCC/PGL, останалите 12 се представиха като привидно спорадична форма. При част от пациентите с доказани мутации се извърши генетичен анализ на родствениците от първа степен.

### Резултати

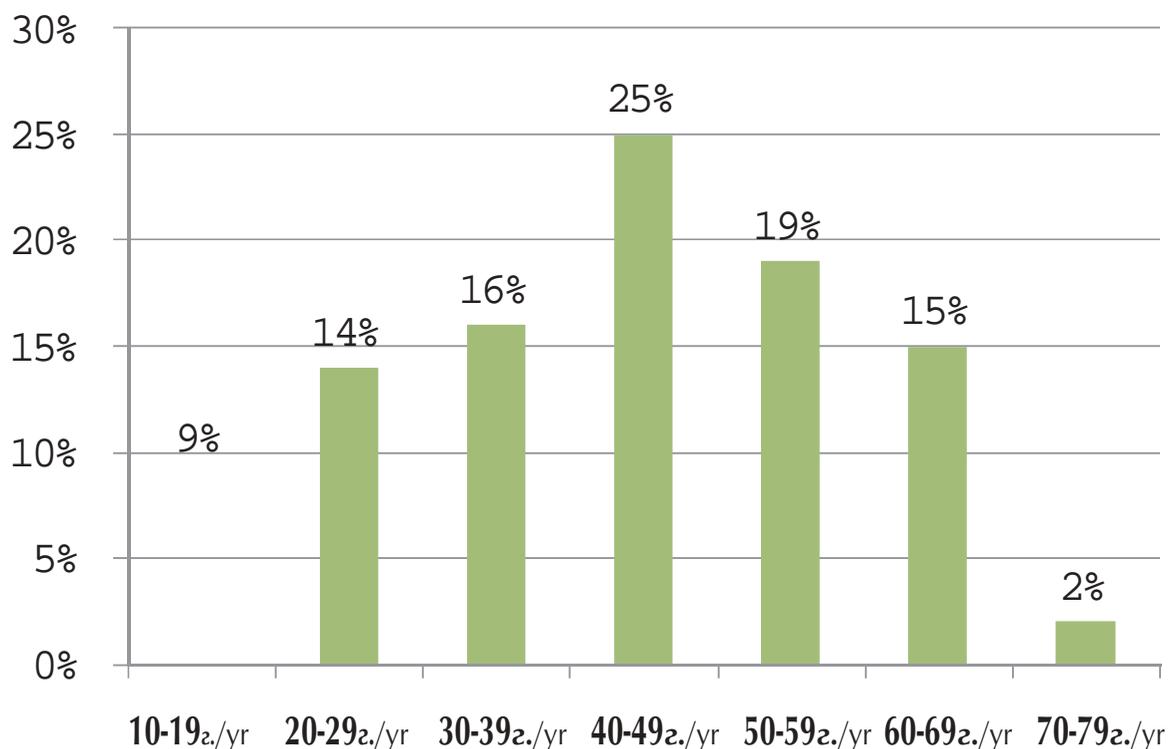
Генетичният анализ установи мутации при 35% (n=8) от изследваните пациенти. Клиничните характеристики и биохимичният профил на тези лица са представени в табл. 2.

**Болест на von Hippel-Lindau (VHL)** се установи при 7 пациенти, принадлежащи към

Таблица 1. Диагностични критерии за неврофиброматоза тип 1 на Националния Здравен Институт  
 Table 1. National Institutes of Health Diagnostic Criteria for NF1\*

- **≥ 6 петна тип café au lait по кожата с диаметър над 5мм при деца в предпубертетна възраст и над 15 мм при възрастни;**  
 ≥ 6 cafe-au-lait macules ( > 5 mm at largest diameter in prepubertal individuals or >15 mm in adults)
- **неви в аксилите или ингвиналните гънки;**  
 axillary freckling or inguinal freckling
- **поне 2 кожни неврофиброми независимо от типа им или ≥ 1 плексиформен неврофибром/** two or more neurofibromas of any type or ≥1 plexiform neurofibroma
- **поне 2 бенигнени ирисови хамартоми (ногули на Lisch);**  
 two or more iris hamartomas (Lisch nodules)
- **костни лезии (дисплазия на сфеноидалната кост и кортикалиса на дългите кости) /** osseous lesions)
- **роднини от първа степен със същото заболяване**  
 a first-degree relative with NF1

\* **National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement:** neurofibromatosis. Bethesda, Md., USA, July 13–15, 1987. *Neurofibromatosis*. 1988;1(3):172–178



Фигура 1. Разпределение на пациентите по възраст  
 Figure 1. Age distribution of patients with pheochromocytomas

**Таблица 2.** Клинични характеристики и биохимичен профил на пациентите с фамилни форми феохромоцитом/параганглиом

**Table 2.** Clinical characteristics and biochemical profile in patients with familial PCC/PGLs

Диагноза Diagnosis	Средна възраст* Mean age	Артериална хипертония Arterial hypertension	Биохимичен профил/ Biochemical profile	Характер на тумора Tumor behavior	Рецидиви Recidives
NF 1 (n=5)	44,0 ± 11,5 г.	60% пристъпна хипертония <i>Paroxysmal hypertension</i> 40% постоянна хипертония <i>Persistent hypertension</i>	NA>A	<b>100% еностранни</b> <i>100% unilateral</i> <b>100% бенигни</b> <i>100% benign</i>	Не/No
VHL (n=7)	21,0 ± 9,2 г.	75% пристъпна хипертония <i>Paroxysmal hypertension</i> 25% постоянна хипертония <i>Persistent hypertension</i>	NA>A	<b>70% двустранни</b> <i>70% bilateral</i> <b>100% бенигни</b> <i>100% benign</i>	Да/Yes**
MEN 2A (n=4)	40,5 ± 4,2 г.	Постоянна хипертония <i>Persistent hypertension</i>	A>NA	<b>100% двустранни</b> <i>70% bilateral</i> <b>100% бенигни</b> <i>100% benign</i>	Не/No***
SDHD (n=1)	24.0 г.	Постоянна хипертония <i>Persistent hypertension</i>	DA>NA	<b>множествен/ multiple бенигнен/ benign</b>	Да/Yes

\* при диагностициране/at diagnosis;

\*\* при 43% от пациентите/in 43% of the patients;

\*\*\* кратък период на проследяване/short-term follow-up

A-Адреналин/Adrenaline; NA – Норадреналин/Noradrenaline; DA – Допамин/Dopamine

NA>A – смесена секреция, преобладаваща норадреналинова / mixed secretion, prevalinantly norepineprline

A>NA – смесена секреция, преобладаваща адреналинова / mixed secretion, predominantes epinephrine

DA>NA – смесена секреция, преобладаваща допаминова / mixed secretion, prevalinantly dopamine

5 фамилии. Средната възраст на диагностициране на феохромоцитом при тези пациенти беше значително по-млада в сравнение със спорадичните феохромоцитомы (21,0±9,2 vs. 45,8±14,4 год.) Съобразно генотипно-фенотипната класификация три

фамилии се отнасят към по-редкия 2С фенотип или т.нар. pheochromocytoma only syndrome. И при трите фамилии се доказва една и съща точкова **missense**-мутация – с.499С>Т (р.Arg167Trp). При четвъртата фамилия се установи точкова **missense**-му-

**Таблица 3.** Генотипно-фенотипни корелации при пациентите с болест на von Hippel-Lindau  
**Table 3.** Genotype-phenotype correlations in patients with von Hippel-Lindau disease

Мутация / Mutation	Фенотип/ Phenotype	Клинични характеристики Clinical features
c.499C>T (p.Arg167Trp)	2C фенотип/ 2C phenotype	Феохромоцитом <i>Pheochromocytoma</i>
c.500G>A (p.Arg167Gln)	2A фенотип/ 2A phenotype	Феохромоцитом/ <i>Pheochromocytoma</i> Хемангиобластоми на ретината / <i>Retinal hemangioblastomas</i>
c.194C>T (p.Ser65Leu)	2B фенотип/ 2B phenotype	Феохромоцитом/ <i>Pheochromocytoma</i> Ренален карцином/ <i>Renal carcinoma</i> Кисти на панкреаса/ <i>Pancreatic cysts</i>

мация c.500G>A (p.Arg167Gln), с клинична изява на 2A фенотип, а при петата фамилия – c.194C>T (p.Ser65Leu), отговаряща на 2B фенотип. Генотипно-фенотипните корелации при нашите пациенти са представени в табл. 3

**Пациентите с параганглиом**, при които се извърши генетичен анализ бяха 6, принадлежащи към 3 фамилии с различна фенотипна изява:

1 мъж с PGL на пикочния мехур, 1 мъж с множествен PGL и 1 фамилия (баща и трите му деца) с абдоминален парааортален параганглиом и микронодулерна надбъбречно-корова хиперплазия. Средната възраст на диагностициране на заболяването в тази група беше  $21,8 \pm 9,1$  год. **Мутация в гена за SDHD [c.479\_480insGT (p.X160TrpextX\*8)]** открихме само при един пациент, клинично представящ се като множествен катехоламин-продуциращ параганглиом.

## Дискусия

Извършеният на този етап анализ на базата данни, съдържаща медицинските записи от всички хоспитализации на 106 пациенти с доказана диагноза феохромоцитом/ параганглиом (PCC/PGL), диагностицирани и проследявани постоперативно към УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ установи следните резултати: За периода 1985 – 2010 год. към центъра са диагностицирани 48 мъже и 58 жени с PCC/PGL (съотношение 1:1.2). Разпределението на пациентите по възраст е представено на фиг. 1. Най-голям процент представляват лицата на възраст между 4-то и 5-та декада, което съвпада с пика на заболяемост за феохромоцитом. Двустранни феохромоцитомы са диагностицирани при 9 лица (9,4%). Малигнени варианти на тумора са доказани при 6 пациента (5,7%). Фамилни форми на заболяването се наблюдаваха при 20 лица

(19%), принадлежащи към 12 фамилии. Пониският процент фамилни форми при нашите пациенти може да бъде обяснен с факта, че генетичен анализ на този етап се извършва само върху ограничен контингент, отговарящ на горепосочените критерии. Ако анализираме само лицата, при които е извършен ДНК анализ, се оказва, че с фамилни форми са 88% от пациентите, изявили заболяването от 10-19год. възраст; 43% от лицата на възраст 20-29 год. и 33% във възрастовата група 30-39 год.

**Неврофиброматоза на Reglinghausen (NF)** е наследствено заболяване с автозомно-доминантно предаване с вариабилна експресивност. С повишен риск за **феохромоцитом** се асоциира една от двете форми на заболяването – неврофиброматоза тип 1 NF1, чиито ген е локализиран в 17<sup>ма</sup> хромозома (17q) и представлява тумор-супресорен ген. Средно 2% (от 0,1% до 5,7%) от пациентите с това заболяване развиват феохромоцитом (17). Неврофиброматоза тип 1 се установи при 5 пациенти, оперирани за феохромоцитом. Средната възраст при поставяне на диагнозата феохромоцитом при нашите пациенти с NF 1 не се различава от тази при спорадичните форми (44,0±11,5 vs. 45,8±14,4 год.). Наблюдаваните феохромоцитомы бяха едностранни, със смесена катехоламинова продукция и бенигнен характер. За среден период на проследяване от 11,4 год. (минимален: 1 год; максимален – 23 год) при нито един от пациентите не е установен рецидив на заболяването. Данните ни съвпадат с публикуваните в литературата, че феохромоцитомите в рамките на NF1 не се асоциират с повишен риск от малигнен потенциал или постоперативни рецидиви (12).

**Болестта на von Hippel-Lindau (VHL)** е наследствено автозомно-доминантно заболяване, дължащо се на мутации в тумор-супресорен ген (VHL), локализиран в 3-та хромозома. Налице са изразени фенотипно-генотипни корелации при това заболяване. Големите делеции, водещи до загуба на функцията на VHL протеин (pVHL) поради продукцията на „скъсен“ pVHL или

пълна липса на pVHL, се откриват главно при VHL фенотип 1, носят повишен риск от развитие на бъбречен карцином и хемангиобластоми на ЦНС и не предразполагат към феохромоцитом (5,7,10). При фенотип 2, с основна изява феохромоцитом, в над 95% от случаите се установяват точкови missense-мутации, като определени мутации се асоциират с различни фенотипове на болестта на von Hippel-Lindau. Фенотипните характеристики зависят не само от мястото на мутацията. Различни нуклеотидни замени в един и същи кодон водят до съществени разлики във фенотипната изява на заболяването (4). Мутациите, които бяха открити при българските пациенти са точкови **missense**-мутации в 3<sup>та</sup> екзон на VHL гена, които по литературни данни се установяват при болшинството от пациентите с тип 2 (фенотипове 2A, 2B, 2C) и се асоциират с висок риск от развитие на феохромоцитом.

При фамилиите, представящи се като фенотип 2C с двустранен феохромоцитом, се установи една и съща мутация – с. 499C>T (р. Arg167Trp). При четвъртата фамилия се доказва **missense**-мутация с. 500G>A (р. Arg167Gln), а фенотипната изява беше двустранен феохромоцитом при пробанда и хемангиобластоми на ретината при майката на пробанда, клинични характеристики, характерни за 2A и 2B фенотип. Липсата на бъбречен карцином и панкреасни кисти или солидни тумори от образните изследвания, както и типа на мутацията определят с голяма вероятност 2A фенотип. И двете мутации са описани от Crossey и сътр. (5). Изследването на членовете на трите фамилии потвърждава данните от литературата, че герминативни мутации в кодон 167 на VHL-гена (R167W и R167Q) носят висок риск от развитие на феохромоцитом (5,18). При нито един член от тези фамилии момента не е диагностициран бъбречен карцином. При петата фамилия съчетанието от феохромоцитом и бъбречен карцином определя 2B фенотип, а установената

мутация е с.194C>T (р. Ser65Leu). Генотипно-фенотипните корелации се отнасят не само до клиничните характеристики. Характерният биохимичен профил с превалиращата норадреналинова секреция, който наблюдавахме при всички наши пациенти, е друга характерна особеност на феохромоцитомите в рамките на болестта на von Hippel-Lindau. Причината за това е отпадането на стимулиращия ефект на рVHL върху експресията на фенилетаноламин-N-метил-трансфераза (PNMT) – ензим, осъществяващ метилиране на Норадреналин до Адреналин (6).

**Множествената ендокринна неоплазия тип 2 (MEN 2)** е също автозомно-доминантно наследствено заболяване, дължащо се на мутация в т.нар. RET-протоонкоген, с изява на феохромоцитом при около 50% от пациентите. Разделя се на три клинични субтипа: MEN 2A, MEN 2B и FMTC (фамилен медуларен тиреоиден карцином като единствена изява на този субтип). **MEN 2A** е най-честият субтип и се характеризира с класическата триада от медуларен тиреоиден карцином (95% от случаите), феохромоцитом (50%) и хиперпаратиреоидизъм (15%–30%). Единствената българска фамилия създадената до момента база данни се отнася към този субтип, а доказаната мутация е една от типичните за този синдром – с.1902C→G (р.Cys634Trp).

При четирима членове на фамилията (майка и тримата ѝ снове) се установява феохромоцитом с типичните за този синдром характеристики: двустранна адренална локализация, бенигнен характер и превалираща адреналинова секреция. Средната възраст на диагностициране  $40,5 \pm 4,2$  год., съвпада с литературните данни. Точна оценка на риска от рецидив не може да бъде направена поради краткия период на проследяване при тази фамилия. Заболяването при тази фамилия е диагностицирано в Университетската Ендокринологична клиника във Варна.

**Сукцинатдехидрогеназата (SDH)** е компонент на комплекс II на дихателната верига. Съставена е от 4 субединици:

**SDHA, SDHB, SDHC и SDHD**, които се кодират от 4 различни гена. При пациенти с феохромоцитом и параганглиоми са идентифицирани множество различни мутации в гените за SDHB, SDHC и SDHD. При **фамилните параганглиоми** 97% от описаните до момента мутации са в **SDHD**, за който е установено, че действа като тумор-супресорен ген (2). В проучването генетичен анализ беше извършен на 6 пациенти с параганглиом, принадлежащи към 3 фамилии. Само при един пациент беше идентифицирана мутация в **SDHD** – **с.479\_480insGT (р.X160TrpextX\*8)**. Заболяването се е изявило на 24 годишна възраст като двустранен шен параганглиом, рецидивиращ след оперативното лечение. Десет години по-късно при MPT изследване са визуализирани медустинални и абдоминален параганглиом. Поради нерадикални оперативни интервенции, параганглиоми са лекувани с радиотерапия. Въпреки рецидивния характер на тумора, за 35-годишното проследяване до момента, липсват белези на малигненост. Тези данни съвпадат с описаните в литературата характеристики на туморите в резултат на мутации в SDHD: бенигнен тумори с екстраадренална локализация (параганглиоми в областта на главата и шията) или мултиплен характер с изява в млада възраст (14).

### Заклучение

Изследване на гените, предразполагащи към изява на феохромоцитом, е препоръчително при позитивна фамилна анамнеза, екстраадренална локализация, двустранен или малигнен тумор и млада възраст при диагностицирането. Понастоящем няма консенсус по отношение на възрастта, под която е задължителен този скрининг за пациентите с привидно спорадични феохромоцитомы. В някои европейски държави (основно Франция) се извършва генетичен анализ на всички пациенти с тази патология (1,9). Високата цена на този скрининг (около 1800 евро за изследване на петте гена), от друга страна, оправдават

предложения от **Jimenez и сътр.** алгоритъм, според който на ДНК анализ подлежат само лицата с диагностициран преди 20 год. възраст феохромоцитом/параганглиом; двустранен феохромоцитом или катехоламин-продуциращ параганглиом (11).

Предложенията от **Pigny и сътр.** нови препоръки представляват среден вариант между системния „европейски“ скрининг и рестриктивния „американски“ модел (15). Според авторите генетичен скрининг е: **загължителен** за всички пациенти, диагностицирани преди 20 год. възраст (честота на наследствени форми – 33,3%) или двустранни феохромоцитом (честота на наследствени форми – 75%); **препоръчителен** при пациентите, диагностицирани преди 50 год. възраст (кумулятивна честота: 10,4%); **не се препоръчва** при пациенти с едностранен феохромоцитом, установен след 50 год. възраст с негативна фамилна анамнеза.

**Проучването е финансирано по проект към МОН, договор № ДО02-356/2008 год.**

## КНИГОПИС/REFERENCES

1. Amar L, J Bertherat, E Baudin, C Ajzenberg, B Bressac-de Paillerets, O Chabre, B Chamontin, B Delemer, S Giraud, A Murat, P Niccoli-Sire, S Richard, V Rohmer, JL Sadoul, L Stropf, M Schlumberger, X Bertagna, PF Plouin, X Jeunemaitre, AP Gimenez-Roqueplo. Genetic testing in pheochromocytoma or functional paraganglioma. *J Clin Oncol.* 2005; 23(34):8812-8.

