



ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

Списанието се индексира от/The journal is indexed by:

- Elsevier Bibliographic Databases, (SCOPUS) Netherlands
- EMBASE
- Bulgarian Citation Index

Editorial Board/Редакционна колегия и съвет

Editor-in-Chief: Maria ORBETZOVA

Гл. редактор: Мария ОРБЕЦОВА

Honorary Editor-in-chief Bojan LOZANOV

Почетен главен редактор Боян ЛОЗАНОВ

Anna-Maria Borissova/

Анна-Мария Борисова

Vladimir Christov/Владимир Христов

Georgi Kirilov/Георги Кирилов

Dragomir Koev/Драгомир Коев

Julieta Gerenova/Жулиета Геренова

Zdravko Kamenov/Здравко Каменов

Ivan Tzinlikov/Иван Цинликов

Iliana Atanassova/Илиана Атанасова

Kalinka Koprivarova/Калинка Коприварова

Kiril Hristozov/Кирил Христозов

Lidia Koeva/Лидия Коева

Malina Petkova/Малина Петкова

Mihail Boyanov/Михаил Боянов

Roussanka Kovatcheva/Русанка Ковачева

Sabina Zacharieva/Сабина Захариева

Philip Kumanov/Филип Куманов

Tsvetalina Tankova/Цветалина Танкова

International Scientific Board/ Международен научен съвет

A. Bulatov (Moscow) / А. Булатов (Москва)

M. Coculescu (Bucharest) / М. Кокулеско (Букурещ)

G. Erdogan (Ankara) / Г. Ердоган (Анкара)

J. Fovenyi (Budapest) / Й. Фьовени (Будапеща)

A. Isidori (Rome) / А. Изидори (Рим)

B. Karanfilski (Scopie) / Б. Каранфилски (Скопие)

P. Kendall-Taylor (Newcastle upon Tyne) / П. Кендъл-Тейлър (Нюкасл на Тайн)

G. Krassas (Thessaloniki) / Г. Красас (Солун)

P. Lauberg (Denmark) / П. Лауберг (Дания)

J. H. Lazarus (Cardiff) / Дж. Лазарус (Кардиф)

E. Nieschlag (Munster) / Е. Нишлаг (Мюнстер)

S. Refetoff (Chicago) / С. Рефетоф (Чикаго)

M. Serrano Rios (Madrid) / М. Серрано Риос (Мадрид)

Съдържание**Обзори**

- *Баздарска, Юлия Р., Рибаров, Рачо С.*
Предимства на помпената терапия при тип 1 диабет в детска и юношеска възраст 3
- *Кирилов, Георги Г.*
Прогрес в ендокринологията: мас спектрометричният анализ открива нова ера в ендокринната диагностика и променя представите ни за някои ендокринни заболявания 8
- *Бояджиева, Мария В.*
Показатели за гликемичен контрол по време на бременност 15

Оригинални статии

- *Няголова, Пресияна В., Колева, Даниела Ив., Митков, Митко Д., Орбецова, Мария М.*
Нива на дехидроепиандростерон-сулфат (DHEA-S) при жени със синдром на поликистозни яйчници 21
- *Левтерова, Боряна А., Левтеров, Георги Е., Димитрова, Донка, Д.*
Зависимо от диабета качество на живот 34
- *Бодурска, Татяна Т., Тодорова, Катя Н., Конова, Емилиана И., Попов, Йордан Д.*
Динамични промени в нивото на ТСХ при жени с аутоимунни тиреоидни заболявания подлежащи на контролирана овариална хиперстимулация 45

Указания за авторите

54

Journal ENDOCRINOLOGIA volume XXI, number 1, 2016**Contents****Reviews**

- *Bazdarska, Yuliya R., Ribarov, Racho S.*
Benefits of Insulin Pump Therapy in Diabetes Type 1 Among Children and Adolescents 3
- *Kirilov, Georgi G.*
Progress in Endocrinology: Mass Spectrometric Analysis Opens a New Era in Endocrine Diagnostics and Changes our Understanding of Some Endocrine Disorders 8
- *Boyadzhieva, Maria V.*
Indicators for Glycemic Control During Pregnancy 15

Original articles

- *Nyagolova, Presiyana V., Koleva, Daniela Iv., Mitkov, Mitko D., Orbetzova, Maria M.*
Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEA-S) Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) 27
- *Levterova, Boryana A., Levterov, Georgi E., Dimitrova, Donka D.*
Diabetes Dependent Quality of Life 39
- *Bodurska, Tatyana T., Todorova, Katia N., Konova, Emiliana I., Popov, Yordan D.*
Dynamic Changes in TSH Levels in Women with Autoimmune Thyroid Diseases Undergoing Controlled Ovarian Hyperstimulation 49

Instructions to authors

54



Предимства на помпената терапия при тип 1 диабет в детска и юношеска възраст

Баздарска, Юлия Р.^{1,2}, Рибаров, Рачо С.¹

¹ Детски Диабетен Център, МБАЛ „Св. Марина“, Варна

² Катедра по Педиатрия и Медицинска Генетика, Медицински Университет, Варна

Benefits of Insulin Pump Therapy in Diabetes Type 1 Among Children and Adolescents

Bazdarska, Yuliya R.^{1,2}, Ribarov, Racho S.¹

¹ Children's Diabetes Center, University Hospital „St. Marina“ – Varna

² Department of Pediatrics and Medical Genetics, Medical University – Varna

Резюме

В последните две десетилетия непрекъснатата подкожна инсулинова инфузия (инсулинова помпена терапия) се превърна в **златен стандарт**, за постигането на оптимален контрол и подобряване качеството на живот на пациенти с тип 1 захарен диабет в детската и юношеската възраст и техните семейства.