2. Badenhop RF, JC Jansen, PA Fagan, RS Lord et al. The prevalence of SDHB and SDHB mutations in patients with head and neck paraganglioma and association of mutations with clinical features. *J Med Genet* 2004; 41: 99

3. Benn DE, BG Robinson. Genetic basis of pheochromocytoma and paraganglioma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2006;20(3):435-50.

4. Bradley, J. F.; D.Collins; R. Schimke; H. Parrott; P.Rothberg. Two distinct phenotypes caused by two different missense mutations in the same codon of the VHL gene. *Am. J. Med. Genet.* 87: 163-167, 1999.

5. Crossey P. A, K.Foster, FM Richards, M. Phipps, F.Latif, K.Tory, MH.Jones, E.Bentley, R.Kumar, M.Lerman, B. Zbar, N. Affara, M.Ferguson-Smith, E.Maher. Molecular genetic investigations of the mechanism of tumourigenesis in von Hippel-Lindau disease: analysis of allele loss in VHL tumours. *Hum. Genet.* 1994 (93): 53-58.

6. Eisenhofer G.; M. M. Walther; T.Huynh; S. Li; S. R Bornstein; A.Vortmeyer; M Mannelli; D. S Goldstein; W. M. Linehan; J. W. M.Lenders; K. Pacak. Pheochromocytomas in von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2 display distinct biochemical and clinical phenotypes. *J. Clin. Endocr. Metab* 2001;86: 1999-2008.

7. Gallou, C.; D.Joly, A.Mejean, F.Staroz, N.Martin, G.Tarlet, M.Orfanelli, R.Bouvier, D.Droz, Y.Chretien, J.Marechal, S. Richard, C.Junien, C. Beroud. Mutations of the VHL gene in sporadic renal cell carcinoma: definition of a risk factor for VHL patients to develop an RCC. *Hum. Mutat.* 13: 464-475, 1999.

8. Gallou C., D. Chauveau, S.Richard, D.Joly, Y.Chretien, A.Méjean, JM Correas, G.Benoit, P.Colombeau, J.PGrinfeld, C.Junien, C. Bérout. Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau families with renal lesions. *Human Mutation* 2004; 24: 215 - 224

9. Gimenez-Roqueplo AP, H. Lehnert, M.Mannelli, H. Neumann, G.Opocher, ER.Maher & PF Plouin. Pheochromocytoma, new genes and screening strategies. *Clinical Endocrinology* 2006; 65:699-705.

10. Hes, F.; Zewald, R.; Peeters, T.; Sijmons, R.; Links, T.; Verheij, J.; Matthijs, G.; Legius, E.; Mortier, G.; van der Torren, K.; Rosman, M.; Lips, C.; Pearson, P.; van der Luijt, R. Genotype-phenotype correlations in families with deletions in the von Hippel-Lindau (VHL) gene. *Hum. Genet.* 106: 425-431, 2000.

11. Jimenez C, G.Cote, A.Arnold & RF Gagel. Should patients with apparently sporadic pheochromocytomas or paragangliomas be screened for hereditary syndromes? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2006; 91:2851-2858.

12. Karagiannis A, DP.Mikhailidis, VG Athyros, F. Harsoulis. Pheochromocytoma: an update on genetics and management. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14(4):935-956

---

13. Neumann HP, B.Bausch, SR McWhinney, BU Bender, O Gimm et al. Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med* 2002; 346: 1459-1466.

14. Neumann HP, C. Pawlu, M.Peczowska, B.Bausch, SR McWhinney, M.Muresan, M. Buchta, G.Franke, J.Klisch, TA Bley et al. Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *Journal of the American Medical Association* 2004; 292: 943-951.

15. Pigny P, C.Cardot-Bauters, C. Do Cao, M.C. Vantghem, B.Carnaille, F. Pattou, P.Caron, J-L.Wemeau and N. Porchet. Should genetic testing be performed in each patient with sporadic pheochromocytoma at presentation? *EJE* 2009;160:2, 227-231

16. Timmers H, AP Gimenez-Roqueplo, M Manneli, K Pacak. Clinical aspects of SDHx-related pheochromocytoma and paraganglioma *Endocrine-Related Cancer* 2009; 16: 391-400

17. Walther MM, J.Herring, E.Enquist, HR Keiser, WM Linehan. von Recklinghausen's disease and pheochromocytomas. *J Urol* 1999;162:1582-6.

18. Zbar B., T.Kishida, F.Chen, L.Schmidt, ER Maher, FM Richards, PA Crossey, AR Webster, NA Affara, MA Ferguson-Smith, H. Brauch, D.Glavac et al. Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in families from North America, Europe, and Japan. *Hum. Mutat.* 1996; 8: 348-357.

#### АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Атанаска Еленкова  
Клиничен Център по Ендокринология  
УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, ул. Зграбе №2  
1431 София, България  
e-mail: atanaskae@yahoo.com

#### ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Dr. Atanaska Elenkova, M.D.  
Clinical Centre of Endocrinology, USHATE  
„Acad. Ivan Penchev“, 2 Zdrave Str.  
1431 Sofia, Bulgaria  
e-mail: atanaskae@yahoo.com

## Акрomezалията в България – епидемиологична характеристика чрез национална база данни

**Силвия Вълндева<sup>1</sup>, Мария Андреева<sup>1</sup>, Мария Орбецова<sup>2</sup>, Димитър Чаръкчиев<sup>1</sup>, Георги Кирилов<sup>1</sup>, Атанаска Еленкова<sup>1</sup>, Илиана Атанасова<sup>1</sup>, Емил Начев<sup>1</sup>, Мария Янева<sup>1</sup>, Филип Куманов<sup>1</sup>, Анелия Томова<sup>1</sup>, Марин Маринов<sup>3</sup>, Красимир Калинов<sup>4</sup>, Кирил Христозов<sup>5</sup>, Здравко Каменов<sup>6</sup>, Жулиета Геренова<sup>7</sup>, Иван Цинликов<sup>8</sup>, Сабина Захариева<sup>1</sup>**

1. Клиничен център по ендокринология и геронтология „Акад. Иван Пенчев“ М У – София; 2. Клиника по ендокринология и болести на обмяната, М У – Пловдив; 3. Клиника по неврохирургия, М У – София; 4. Нов Български Университет, София; 5. Клиника по ендокринология и болести на обмяната, М У – Варна; 6. Клиника по ендокринология със сектор по остеопороза, М У – София; 7. Катедра по вътрешни болести и клинична лаборатория – отделение по ендокринология, М У – Ст. Загора; 8. Клиника по ендокринология и метаболитни заболявания, М У – Плевен

## Acromegaly in Bulgaria – Epidemiological Characteristics Derived from the National Acromegaly Database

**S. Vandeva<sup>1</sup>, M. Andreeva<sup>1</sup>, M. Orbetsova<sup>2</sup>, D. Charakciev<sup>1</sup>, G. Krilov<sup>1</sup>, A. Elenkova<sup>1</sup>, I. Atanasova<sup>1</sup>, E. Nachev<sup>1</sup>, M. Yaneva<sup>1</sup>, Ph. Kumanov<sup>1</sup>, A. Tomova<sup>1</sup>, M. Marinov<sup>3</sup>, K. Kalinov<sup>4</sup>, K. Hristozov<sup>5</sup>, Z. Kamenov<sup>6</sup>, J. Gerenova<sup>7</sup>, I. Tsinlikov<sup>8</sup>, S. Zacharieva<sup>1</sup>**

1. Clinical center of endocrinology and gerontology „Akad. Iv. Pentchev“ M U – Sofia; 2. Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, M U – Plovdiv; 3. Department of Neurosurgery, M U – Sofia; 4. New Bulgarian University, Sofia; 5. Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, M U – Varna; 6. Clinic of Endocrinology, M U - Sofia; 7. Department of Endocrinology, Tracian University – Stara Zagora, Medical Faculty. 8. Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, M U – Pleven

### Резюме

Акрomezалията е хронично състояние на повишена секреция на растежния хормон. Епидемиологичните характеристики на заболяването се оценяват под различни форми, както чрез анализиране на пациентите от един клиничен център, така и чрез създаването на детайлни регистри.

**Целта** на настоящото проучване е описване на епидемиологичните характеристики

### Abstract

Acromegaly is a chronic syndrome, due to growth hormone (GH) hypersecretion. Epidemiological characteristics could be evaluated either by analyzing patients from single endocrinology centers or by creating detailed national registries. The aim of the present study was to report the initial results on epidemiological characteristics of acromegalic patients in Bulgaria, using the national acromegaly database.

---

на пациентите с акромегалия в България с помощта на националната база данни за акромегалия.

В българската база данни се включиха всички шест ендокринологични центрове от медицинските университети в страната. Бяха въведени всички пациенти със запазена медицинска документация от 60<sup>ме</sup> години до началото на 2010 год.

Общият брой нанесени пациенти в националната база данни е 742. От тях 465 (62,66%) са жени, спрямо 277 (37,33%) мъже. Средната възраст на поставяне на диагноза е  $43,68 \pm 11,67$  при жените и  $43,40 \pm 12,58$  при мъжете. Наблюдава се пик на заболяемостта през 80<sup>ме</sup> години – 2,9 случая/милион на година с тенденция за намаляване в последната декада – 1,78 случая/милион на година. Болестността бе оценена на 48,38/милион жители.

Българската база данни е достатъчно пълна, което позволява точното определяне на епидемиологичните характеристики на акромегалията в страната и сравнението им с регистрите на редица европейски държави. Бъдещи анализи на данните от базата биха посочили ефекта от прилаганата терапия, както и отражението върху смъртността при българските пациенти с акромегалия.

---

**КЛЮЧОВИ ДУМИ:** акромегалия, база данни, епидемиология

---

Акромегалията е хронично състояние на повишена секреция на растежния хормон. По литературни данни болестността се оценява на 40-69 случая на милион жители, а заболяемостта на 3-4 случая на милион за година (13). Освен информация за честотата на гадено заболяване в различни популации, епидемиологията играе роля и за оценка на патофизиологичните механизми, както и на социалната значимост на

All six endocrinology centers affiliated to the medical universities in the country, participated in the Bulgarian database. Data of all patients with eligible medical documentation since the 60s till the beginning of 2010 was entered in the data base.

A total number of 742 patients with acromegaly are included in the database. Women were twice as much as men, 465 (62,66%) vs. 277 (37,33%) respectively. Mean age at diagnosis was similar between sexes:  $43,68 \pm 11,67$  in females and  $43,40 \pm 12,58$  in males. The maximum incidence rate was reported in the 80s – 2,9 cases/million/year, followed by a decrease in the last decade – 1,78 cases/million/year. The prevalence of acromegaly was estimated at 48,38 cases/million.

**In conclusion**, the Bulgarian database is complete enough, allowing exact evaluation of acromegaly epidemiological characteristics and their comparison with analogous European registries. Further analyses would estimate treatment modalities on disease activity and mortality of Bulgarian acromegaly patients.

---

**KEY WORDS:** acromegaly, database, epidemiology

---

заболяването в определена субпопулация. Изучаването на епидемиологичните характеристики се извърша под различни форми – от анализиране на пациентите от един клиничен център до създаването на детайлни регистри, даващи официална информация относно заболяемостта, болестността и смъртността на гадено заболяване. Най-честият източник за честотата на акромегалията са данните от паци-

ентите, посетили високо специализирани клинични центрове. Точността на такива данни зависи от това, до каква степен пациентите се обръщат към този център, както и от процента на преминалите пациенти, включени в проучването за анализ. Освен това, проблем може да създаде и определянето на точен географски район, тъй като не всички търсят медицинска помощ в района на местоживеене. Като цяло най-точни и пълни данни се извличат от регистрите за ракови заболявания. Не винаги обаче, има задължително изискване за регистриране на доброкачествените тумори, което е причина за по-ниска от действителната честота.

Голяма част от тези ограничения могат да бъдат преодоляни със създаването на национални регистри или база данни за акромегалия. В последното десетилетие бяха публикувани данни от редица национални регистри: британски (15), финландски (18), испански (19), германски (20), шведски и датски (4). В България създаването на подобна база данни започна края на 2008 год. Диагностицирането, лечението и проследяването на заболяването се осъществява в университетските болници на страната, поради което тези лечебни заведения обхващат всички пациенти с акромегалия. Целта на създаването на българската база данни е получаване на точни данни относно епидемиологичните характеристики, придружаващите заболявания, методите за лечение и ефекта от приложената терапия върху хода на заболяването. В настоящето изложение се представят първоначални данни върху заболеваемостта, честотата, демографските характеристики на пациентите с акромегалия, включени в българската база данни.

## **Пациенти и методи**

### **База данни**

Специализиран екип от ендокринолози и неврохирурзи участва в създаването на дизайн на компютърната база данни, изработена от информационното отделе-

ние на УСБАЛЕ „Акад. Ив. Пенчев“. Базата позволява нанасянето на следните данни при всяка визита на пациента: име, възраст, пол, основна и всички придружаващи диагнози, основни клинични симптоми, характерни за заболяването (главоболие, изпотяване, болки по ставите, нарушения в гонадната ос), данни от статуса (ръст, тегло, БМИ, пулс, артериално налягане), гинекологична и фамилна анамнеза, практически всички биохимични и хормонални изследвания (най-важните от които минимумът на СЗО за диагностициране на метаболитен синдром и артериална хипертония, всички хормони от соматотрофната, гонадотрофна, тиреотрофна и кортикотрофна ос, растежен хормон в хода на орален глюкозотолерантен тест), инструментални визуализиращи методи, размер и разположение на хипофизния аденем, холтер мониториране на артериалното налягане, очна периметрия, ултразвукова диагностика на щитовидна жлеза, коремни органи и малък таз, дата и метод на хирургичното и радиологичното лечение, доза на лъчетерапията, хистологично описание на аденома, извършеното медикаментозно лечение с датата за началото и приключването на терапията, дозировка на приложените медикаменти, генетичен анализ, настъпили усложнения в хода на заболяването (артериална хипертония, левокамерна хипертрофия, ИБС, СН, МИ, инсулт, очни нарушения, хипопитуитаризъм с изброяване на засегнатите оси), както и въпросник, оценяващ качеството на живот. Нанасянето бе извършено ръчно и централизирано в референтния център по ендокринология в България – УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ от единствен изследовател (С. В.).

Достъпът до базата данни е ограничен и става след получаване на парола от системния администратор. Обработването на данните позволява анонимизиране на пациентите. В базата данни бяха въведени ретроспективно всички пациенти с поставена диагноза и лекувани за акромегалия, за които е запазена медицинска документация. Най-ранните случаи датират от от

края на 60<sup>ме</sup> години на миналия век. Проспективно до края на 2009 год. бяха нанесени данните на всички новодиагностицирани и проследяващи се пациенти. В инициативата се включиха шестте университетски ендокринологични клиники от медицинските факултети в България – София, Варна, Пловдив, Стара Загора и Плевен.

### **Поставяне на диагноза**

#### **Критерии**

Както беше споменато по-горе, в базата данни бяха включени пациенти, диагностицирани от 60<sup>ме</sup> години до наши дни. Определянето на серумното ниво на растежния хормон (РХ), както и компютърната томография (КТ) като изобразяващ метод, са въведени в рутинната практика в България едва в началото на 80-те години. Това означава, че диагнозата при всички пациенти преди 1980 год. се е извършвала на базата на клиничната симптоматика, рентгенографското изобразяване на турското седло, рентгенографските данни за наличието на положителен „тъфтинг“ симптом и увеличена дебелина на меките тъкани на петата. До началото на 2000-та год, когато у нас бе въведено рутинното изследване на IGF-1, диагнозата бе поставяна на базата на  $РХ > 2,5 \text{ ng/ml}$  ( $5 \text{ mIU/l}$ , конвертиращ фактор 2) в хода на ОГТТ, в редки случаи на базата на типична клинична симптоматика и наличие на хипофизарна лезия при КТ изследване. През 2000<sup>ма</sup> год. е публикуван и първият консенсус за диагноза и лечение на акромегалия (12), според който биохимично диагнозата се поставя при IGF-1 над горна граница на нормата за съответната възраст и пол, непотискане на  $РХ < 1 \text{ ng/ml}$  в хода на ОГТТ или произволна базална стойност на  $РХ > 2,5 \text{ ng/ml}$ . Именно според тези критерии е поставяна диагнозата след 2000<sup>ма</sup> год.

### **Хормонални изследвания**

#### **Определяне на РХ**

Радиоимунологичното определяне на РХ е въведено в началото на 80<sup>ме</sup> години,

като първоначалните методи са с относително ниска чувствителност. По-късно, в началото на 90<sup>ме</sup> години са въведени методите IRMA и Delfia (Delfia; Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Wallac Oy, Finland), базирани на сандвич техника с наличие на 2 моноклонални антители, насочени към два различни епитопа на молекулата на РХ, отговарящи на съвременните изисквания за точности и чувствителност. Чувствителността на най-употребявания метод - Delfia е  $< 0,03 \text{ mIU/L}$  с интра- и интерметоден коефициент на вариабилност съответно 3,9% и 5,0%.

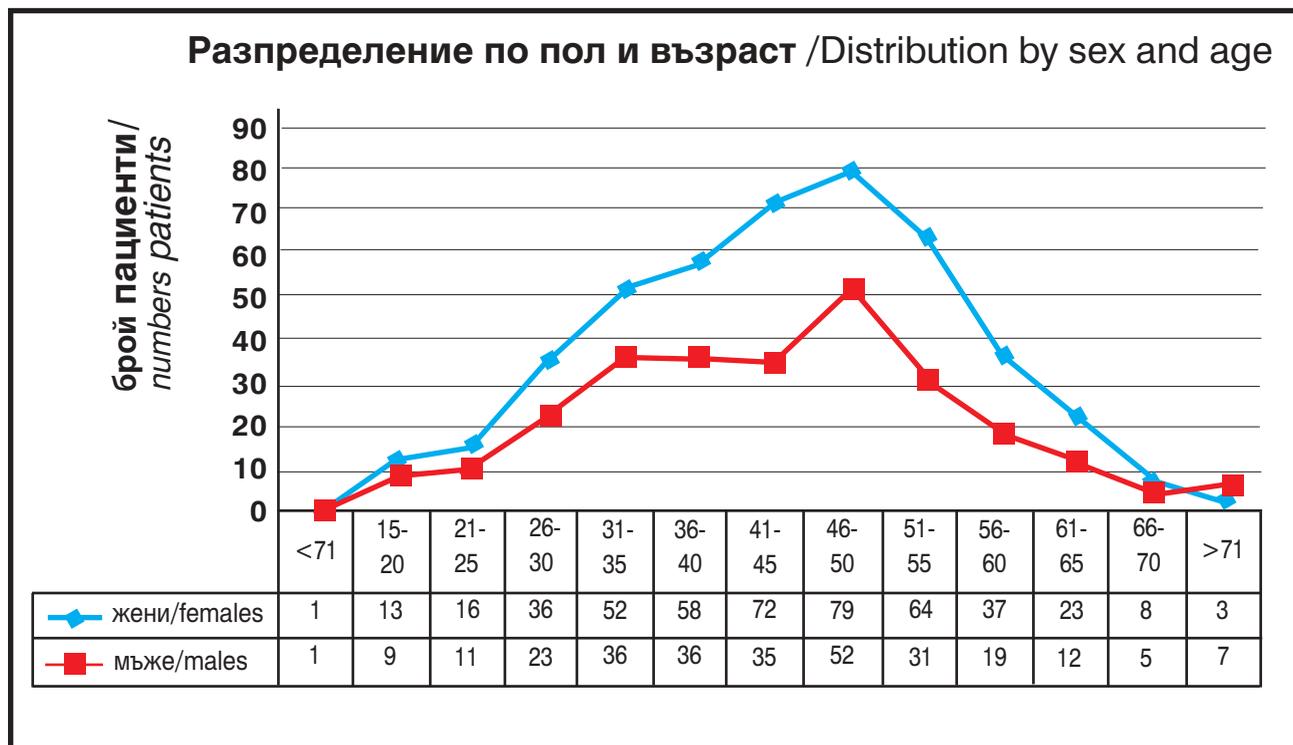
#### **Определяне на IGF-1.**

Измерването на серумния IGF-1 бе въведено в клиничната практика в началото на 2000<sup>ма</sup> год. То се извършва по имунометричен метод след предварителна алкохолно-кисела екстракция (Immunotech; Beckman Coulter Co., France). Аналитичната чувствителност е  $< 0,26 \text{ pmol/l}$ . Интра- и интерметодната вариабилност са съответно 6,3% и 6,8%.

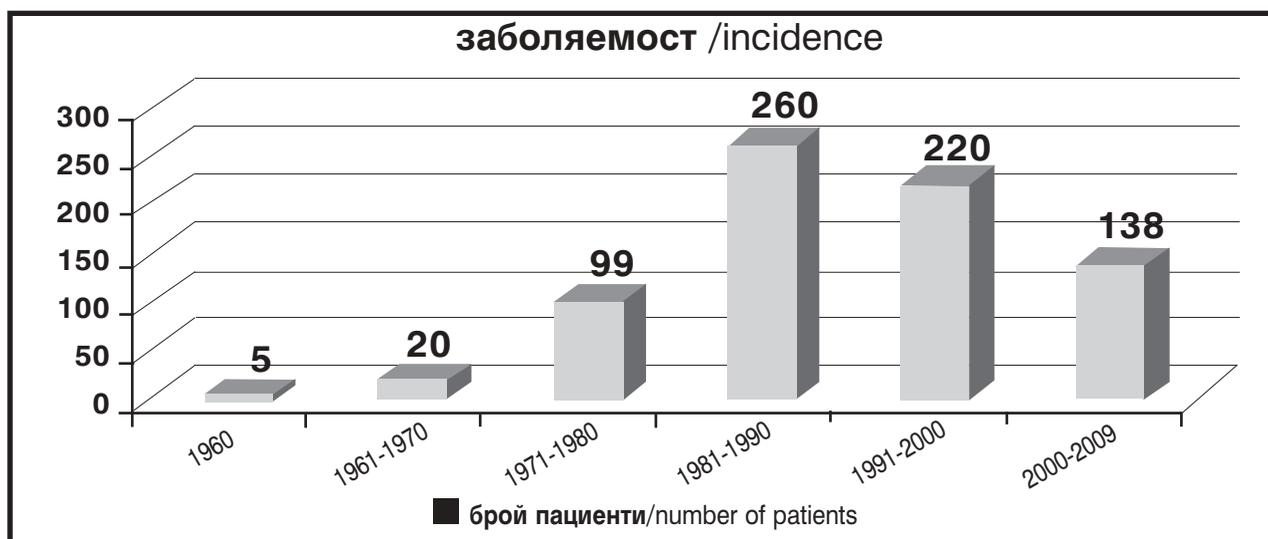
### **Резултати**

#### **Демографски данни**

Към края на 2009 год. в базата данни бяха въведени общо 742 пациента с акромегалия, като броят на подгадените болни от всеки един клиничен център е посочено в табл. 1. Част от пациентите на централните във Варна, „Александровска болница“, София, Пловдив, Стара Загора и Плевен, съответно 20%, 32%, 37%, 66% и 50% са доуточнявани и проследявани в УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ (табл. 1). Жените са близо два пъти повече от мъжете: съответно 465 (62,66%) спрямо 277 (37,33%). За 3 жени не бе известна възрастта на поставяне на диагноза, тъй като е била пропусната да бъде вписана в медицинското досие. Средната възраст на поставяне на диагноза е  $43,68 \pm 11,67$  при жените и  $43,40 \pm 12,58$  при мъжете. Разпределението между половете по възраст е представено на фиг. 1



**Фигура 1.** Пациенти с акромегалия – разпределение по пол и възраст към момента на диагностициране.  
**Figure 1.** Acromegaly patients – distribution by sex and age at the time of diagnosis.



**Фигура 2.** Заболяемост. **Figure 2.** Incidence of Acromegaly.

#### Заболяемост и болестност

Установи се заболяемост от 0,24 случая/милион/година за периода 1961-1970 год (население 8227866); 1,13 за периода 1971-1980 (население 8727771); 2,90 за периода 1981-1990 (население 8948649); 2,63 за

периода 1991-2000 (население 8354715,8) и 1,78 за периода 2001-2009 год (население 7723227,4) (фиг. 2). От 1988 год. започва възвездането на ЕГН в история на заболяването. На база 477 пациентна с ЕГН, към края на 2009 година 362 бяха живи, съот-

**Таблица 1.** Центрове, участващи в базата данни за акромегалия.  
**Table 1.** Endocrinology centers participating in the acromegaly database.

Център/Center	Брой пациенти/ number of patients	Брой пациенти, лекувани в повече от 1 център/ number of patients treated in more than one center
УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ Медицински университет – София/ UHEG „Akad. Iv. Pentchev“, Sofia	684	25
Университетска болница „Св. Марина“, Клиника по ендокринология и болести на обмяната, Медицински университет – Варна/Uniersity Hospital „Sv. Marina“, Varna	40	8
Университетска болница „Александровска“, Клиника по ендокринология със сектор по остеопороза, Медицински университет – София/ University Hospital „Aleksandrovska“, Sofia	25	8
УМБАЛ „Св. Георги“ Клиника по ендокринология и болести на обмяната, Медицински университет – Пловдив/ University Hospital „St. George“, Plovdiv	8	3
МБАЛ „Стара Загора“ Катедра по вътрешни болести и клинична лаборатория – отделение по ендокринология, Медицински университет – Ст. Загора/ University Hospital „Stara Zagora“, Stara Zagora	6	4
УМБАЛ „Д-р Георги Странски“, Клиника по ендокринология и метаболитни заболявания, Медицински университет – Плевен/ UMHAT „Dr. G. Stranski“, Pleven	4	2

ветно 115 починали. 4 от пациентите без известно ЕГН са били последно проследени 2008 год, поради което и те бяха причислени към живите. Така болестността за 2009 год бе оценена на 48,38 на милион жители.

### Етиология

Най-честата причина за акромегалия е аденом на хипофизата. От общата група 663 пациенти имаха инструментални изследвания на хипоталамо-хипофизната област, основно чрез ядреномагнитен резонанс (ЯМР) и компютърна томография (КТ). При 334 от случаите е бил установен мак-

роадемом, при 168 – микроадемом, при 11 – празно турско седло. От 25-те пациента при които не е визуализиран адемом, 1 пациент е с ектопична секреция на рилизинг хормон на РХ (GHRH). При 37 болни адемомът е диагностициран чрез рентгенография. При 88 от случаите не е отбелязан размерът на аденома. При останалите 79 пациенти не е провеждано образно изследване.

### Обсъждане

В настоящото изложение се описва създаването на национална база данни за акромегалия и първоначалните епидемио-

логични характеристики, извлечени от нея. Включени са 742 души, което на практика обхваща всички пациенти с акромегалия в България до началото на 2010 год. Повече от 90% от пациентите с акромегалия са проследявани в УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, който е референтен център за болести на хипофизата в страната. До момента единственото предшестващо проучване върху разпространението на акромегалия у нас датира от 1978 год. (1) (Найденев). До момента в литературата има малко съобщения за национални и регионални регистри на акромегалия. Първото проучване с използване на компютърна база данни е публикувано 2000 год. от Drange и сътр. (11). Базата е дала възможност за оценка на демографията, терапията и хода на заболяването при 176 пациента с хипофизни аденоми, включително с акромегалия от един клиничен център (Cedars-Sinai Medical Center). По-късно е представено проучване върху честотата на хипогонадизма при 353 пациенти с акромегалия на 3 клинични центъра с попълване на база данни чрез интернет (Katznelson и сътр.) (16). Публикувани са национални регистри от Дания и Швеция (n=1643) (4), Франция (n=198) (14), Испания (n=1219) (19), Финландия (n=334) (18), Германия (n=1543) (20), Великобритания (n=1840) (15), Белгия (n=413) (7). Претендиращи, подобно на българската база данни, за пълно обхващане на пациентите с акромегалия, са Финландската и общата база данни на Швеция и Дания.

Според нашата база данни акромегалията се диагностицира най-често между 40 и 50 год. възраст, средно на 43 год., което е и в съответствие с литературните данни (7,18-20). Според нашата база данни се установява значително по-висока честота на заболяването при жените в сравнение с мъжете. Подобни данни са установени единствено от испанската база данни за Баския регион (n= 74 с 65% жени) (19) и от базата данни за региона West Midlands във Великобритания (n=419 с 57,5% жени) (3). От друга страна, по-висока честота при мъжете се съобщава в канадско проуч-

ване (n=103 с 58% мъже) (5).

Общата честота на акромегалия за българската популация, приблизително 48 случая/милион и заболяемост приблизително 2 новооткрити случая/милион/година не се различават съществено от тези, посочени в преобладаващата част от литературните данни (2,10,13). Разглеждайки фиг. 2 могат да се направят някои изводи относно динамиката в честотата на новооткрити случаи от акромегалия за различните периоди от време. Ниската заболяемост през 60<sup>-те</sup> и 70<sup>-те</sup> години би могла да се обясни с несъвършенството на диагностичните методи за този период. Наблюдава се нарастване на честотата до 2,9 случая/милион/година в периода 1980-1990 година и спад в заболяемостта, особено през последното десетилетие. Сред факторите, обясняващи тази тенденция, биха могли да бъдат новите стриктни критерии, основани на повишената чувствителност на диагностичните методи. В този период се появиха първите международни и европейски съгласувани указания за поставянето на диагноза акромегалия, както и за преценка на ремисията на заболяването. Съществена роля за наблюдаваната понастоящем по-ниска честота на заболяването вероятно играят и променените социално-икономически условия след 1989 г., както и ограничаването на достъпа на болните до специализирана ендокринологична помощ. Първото съвременен епидемиологично проучване върху акромегалията, обхващащо определен район, е публикувано през 1980 год. от Alexander и сътр. Това е регионът Newcastle Hospital Board, Великобритания с население от 3,1 млн души и е обхванат периодът 1960-1971 (2). В проучването са участвали общопрактикуващи лекари и специалисти; случаите са потвърждавани в болнични файлове, което дава голяма пълнота и точност на получената информация. Съобщена е заболяемост от 2,8 случая/милион население за година и честота 38 случая на милион, доближаващи се до нашите данни. По-късно е публикувано проучване на Северна Ирландия със

заболеваемост 4 случая/милион/година и болестност 63 случая/милион (21). Подобни са данните и на Bengtsson и сътр. за периода 1955-1984 год от високо-специализиран клиничен център в Гьотеборг, западна Швеция – 3,3 нови случая/милион/годишно и честота 69 случая/милион (6).

Интерес представляват резултатите на 2 от съвременните епидемиологични, срезови проучвания върху честотата на хипофизните аденони. През 2006 год. Daly и сътр. публикуват резултатите от първото съвременно срезово проучване върху клинично значимите хипофизни аденони в 3 отделни географски района на областта Лиеж, Белгия с население от 71,972 жители (9). В активното събиране на случаи с хипофизни аденони участват ендокринолози, неврохирурзи и гинеколози, подобно на проучването на Дейвис и сътр. (10). Установява се честота на аденоните 1 на 1064 население, което е 3-5 пъти повече от проучването на Дейвис (9). Честотата на акромегалията се оказва също по-висока от изчисляваната дотогава – 125 случая/милион, в потвърждение на финландски данни, 120 случая/милион (17). Първоначалните данни от международно проучване включващо над 860 000 човека от няколко континента, използващо същата методология, потвърждава по-високата честота на хипофизните аденони. Съобщава се за обща честота на хипофизните аденони 1: 909-1818, а по отношение на акромегалията 1:6600 или 151 случая/милион (8). Тези резултати навеждат на мисълта, че действителната честота на акромегалията вероятно е по-висока от смятаната досега, като за цялостно обхващане на всички пациенти с акромегалия е необходим интердисциплинарен подход с активно търсене на нови случаи.

Доказано е, че нелекуваната акромегалия е свързана с 2 до 3 пъти повишена смъртност в сравнение със съпоставими по възраст и пол контроли. Най-честите причини за смърт са сърдечно-съдовите (30-62,5%), раковите (9-50%) и респираторните заболявания (3-25%). Тенденцията за

повишена смъртност е обратима при достигане на нива на PХ под 2-2,5 ng/ml в някои проучвания или достигане на IGF-1 до границите на нормата, съобразени с пола и възрастта в други. Допълнителни фактори, които допринасят за повишена смъртност са проведено лъчение, наличието на хипокортицизъм, както и артериална хипертония, свързана с повишен сърдечно-съдов риск (22). За момента за качествен анализ на смъртността в българската популация на пациенти с акромегалия се изчаква съдействието на ЕСГРАОН за определяне не само на броя починали пациенти, а и на възрастта и конкретната причина за смърт.

В заключение, сътрудничеството между шестте университетски ендокринологични клиници доведе до създаването на национална база данни за акромегалия, обхващаща ретроспективно пациенти от 60-те години до наши дни и подлежаща на проспективно обновяване. Базата данни позволява точното определяне на епидемиологичните характеристики и сравнението им с регистрите на редица европейски държави. Наскоро публикуваните данни за по-висока от смятаната досега честота на акромегалия биха били стимул за по-активно търсене на заболяването. Бъдещи анализи на данните от базата биха посочили ефекта от прилаганата терапия, както и отражението върху смъртността при българските пациенти с акромегалия.

**С признателност към/ Acknowledgements to:** Проф. д-р Драгомир Коев, проф. д-р Лудия Коева, доц. Д-р Владимир Христов.

**Настоящото проучване е финансирано по фонд „Научни изследвания“ на МОН с договор № ДО02-356/31.12.2008 и тема на проекта: „Съвременен подход за диагностициране и определяне на честотата и генотипно-фенотипните корелации при хипофизните и надбъбречни тумори в България“.**

## КНИГОПИС/REFERENCES

1. **Найгенов ЕА.** Клинико-епидемиологично проучване на акромегалията в НР България. Дисертация за присъждане на научна степен „Кандидат на медицинските науки“, София-1978 г.
2. **Alexander L, D. Appleto, R. Hal, WM. Ross, Wilkinson R.** Epidemiology of acromegaly in the Newcastle region. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980 12:71-9
3. **Ayuk J, R.N. Clayton, G. Holder, M.C. Sheppard, P. M. Stewart, A.S. Bate.** Growth hormone and pituitary radiotherapy, but not serum insulin-like growth factor-I concentrations, predict excess mortality in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2004. 1613-7
4. **Baris D, G. Gridle, E. Ron, E. Weiderpass, L. Mellemejaer, et al.** Acromegaly and cancer risk: a cohort study in Sweden and Denmark. *Cancer Causes Control* 2002. 13:395-400
5. **Beauregard C, U. Truong, J. Hardy, O. Serri.** Long-term outcome and mortality after transphenoidal adenomectomy for acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003. 58:86-91
6. **Bengtsson BA, S. Eden, I. Ernest, A. Oden, B. Sjogren.** Epidemiology and long-term survival in acromegaly. A study of 166 cases diagnosed between 1955 and 1984. *Acta Med Scand* 1988. 223:327-35
7. **Bex M, R. Abs, G. T'Sjoen, J. Mockel, B. Velkeniers et al.** AcroBel—the Belgian registry on acromegaly: a survey of the 'real-life' outcome in 418 acromegalic subjects. *Eur J Endocrinol* 2007. 157:399-409
8. **Daly AF, M. Cogne, M. L. Jaffrain Rea et al.** The epidemiology of pituitary tumors: results of an international collaborative study. *Endocrine Society Annual Meeting Toronto* 2007.
9. **Daly AF, M. Rixhon, C. Adam, A. Dempegioti, M.A.Tichomirowa, A. Beckers. 2006.** High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 91:4769-75
10. **Davis JR, W. E. Farrell, R. N. Clayton.** Pituitary tumours. *Reproduction* 2001. 121:363-71
11. **Drange MR, N. R. Fram, V. Herman-Bonert, S. Melmed.** Pituitary tumor registry: a novel clinical resource. *J Clin Endocrinol Metab* 2000. 85:168-74
12. **Giustina A, A. Barkan, F. F. Casanueva, F. Cavagnini, L. Frohman et al.** Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 85:526-9
13. **Holdaway IM, Rajasoorya C.** Epidemiology of acromegaly. *Pituitary* 1999 E2:29-41
14. **Jaquet P, C. Cortet-Rudelli, G. Sassolas, I. Morange-Ramos, P. Chanson et al.** [Therapeutic strategies in somatotroph adenomas with extrasellar extension: role of the medical approach, a consensus study of the French Acromegaly Registry]. *Ann Endocrinol (Paris)* 2003 64:434-41
15. **Jenkins PJ, P. Bates, M. N. Carson, P. M. Stewart, J. A. Wass.** Conventional pituitary irradiation is effective in lowering serum growth hormone and insulin-like growth factor-I in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 91:1239-45
16. **Katznelson L, D. Kleinberg, M. L. Vance, S. Stavrou, K. J. Pulaski, et al.** Hypogonadism in patients with acromegaly: data from the multi-centre acromegaly registry pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001 54:183-8
17. **Kauppinen-Makelin R, T. Sane, A. Reunanen, M. J. Valimaki, L. Niskanen et al.** A nationwide survey of mortality in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 90:4081-6
18. **Kauppinen-Makelin RM, L. Niskanen, E. Voutilainen, P. Salmela, T. Ebeling et al.** Treatment of acromegaly in Finland: a National survey. In *Proceedings of the 34th International Symposium on GH and Growth Factors in Endocrinology and Metabolism, Budapest: Abstract F4* 2002.
19. **Mestron A, S. M. Webb, R. Astorga, P. Benito, M. Catala et al.** Epidemiology, clinical characteristics, outcome, morbidity and mortality in acromegaly based on the Spanish Acromegaly Registry (Registro Espanol de Acromegalia, REA). *Eur J Endocrinol* 2004 151:439-46
20. **Reincke M, S. Petersenn, M. Buchfelder, B. Gerbert, G. Skrobek-Engel et al.** The German Acromegaly Registry: description of the database and initial results. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006 114:498-505
21. **Ritchie CM, A. B. Atkinson, A.L. Kennedy, A.R. Lyons, D.S. Gordon et al.** Ascertainment and natural history of treated acromegaly in Northern Ireland. *Ulster Med J* 1990 59:55-62
22. **Sherlock M, J. Ayuk, J. W. Tomlinson, A. A. Toogood, A. Aragon-Alonso et al.** Mortality in patients with pituitary disease. *Endocr Rev* 31:301-42

### АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Силвия Въндева  
УСБАЛЕ „Акаг. Иван Пенчев“  
ул. Здраве №2, Майчин дом, 10 ет., КХХНГЗ,  
София 1463  
e-mail: svandeva@yahoo.com

### ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Dr. Silvia Vandeva  
Clinical Center of Endocrinology  
2, Zdrave Str, 1463 Sofia, Bulgaria  
e-mail: svandeva@yahoo.com

## Серумни нива на sFas и sFasL при пациенти със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония

Н. Стойнев<sup>1</sup>, Г. Кирилов<sup>2</sup>, Ц. Танкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Клиника по Диабетология, Клиничен Център по Ендокринология, Медицински Университет, София

<sup>2</sup> Лаборатория за Хормонални Изследвания, Клиничен Център по Ендокринология, Медицински Университет, София

## Serum sFas and sFasL Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Arterial Hypertension

N. Stoynev<sup>1</sup>, G. Kirilov<sup>2</sup>, T. Tankova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Diabetology, Clinical Center of Endocrinology, Medical University Sofia

<sup>2</sup> Laboratory for Hormonal Analysis, Clinical Center of Endocrinology, Medical University Sofia

### Резюме

**Цел** на настоящето проучване е да се анализират серумните нива на sFas и sFasL при пациенти със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония, и да се сравнят с пациенти със захарен диабет тип 2 без хипертония.