Целта на тази статия е да обобщи и подчертае предимствата на помпената терапия и бъдещите тенденции в терапията на тип 1 захарен диабет в детска и юношеска възраст.

Предимствата на помпената терапия са свързани с индивидуалния подход към нуждите от инсулин и начина на живот на пациентите.

Непрекъснатата подкожна инсулинова инфузия постига по-добър метаболитен контрол спрямо базално-болусния режим с писалки при пациенти с тип 1 захарен диабет. Резултатите от различни проучвания показват редукция на гликирания хемоглобин, намаляване на времето, прекарано в състояние на хипогликемия и епизодите на остри усложнения, изискващи хоспитализация. Непрекъснатата подкожна инсулинова инфузия осигурява по-голяма флексибилност в хранителния режим и ежедневието на пациентите, активното участие и по-голяма отговорност на пациента към контрола на диабета. С това тя е залог за намаляване на хроничните усложнения и инвалидизация в бъдеще.

Ключови думи:

непрекъсната подкожна инсулинова инфузия, тип 1 захарен диабет, HbA_{1c}, детска възраст

Abstract

In the last two decades, continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) became the gold standard for optimal control and improved quality of life in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM) and their families.

The aim of this review paper is to summarize and highlight the benefits of insulin pump therapy (IPT) and future trends in the treatment of T1D in children and adolescents.

The benefits of pump therapy are associated with the individualized approach to insulin regimens and lifestyle of patients. CSII achieved better metabolic control compared to basal-bolus regimen with pens in patients with T1D. The results of various studies show reduction of HbA_{1c}, reducing the time spent in a state of hypoglycemia and episodes of acute complications requiring hospitalization. Continuous subcutaneous insulin infusion provides greater flexibility in the diet and daily routine of patients, active participation and greater responsibility of the patient towards the diabetes control. In that way it provides a reduction of future chronic complications and disability.

Key words:

continuous subcutaneous insulin infusion, type 1 diabetes, HbA_{1c}, childhood

Тип 1 захарен диабет (тип 1 ЗД) е метаболитно заболяване с аутоимунна патогенеза, характеризиращо се с β -клетъчна деструкция, водеща до абсолютен инсулинов дефицит и впоследствие до хронична хипергликемия. Той представлява над 90% от диабета в детската и зрялата млада възраст. Разпространението на тип 1 ЗД показва големи различия между страните, вътре в тях и между различните етнически групи. От около 500 000 деца в световен мащаб с тип 1 ЗД 26% са от Европа, 22% от САЩ и Карибския регион. В последните години се наблюдава тенденция за увеличаване на честотата на тип 1 ЗД в развиващите се страни и възрастовата група под 5 години (1). Във всичките си разновидности и засегнати възрастови групи, обаче, диабетът се изяснява със сходно начало: повишен прием на течности, особено сладки, повишен обем на урината, умора и вялост, постепенна загуба или поне прекратяване надаването на телло. Допълнителни прояви, по-чести при деца, са промени в апетита – както увеличение, така и намаление, нощно и дневно напикаване, остри гнойни инфекции, замъглено зрение (2). Всички форми на захарен диабет за момента не могат да се излекуват, но възможностите за адекватен контрол в ежедневието непрекъснато се увеличават. Най-развитата и успешна терапия за тип 1 ЗД е постоянната подкожна инфузия на инсулин – т. нар. помпена терапия. В настоящия обзор си поставяме за цел да покажем какви са нейните предимства и защо все повече се разпространява, както и какви са реалистичните надежди за нейното по-нататъшно развитие.

Помпената терапия представлява **непрекъснатата подкожна инфузия на бързодействащ аналогов инсулин**, наподобяваща максимално физиологичната инсулинова секреция. Инсулиновите помпи доставят инсулина по два начина: като базален - непрекъснат, поддържащ кръвната глюкоза (КГ) между храненията и през нощта, и болусен, който покрива нуждите за хранене или коригира настъпил инсулинов недостиг. Подаването на инсулина е много прецизно и при повечето съществуват уреди (помпи) може да е със стъпка от едва 0,025 UI/час за базалния инсулин и от 0,1 UI за болусите, като по този начин се осигуряват индивидуалните нужди на всеки пациент.

Помпената терапия е изпробвана още в края на 70-те и началото на 80-те години на ХХ век. Освен техническите несъвършенства като голямо телло, често „запушване“ на системата за вливане, липса на сигнал при запушване с последващи кетоацидоза (3), началният неуспех на помпената терапия се определя от вида на използваните инсулини. Дългият полуживот и особено

отложеният пик на серумна концентрация при конвенционалните рекомбинантни човешки бързодействащи инсулини ги прави неподходящи за този вид терапия. Използването само на бързодействащи аналози при помпено лечение понастоящем намалява риска от непредвидимите и нежелани реакции на дългодействащите аналози и конвенционалната терапия с човешки и NPH инсулини. Така те водят до редукция на нощните хипогликемии (RR=0,67; 95% CI 0,54-0,83) (4); по-ниски стойности на постпрандиалните глюкозни нива и по-малка денонощна вариабилност на кръвната глюкоза. От гледна точка на намаляване на болката, основно предимство на помпите е, че сетът се сменя на 72 часа (3 дни), ако няма проблем, с което се предотвратява психологическата травма от многократното убождане с игли. Така се спестяват между 12 и 15 убождания за поставяне на инсулин (инсулинови инжекции). Проучване показва, че при пациенти с тип 1 ЗД по-често се наблюдава фобия от игли, която влошава метаболитния контрол и броя измервания на КГ (5).

Технологията на подаване на инсулина чрез постоянна подкожна инфузия осигурява по-добър и по-стабилен метаболитен контрол, което е от изключително значение за превенция на усложненията – остри (хипогликемия и ДКА) и хронични (микровакуларни – ретинопатия, нефропатия, невропатия и макровакуларни – съдова болест), и за подобряване на качеството на живот. Множество рандомизирани ретроспективни контролирани проучвания доказват по-голямо редуциране на HbA_{1c} при непрекъснатата инсулинова подкожна инфузия спрямо многократни дневни инжекции (МДИ). Най-голям ефект в понижаването на гликирания хемоглобин се регистрира в периода от 6 месеца до 2 години след започване на помпената терапия при близки изходни стойности. В проучването на Kaufman и сътр. (3) гликираният хемоглобин (HbA_{1c}) изходно е 8,0% при започналите помпена терапия срещу 7,8% при останалите. Крайната оценка показва 0,64% редукция за пациентите на инсулинови помпи срещу 0,15% за пациентите на базално-болусен режим с МДИ.

Проследявани подгрупи пациенти, използващи допълнителните функции на помпите (болус калкулатор на помпата, различни видове болуси – квадратен, двувълнов, прост и временен базален инсулин според вида и състава на конкретното хранене) имат по-добър HbA_{1c} в края на 7-годишно интернационално проучване (7,8% спрямо 8,5%, $P=0,003$) (6). Levy-Shraga и сътр. (7) в 5-годишно ретроспективно проучване доказват ефективността на помпената терапия за подобрява-

не на метаболитния контрол в предучилищната възраст (тип 1 ЗД с диагноза < 6 год. възраст) (HbA_{1c} 8,5 спрямо 7,4%). Същото проучване демонстрира, че по-ранното започване на помпената терапия в тази възрастова група е свързано с по-ниски стойности на HbA_{1c} спрямо тези, при които тя е започната след 6-годишна възраст (HbA_{1c} 8,0 спрямо 8,3%) (7). И други автори намират най-добър ефект при ранното започване на помпената терапия. Проучване доказва, че започването на помпена терапия веднага след поставянето на диагнозата тип 1 ЗД при пациенти в предучилищна възраст (средна възраст $3,5 \pm 1,5$ г.) е свързано с по-малки нужди от базален инсулин (8). Още в първата година от поставянето на диагнозата инсулиновата доза намалява с 30% от началната тотална дневна стойност.

Важна цел за постигане на оптимален контрол при пациенти с тип 1 ЗД е превенцията на възникване на остриите усложнения на заболяването - хипогликемия и диабетна кетоацидоза, които влошават метаболитния контрол, качеството на живот на пациентите и техните семейства и засягат когнитивните функции, а също така са свързани и със значима смъртност (9). Според резултатите от проучване на Joslin Diabetic Center епизодите на тежка хипогликемия при пациенти в юношеска възраст на помпена терапия са по-малко на брой ($31,8/100$ човеко-години на помпена терапия срещу $34,4/100$ човеко-години на МДИ) (10). Друго проучване доказва, че при пациенти на непрекъснатата подкожна инсулинова инфузия честотата на хоспитализации по повод на ДКА спада спрямо пациенти на МДИ ($2,4$ спрямо $4,7/100$ човеко-години, $P=0,003$) (11). Може би именно поради усъвършенстването на помпената терапия и все по-успешното избягване/намаляване на хипогликемиите, при по-дългосрочни и по-скоро публикувани наблюдения се вижда по-голямо редуциране на HbA_{1c} при непрекъснатата инсулинова подкожна инфузия спрямо многократните дневни инжекции. (12)

Въпреки доказателствата за по-добър метаболитен контрол и редуциране на остриите усложнения при помпената терапия, има пациенти, при които се запазва високият риск от рецидиви и намалена до липсваща чувствителност към хипогликемии. При тях метод на избор е сензор-усилената помпена терапия (СПТ). В последните няколко години непрекъснатият глюкозен мониторинг в реално време (RT - CGM) и СПТ системи потвърдиха своята полза в създаването на по-детайлна представа за тенденциите във вариациите на глюкозата през денонощието и по-безопасното редуциране на HbA_{1c} . Те осигуряват по-стриктен метаболитен контрол на

диабета спрямо използването на самостоятелно измерване на КГ с глюкометър и терапията с МДИ, а също и спрямо помпената терапия, като това не е свързано с повишен риск от хипогликемии (13, 14). Редица проучвания доказват намалени епизоди на хипогликемия и съкратено време, прекарано в ниски стойности (<3,9 ммол/л) на кръвната глюкоза при СПТ (6, 15). Голямата вариабилност на КГ (т. нар. **глюкозни екскурзии**) през денонощието е рисков фактор, свързан освен с риска от хипогликемия, и с по-голяма вероятност от възникването на хронични усложнения. Schreiver и сътр. доказват, че пациенти на помпена терапия имат по-ниска средна амплитуда на глюкозните екскурзии през денонощието спрямо МДИ (в миналото наричани „интензифицирана терапия“) с писалки ($4,96$ спрямо $6,50$ mmol/L, $P<0,01$) (6).