**Материал и методи:** Изследвани са 94 пациенти със захарен диабет тип 2 (54 мъже и 40 жени), разпределени в три групи: 26 пациенти с артериална хипертония на антихипертензивна терапия, на средна

### Abstract

**Aim:** The aim of this study is to evaluate serum sFas and sFasL levels in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension and to compare with normotensive type 2 diabetic patients.

**Material and methods:** Ninety four type 2 diabetic patients (54 males and 40 females), divided to 3 groups, are included in the study – 26 subjects with type 2 diabetes and treated hypertension, of mean age  $51,27 \pm 8,45$  years (Group 1), 38 subjects with type 2 diabetes and

възраст 51,27±8,45 години (Група 1); 38 пациенти с артериална хипертония, които не получават антихипертензивна терапия, на средна възраст 51,11±12,89 години (Група 2) и контролна група от 30 нормотензивни пациенти, на средна възраст 47,57±8,62 години (Група 3).

За оценка на артериалното налягане е използвано 24-часово амбулаторно мониториране на артериалното налягане (Oscar, SunTech Medical Instruments, USA) Проведени са стандартни антропометрични изследвания – измерване на ръст, тегло и обиколка на талията.

Серумните нива на sFas и sFasL са изследвани с ELISA метод (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, USA).

**Резултати:** Не се установяват разлики в нивата на sFas между отделните групи. По отношение на sFasL се наблюдават по-ниски стойности както при лицата от Група 1 ( $p=0,001$ ), така и при лицата от Група 2 ( $p=0,026$ ), в сравнение с контролната група. Няма значима разлика в нивата на sFasL между двете групи с хипертония.

Не се установява корелация на нивата на sFas и sFasL с възрастта на пациентите, ИТМ или обиколката на талията.

**Изводи:** При лицата със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония се наблюдават по-ниски серумни нива на sFasL в сравнение с пациенти без хипертония. Понижението на нивата на sFasL при лица с хипертония не зависи от провеждането на антихипертензивна терапия.

Наличието на артериална хипертония не води до значими отклонения в серумните нива на sFas при лица със захарен диабет тип 2.

---

**КЛЮЧОВИ ДУМИ:** хипертония, захарен диабет тип 2, ELISA, sFas, sFasL

---

untreated hypertension, of mean age 51,11±12,89 years (Group 2) and a control group of 30 patients with type 2 diabetes without hypertension, of mean age 47,57±8,62 years.

Twenty four-hour ambulatory blood pressure monitoring (Oscar, SunTech Medical Instruments, USA) was used to measure arterial blood pressure.

Standard anthropometric measurements of weight, height and waist circumference were performed.

Serum sFas and sFasL levels were evaluated with ELISA (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, USA).

**Results:** No differences in serum sFas levels are found between the groups. Serum sFasL levels are decreased both in Group 1 ( $p=0,001$ ) and Group 2 ( $p=0,026$ ) as compared to the control group. No difference in sFasL is found between the two groups with hypertension. No correlation of sFas and sFasL levels with age, BMI and waist circumference is established.

**Conclusions:** Subjects with type 2 diabetes and hypertension present with lower serum levels of sFasL as compared to normotensive subjects with type 2 diabetes. The decrease of serum sFasL does not depend on taking antihypertensive therapy.

Hypertension does not affect significantly serum sFas levels in patients with type 2 diabetes mellitus.

---

**KEY WORDS:** hypertension, type 2 diabetes mellitus, ELISA, sFas, sFasL

---

Артериалната хипертония е два пъти по-честа при пациенти със захарен диабет, отколкото в популацията без диабет. 60-70% от пациентите със захарен диабет тип 2 са с хипертония. Артериалната хипертония при захарен диабет е важен рисков фактор за развитие на основните усложнения на заболяването – диабетна микроангиопатия, невропатия и макроангиопатия. Тъй като захарният диабет се приема понастоящем за ИБС-еквивалент, прицелните нива на артериалното налягане при диабет трябва да са < 130/80 mmHg. Освен това пациентите с есенциална хипертония са с повишена склонност към развитие на диабет тип 2. (4) Поради това оценката на риска от развитие на хипертония при пациенти със захарен диабет е от изключителна важност за превенция на тези усложнения. Намирането на серумни маркери, корелиращи с риска от развитие на хипертония, би дало възможност за по-прецизно идентифициране на високорисковите лица.

Системата Fas/Fas-лиганд (FasL) е ключова система в регулацията на апоптозата при много клетъчни типове, включително хемопоеитичните клетки, някои туморни клетки, клетките съставляващи съдовата стена (1, 2, 5). Повишена експресия на Fas и FasL се наблюдава в атеросклеротичните плаки (1). Наблюдавано е участие на Fas-медираната апоптоза в ремоделирането на съдовата стена при артериална хипертония. (2) Взаимодействието на разположения по клетъчната повърхност Fas с FasL отключва началото на апоптоза в чувствителните клетки (5). Разтворимата форма на Fas (sFas) се синтезира чрез алтернативен сплайсинг на uPНК (2, 5). Нивата на sFas могат да бъдат проследявани в плазмата като маркер за активността на системата, самостоятелно или в комбинация с проследяване на нивата на разтворимия sFas лиганд (sFasL).

Наличните до момента данни за нивата на sFas и sFasL при артериална хипертония са противоречиви. В някои проучвания

се установяват по-високи нива на sFas и по-ниски нива на sFasL при пациенти със захарен диабет тип 2, като наличието на артериална хипертония води до допълнително увеличение на sFas и допълнително понижение на sFasL. Давността на захарния диабет при тези лица не показва корелация с нивата на sFas и sFasL (2). Според други автори, обаче, наличието на артериална хипертония не корелира с нивата на серумните sFas и sFasL (8).

Цел на настоящето проучване е да се изследват серумните нива на sFas и sFasL при пациенти със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония и да се сравнят с нормотензивни пациенти със захарен диабет тип 2.

### Материал и методи:

Изследвани са 94 пациенти със захарен диабет тип 2 (54 мъже и 40 жени), разпределени в три групи: 26 пациенти с артериална хипертония на антихипертензивна терапия, на средна възраст 51,27±8,45 години (Група 1); 38 пациенти с артериална хипертония, които не получават антихипертензивна терапия, на средна възраст 51,11±12,89 години (Група 2) и контролна група от 30 нормотензивни пациенти, на средна възраст 47,57±8,62 години (Група 3). Последните две групи са формирани след провеждане на амбулаторно мониториране на артериалното налягане (Oscar, Sun-Tech Medical Instruments, USA) сред лица с диабет тип 2 без диагностицирана до момента артериална хипертония. Артериалното налягане е измервано през 15-минутен интервал през деня (07,00-22,00) и през 30-минутен интервал през нощта (22,00-07,00). Използвани са прагови стойности на артериалното налягане съгласно препоръките на ESH от 2007г – 130/80 mmHg за средните 24-часови стойности, 135/85 mmHg за средните дневни стойности и 120/70 mmHg за средните нощни стойности. (4) Основните характеристики на трите групи са дадени на Табл. 1.

**Таблица 1.** Основни показатели на трите групи изследвани пациенти със захарен диабет тип 2 – пациенти с хипертония на терапия (Група 1), пациенти с хипертония без терапия (Група 2), пациенти без хипертония (Контроли).

**Table 1.** Basic parameters of the three groups of studied type 2 diabetic patients – treated hypertensive patients (Group 1), untreated hypertensive patients (Group 2), normotensive patients (Controls).

	<b>Група 1/Group1</b> (n=26)	<b>Група 2/Group2</b> (n=38)	<b>Контроли/Controls</b> (n=30)
<b>Възраст/Age</b>	51,27±8,45	51,11±12,89	47,57±8,62
<b>Давност на диабета/ Duration of diabetes</b>	6,93±4,07	5,35±5,51	4,86±4,49
HbA <sub>1c</sub>	9,21±1,15	9,16±1,92	9,03±2,04
<b>САН/SBP</b>	135,58±9,20	145,92±9,07	122,33±8,38
<b>ДАН/ DBP</b>	81,15±9,31	88,03±8,82	77,00±5,81

САН – систолично артериално налягане; ДАН – диастолично артериално налягане  
SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure

**Таблица 2.** Антропометрични показатели на изследваните пациенти със захарен диабет тип 2 – пациенти с хипертония на терапия (Група 1), пациенти с хипертония без терапия (Група 2), пациенти без хипертония (Контроли). \* p=0,005 vs Контроли; \*\* p=0,029 vs Група 2; \*\*\* p=0,004 vs Контроли.

**Table 2.** Anthropometric parameters of the type 2 diabetic patients – treated hypertensive patients (Group 1), untreated hypertensive patients (Group 2); normotensive patients (Controls). \* p=0,005 vs Controls; \*\*p=0,029 vs Group 2; \*\*\* p=0,004 vs Controls.

	<b>Група 1/Group1</b> (n=26)	<b>Група 2/Group2</b> (n=38)	<b>Контроли/Controls</b> (n=30)
<b>ИТМ/BMI kg/m<sup>2</sup></b>	31,19±4,31*	29,03±4,25	27,88±4,03
<b>Талия/Waist cm</b>	106,04±8,96**,***	100,31±10,76	96,9±13,07

Проведени са стандартни антропометрични изследвания – измерване на ръст, тегло и обиколка на талията.

Серумните нива на sFas са изследвани с ELISA метод (Quantikine, Human sFas Immunoassay, DFS00, R&D Systems, Minneapolis, USA). За изследване на серумния sFasL също е приложен ELISA метод (Quantikine, Human Fas Ligand Immunoassay, DFL00, R&D Systems, Minneapolis, USA). Чувствителността на анализите за sFas е <20 pg/ml.

Чувствителността на анализите за sFasL е 2,66 pg/ml. Дадените от производителя референтни граници за серумното ниво на sFas са от 4792 до 17150 pg/ml. Дадените от производителя референтни граници за серумното ниво на sFasL са от 39,8 до 145 pg/ml.

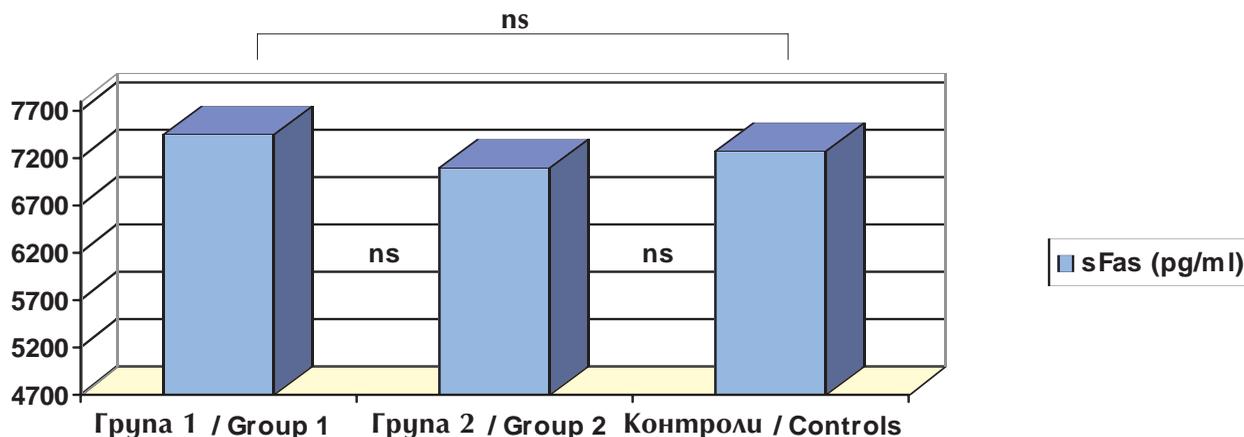
Статистическата обработка на данните е извършена с SPSS, версия 16,0. Приложени са вариационен и корелационен анализ. Зададеното ниво на статистическа значимост е p<0,05.

## Резултати:

При лицата с хипертония на антихипертензивна терапия (Група 1) се установява по-висок индекс на телесната маса (ИТМ) в сравнение с контролната група ( $p=0,005$ ), докато сигнификантна разлика спрямо лицата с хипертония без антихипертензивна терапия – Група 2, не се наблюдава. Обиколката на талията е по-голяма при лицата от Група 1 както спрямо контролната група ( $p=0,004$ ), така и спрямо Група 2 ( $p=0,029$ ). Лицата от Група 2 не се различават значимо от контролите по обиколка на талията и ИТМ. (Табл.2)

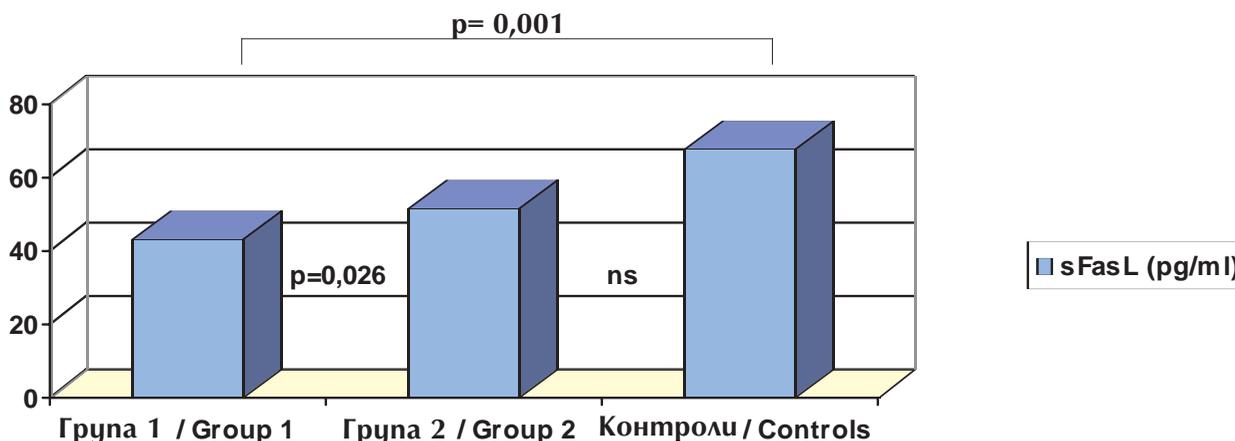
Не се установяват статистически значими разлики в нивата на sFas между отделните групи. (Фиг.1) По отношение на sFasL се установяват по-ниски стойности както при лицата от Група 1 ( $p=0,001$ ), така и при лицата от Група 2 ( $p=0,026$ ), в сравнение с контролната група. Няма значима разлика в нивата на sFasL между двете групи с хипертония. (Фиг. 2)

Корелационният анализ не установи корелации на нивата на sFas и sFasL с възрастта на пациентите, ИТМ или обиколката на талията.



**Фигура 1.** Серумни нива на sFas в трите изследвани групи – пациенти с хипертония на терапия (Група 1), пациенти с хипертония без терапия (Група 2), пациенти без хипертония (Контроли).

**Figure 1.** Serum sFas levels in the different groups – treated hypertensive patients (Group 1), untreated hypertensive patients (Group 2); normotensive patients (Controls).



**Фигура 2.** Серумни нива на sFasL в трите изследвани групи – пациенти с хипертония на терапия (Група 1), пациенти с хипертония без терапия (Група 2), пациенти без хипертония (Контроли).

**Figure 2.** Serum sFasL levels in the different groups – treated hypertensive patients (Group 1), untreated hypertensive patients (Group 2); normotensive patients (Controls).

## Обсъждане

Данните от настоящото проучване не показват разлика в серумните нива на sFas между хипертензивните и нормотензивните лица със захарен диабет тип 2. Някои автори съобщават за положителна корелация на серумните нива на sFas с наличието на хипертония при лица със захарен диабет (2), както и с наличие на микроалбуминурия (7) и диабетна полиневропатия (3). В други проучвания е наблюдавана корелация на нивата на sFas с наличието на затлъстяване и дислипидемия, но не и с наличието на захарен диабет или артериална хипертония. (8).

В двете групи пациенти с артериална хипертония се наблюдават както по-ниски серумни нива на sFasL, така и значими разлики в антропометричните параметри спрямо контролната група.