Още по-нова технологична опция е сензор-усилената помпена система с автоматично прекъсване на подаването на инсулин при ниски стойности на КГ, при която времето прекарано в нощна хипогликемия е с 37,5% по-малко спрямо пациенти на СПТ и епизодите на тежка и лека хипогликемия са допълнително редуцирани (6, 15). Постигане на нива на HbA_{1c} от 6% без тежки или чести леки хипогликемии вече не е утопия, а реално постижение за много пациенти, особено в малката възрастова група.

Качеството на живот и удовлетворението на пациента от контрола на диабета са критерии с изключителна важност за оценка на всякакъв вид терапия и, особено, на иновативните терапии. В проучването на Riskip и сътр. пациентите са посочили следните критерии за оценка на контрола на диабета: взаимоотношения със семейството, приятелите и честотата на остриите и хронични усложнения. В допълнение от тях въпросници групата на непрекъснатата инсулинова подкожна инфузия показва по-добра оценка за качеството на живот в дългосрочен план спрямо МДИ (PCQoL: 68 спрямо $55,1$, $P<0,05$; DQoL $2,9$ спрямо $2,4$, $P<0,05$) (16).

Новите технологични възможности на помпената терапия и непрекъснатият глюкозен мониторинг осигуряват флексибилност в ежедневието на пациентите и техните семейства, удовлетворение и чувство на отговорност към собственото здраве, намаляват страха на родители от възникване на усложнения и подобряват метаболитния контрол (17-19). Справянето и постигането на добър баланс преминава през постоянно обучение, което е свързано с различни хранителни познания и интуиция при хранителни съчетания, възгледноброене, постоянно самостоятелно измерване (мониторинг)

на КГ и нагласяване на инсулиновите дози и точното време на тяхното поставяне според предстоящата физическа активност, общото състояние (остро заболяване, психологичен стрес) и пр. Всичко това се нарича **флексибелен режим на лечение**. За момента той е най-близо до съвременния начин на живот и позволява по-добро качество на живот за децата и семействата им, без да преодолява всички недостатъци на екзогенната инсулинова терапия.

С увеличаваща се брой пациенти се натрупват по-нови и съвършени познания относно рѝководенето и оптимизацията на помпената терапия. Например, немската работна група за инсулинови помпи установява 4 циркадни модела на базалните нужди в определени часови зони за конкретни възрастови групи при пациенти с тип 1 ЗД (20):

- Бифазен модел (средна възраст на групата 12,8г.), характеризиращ се с максимална скорост на базалния инсулин в часовете зони между 5-6 ч. и 17-18 ч.

- Монофазен модел – при децата в предучилищната възраст (средна възраст 6,3 г.) – с пик на базалния инсулин преди полунощ (21-22 ч.).

- В училищна възраст (средна възраст 10,1 г.) – повишени базални нужди в периода преди полунощ, продължаващи и през нощта, достигащи максимум в 5-6 ч. сутринта.

- В четвъртата група със средна възраст 8,7 г. се наблюдава „плато“ в инсулиновите нужди за периода от 9-10 ч. до 19-20 ч.

Разбира се, може да се предполага, че те са зависими също и от географската ширина, надморската височина, дневния режим, храненето и други елементи от обичайния живот на децата. Необходими са допълнителни проучвания от различни точки на планетата, за да се сравнят оптималните режими за подаване на инсулин, с цел постигане на най-добри възможни за момента резултати. Това се налага с оглед на факта, че настоящата „конвенционална“ помпена терапия ще се задържи по-дълго на пазара поради очакваната изключително висока цена на още по-новите технологии.

Данните за оценка на ефективността и разходите, свързани с помпената терапия в България, са ограничени. Българско проучване посочва, че разходите са оправдани за Националната здравна система в България, само ако пациентите успеят да подобрят HbA_{1c} с 1,30% в резултат на помпената терапия (21). Обзор на NICE (National Institute for Health and Care UK) доказва по-голямата рентабилност във времето на помпената терапия спрямо МДИ (съотношение цена-ефективност на помпена терапия спрямо МДИ £11,500, £26,300 и £32,800 за QALY) (22).

Такова намаление би било отлично постижение и в медицински, и в индивидуален аспект. Мащабното проучване DCCT и неговото проследяване доказаха преди доста време, че снижаване на HbA_{1c} с 1% води до намаляване на риска от развитие на ретинопатия със **76%** (95% CI 62% до 85%) и на макроваскуларните инциденти с **41%** (95% CI - 10% до 68%) (23, 24). В световен мащаб е необходимо да се оценят дългосрочните ползи на помпената терапия и подобрените качества на живота в по-големи групи от пациенти, за да може да се оцени съотношението ефективност – разходи на помпената терапия.

Бъдещето в контрола и лечението на диабет тип 1 е разработването и развитието на затворената система (closed loop system), или така наречения изкуствен панкреас. До момента повечето проучвания на такива системи са проведени в болнична среда или в диабетен лагер за кратък период от време и показват още по-добър контрол на постпрандиалните глюкозни нива и още по-голяма флексибилност в начина на живот на пациента. До момента само едно проучване доказва безопасността и ефективността на затворената система по отношение на метаболитния контрол в извънболнична среда (15).

Все пак, като всички нови технологии, свързани с медицината, проучванията относно ползите от постоянната инсулинова инфузия със и без сензорно усилване имат недостатъци. Това са тяхната краткосрочност, малкият брой участници и малкият относителен дял на пациентите в ранна детска възраст. Независимо от това, подробен преглед на литературата показва постоянно подобрене в постиганите нива на гликиран хемоглобин – факт, свързан не само с новите технологии, но и най-вече с придобиването на опит в тяхното прилагане от страна на лекарите и пациентите. Употребата им в ежедневието на ресурсно по-обезпечените здравни системи непрекъснато се увеличава, например според базата данни DPV (4) при 37 539 пациенти на средна възраст 14,4±3,8 г. в периода между 1995 и 2012 г. употребата на помпена терапия се е увеличила от 1,3% на 47%.

В заключение, въпреки относително скорошното въвеждане на новите технологии в лечението на тип 1 захарен диабет и непрестанното им усъвършенстване и промяна, те вече са намерили своето място. С тяхна помощ се постига стремежът към присъединяване на все повече пациенти към групата на пациентите с отличен контрол – цел, особено близка на детските ендокринолози.

1. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014; Chapter 1: Definition, epidemiology, diagnosis and classification. *Pediatric Diabetes* 2014; 15 (20): 4-17.
2. Iotova V. Advanced technologies in treatment of diabetes in children and adolescents. *Medic Art* 2015; 1: 22-27 (in Bulgarian) (Йотова В. Съвременно лечение на диабета при деца и юноши. *Медик арт* 2015; 1: 22-27).
3. Kaufman FR, Halvorson M, Miller D, Mackenzie M, Fisher LK, Pitukcheewanont P. Insulin pump therapy in type 1 pediatric patients: now and into the year 2000. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15 (5): 338-352.
4. Karges B, Rosenbauer J, Kapellen T, Wagner VM, Schober E, Karges W, et al. Hemoglobin A1c Levels and risk of severe hypoglycemia in children and young adults with type 1 diabetes from Germany and Austria: a trend analysis in a cohort of 37,539 patients between 1995 and 2012. *PLoS Med* 2014; 11(10): e1001742.
5. Cemeroglu PA, Can A, Davis AT, Cemeroglu O, Kleis L, Daniel MS, et al. Fear of Needles in Children with Type 1 Diabetes Mellitus on Multiple Daily Injections (MDI) and Continuous Subcutaneous Insulin Infusion (CSII). *Endocrine Practice* 2014; 1(-1): 1-25.
6. Moshe P, Tadej B. *Advanced Technologies & Treatments for Diabetes* 2013, p.32-47.
7. Levy-Shraga Y, Lerner-Geva L, Modan-Moses D, Graph-Barel C, Mazor-Aronovitch K, Boyko V, et al. Benefits of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy in preschool children. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013; 121 (4): 225-229.
8. Szybowska A, Lipka M, Blazik M, Groele L, Pankowska E. Insulin requirement in preschoolers treated with insulin pumps at the onset of type 1 diabetes mellitus. *Acta Paediatr* 2009; 98(3): 527-530.
9. Patterson C, Dahlquist G, Harjutsalo V, Joner G, Feltbower RC, Svensson J, et al. Early mortality in EURODIAB population-based cohorts of type 1 diabetes diagnosed in childhood since 1989. *Diabetologia* 2007, 50 (12): 2439-2442.
10. Katz ML, Volkening LK, Anderson BJ, Laffel LM. Contemporary Rates of Severe Hypoglycaemia in Youth with Type 1 Diabetes: Variability by Insulin Regimen. *Diabet Med* 2012; 29(7): 926-932.
11. Johnson SR, Cooper MN, Jones TW, Davis EA. Long-term outcome of insulin pump therapy in children with type 1 diabetes assessed in a large population-based case-control study. *Diabetologia* 2013; 56(11): 2392-2400.
12. Bergenstal RM, Tamborlane WV, Ahmann A, Buse JB, Dailey G, Davis SN, et al. STAR 3 Study Group. Sensor-augmented pump therapy for A1C reduction (STAR 3) study: results from the 6-month continuation phase. *Diabetes Care* 2011; 34(11): 2403-2405.
13. Szybowska A, Ramotowska A, Dzygalo K, Golicki D. Beneficial effect of real-time continuous glucose monitoring system on glycemic control in type 1 diabetic patients: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Eur J Endocrinol* 2012; 166(4): 567-574.
14. Nimri R, Muller I, Atlas E, Miller S, Fogel A, Bratina N, et al. MD-Logic overnight control for 6 weeks of home use in patients with type 1 diabetes: randomized crossover trial. *Diabetes Care* 2014; 37(11): 3025-3032.
15. Pickup JC, Harris A. Assessing Quality of Life for New Diabetes Treatments and Technologies: A Simple Patient-Centered Score. *J Diabetes Sci Technol* 2007; 1(3): 394-399.
16. Hirose M, Beverly EA, Weinger K. Quality of Life and Technology: Impact on Children and Families with Diabetes. *Curr Diab Rep* 2012; 12(6): 711-720.
17. Hommel E, Olsen B, and The SWITCH Study Group. Impact of continuous glucose monitoring on quality of life, treatment satisfaction, and use of medical care resources: analyses from the SWITCH study. *Acta Diabetol* 2014; 51(5): 845-851.
18. Peters JE, Mount E, Huggins CE, Rodda C, Silvers MA. Insulin pump therapy in children and adolescents: changes in dietary habits, composition and quality of life. *J Paediatr Child Health* 2013; 49(4): E300-E305.
19. Holterhus PM, Bokelmann J, Riepe F, Heidtmann B, Rami-Merhar B, and the German/Austrian DPV-Initiative and the German Pediatric CSII Working Group. Predicting the Optimal Basal Insulin Infusion Pattern in Children and Adolescents on Insulin Pumps. *Diabetes Care* 2013; 36(6): 1507-1511.
20. Petkova E, Petkova V, Konstantinova M, Petrova G. Economic evaluation of continuous subcutaneous insulin infusion for children with diabetes - a pilot study: CSII application for children - economic evaluation. *BMC Pediatrics* 2013, 13: 155 (in Bulgarian) Петкова Г. Икономическа оценка на непрекъснатата подкожна инсулинова инфузия на деца с диабет - пилотно проучване: НПИИ приложение при деца - икономически оценка. *BMC Pediatrics* 2013, 13: 155).
21. Continuous subcutaneous insulin infusion for the treatment of diabetes mellitus Issued: July 2008 last modified: December 2014 NICE technology appraisal guidance
22. Yeh HC, Brown TT, Maruthur N, Ranasinghe P, Berger Z, Suh YD. Comparative effectiveness and safety of methods of insulin delivery and glucose monitoring for diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012 ;157 (5): 336-347.
23. DCCT Research Group. The effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
24. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Design, implementation, and preliminary results of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care* 1999; 22: 99-111.