Корелационният анализ, обаче, не показва наличие на връзка на нивата на sFasL с антропометричните параметри, което ни дава основание да интерпретираме понижените му нива като свързани с наличието на артериална хипертония. При пациенти със захарен диабет са наблюдавани по-ниски серумни нива на sFasL в сравнение с лица с нормален глюкозен толеранс, като наличието на артериална хипертония при пациентите с диабет е свързано с допълнително понижение на нивата на sFasL. (2) В други проучвания е установена липса на корелация на нивата на sFasL с наличието на артериална хипертония. (8) Някои автори съобщават за повишени нива на sFasL при лица с артериална хипертония и атеросклероза (6). До момента няма данни за установени понижени серумни нива на sFasL при артериална хипертония при пациенти без захарен диабет.

## Изводи

При лицата със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония се наблюдават по-ниски серумни нива на sFasL в сравнение с пациенти без хипертония. Понижението на нивата на sFasL при лица с хипертония не зависи от провеждането на антихипертензивна терапия.

Наличието на артериална хипертония не води до значими отклонения в серумните нива на sFas при лица със захарен диабет тип 2.

### **Благодарности / Acknowledgements**

***Това изследване е финансирано със средства от изследователски грант от Съвета по Медицинска Наука към Медицински Университет – София, договор № 17-Д, 2009г.***

*The study was supported by a grant from the Council for Medical Sciency to the Medical University – Sofia.*

*Contract № 17-Д, 2009г.*

## КНИГОПИС/REFERENCES

- 1. Bennett MR** Apoptosis in the cardiovascular system. *Heart* 2002; 87(5): 480-487.
- 2. Cosson E, Brinquier AF, Paries J, Guillot R, Vaysse J, Attali JR, Feldmann G, Valensi P** Fas/Fas-Ligand pathway is impaired in patients with type 2 diabetes. Influence of hypertension and insulin resistance. *Diabetes Metab* 2005; 31(1): 47-54.
- 3. Guillot R, Brinquier AF, Porokhov B, Guillausseau PJ, Feldmann G** Increased levels of soluble Fas in serum from diabetic patients with neuropathy. *Diabetes Metab* 2001; 27(3): 315-321.
- 4. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A;** ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2007 Sep; 25(9): 1751-62.
- 5. Midis GP, Shen Y, Owen-Schaub LB** Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy. *Cancer Res*. 1996; 56(17):3870-4.
- 6. Okura T, Watanabe S, Jiang Y, Nakamura M, Takata Y, Yang ZH, Kohara K, Kitami Y, Hiwada K** Soluble Fas ligand and atherosclerosis in hypertensive patients. *J Hypertens* 2002 May;20(5):895-8.
- 7. Protopsaltis T, Kokkoris S, Nikolopoulos G, Spyropoulou P, Katsaros T, Salvanos L, Brestas P, Korantzopoulos P, Melidonis A** Correlation between increased serum sFas levels and microalbuminuria in type 1 diabetic patients. *Med Princ Pract* 2007; 16(3): 222-225
- 8. Tamakoshi A, Suzuki K, Lin Y, Ito Y, Yagyu K, Kikuchi S, Watanabe Y, Inaba Y, Tajima K, Nakachi K; JACC Study Group.** Relationship of sFas with metabolic risk factors and their clusters. *Eur J Clin Invest*. 2010 Jun;40(6):527-33.

### АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Николай Стойнев

Клиника по Диабетология, Клиничен Център  
по Ендокринология,  
Ул. „Здраве“ №2, София 1431  
e-mail: niki\_stoynev@abv.bg

### ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Nikolay Stoynev, MD

Department of Diabetology, Clinical Center of  
Endocrinology,  
2 Zdrave Str., Sofia 1431, Bulgaria  
e-mail: niki\_stoynev@abv.bg

## Подценена опасност: дефицит на Кобаламин при захарен диабет тип 2

Драгомир Коев

Военномедицинска Академия, Многопрофилна Болница за Активно Лечение, Варна

## Underestimated Danger: Cobalamin Deficiency in Type 2 Diabetes Mellitus

Prof. Dragomir Koev

Military Medical Academy, General Hospital Varna

### Резюме

Кобаламин е есенциална биомолекула съдържаща кобалт, която постъпва в организма с храната и чрез различни транспортери достига до клетките, където се свързва с клетъчни рецептори, за да активира определени биохимични реакции. Той е необходим най-вече за нормалната хемопоеза и за интегритета на нервната система. Напоследък се установяват и други негови действия, като една част от тях се дължи на директното му действие, а друга част – се опосредства от други молекули, които се увеличават или намаляват в зависимост от неговата концентрация в кръвта. Проучванията сочат, че поради различни причини значителна част от хо-

### Abstract

Cobalamin is an essential biomolecule containing cobalt, entering the human body with food and by means of different transporters reaching the cells. There it binds to cellular receptors and activates certain biochemical reactions. It is essential mostly for the normal chemopoiesis and for the integrity of the nervous system. Some additional activities of cobalamin were established lately: some of them because of its direct effect and others due to other molecules in the body, that may increase or decrease, depending on the cobalamin levels in the circulation. A number of studies showed that due to different reasons a considerable part of elderly people over 60 have a cobalamin deficiency. This is true especially for the type 2 diabetic

---

рата над 60 години имат кобаламинов дефицит. Това се отнася най-вече за болните от захарен диабет тип 2. Лечението с метформин може също така да понижи съдържанието на кобаламин в организма, поради намалената му резорбция от храносмилателния тракт. Според приетия наскоро консенсус на ADA и EASD за лечение на захарен диабет тип 2 метформинът е първият медикамент в терапевтичния план още от началото на лечението до края на живота. Продължителното лечение с метформин, обаче може да предизвика и да задълбочи кобаламиновия дефицит. Това увеличава риска от ускоряване на процесите водещи до някои диабетни усложнения и главно диабетната невропатия. Разглеждат се механизмите на директно и на опосредствано действие на кобаламиновия дефицит за развитие на тези усложнения при диабетно болни и се дават препоръки за практиката, тъй като нито ендокринолозите, нито пациентите са адекватно информирани за последиците от кобаламиновия дефицит при захарен диабет тип 2, как да се предотврати, как да се открие и как да се преодолее, за да се редуцира допълнително риска от диабетни усложнения, които се появяват дори и при болни с относително добър гликемичен контрол.

---

**КЛЮЧОВИ ДУМИ:** захарен диабет тип 2, кобаламин, витамин B12, диабетна невропатия, хомоцистеин, диабетни усложнения

---

Кобаламинът, известен и като витамин B12, е есенциална молекула участваща като коензим в клетъчния метаболизъм и е особено важен за нормалната структура и функциониране на клетките, особено на хемопоетичните и нервните клетки (1, 2). Единственият източник на кобаламин е месната храна (1). Транспор-

patients. Besides, metformin treatment may decrease the cobalamin levels in the body because of a decreased gastrointestinal absorption. According to the last ADA and EASD international consensus metformin is a first choice drug for the treatment of Diabetes mellitus type 2 and it should be taken at all further steps of the treatment plan. This may precipitate or aggravate the cobalamin deficiency. On the other hand cobalamin deficiency may increase the risk of some diabetic complications and especially diabetic neuropathy. The mechanisms of direct or indirect action of cobalamin deficiency and their connection to diabetic complications are discussed. Recommendations for everyday practice are presented, since neither endocrinologists nor diabetic patients are properly informed about the consequences of cobalamin deficiency in type 2 diabetes mellitus; how to prevent it, how to overcome it and how to reduce additionally the risk of diabetic complications which may appear anyway even in patients with good glycemic control.

---

**KEY WORDS:** diabetes mellitus type 2, cobalamin, vitamin B12, diabetic neuropathy, homocysteine, diabetic complications

---

тът на кобаламина от устната кухина до клетките е най-сложният от всички други витамини и се осъществява с помощта на най-малко 5 различни пренасящи молекули, рецептори и транспортери. Всеки от тях има различен афинитет и специфичност за свързване с кобаламина, както и самостоятелен рецептор. Кобаламин се свързва

първоначално с Haptocorrin в стомаха, а след това с Intrinsic Factor в стомаха и тънките черва. Свързаният с Intrinsic Factor кобаламин се поема от чревните епителни клетки, където посредством протеолиза се освобождава от тази връзка и се свързва с транспортера Transcobalamin II (ТС II). Комплексът кобаламин – ТС II преминава клетъчните мембрани с помощта на рецептор за ТС II и навлиза в клетките. След ендоцитозата ТС II се разрушава от лизозима, а освободеният кобаламин се трансформира с коензим в митохондриите на клетките (2).

Биологично активен е само свързаният с ТС II кобаламин, а това са едва 20% от постъпилите с храната кобаламин. Останалите 80% от него са свързани с Transcobalamin I и III, които са склад за кобаламин и те не участват в клетъчните обменни процеси. Несвързаният с ТС II кобаламин не достига тъканите и остава биологично неактивен.

Важно значение за резорбцията на кобаламин има калцият. Калцият е необходим за свързването на комплекса кобаламин-ТС II със съответните рецептори на клетките в илеума. При липса на калций в храната, резорбцията на кобаламин в илеума рязко се намалява (3).

Дефицитът на кобаламин е явен, когато серумното му ниво е под 150 pmol/l (със или без клинична симптоматика), а субклиничен (латентен) – когато серумното му ниво е между 150 – 220 pmol/l в съчетание с повишено ниво на хомоцистеин и/или метилмалонова киселина (4,5) (Табл. № 1). Хомоцистеинът е междинен продукт в обмяната, който се разгражда с помощта на кобаламина и ако количеството кобаламин в тъканите е ниско, този процес е нарушен и нивото на хомоцистеина в плазмата се повишава над референтните стойности. (Фиг. № 1). Подобно е положението и с метилмалоновата киселина (5,6,7,8). Повишените концентрации на хомоцистеина и метилмалоновата киселина в серума са маркер за тъканен дефицит на

кобаламин.

Последиците от кобаламиновия дефицит са директни и индиректни. Директните последици са в следните направления:

1) ХЕМАТОЛОГИЧНИ – Промени в еритропоезата: поява на макроцити, развитие на макроцитна анемия, хиперплазия на еритробластите в костния мозък („син“ костен мозък), хиперсегментирани неутрофили (9,10,11)

2) НЕВРОЛОГИЧНИ – Развитие на т. нар. фуникуларна миелоза в гръбначния мозък, която представлява субакутна дегенерация на неговата структура, проявена клинично с парене, изтръпване и парестезии на крайниците, намалена вибрационна чувствителност, мускулна атрофия на краката, нарушена походка и равновесие (9,12,13) , както и атрофия на мозъка и на бялата мозъчна тъкан (14, 15, 16).

3) ПСИХИЧНИ – Когнитивни нарушения, дезориентация, нарушения на паметта, депресия, като напоследък се обсъжда и вероятността за развитие на мозъчно-съдова болест, деменция и болестта на Alzheimer (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23). Има обаче проучвания, които не подкрепят директния ефект на кобаламиновия дефицит за проявата на когнитивни нарушения, а считат, че това се дължи на повишения хомоцистеин (24).

4) РИСКОВЕ ЗА ПЛОДА ПРИ БРЕМЕННИ ЖЕНИ – Риск от дефекти на невралната тръба на плода (spina bifida occulta, meningocele и др.), фронтпариетална мозъчна атрофия на новороденото (25, 26, 27, 28, 29, 30).

Индиректните последици от кобаламиновия дефицит се дължат на повишението на хомоцистеина в организма при намаляване нивото на кобаламина в клетките, както при явен, така и при субклиничен кобаламинов дефицит (5). Повишението на хомоцистеина е причина за редица неблагоприятни последици: засилено окисле-

Таблица 1. Диагноза на кобаламиновия дефицит.

Table 1. Diagnosis of Cobalamin deficiency.

<b>КЛИНИЧЕН (ЯВЕН) КОБАЛАМИНОВ ДЕФИЦИТ</b> CLINICAL (OBVIOUS) COBALAMIN DEFICIENCY
<b>СЕРУМЕН КОБАЛАМИН ( ВИТАМИН В 12 ) ПОД 150 pmol/l</b> при еднократно изследване плюс клинична симптоматика за дефицит или при две отделни изследвания независимо от липсата на симптоми SERUM COBALAMIN (VITAMIN B12 ) UNDER 150 pmol/l in a single investigation plus clinical signs and symptoms of cobalamin deficiency or in two separate investigations without clinical symptoms
<b>СУБКЛИНИЧЕН КОБАЛАМИНОВ ДЕФИЦИТ</b> SUBCLINICAL COBALAMIN DEFICIENCY
<b>СЕРУМЕН КОБАЛАМИН (ВИТАМИН В 12) МЕЖДУ 150 И 220 pmol/l</b> SERUM COBALAMIN (VITAMIN B12) BETWEEN 150 AND 220 pmol/l <b>ПОВИШЕН ХОМОЦИСТЕИН</b> НАД 13 mcmlol/l HOMOCYSTEINE ABOVE 13 mcmlol/l <b>ПОВИШЕНА МЕТИЛМАЛОНОВА КИСЕЛИНА</b> НАД 0,4 mcmlol/l METHYLMALONIC ACID ABOVE 0,4 mcmlol/l

ние на липидите, по-голямо свързване на lipoprotein(a) с фибрина и по-голямо увреждане на артериите от свободните радикали. Всичко това активира атерогенезата. Наред с това, хиперхомоцистеинемията увеличава тромбоцитната агрегация, стимулира тромбозата и промовира появата на тромбоемболии. В резултат на тези ефекти хиперхомоцистеинемията се свързва с повишен риск от тромбоемболия, тромбоза на vena centralis retinae и други венозни тромбози (31, 32, 33, 34, 35), както и от оток на макулата (36) и намалена костноминерална плътност (37) с риск от фрактура на бедрената кост (38).

Повишения серумен хомоцистеин се свързва и с по-висок риск от развитие на когнитивни нарушения, деменция и болестта на Alzheimer (46,47), както и с намаление на обема на сивата мозъчна тъкан при ли-

ца в напреднала възраст (48). Наскоро беше установено, че повишеният хомоцистеин има позитивна корелация с индекса на телесната маса (BMI) и по-точно с количеството мастна тъкан в организма (49). Тази връзка поставя въпроса и за ролята му за повишения сърдечносъдов риск при лица със затлъстяване, независимо дали имат или не и други рискови фактори (49).

Всяко повишение на серумния хомоцистеин с 5 mcmlol/l се съпровожда от повишение с 49% на смъртността от всички причини при лица от 65 до 72 годишна възраст (50). От друга страна, обаче, по-високото серумно ниво на кобаламина понижава хомоцистеина и намалява риска (51). Поради това, хранителни добавки съдържащи кобаламин (витамин В 12) и фолиева киселина имат добър профилактичен ефект (52).

---

При болните от захарен диабет тип 2 има значителен риск от дефицит на кобаламин (витамин В 12) и свързаните с това последици, поради редица причини. Болшинството болни от захарен диабет тип 2 са на възраст над 50 години. Проучванията показват, че с напредване на възрастта нараства процента на лицата с явен или субклиничен кобаламинов дефицит, като според различни проучвания той варира в голям диапазон от 3% до 60%, но осреднените цифри са около 15-16 % (6, 39, 40, 41, 42, 43).

Днес може да се приеме, че всеки шест човек над 65-годишна възраст има кобаламинов дефицит, независимо дали има или няма някакво заболяване, като честотата на дефицита нараства с напредване на възрастта.

Освен напредването на възрастта, още един фактор допринася за кобаламинов дефицит при захарен диабет тип 2. Това е лечението с метформин. Този медикамент се наложи като медикамент за първи избор при захарен диабет тип 2, поради ефективността му да намалява инсулиновата резистентност и по-малката сърдечносъдова смъртност при лекуваните с него болни, в сравнение с останалите антидиабетни медикаменти (44). Ето защо, консенсусът постигнат от американската и европейската диабетни асоциации ( ADA и EASD ) през 2008 година за лечението на захарен диабет тип 2 гласи, че метформинът е медикаментът, с който са започва лечението при всеки новооткрит болен и следва да се прилага непрекъснато при всички последващи медикаментозни комбинации до края на живота на пациента, ако няма никакви значителни нежелани действия (45).

Още през 1971г. G. H. Tomkin и сътр. (53) съобщиха, че лечението на диабетно болни с метформин намалява резорбцията на витамин В 12, което води до неговото по-ниско серумно ниво и значимо по-нисък хемоглобин. Освен това, те показаха, че спирането на метформина и заместване-

то му със сулфонилуреен препарат възстановява нормалната резорбция на кобаламин. В последвалите години, обаче, метформинът не беше много популярен, тъй като бигванидиновата група медикаменти бяха обявени за опасни, поради повишения риск от лактатна ацидоза и предполагаемия по-висок сърдечносъдов риск. Този риск на практика се отнасяше до другите представители на тази група – фенформин и буформин, а не за метформин. Въпреки това в САЩ до преди 15 години метформинът не беше регистриран и не се използваше (54), а в останалите страни той се предписваше сравнително по-рядко. Ето защо, в този период съобщението на G. H. Tomkin не беше актуално.

Проучването UKPDS в края на миналия век, обаче, показа че метформинът не само е ефективен медикамент за контрол на кръвната глюкоза, но е свързан и с по-малка смъртност на болните лекувани с него (44). Този факт доведе до рязко увеличаване на лечението с метформин и до признаването му за незаменим медикамент в лечението на захарен диабет тип 2 (45). Повишеният интерес към метформина доведе и до изследвания, които подновиха въпроса за нежеланите му странични действия. Какво показват клиничните проучвания за влиянието на метформина върху нивото на кобаламина и хомоцистеина в последните години?

Едно проучване върху 390 диспансеризирани диабетно болни в 3 болници в Холандия (55) показа, че прибавянето на метформин към рутинно провежданото антидиабетно лечение води до понижено серумно ниво на витамин В12 с 14% и на фолиевата киселина с 7%, а повишение на хомоцистеина с 4% за срок от само 16 седмици.

Няколко проучвания през 2004 година потвърждават неблагоприятния ефект на метформина върху серумния кобаламин и повишението на хомоцистеина. L. S. Netapp и сътр. (56) изследват 84 болни от тип 2 диабет лекуващи се инсулин или перорални

антидиабетни препарати, като при една част от тях се прибавя метформин в дневна доза 2,200 mg дневно, а останалите служат като контролна група. След 5 години се установява, че групата лекувана с метформин има с 25% по-нисък серумен кобаламин от контролната група. В друго проучване M. Pongchaidecha и сътр. (57) потвърждават по-ниския серумен кобаламин при диабетно болни лекувани с метформин. Проследени са 152 болни със захарен диабет тип 2 разделени на две групи: със метформиново лечение и контролна група без метформин. След 6 месеца серумен ниво за кобаламина в групата на метформиново лечение се оказва значимо по-ниско (средна стойност 318,0 pg/ml) в сравнение с контролните болни неприятели метформин (средна стойност 434,3 pg/ml).