Address for correspondence:

Д-р Юлия Баздарска

гр. Варна, 9010
бул. „Хр.Смирненски“ 1, УМБАЛ
„Св. Марина“, Първа Детска Клиника
Email: yuliya.bazdarska@gmail.com

Dr Yuliya Bazdarska

First Paediatric Clinic
University Hospital „St. Marina“
1 „Hr. Smirneneski“ Blvd.
Varna 9010, Bulgaria
Email: yuliya.bazdarska@gmail.com

Прогрес в ендокринологията: мас спектрометричният анализ открива нова ера в ендокринната диагностика и променя представите ни за някои ендокринни заболявания

Кирилов, Георги Г.

Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология, Медицински Университет, София, България

Progress in Endocrinology: Mass Spectrometric Analysis Opens a New Era in Endocrine Diagnostics and Changes our Understanding of Some Endocrine Disorders

Kirilov, Georgi G.

Clinical Center of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia, Bulgaria

Резюме

Развитието на ендокринологията като клинична дисциплина върви успоредно с развитието на хормоналните анализи. Известно е, че имуноаналитичните техники, които се използват за рутинно измерване на стероидни хормони, са с намалена специфичност - особено в ниските концентрации, ако се съпоставят с мас спектрометрията (МС), считана за златен стандарт. Кръстосаната реактивност, матриксните ефекти и хетерофилните антитела са други фактори, които се отразяват върху клиничното приложение на имуноанализите. Течно-хроматографското тандем мас спектрометрично (ТХ-МС/МС) определяне има изключителни характеристики и чувствителност за ниските концентрации на много стероиди. Други предимства на ТХ-МС/МС включват разширен измервателен обхват и възможност за едновременно определяне на множество стероиди, известно като пълен стероиден профил, в сравнение с отделното имунологично измерване на единични стероиди. Ендокринологията е област, където ТХ-МС/МС играе значителна роля в клиничното изследване. В клиничните лаборатории измерванията чрез ТХ-МС/МС все повече изместват имуноанализите за рутинно определяне на тестостерон, естрадиол, 17-хидроксипрогестерон, други стероидни хормони и витамин Д.

Abstract

The development of endocrinology as a clinical discipline parallels the development of hormone assays. Immunoassay-based techniques, routinely used to measure steroid hormones, are known to have reduced specificity, especially at lower concentrations, when compared with the gold standard technique of mass spectrometry. Cross-reactivity, matrix effects, and heterophilic antibodies are other limitations that affect the clinical utility of immunoassay. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has been shown to have superior performance and sensitivity at low concentrations for many steroids. Other benefits of LC-MS/MS include extended measuring ranges and the ability to measure multiple steroids at once, known as complete steroid profiles, compared to measuring individual steroids in separate immunoassays. Endocrinology represents an area in which LC-MS/MS plays a major role in clinical testing. Increasingly in clinical laboratories LC-MS/MS assays are replacing immunoassays for the routine measurement of testosterone, estradiol, cortisol, 17-hydroxyprogesterone, other steroid hormones, and vitamin D.

Ключови думи:

мас спектрометрия, имуноанализ, стероидни хормони, витамин Д

Key words:

mass spectrometry, immunoassay, steroid hormones, vitamin D

Имуноаналитичен или мас спектрометричен анализ за определяне на стероидни хормони: какви са проблемите и предимствата им

Ендокринологията е клинична дисциплина, която е пряко свързана с измерването на хормони *in vitro*. Тя се превърна в модерна научна дисциплина в средата на ХХ век, когато след серия от научни открития, отличени с Нобелови премии, бяха идентифицирани отделните хормони, а след 1959 г. беше въведено и тяхното имунологично измерване – първоначално само за пептидните хормони, а от края на 60-те години и за неимуногенните стероиди. Така, ендокринологията се „взоръжи“ с имуноаналитичната анти тяло-базирана методология, позволяваща определянето на всички видове хормони и то с такава чувствителност и специфичност, каквато беше непостижима със старите биоанализи. Още в самото начало, обаче, стана ясно, че анализите на стероидните хормонални субстанции трябва да се прецизират, тъй като техните структурно-молекулни особености предпоставят кръстосана реактивност и компрометирано измерването. За целта определянето им значително се предшества от солветна екстракция, хроматографско пречистване за елиминиране на свързващите протеини и използване на автентични маркирани стероиди – трудоемка лабораторна процедура, извършвана в специализирани хормонални лаборатории.

В края на 80-те години, поради нарасналата употреба на стероидните измервания, бяха предприети стъпки за опростяване на техниките и бяха въведени готови реагенти (китове) за директни имуноанализи на стероиди. Обичайната практика е лабораториите да купуват китове (РИА, ЕЛАЙЗА, ХЛИА* и др.), които се изработват съгласно фирмената инструкция; за вътрешния контрол се използват готовите контроли, а за референтни стойности се представят тези на производителя. Последното много често затруднява клиничната интерпретация на резултатите, още повече че лабораториите периодично сменят китове от различни компании, които имат различни аналитични

параметри. В научните публикации обикновено се съобщават аналитичните характеристики на производителя и по-рядко те са собствени.

По-късно анализите бяха „качени“ на автоматизирани платформи, използващи баркодиране с пряк достъп до много аналити (multiple-analyte random-access). Тази удобна, евтина и ефективна модификация за директно измерване на стероидните хормони – без екстракционни процедури, на практика също притежава гореспоменатите недостатъци. Подценяването и заобикалянето на посочените проблеми, както и обективните несъвършенства на имуноанализите, предизвикаха критични оценки и насочиха вниманието към съвременните мас спектрометрични анализи (МС). Това породило дебата: „мас спектрометричен или имуноаналитичен анализ (ИА): как да се определят стероидните хормони сега и в бъдеще?“.

Защитниците на тезата, че МС е най-добрият и единствено точен метод за определяне на стероидни хормони считат, че тяхното навлизане като рутинен анализ трябва да става с по-бърз темп, защото МС са суперспецифични, бъдещето е на тяхна страна, а ерата на стероидните имуноанализи постепенно трябва да приключи. Мас спектрометричните методи за измерване на стероиди съществуват от няколко десетилетия, но едва сега се разпространиха много по-широко. Те, обаче, са утвърден стандарт за мониториране на лекарства, в допинговия контрол, за оценка на околната среда, за изследване безопасността на храните и др.

Съществените вариации между ИА методите за стероидни хормони – пряка функция от епитопа на анти тялото, са причина за изявена кръстосана реактивност със стероидните прекурсори, метаболити и конюгати, а също така и за матриксна интерференция и с хетерофилните анти тела при директните определяния. Тези проблеми налагат периодично нови стандартизации, оптимизиране на реагентите и, особено, на детектиращите анти тела. Именно поради това ИА не представят трайно, сравнимо и дефинитивно химично определяне, което да е независимо от метода, така както е за измерванията на биохимичните аналити – хемоглобин, креатинин, холестерол и др. От началото на 2015 г.

някои авторитетни ендокринологични списания възприеха радикален подход – в научните статии стероидните измервания задължително да се извършват по МС метод.

Голямо предимство на МС е, че от една проба могат да се измерят десетки различни молекули. Съвременната течна-хроматографска тандем мас спектрометрична методология (ТХ-МС/МС) е значително опростена, например в сравнение с газ хроматографската МС (ГХ-МС). Някои фирми предлагат китове за стероиден профил, включващ десетки стероидни мултианалити: кортизол, алдостерон, 11-деоксикортизол, 4-андростен-3,17-дион, 17-алфа-хидроксипрогестерон, кортикостерон, ДХЕА, ДХЕАС, прогестерон, тестостерон, андростендион, дихидротестостерон, естрадиол, естрон и др. Необходимото количество серум за техния анализ е 100 µl. Компютърната обработка на анализите дава възможност за изграждане на специфичен стероиден профил (machine learning analysis).

Втората теза, която е по-умерена, застъпва схващането, че ИА, които са в употреба повече от 40 години, все още са надеждни и с диагностична полза. Изтъкват се и някои техни предимства: лесна техника, автоматизация, бързина, по-ниска цена и масово предлагане на търговски реагенти. Поради това прибързаното превключване от ИА на МС е нереалистична и ненужна задача, защото МС са по-скъпи, по-трудоемки и по-непроизводителни, изискват специална апаратура и все още липсва широко търговско предлагане, както е за имуноаналитичните китове.

Основни принципи на мас спектрометрията

МС е най-модерният и съвременен метод, базиран на фрагментиране на измерваните молекули, разделяне и измерване на отношението маса/тегло на компонентите. При комбиниране с течна хроматография (ТХ), мас спектрометърът функционира като уникален детектор, предоставящ информация за структурата и състава на съединенията. Вътрешните стандарти, аналогични на измерваните молекули, гарантират прецизността на определяния анализ. Една от разновидностите на МС е тандем мас спектрометрията, която включва два анализатора, разделени с апарат за йонна активация. Първият анализатор изолира и дисоциира йоните чрез активирането им, а вторият е за анализ на дисоциираните продукти, което позволява дефинитивно измерване на множество ендокринни анализити. ТХ-МС/МС е идеалният вариант за едновременно количествен анализ на стероидни хор-

мони. Цялостният анализ включва три фази: (1) приготвяне на пробата, (2) хроматографско разделяне (ако е необходимо) и (3) МС анализ.

ТХ-МС/МС измерването подлежи на автоматизация или полуавтоматизация без да е необходима дериватизация на стероидите, например за повечето Δ⁴-стероиди. Модерните тройни, четири цилиндрични инструменти (triple quadrupole instruments) отговарят на изискванията за измерване на ниски концентрации на стероиди в малък обем от пробата. На този етап рутинното въвеждане на ТХ-МС/МС се затруднява от два основни фактора – цената на мас спектрометричната апаратура е висока (~400 000 \$) и е необходима специализирана квалификация на персонала. Като цяло инструментариумът е сложен, скъп и капризен за поддържане. Друга важна причина за по-инертното въвеждане на МС методологията е, че някои изследователски центрове имат опасения, че резултатите от МС, макар и много по-надеждни и прецизни от ИА, ще бъдат трудно сравняеми със старите данни, особено при продължаващите изследователски проекти.