Тези изводи отново са потвърдени и през 2009 г. от M.C. Pflipsen и сътр. (58) които проследяват 203 диспансеризирани диабетно болни в Армейския здравен център в Аризона, САЩ на средна възраст 61,5 години и с давност на диабета 8,3 години, лекувани с метформин. Метаболитно потвърден дефицит на кобаламин се установява в 22,0% от диспансеризирани болни на лечение с метформин. Интересно е да се отбележи, че сред тях има повече болни, които не са приемали мултивитаминни добавки – 59,6%.

Много информативно е проучването на R.Z.-W.Ting и сътр.(59), които сравняват 155 диабетно болни лекувани най-малко една година с метформин и с лабораторно доказан кобаламинов дефицит и 310 диабетници също лекувани с метформин, но без кобаламинов дефицит. Това изследване установява линейно нарастване на кобаламиновия дефицит при увеличаване на дневната доза на метформина и на продължителността на метформиновия прием. Те правят следните практически изводи:

1) Всяко увеличение на дневната доза метформин с 1 грам увеличава риска от кобаламинов дефицит над 2,5 пъти (OR = 2,88)

2) Продължителността на лечението с метформин над 3 години увеличава риска над 2 пъти (OR = 2,39)

3) По-високата възраст има относително по-малък риск – около 30% по-висок риск за всяко следващо десетилетие (OR = 1,36)

Най-широк отзвук в медицинските среди и обществеността, обаче, намери докладът на Marjaene Braza и сътр. от Тексаския Университет, САЩ на 96-ия конгрес на Американската Диабетна Асоциация през юни 2009 г. в New Orleans. Тя докладва, че 40% от лекуваните с метформин диабетно болни имат субклиничен или явен кобаламинов дефицит. За пръв път, обаче тя обвързва кобаламиновия дефицит с увреждане на нервната система при захарен диабет, като показва, че 77% от болните с такъв дефицит имат диабетна периферна невропатия.

В началото на 2010 г се появи статията на D. J. Wile и C. Toth, публикувана в сп. Diabetes care (60), в която те съобщават резултатите от проспективно проучване сравняващо две групи диабетно болни: лекувани и нелекувани с метформин. Резултатите от проучването показват, че лекуваните с метформин имат по-нисък серумен кобаламин и по-високи хомоцистеин и метилмалонова киселина. Най-впечатляващо, обаче е, че лекуваните с метформин имат по-тежка диабетна невропатия, като кумулативната метформинова доза корелира силно с по-тежко клинично и параклинично увреждане на нервните, верифицирано с електрофизиологични изследвания.

Утвърждава се мнението, че причиненият от метформина кобаламинов дефицит може да е налице и без анемия, а само с прояви на периферна невропатия, която погрешно да се диагностицира като диабетна невропатия, тъй като както клиничната симптоматика, така и данните от инструменталните изследвания са идентични при двете състояния (54).

Причините за кобаламиновия дефицит при захарен диабет не са само напредналата възраст и лечението с метформин. Те се обуславят и от редица други фактори (Табл. 2)

Механизмът, по който метформинът предизвиква дефицит на кобаламин е свързан с намалената му резорбция от храносмилателния тракт, поради предизвиканите от този медикамент гастроинтестинални нежелани странични действия. Най-общо казано, метформинът потиска секрецията на някои транспортери на кобаламина, което води до намалената му резорбция, а също и до намаляване на калция в храносмилателния тракт, а те играят важна роля за навлизане на кобаламина в клетките на дисталния илеум. Доказано е, че дефицитът на калций силно намаля

ва интрацелуларното му усвояване, а повишеният му прием с храната подобрява неговата резорбция (3). На таблица No 3 са показани основните пътища, по които метформинът предизвиква кобаламинов дефицит.

За практическата диабетология е много важно как да се определят рисковите болни за кобаламинов дефицит. От данните на досегашните наблюдения може да се обобща, че това са главно възрастни болни, продължително лекувани с метформин и особено ако лечението им е с високи дневни дозировки (59, 62). Суспектни са болните лекуващи се с метформин и са с изявена диабетна невропатия и/или намалена нервна проводимост. Особено подозрителни за кобаламинов дефицит са болните с добър гликемичен контрол при лече-

**Таблица 2.** Най-честите причини за кобаламинов дефицит при захарен диабет тип 2.  
**Table 2.** The most usual causes of Cobalamin deficiency in type 2 diabetes mellitus.

<b>1) НАМАЛЕНА РЕЗОРБЦИЯ НА КОБАЛАМИН СЛЕД 50-ГОДИШНА ВЪЗРАСТ</b> DECREASED ABSORPTION OF COBALAMIN AFTER 50 YEARS OF AGE
<b>2) ЛЕЧЕНИЕ С МЕТФОРМИН – ПРОДЪЛЖИТЕЛНО И С ВИСОКИ ДОЗИ</b> METFORMIN TREATMENT – FOR A LONG TIME AND WITH A HIGH DOSAGE
<b>3) ХРОНИЧЕН АТРОФИЧЕН ГАСТРИТ, ГАСТРЕКТОМИЯ, ХРОНИЧНА ИНФЕКЦИЯ С HELICOBACTER PYLORI</b> CHRONIC ATROPHIC GASTRITIS, GASTRECTOMY, CHRONIC HELICOBACTER PYLORI INFECTION
<b>4) ПРОДЪЛЖИТЕЛНО ЛЕЧЕНИЕ С АНТИАЦИДНИ МЕДИКАМЕНТИ, (H2-РЕЦЕПТОРНИ АНТАГОНИСТИ И ИНХИБИТОРИ НА ПРОТОННАТА ПОМПА) (61)</b> LONG-TIME TREATMENT WITH ANTIACIDS (H2-RECEPTOR ANTAGONISTS AND PROTON PUMP INHIBITORS) (61)
<b>5) ХРОНИЧЕН АКОХОЛИЗЪМ (10)</b> CHRONIC ALCOHOL ADDICTION (10)
<b>6) СТРОГО ВЕГЕТАРИАНСТВО И МАЛНУТРИЦИЯ (1)</b> STRICT VEGETARIANISM AND MALNUTRITION (1)

Таблица 3. Как Метформин предизвиква Кобаламинов дефицит.

Table 3. Mechanism of Metformin-induced Cobalamin deficiency.

<b>ЛЕЧЕНИЕ С МЕТФОРМИН</b> METFORMIN TREATMENT
<b>1) ГАСТРОИНТЕСТИНАЛНИ НЕЖЕЛАНИ ДЕЙСТВИЯ, ВКЛЮЧИТЕЛНО ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛНА РЕФЛУКСНА БОЛЕСТ (ГЕРБ)</b> GASTROINTESTINAL UNDESIRABLE EFFECTS, INCLUDING GASTROESOPHAGEAL REFLUX
<b>А) НАМАЛЕНА СТОМАШНА СЕКРЕЦИЯ НА СОЛНА КИСЕЛИНА И ПЕПСИН</b> DECREASED GASTRIC PRODUCTION OF HYDROCHLORIC ACID AND PEPSIN
<b>Б) АНТИАЦИДНО ЛЕЧЕНИЕ С Н-2 АНТАГОНИСТИ И ИНХИБИТОРИ НА ПРОТОННАТА ПОМПА</b> ANTIACID TREATMENT WITH H-2 ANTAGONISTS AND PROTON PUMP INHIBITORS
<b>2) НАМАЛЕНА ЧРЕВНА КОНЦЕНТРАЦИЯ НА КАЛЦИЙ НАМАЛЕНА РЕЗОРБЦИЯ НА КОБАЛАМИН В КЛЕТКИТЕ НА ДИСТАЛНИЯ ИЛЕУМ</b> DECREASED INTESTINAL CONCENTRATION OF CALCIUM DECREASED COBALAMIN ABSORPTION IN THE DISTAL ILEUM CELLS
<b>3) НАМАЛЕНА СЕКРЕЦИЯ НА INTRINSIC FACTOR</b> DECREASED INTRINSIC FACTOR SECRETION НАМАЛЕНА РЕЗОРБЦИЯ НА КОБАЛАМИН В ДИСТАЛНИЯ ИЛЕУМ DECREASED ABSORPTION OF COBALAMIN IN DISTAL ILEUM

ние с метформин, а са с тежка диабетна полиневропатия. Естествено е да се изследват за кобаламинов дефицит и болни, при които метформиновото лечение се съчетава с други рискови фактори за намалена резорбция на витамин В12 (Табл. № 4).

Диагнозата на кобаламиновия дефицит е лабораторна (11). Добрата новина е, че в България изследването на витамин В12 в серума е достъпно и сравнително евтино. Ето защо, откриването на явния кобаламинов дефицит не е проблем, ако се мисли за него. Лошата новина е, че понастоящем у нас хомоцистеина и метилмалоновата киселина не се изследват. Докато за метилмалоновата киселина това е разбираемо, тъй като методично това изс-

ледване не е унифицирано, то за изследването на хомоцистеина причините са чисто субективни. Съществуват готови лабораторни китове за изследване на хомоцистеина в серума, но те не се използват у нас, поради липсата на интерес от страна на клиницистите, които не заявяват това изследване и поради относително високата му цена. Ето защо, на този етап не сме в състояние да открием субклиничния кобаламинов дефицит, въпреки че теоретично това е възможно.

Определянето на хомоцистеина в серума има друг важен терапевтичен аспект. Хиперхомоцистеинемията е маркер за по-тежка атеросклероза и повишен риск от сърдечни инциденти, особено от исхе-

Таблица 4. Диабетно болни с повишен риск за Кобаламинов дефицит.

Table 4. Diabetic patients at high risk of Cobalamin deficiency.

1). <b>БОЛНИ ЛЕКУВАНИ С МЕТФОРМИН НАД 5 ГОДИНИ</b> PATIENTS ON METFORMIN TREATMENT MORE THAN 5 YEARS
2). <b>БОЛНИ С ДНЕВНА ДОЗА НА МЕТФОРМИН НАД 2000 mg</b> PATIENTS ON METFORMIN IN A DOSAGE MORE THAN 2000 mg DAILY
3). <b>БОЛНИ ЛЕКУВАЩИ СЕ С МЕТФОРМИН И ДИАБЕТНА ПОЛИНЕВРОПАТИЯ ИЛИ НАМАЛЕНА НЕРВНА ПРОВОДИМОСТ</b> PATIENTS ON METFORMIN TREATMENT AND DIABETIC POLYNEUROPATHY OR DECREASED NERVE CONDUCTION VELOCITY
4). <b>БОЛНИ С ДРУГИ РИСКОВИ ФАКТОРИ ЗА КОБАЛАМИНОВ ДЕФИЦИТ</b> PATIENTS WITH OTHER RISK FACTORS FOR COBALAMIN DEFICIENCY
<i>(виж табл. No 2) (see table No 2)</i>

мичен инсулт (28, 31), а и за риск от поява на депресия (47, 63, 64). Известно е, че болните от диабет дори и да са с отличен контрол на известните рискови фактори остават с по-висок риск за сърдечносъдови инциденти. Възможно е това да се дължи на повишен хомоцистеин, който много рядко са изследва в рутинната практика. Ако се докаже хиперхомоцистеинемия, евентуалното лечение с витамин В12 на лица с метаболитен синдром би могло да редуцира сърдечносъдовия риск (5). Положителен знак в тази насока е проучването на E.Setola и сътр. (65), което показва, че лечението с витамин В12 на лица с метаболитен синдром и повишен хомоцистеин понижава нивото на хомоцистеина, редуцира инсулиновата резистентност и подобрява ендотелната дисфункция, с което се намалява сърдечносъдовия риск.

Какъв следва да бъде нашият терапевтичен подход при диабетно болните с кобаламинов дефицит? Трябва ли да се откажем от метформина при тях? Тук е необходимо да се има пред вид, че метформинът има много достоинства като антидиабетен медикамент: намалява инсулиновата резистентност, помага за редукция на телото, има благоприятен ефект върху сърдечносъдовата система, намалява сърдечносъдовата смъртност, има известен ефект върху серумните липиди и т.н. Ние не трябва да се отказваме от метформина при установяване на кобаламинов дефицит, а да проведем заместително лечение с витамин В12. Има два подхода за възстановяване на кобаламиновото ниво в организма: орално и парентерално заместване. В редица страни се предпочита оралната суплементация с помощта на хранителни

---

добавки или орални препарати съдържащи кобаламин (29). Наистина, това е физиологичният и най-често предпочитаният от болните път за суплементация. Трябва обаче да се има пред вид няколко обстоятелства:

1) С напредване на възрастта резорбцията на орално приетия витамин B12 се намалява (7, 41)

2) При лица над 70 години дозата за орална суплементация на витамин B12 трябва да е 200 пъти по-голяма от препоръчвания от нутриционистите дневен прием (между 650 и 1050 mcgr дневно, в сравнение с обичайния дневен прием на около 3 mcgr)(28, 67)

3) Пациентите често пропускат, прекъсват или изоставят въобще оралната суплементация, която освен това е и по-скъпа, увеличава се броят на приеманите орални средства, а и възрастните хора често забравят да си вземат изписаните нови лекарства и добавки.

Много по-сигурна и по-надеждна е парентералната суплементация, която при посочената схема за системно прилагане осигурява бърз и надежден ефект, а освен това е и несравнимо по-евтина.

Тъй като калцият е фактор, който улеснява резорбцията на кобаламин, оралните калциеви препарати могат да подобрят кобаламиновия дефицит. Най-често те се дават като таблетки или хранителни добавки.

Понякога не е възможно да се прецени дали установената диабетна невропатия е резултат от напреднали диабетни усложнения или се дължи на кобаламинов дефицит. Разграничаването на двете възможности не може да се осъществи на базата на клиничните и на електрофизиологичните изследвания, тъй като симптомите на двете състояния напълно се припокриват (54). Предположение за причината на невропатията може да се направи, като се съпостави тежестта и продължителността на захарния диабет с тежестта на невропатията. При болни с нетежък и

отскоро диагностициран диабет установяването на изявена диабетна невропатия е сигнал за възможен кобаламинов дефицит и е уместно в лечебната схема да се включи витамин B12.

Ако метформиновото лечение не е приемливо при някои болни, поради струване на много рискови фактори за кобаламинов дефицит, алтернативата е да се спре метформина и да се замени с Rosiglitazone. Засега има само едно проучване от 2007 година (66), което сравнява ефектите на метформина и росиглитазона при 165 новооткрити болни от захарен диабет тип 2 върху серумното ниво на кобаламина и хомоцистеина (66). След само 6-седмично лечение лекуваните с метформин са понижили серумното ниво на кобаламина с 20,17 pg/ml, докато лекуваните с росиглитазон имат несигнификантно понижение от 0,01 pg/ml. Обратно, лекуваните с метформин са повишили серумния хомоцистеин с 2,36 mcmol/l, докато лекуваните с росиглитазон са го понижили макар и незначително с 0,92 mcmol/l. Това изследване сочи алтернативната възможност за редукция на инсулиновата резистентност при захарен диабет тип 2 без да се намалява серумния кобаламин и без да се увеличава неблагоприятния хомоцистеин. Подобна замяна, обаче, следва да се има предвид само при по-специални случаи, а не да се прави безпринципно заместване на един медикамент с друг.

Съвременното лечение на захарния диабет тип 2 обогати много нашите терапевтични възможности, но ни откри и непозирани рискове. В ежедневната си практика трябва добре да отчитаме плюсовете и минусите на всяка терапевтична схема, за да останем верни на дребната професионална максима: „Primum non nocere“.

Таблица 5. Лечение на Кобаламинов дефицит.

Table 5. Treatment of Cobalamin deficiency.

<p style="text-align: center;"><b>ПАРЕНТЕРАЛНА СУПЛЕМЕНТАЦИЯ</b> (при всички случаи на явен кобаламинов дефицит) <b>PARENTERAL SUPPLEMENTATION</b> (in all cases of obvious cobalamin deficiency)</p>
<p><b>НАЧАЛНО ЛЕЧЕНИЕ:</b> Витамин B12 1000 mcgr / дневно за 1 седмица, последвано от 1000 mcgr седмично за 1 месец <b>INITIAL TREATMENT:</b> Vitamin B12 1000 mcgr/ daily for 1 week, followed by 1000 mcgr weekly for a month</p>
<p><b>ПОДДЪРЖАЩО ЛЕЧЕНИЕ:</b> Витамин B12 1000 mcgr / месечно до коригиране на дефицита и ако метформиновото лечение е прекратено, в противен случай продължава неопределено дълго <b>SUSTAINED TREATMENT:</b> Vitamin B12 1000 mcgr/ monthly until correction of deficiency and discontinuation of metformin treatment otherwise cobalamin supplementation continues indefinitely long time</p>
<p style="text-align: center;"><b>ОРАЛНА СУПЛЕМЕНТАЦИЯ</b> (при недостатъчен прием с храна) <b>ORAL SUPPLEMENTATION</b> (in case of insufficient intake with food)</p>
<p><b>НАЧАЛНО ЛЕЧЕНИЕ:</b> 1000 mcgr / дневно за 1 месец <b>INITIAL TREATMENT:</b> 1000mcgr / daily for a month</p>
<p><b>ПОДДЪРЖАЩО ЛЕЧЕНИЕ:</b> 125 – 500 mcgr/дневно при хранителен дефицит и 1000 mcgr / дневно при пернициозна анемия <b>SUSTAINED TREATMENT:</b> 125 – 500 mcgr/daily in nutrition deficiency and 1000 mcgr/ daily in pernicious anemia</p>

## КНИГОПИС/REFERENCES

1. Elmadfa V, Singer I, Vitamin B12 and homocysteine status among vegeterians : a global perspective. *Amer J Clin Nutrition*, 2009; 89(5): 1963S-1698S.

2. Andres E., Loukili NH, E Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Noblet-Dick M, Maloisel F, Schlienger J-L, Blickle J-F , Vitamin B-12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ*, 2004; 171(3): 251-159.

3. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V, Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care*, 2000; 23(9): 1227-1231.

4. Marks PW, Zuckerberg LR, Case 30-2004,- A 37-year-old woman with paresthesias of the arms and legs. *N Engl J Med*, 2004; 351: 1333-1341.

5. Carmel R, Green C, Rosenblatt DS, Watkins D, Update on cobalamin, folate and homocysteine. *Hematology*, 2003; 62(1): 62-81.

6. Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haar MN, Green R, Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination in screening for vitamin B12 deficiency. *Clinical Chemistry*, 2006; 52: 278-285.
7. Dali-Yousef N, Andres E, An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM*, 2009; 102(1): 17-28.
8. Carmel R, How I treat cobalamin ( vitamin B12 ) deficiency, *Blood*, 2008; 112(6): 2214-2221.
9. Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Lindenbaum J, Neurologic aspects of cobalamin deficiency, *Medicine (Baltimore)*, 1991; 70(4): 229-245.
10. Varughese GI, Scrapello JHB, Metformin and vitamin B12 deficiency: the role of H2 receptor antagonists and protein pump inhibitors, *Age and Ageing*, 2007; 36(2),231-232.
11. Devalia V, Diagnosing vitamin B12 deficiency on the basis of serum B12 assay, *BMJ*, 2006; 333, 385-386.
12. Bjorke-Monsen A-L, Torsvik I, Sætran H, Markestad T, Ueland PM, Common metabolic profile in infants indicating impaired cobalamin status respond to cobalamin supplementation, *Pediatrics*, 2008; 122(1), 83-91.
13. Liu KW, Dai LK, Jean W, Metformin-related vitamin B12 deficiency, *Age and Ageing*, 2006; 35(2), 200-201.
14. Smith A-V, Robinson DJ, O`Connell H, Hamilton F, Bruce I, Coen R, Walsh B, Coakley D, Molloy A, Scott J, Lawlor BA, Cunningham CJ, Vascular biomarkers of cognitive performance in a community-based elderly population : the Dublin healthy ageing study, *Age and Ageing*, 2008; 37(5): 559-564.
15. Vogiatzoglou A, Refsum H, Johnston C, Smith SM, Bradley KM, de Jager C, Budge MM, Smith AD, Vitamin B12 status and rate of brain volume loss in community-dwelling elderly, *Neurology*, 2008; 71: 826-832.
16. de Lau LML, Smith AD, Refsum H, Johnston, Breteler MMB, Plasma vitamin B12 status and cerebral white-matter lesions, *J Neurology Neurosurg Psychiatry*, 2009; 80: 149-157.
17. Hintikka J, Tolmunen T, Tanskanen A, Viinama-ki H, High vitamin B12 level and good treatment may be associated in major depressive disorder, *BMC Psychiatry*, 2003; Dec 2,317.
18. Meins W, Muller-Thomsen T, Meier-Baumgartner HP, Subnormal serum vitamin B12 and behavioral and psychological symptoms in Alzheimer disease, *Int J Geriatr Psychiatry*, 2000; 15(5): 415-418.
19. Wolters M, Strohle A, Hahn A, Age-associated changes in the metabolism of vitamin B12 and folic acid: prevalence, aetiopathogenesis and pathophysiological consequences, *Z Geront Geriatr.*, 2004; 37(2): 109-135.
20. Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, Marcell PD, Stabler SP, Allen RH, Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the the absence of anemia or macrocytosis, *N Engl J Med*. 1988; 318(26), 1720-1728.
21. Garrod MG, Green R, Allen LH, Mungas DM, Jagust WJ, Haan MN, Miller JW, Fraction of total plasma vitamin B12 bound to transcobalamin correlated with cognitive function in elderly latinos with depressive symptoms, *Clin Chemistry*, 2008; 54: 1210-1217.
22. Coppen A, Bolander-Gouaille C, Treatment of depression : time to consider folic acid and vitamin B12, *J Psychopharmacol*, 2005; 19(1):59-65.
23. Tangney CC, Tang Y, Evans DA, Morris MC, Biochemical indicators of vitamin B12 and folate insufficiency and cognitive decline, *Neurology*, 2009; 72: 361-367.
24. Ellinson M, Thomas J, Patterson A, A critical evaluation of the relationship between serum vitamin B12 , folate and total homocysteine with cognitive impairment in the elderly, *J Hum Nutr Diet*, 2004; 17(4): 371-383.
25. Molloy AM, Kirke PN, Troendle JF, Burke H, Sutton M, Brody LC, Scott JM, Mills JL, Maternal vitamin B12 status and risk of neural tube defects in a population with high neural tube defects prevalence and no folic acid fortification, *Pediatrics*, 2009; 123(3): 917-923.
26. Thompson MD, Cole DE, Ray JG, Vitamin B12 and neural tube defects : the Canadian experience, *Amer J Clin Nutr*, 2009; 89(2), 697S-701S.
27. Agrawal S, Nathani S, Neuro-regression in vitamin B12 deficiency, *BMJ Case Reports*, 2009; 17 March: doi:10.1136/bcr.06.2008.0235.
28. Ryan-Harshman M, Aldoori W, Vitamin B12 and health, *Canad.Fam.Physician*, 2008; 54(4): 536-541.
29. Green R, Is it time for vitamin B12 fortification? What are the questions?, *Amer J Clin Nutrition*, 2009; 89(2): 712S-716S.
30. Afman LA, Van der Put NMJ, Thomas CMG, Trijbells JMF, Blom HJ, Reduced vitamin B12 binding by transcobalamin increases the risk of neural tube defects, *QJM*, 2001; 94(3): 159-166.
31. Tan NC-K, Venketasubramanian, Saw S-M, Tjia HT-L, Hyperhomocysteinemia and risk of ischemic stroke among asian adults, *Stroke*, 2002; 33: 1956-1962.
32. Bjorke-Monsen A-L, Ueland PM, Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence, *Amer J Clin Nutr*, 2003; 78(1): 7-21.
33. Remaha AF, Souto JC, Ramila E, Perea G, Saida MP, Foncuberta J, Enhanced risk of thrombotic disease in patients with acquired vitamin B12 and/or folate deficiency: role of hyperhomocysteinemia, *Ann Hematol*, 2002; 81(1), 616-621.
34. Hotoleanu C, Porojan-luga M, Rusu ML, Anderson A, Hyperhomocysteinemia: clinical and therapeutical involve in venous thrombosis, *Rom J Intern Med*, 2007; 45(2), 159-164.

35. Lin HY, Chung CY, Chan CS, Wang WL, Lin JC, Shen MC, Hyperhomocysteinemia, deep vein thrombosis and vitamin B12 deficiency in a metformin-treated diabetic patient, *J Formosan Med Assoc*, 2007; 106(9): 774-778.
36. Aidin E., Demir HD, Ozyurt H, Etikan I, Association of plasma homocysteine and macular edema in type 2 diabetes, *Europ J Ophthalmol*, 2008; 18(2),226-232.
37. Gjesdal CG, Vollset SE, Ueland PM, Refsum H, Drevan C-A, Gjessing HK, Tell GS, Plasma total homocysteine level and bone mineral density, *Arch Intern Med*, 2006; 166(1): 88-94.
38. Le Boff MS, Narweker R, La Croix A, Wu LL, Jackson R, Lee J, Baner C, Cauley J, Kooperberg C, Lewis C, Thomas AM, Cummings S, Homocysteine levels and risk of hip fractures in postmenopausal women, *J Clin Endocr Met*, 2009 ; 94(4) : 1207-1213.
39. Yao Y, Yao SL, Yao SS, Yao G, Lou W, Prevalence of vitamin B12 deficiency among geriatric outpatients, *J Fam Pract*, 1992; 35(5): 524-528.
40. Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Matthews LM, Grisby J, Kaye K, Lindenbaum J, Stabler SP, High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients, *J Amer Geriatr Soc*, 1992; 40(12): 1197-1204.
41. Stabler SP, Lindenbaum J, Allen RH, Vitamin B12 deficiency in the elderly: current dilemmas, *Amer J Clin Nutr*, 1997; 66(4): 741-749.
42. Rajan S, Wallace JI, Beresford SA, Brodtkin KI, Allen RA, Stabler SP, Screening for cobalamin deficiency in geriatric outpatients: prevalence and influence of synthetic cobalamin intake, *J Amer Geriatr Soc*, 2002; 50(4): 624-630.
43. Allen LH, How common is vitamin B12 deficiency?, *Amer J Clin Nutr*, 2009; 89(2): 693S-696S
44. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group, Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34), *Lancet*, 1998; 352: 854-865.
45. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Schwerin R, Zinman B, Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes : A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement of ADA and EASD, *Clinical Diabetes*, 2009; 27(1): 4-16.
46. Haan MN, Miller JW, Aiello AE, Whitmer RA, Jagust WJ, Mungas DM, Allen LH, Green R, Homocysteine, B vitamins and the incidence of dementia and cognitive impairment: results from the Sacramento Area Latino Study on ageing, *Amer J Clin Nutr*, 2007; 85(2): 511-517.
47. Tolmunen T, Hintikka J, Voutilainen S, Ruusunen A, Alfthan G, Nyyssonen K, Viinamaki H, Kaplan GA, Salonen JT, Association between depressive symptoms and serum concentration of homocysteine in men: a population study, *Amer J Clin Nutr*, 2004; 80(6): 1574-1578.
48. Whalley LJ, Staff RT, Murray AD, Duthie SJ, Collins AR, Lemmon HA, Star JM, Deary IJ, Plasma vitamin C, cholesterol and homocysteine are associated with grey matter volume determined by MRI in non-demented old people, *Neurosci Lett*, 2003; 341(3): 173-176.
49. Elshorbagy AN, Nurk E, Gjesdal CG, Tell GS, Ueland PM, Nygard O, Tverdal A, Vollset SE, Refsum H, Homocysteine, cysteine and body composition in the Hordland Homocystein Study: does cysteine link amino acid and lipid metabolism?, *Amer J Clin Nutr*, 2008; 88(3): 738-746.
50. Obeid R, Schorr H, Eckert R, Herrmann W, Vitamin B12 status in the elderly as judged by available biochemical markers, *Clinical Chemistry*, 2004; 50: 238-241.
51. Ganji V, Kafai MR, Demographic, lifestyle and health characteristics and serum B vitamin status are determinants of plasma total homocysteine concentration in the post-folic acid fortification period 1999-2004, *J Nutrition*, 2009; 139(2), 345-352.
52. Olszewski AJ, Szostak WB, Bialkow M, Rudnicki S, McCully KS, Reduction of plasma lipid and homocysteine levels by pyridoxine, folate, cobalamin, choline, riboflavin and troxerutin in atherosclerosis, *Atherosclerosis*, 1989; 75(1): 1-6.
53. Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Vitamin W12 status of patients on long term metformin therapy, *BMJ*, 1971; 23: 685-687.
54. Bell DS, Metformin-induced vitamin B12 deficiency presenting as a peripheral neuropathy, *South Med J*, 2010, Feb.3 (Epub ahead of print).
55. Wellfelle MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Van der Burg BB, Stehouwer CD, Effects of short-term treatment with metformin on serum concentration of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial, *J Intern Med*, 2004; 254(5): 455-463.
56. Hermann LS, Nilsson B, Wettre S, Vitamin B12 status of patients treated with metformin : a cross sectional cohort study, *Brit J Diabetes and Vascul Disease*, 2004; 4(6): 401-406.
57. Pongchaidecha M, Srikusalanukul V, Chattanannon A, Tanjariyaporn S, Effect of metformin on plasma homocysteine, vitamin B12 and folic acid : a cross-sectional study in patients with type 2 diabetes mellitus, *J Med Assoc Thai*, 2004; 87(7): 780-787.
58. Pflipsen MC, Oh RC, Saguil A, Seehusen DA, Topolski R, The prevalence of vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes : a cross-sectional study, *J Amer Board Fam Med*, 2009; 22: 528-534.

59. **Ting RZ-W, Szeto CC, Chan MH-M, Ma KK, Chow KM**, Risk factors of vitamin B12 deficiency in patients receiving metformin, *Arch Intern Med*, 2006; 166: 1975-1979.

60. **Wile DJ, Toth C**, Association of metformin, elevated homocysteine and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy, *Diabetes Care*, 2010; 33(1): 156-161.

61. **Varughese GI, Scapello**, Metformin and vitamin B12 deficiency : the role of H2-receptor antagonists and proton pump inhibitors, *Age and Ageing*, 2007; 36(1): 110-111.

62. **Ma RCW, Chow CC, Tong PCY, Chan JCN, Cockram CS**, To:Holstein A,Stumvoll M(2005),Contraindications can damage your health - is metformin a case in point?, *Diabetologia*, 2006; 49: 1127-1128.

63. **Chin A-V, Robinson DJ, O`Connell H, Hamilton F, Bruce I, Coen R, Walsh B, Coakley D, Molloy A, Scott J, Lawler BA, Cunningham CJ**, Vascular biomarkers of cognitive performance in a community-based elderly population: the Dublin Healthy Ageing Study, *Age and Ageing*, 2008; 37(5): 559-564.

64. **Folstein M, Liu T, Peter I, Buel J, Arsenault L, Scott T, Qiu WW**, The homocysteine hypothesis of depression, *Amer J Psychiatry*, 2007; 164: 861-867.

65. **Setola E, Monti LD, Galluco E, Palloshi A, Fragasso G, Paroni R, Magni F, Sandoli EP, Lucotti P, Costa S, Fermo I, Galli-Kienle M, Origgi A, Margonato A, Piatti P**, Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B12 therapy in patients with metabolic syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia, *Europ J Endocrinol*, 2004; 151(4): 483-489.

66. **Sahin M, Tutuncu NB, Ertugrul D, Tanaci N, Guvenier ND**, Effects of metformin or rosiglitazone on serum concentration of homocysteine, folate and vitamin B12 in patients with type 2 diabetes mellitus, *J. Diabetes Complications*, 2007; 21(2): 118-123.

67. **Eusen SJPM, De Groot LCPG, Clarve P, Schneede J, Ueland PM, Hoefnagels WHL, van Staveren WA**, Oral cyanocobalamin supplementation in older people with vitamin B12 deficiency, *Arch Intern Med*, 2005; 165(10): 1167-1172

68. **Saperstein DS, Wolfe GI, Gronseth GS, Nation SP, Herbelin LL, Bryan WW, Barolin RJ**, Challenges in the identification cobalamin-deficiency polyneuropathy, *Arch Neurology*, 2003; 60(3), 1296-1301.

#### АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Проф. Драгомир Коев  
Военномедицинска Академия, Многопрофилна Болница за Активно Лечение, Варна

#### ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Prof. Dragomir Koev, MD  
Military Medical Academy,  
General Hospital Varna

## Статини и остеопороза

Людмила Владимирова-Китова<sup>1</sup>, Федея Николов<sup>1</sup>, Жанет Минева<sup>2</sup>, Мария Орбецова<sup>2</sup>

1 Клиника по Кардиология

2 Клиника по Ендокринология, Медицински Университет, Пловдив

## Statins and Osteoporosis

Lyudmila Vladimirova-Kitova<sup>1</sup>, Fedya Nikolov<sup>1</sup>, Ganet Mineva<sup>2</sup>, Maria Orbetzova<sup>2</sup>

1 Clinic of Cardiology

2 Clinic of Endocrinology, Medical University, Plovdiv

### Резюме

В литературата се натрупват все повече данни, показващи, че статините притежават ефекти, които не са свързани с основното им липидно понижаващо действие, т.е. имат плейотропни ефекти. Последните включват повлияване на различни болестни състояния между които и остеопорозата. Счита се, че статините притежават костно-протективен ефект посредством техните противовъзпалителни ефекти. Доказано е въздействие на статините върху група от растежни фактори, които се характеризират със способността да индуцират образуването на костна тъкан и хрущял. Има проспективни проучвания с приложение на статини, водещи до повишаване на серумните нива на

### Abstract

There is an increased body of evidence in the medical literature concerning the pleiotropic effects of statins – e.g. effects beyond the lipid lowering actions of these drugs. The later include improvement of different pathological conditions including osteoporosis. It is believed that statins have a bone protective effect through their anti-inflammatory actions. The impact of statins on a group of growth factors (BMPs), which are characterized by the ability to induce formation of bone and cartilage has been proven. There are some prospective studies with statin treatment that lead to increase in serum levels of osteocalcin and Vitamin D. Statin use in patients with type 2 diabetes and in postmenopausal women has positive impact on bone mineral density (BMD).

---

остеокалцин и витамин Д. Терапията със статини при мъже със захарен диабет и при постменопаузални жени има положителни ефекти върху костната минерална плътност. Два мета-анализа показват положителни ефекти на статините върху плътността на костната маса и риска от фрактури, а някои проучвания посочват такива и по отношение на зарастването на фрактурите. За разлика от тези данни, проучването LIPID не подкрепя хипотезата, че статините имат клинично значими ефекти върху фрактурния риск. Ролята на статините в развитието на скелетните заболявания трябва да бъде проследена в целенасочени проучвания, които адекватно да демонстрират ефектите на различните представители на този клас медикаменти върху КМП, биохимичните маркери за костен обмен и активност на костните клетки и фрактурния риск.

---

**КЛЮЧОВИ ДУМИ:** статини – остеопороза – костна минерална плътност – фрактурен риск

---

Остеопорозата е състояние, което се характеризира с намаляване на здравината на костната тъкан. Наблюдава се най-често сред постменопаузални жени, но също така и сред представители на двата пола, които имат придружаващи заболявания и рискови фактори, свързани с деминерализацията на костното вещество. Загубата на костна тъкан е свързана и с нарушаването на микроархитектониката на костта. Счита се, че това състояние обхваща повече от 10 млн. души само в USA. Свързва се с висок риск от фрактури на прешлените, както и фрактури на бедрената и други кости. Профилактиката и лечението на заболяването, както и на неговите усложнения, са свързани с високи раз-

Two meta-analyses showed beneficial effects of statins on BMD and fracture risk. In addition some studies indicated such effects on fracture healing. In contrast to these data, LIPID study did not support the hypothesis that statins have clinically important effects on fracture risk. The role of statins in the development of skeletal disorders should be followed-up in purposeful studies that could adequately evaluate the effects of various representatives of this class of drugs on BMD, biochemical markers of bone metabolism and bone cells activity, and fracture risk.

---

**KEY WORDS:** statins – osteoporosis – bone mineral density – fracture risk

---

ходи и значителна смъртност. Именно поради тези факти остеопорозата се превръща в социално-значимо заболяване, също както атеросклерозата (1).

Остеопорозата и атеросклерозата са две мултифакторни заболявания, свързани със значителни последствия за качеството на живот на хората. В научната литература се повдигна въпросът дали тези заболявания са независими едно от друго. Някои автори считат, че атеросклерозата и остеопорозата са асоциирани с общи рискови фактори и патофизиологични механизми, които са модулирани от ключовите проинфламаторни цитокини, и вследствие на това могат да бъдат повлияни от използването на подходящи терапевтични

стратегии. Част от тези молекулни механизми включват участие на съдовата и костната минерализация, естрогеновия дефицит, действието на паратиреоидния хормон, хомоцистеина, окислените липидни продукти, процеса на възпаление, както и витамините Д и К. (1,4,7,9,13).

От въвеждането на първия статин (правастатин) през 1987 г., използван като липидопонижаващ медикамент, се натрупаха данни, които сочат, че статините притежават ефекти, които не са свързани с основното им действие върху липидите, т.е. имат плейотропни ефекти (9). Последните включват повлияване на различни болестни състояния като неоплазми, остеопороза, болест на Алцхаймер, камерни аритмии, предсърдно мъждене, хронична обструктивна белодробна болест, сепсис и др (9).

### **Действие на статините върху костната тъкан**

Терапията на остеопорозата към момента се ограничава до превенция и забавяне на костната загуба, но не и до подпомагане на костното формиране (3). Скорошно откритие за възможността статините да представляват костно анаболни медикаменти предизвика голям интерес сред изследователите. Отдавайки значение на хиперлипидемията в патогенезата на остеопорозата, ефектите на тези медикаменти могат да бъдат свързани отчасти с тяхното липидопонижаващо действие (2,9).

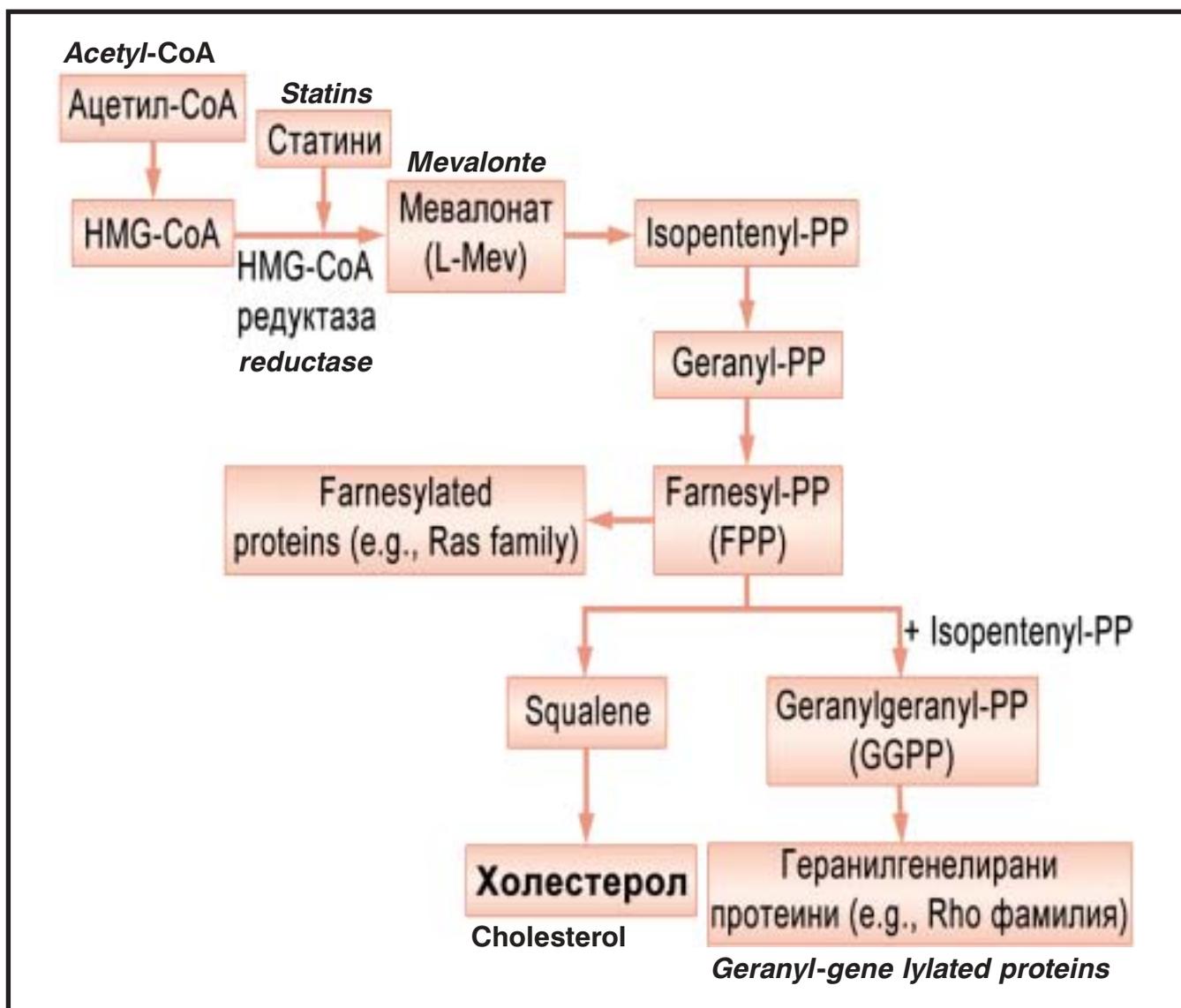
Плейотропните ефекти на статините се проявяват с повлияване на костната тъкан по други механизми (9). Един от тях е свързан с въздействие върху група от растежни фактори (BMPs) (2). Това са група от растежни фактори, които се характеризират със способността да индуцират образуването на костна тъкан и хрущял. Счита се, че статините повишават нивото на BMP-2 чрез активиране на промоторния му регион, повишаване експресията на матричната BMP РНК и от там –

индуциране на костно Наблюдавано е и индуциране на експресията на mPNC на VEGF от симвастатин (6,8,10).

Ефектът на статините върху инхибирането на синтеза на мевалоната води и до намаляване на синтеза на важни междинни метаболити, като изопреноидите фарнезил пирофосфат и геранил-геранил пирофосфат. Тези метаболити вземат участие в посттранслационната пренилация на различни белтъци, които повлияват множество клетъчни процеси, включително клетъчното сигнализиране, пролиферация и диференциация. Посочените белтъци са необходими за остеокластната функция – някои проучвания потвърждават, че статините инхибират остеокластната функция *in vitro* (17).

Биофосфонатите демонстрират своята остеокластна инхибиция в етап, намиращ се след този на действието на статините. Те инхибират фарнезилпирофосфат синтетазата, ензим, който активира образуването на фарнезилпирофосфата и геранил-геранил пирофосфата, представляващи агенти, необходими за активация на остеокластите. Статините, подтискайки хидроксиметиларгинин-КоА редуктазата в по-начален етап от метаболитния път, може да имат антирезорбтивни ефекти, подобни на тези на бифосфонатите (10-12,14) (Фигура 1).

В този аспект проспективно проучване със симвастатин е асоциирано с повишаване на серумните остеокалцинови нива. Друго проучване установява повишаване нивата на витамин Д при терапия с аторвастатин. Счита се също, че статините притежават костно-протективен ефект посредством техните противовъзпалителни ефекти. Извършени са многобройни *in vitro* и *in vivo* проучвания с животински модели относно ефекта на статините върху костната тъкан. Те потвърждават, че симвастатин стимулира остеобластогенезата чрез повишаване на остеокалцин, BMP-2 и остеооптин в дозозависима степен (15).



**Фигура 1.** Различни етапи на остеокластната инхибиция на статини и бифосфонати  
**Figure 1.** Levels of osteoclastic inhibition by statins and his bisphosphonaty.

### Видово специфични механизми на действие на статините

Едно интересно проучване показва, че ефектът на статините върху BMP-2 не е равностоен при всички представители на групата. Така, ловастатин увеличава транскрипцията на BMP-2 по начин подобен на симвастатин, мевастатин и аторвастатин. Церивастатинът е 10 до 100 пъти по-моцнен в активацията на BMP-2

промотъра, отколкото по-горе изброените статини. Вероятно тези ефекти зависят от части от фармакокинетичните особености на отделните статини (напр. тяхната липофилност). Установено е, че симвастатин, приложен локално чрез инжектиране около фрактурното място, стимулира костното заздравяване - т.е локалното приложение изглежда има по-добър ефект върху костната биология в сравнение с оралното приложение. Откри-

тието на костно специфични статини или на костно насочена добавка предлага голям потенциал в лечението на остеопорозата.

Друг възможен момент за различното действие на стаините е генният полиморфизъм. Например, наблюдаван е различен отговор към аторвастатин според генотипа на лептиновия рецептор. Пациенти с LYS/LYS генотип (хомозиготни) показват повишена костна минерална плътност (КМП) след употреба на аторвастатин при пациенти с коронарен синдром, докато при пациентите с генотип Lys/Asn това не се наблюдава. Също така е намерено, че аторвастатин повишава лумбалната КМП при пациенти с G/G генотип на TNF $\alpha$ -308 G/A (12).

### **Терапевтични възможности на стаините по отношение на костната минерална плътност**

Chung и съавтори съобщават, че терапията със статини при мъже със захарен диабет има положителни ефекти върху КМП в сравнение с контроли, не получаващи статини. Edwards и съавтори съобщават, че при 41 постменопаузауни жени на терапия със статини КМП е почти 10% по висока в сравнение със 100 контроли. Meier и съавтори подобно проучване намират по-нисък относителен риск от фрактури отново в полза на статиновата група (15,17).

Всички изброени положителни ефекти на стаините, обаче са били наблюдавани основно при лабораторни изследвания и в отделни проучвания, които не са достатъчни за тяхното безрезервно приемане като медикаменти за профилактика и лечение на остеопорозата. Не е било провеждано клинично проучване, което да има за цел да наблюдава директните ефекти на стаините върху заздравяването на фрактурите. Има публикувани проучвания, касаещи КМП и риска от фрактури, които обаче често са с противоречиви резултати. Налице са противоречащи изводи от

проучвания, изследващи анти-резорбтивните ефекти на стаините.

Данните от контролираното рандомизирано двойно слъпо проучване LIPID не предоставят доказателства, че лекуваните с правастатин пациенти имат намалена честота на фрактурите (16). LIPID сравнява действието на правастатин 40 mg спрямо плацебо за период от 6 години по отношение на първичните крайни изходи смъртност от исхемична болест на сърцето. Скелетните фрактури са странично наблюдавани резултати в хода на проучването. Анализът не показва разлики между пациентите, лекувани с правастатин, и контролите по отношение на честотата на възникналите фрактури. Данните от LIPID не подкрепят хипотезата, че стаините имат клинично значими ефекти върху фрактурния риск (16).

В тази връзка, обаче, два мета-анализа показват положителни ефекти на стаините върху плътността на костната маса и риска от фрактури. Въпреки, че в много проучвания тези положителни ефекти не са наблюдавани и даже са отхвърлени, демонстрираните доказателства в полза на стаините за подобряване на КМП и намаляване риска от фрактури не могат да бъдат пренебрегнати.

Редица проучвания са показали, че стаините могат да имат положителен ефект и върху зарастването на фрактури, следователно трябва да се имат в предвид като медикаменти, подлежащи на целенасочени проучвания в клинични условия.

В заключение, към момента, стаините не могат да бъдат препоръчани за употреба извън тяхната липидопонижаваща функция, но бъдещите проучвания може би ще променят това становище. Ролята на стаините в развитието на скелетните заболявания трябва да бъде проследена в рандомизирани контролирани проучвания, които адекватно да демонстрират ефектите на различните представители на този клас медикаменти върху КМП, биохимичните маркери за костен обмен и ак-

тивност на костните клетки и честотата на доказаните чрез образни методи фрактури. Взаимовръзката между механизмите за възникване на атеросклерозата и остеопорозата вероятно ще повлияе върху преразглеждане на фармакологичните възможности за превенция и лечение на тези две широко разпространени и социално значими заболявания.

## КНИГОПИС/REFERENCES

1. **Anagnostis, P., A. Karagiannis, A. Kakafika, K. Tziomalos, V. Athyros D. P.** Mikhailidis Atherosclerosis and osteoporosis: age-dependent degenerative processes or related entities? *Osteoporos Int*, 2009, 20:197-207;
2. **Beri, A, N. Sural, S. Mahajan.** Non-Atheroprotective Effects of Statins. A Systematic Review. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2009; 9 (6): 361-370;
3. **Curtis, J.R., J.Xi, AWestfall, H. Cheng, K.Lyles, K. Saag, E. Delzell.** The Example of Bisphosphonates for Osteoporosis. *Med Care*, 2009; 47: 334-341;
4. **Davignon J.** The cardioprotective effects of statins. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:27-35.
5. **Giampietro, P., C. McCarty, B. Mukesh, F. McKiernan, D. Wilson, A. Shuldiner, J. Liu, J. LeVasseur, L. Ivacic, T. Kitchner, N. Ghebranious.** The role of cigarette smoking and statins in the development of postmenopausal osteoporosis: a pilot study utilizing the Marshfield Clinic Personalized Medicine Cohort. *Osteoporos Int*, 2010, 21: 467-477;
6. **Goldstein, R.** Bone Modifiers and the Quest to Slow Progression of Aortic Stenosis *Am J Cardiol*, 2009; 104: 125-127;
7. **Libby P, Paul M. Ridker, Attilio Maseri** Inflammation and Atherosclerosis *Circulation*. 2002; 105: 1135.
8. **Matznoa, S., T. Nishiguchia, T. Akiyoshic.** Synergistic action of statins and nitrogen-containing bisphosphonates in the development to rhabdomyolysis in rat skeletal myoblasts *JPP*, 2009, 61: 781-788;
9. **Menta JL.** Statins: Understanding clinical use. *Saunders*. 2004; 163-187.

10. **Nanke, Y., M. Kawamoto, T. Yago, J. Chiba, H. Yamanaka, S. Kotake.** Geranylgeranylacetone, a non-toxic inducer of heat shock protein, induces cell death in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*, 2009, 19: 379-383;

11. **Nikolaos, P., E. Kadoglou, N. Sailer, A. Moutzouoglou, A. Kapelouzou, T. Gerasimidis, C. Liapis.** Aggressive lipid-lowering is more effective than moderate lipid-lowering treatment in carotid plaque stabilization. *J Vasc Surg*, 2010; 51:114-121;

12. **Pérez-Castrillón, J., G. Vegaa, L. Abad, A. Sanz-Cantalapiedraa, M. Gonzalez Sagredo, D. de Luisb, A. Duenas-Laitac.** Effect of the TNF-308 G/A Polymorphism on the Changes Produced by Atorvastatin in Bone Mineral Density in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Ann Nutr Metab*, 2008; 53: 117-121;

13. **Ross R.** Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 14: 340 (2): 115-126.

14. **Samson, R. H.** The Role of Statin Drugs in the Management of the Peripheral Vascular Patient. *Vasc Endovascular Surg*, 2008; 42; 352-366;

15. **Tang, Q. O., G. T. Tran, Z. Gamie, S. Graham, E. Tzialogiannis, E. Tsiridis, T. Linder, E. Tsiridis.** Statins: under investigation for increasing bone mineral density and augmenting fracture healing. *Expert Opin Investig Drugs*, 2008, 17(10):1435-1463;

16. **The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group** Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med*. 1998; 5; 339 (19): 1349-1357.

17. **Uyar, Y., Y. Baytura, U. Inceboza, B. Cetinkaya, G. Gumuser, K. Ozbilginc** Comparative effects of riserodronate, atorvastatin, estrogen and SERMs on bone mass and strength in ovariectomized rats. *Maturitas*, 2009, 63: 261-267;

### АДРЕС ЗА КОРЕСПОНДЕНЦИЯ

Д-р Людмила Владимирова-Китова, гм  
Клиника по Кардиология  
Медицински Университет – Пловдив  
Бул. „Пещерско шосе“ 66, 4000, Пловдив,  
България  
e-mail: kitov@vip.bg

### ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

Dr. Lyudmila Vladimirova-Kitova  
Clinic of Cardiology, Medical University of Plovdiv,  
66 Peshtersko Shose Blvd. 4000 Plovdiv, Bulgaria  
e-mail: kitov@vip.bg

**24 Feb 2011 – 27 Feb 2011**

International conference on prehypertension and cardio metabolic syndrome Vienna, Austria

**22 March – 23 March 2011**

1<sup>st</sup> IOF-ESCEO Pre-Clinical Symposium

**23 March – 26 March 2011**

European Congress on Osteoporosis and Osteoarthritis ECCEO11-IOF Valencia, Spain

**06 Apr 2011 – 09 Apr 2011**

4<sup>th</sup> International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome Madrid, Spain

**06 Apr 2011 – 10 Apr 2011**

Clinical Endocrinology 2011 Boston, Massachusetts, USA

**13 Apr 2011 – 17 Apr 2011**

AACE 20<sup>th</sup> Annual Meeting and Clinical Congress San Diego, USA

**30 Apr 2011 – 04 May 2011**

13<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology Rotterdam, The Netherlands

**07 May 2011 – 10 May 2011**

3<sup>rd</sup> Joint Meeting of the European Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society Athens, Greece *Contact: Amanda Sherwood*

**25 May 2011 – 28 May 2011**

18<sup>th</sup> European Congress on Obesity Istanbul, Turkey

**10 Sep 2011 – 14 Sep 2011**

35<sup>th</sup> annual meeting of the European Thyroid Association Krakow, Poland

**12 Sep 2011 – 16 Sep 2011**

47<sup>th</sup> Annual Meeting of EASD Lisbon, Portugal

**29 Sep 2011 – 01 Oct 2011**

4<sup>th</sup> Central European Congress on Osteoporosis and Osteoarthritis Krakow, Poland

**26 October 2011 – 30 October 2011**

81<sup>st</sup> Annual Meeting of the American Thyroid Association Palm Springs, USA

## УКАЗАНИЯ ЗА АВТОРИТЕ/ INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

### Адрес на редакционната колегия:

Клиничен център – МБАЛ по ендокринология, „Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431 София;  
Проф. Б. Лозанов  
тел. (02) 985 6001; факс (02) 987 4145; Мобилен: 0888/680 343 (проф. Лозанов),  
E-mail: bojann\_lozanov@hotmail.com

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

### Editorial Board Address for Correspondence:

Clinical Center of Endocrinology,  
2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;  
  
Prof. B. Lozanov, Editor in Chief  
Tel (+0359) 2-895 6001; Fax C 2-987 4145;  
Mobil (+0359) 888 680 343 Lozanov,  
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. Списаниемто 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 поместват 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 вътре в текста е препоръчително да бъдат отбелязвани само с номерата им в книгосписа.

#### **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 и 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). This 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 оставя 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 фамилията на първия автор, след това инициалите му; всички останали автори се посочват с инициалите, последва ни от фамилията на автора (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**

Clinical Center of Endocrinology,  
2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;  
Prof. B. Lozanov, Editor in Chief  
Tel (+0359) 2-895 6001; Fax C 2-987 4145;  
Mobil (+0359) 888 680 343 Lozanov,  
E-mail: bojann\_lozanov@hotmail.com

# 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

*Научен секретар*  
Доц. 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

*Scientific secretary*  
Assoc. Prof. R. KOVATCEVA

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

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

- SCOPUS Elsevier Bibliographic Databases, Netherlands
- National Library of Medicine, Bethesda
- The Librarian Royal Society of Medicine, London
- WHO Health Organization Library, Geneva
- Academic National de medicine Bibliotheque, Paris
- Canadian Institute for Scientific and Technical Information, Ottawa
- ВИНТИ/РАН-МИННАУКЕ РОССИИ, Москва
- ДЕРЖАВНА НАУКОВА МЕДИЧНА БИБЛИОТЕКА, Киев

Списание „Ендокринология“ се индексира в следните база-данни/  
The journal „Endocrinologia“ is indexed by:

- SCOPUS Elsevier Bibliographic Databases (from 2001)
- EMBASE
- Bulgarian Citation Index (from 1996)