МС спестява средства обаче, ако едновременно се определят няколко анализа. Пресмята се, че за комплект от 6 стероиди: кортизол, андростендион, ДХЕАС, тестостерон, 17-хидроксипрогестерон и прогестерон, с ТХ-МС/МС цената на единичното изследване е около 4 пъти по-ниска и се прави само един анализ, докато за имунологичното им определяне са необходими 6 различни кита и 6 анализа. В клиничната практика ТХ-МС/МС е предпочитана техника за определяне на стероидни хормони при интегрална оценка на стероидогенезата, за диференциране на метаболитните заболявания от тези с нарушения в стероидния биосинтез, за дефиниране на нови метаболити на биосинтетичните и метаболитни нарушения, в педиатрията – поради по-малката им инвазивност и за пренатална диагностика на нарушенията в стероидния биосинтез. ТХ-МС/МС е идеалният метод за скрининг у новородени.

Чрез детайлното изследване на стероидния профил се установи, че някои надбъбречни инциденталомии, смятани за хормонално-неактивни, продуцират повишени количества стероидни прекурсори и всъщност са хормонално активни. Увеличена екскреция на прекурсорите – прегендиол, прегенетриол, ДХЕА, 16α-ОН-ДХЕА и прекурсорите на активните андрогени – андростерон и етиохоланолон се открива в 70% от случаите с надбъбречен карцином, докато при аденом-само в 2%. Малигнените надбъбречни тумори изявяват характерен дисбаланс в стероидогенезата – повишава се съотношението ранни сте-

роидни прекурсори/крайни стероидни хормони. Това корелира с незрелостта на стероидната биосинтеза и недиференцираността на тумора. Следователно, измерването на *уринния стероиден метаболомикс*** е биомаркер за функционалната активност на надбъбречните инциденталомии и за малигненост на надбъбречните тумори. Например, установяването на повишена продукция на 11-геоксикортизол и тетрахидро-11-геоксикортизол има висока дискриминативна стойност за разграничаване на надбъбречния карцином от доброкачествения аденном.

Вече се изтъкна, че съвременните имунологични изследвания (РИА, ЕЛАЙЗА, хемилуминисцентни и др.) на стероидните хормони, които най-често се назначават в ендокринологичната практика – тестостерон, естрадиол и кортизол, както и витамин Д, са проблематични и това рефлектира върху диагностичната надеждност на резултатите. Ще представим някои конкретни примери, разкриващи тези проблеми.

Тестостерон

Сравнителната оценка на резултатите от измерване на тестостерона с ИА и съпоставянето им с МС показва, че директното определяне с комерсиални имуноаналитични китове е особено неточно за ниските стойности – каквито са у деца, жени и при мъжете с тестостеронов дефицит. Референтните граници на имунореактивния тестостерон при мъже са силно вариабилни в голния диапазон, което затруднява преценката на андрогенния статус и води до несравнимост на резултатите (Фиг.1). Андрогенните стероиди (ДХЕАС, дихидротестостерон), които имат много близка структура до тази на тестостерона, интерферират при измерването му, с което се отчитат неточни резултати. Тестостеронът, измерен чрез МС е сигнификантно по-нисък, а в голния диапазон показва незадоволителна корелация с имунореактивния тестостерон. Така наречените „свободни измервания на тестостерона“ (свободни и бионалични) – например, калкулиран свободен тестостерон, са на базата на изчисления, а не на действително определяне, което може да се извърши само чрез МС.

Определянето на *стероидния андрогенен метаболомикс* чрез ТХ/МС-МС разкрива много по-детайлно картината на андрогенните нарушения при жени и допринася за прецизиране диагностиката на хирзутичните състояния, включително и при синдрома на поликистозни яйчници.

Естрадиол

Диагностичното приложение на естрадиола при жени е твърде широко и включва: преценка на овариалната функция, на менструалните нарушения, на преждевременния и забавен пубертет, при асистираните репродуктивни протоколи. При мъже естрадиолът има диагностична стойност при гинекомастията, преждевременния пубертет и др. Споменатите аналитични проблеми при тестостерона важат с още по-голяма сила за измерването на серумните нива на естрадиола, които са в пикомоларни стойности – 10 до 100 пъти по-ниски от тези на тестостерона. Съпоставката на различни имунологични методи разкрива големи вариации в резултатите, което се дължи на различия в детектиращите антители, матриксна интерференция и недостатъчна стандартизация (Фиг. 2). Директният имуноанализ на естрадиола при деца, мъже и при жените в менопауза, както и при лечението с ароматазни инхибитори, където стойностите му са значително по-ниски, е неточен и неподходящ за целите на научните проучвания. Съобщава се, че нито един от автоматизираните мултианалитични методи не притежава функционална чувствителност, достатъчна за точното измерване на естрадиола при мъже. Анти-тяло базираните методи са с долна граница на определяне >10 pg/ml (37 ptol/l) и те са недостатъчно прецизни при концентрация 200-250 ptol/L. Именно поради това е в ход заместването им от МС анализи, за които е свойствена в пъти по-висока чувствителност – 1 pg/ml (3,7 ptol/l). Вече са създадени референтни интервали за стероидни хормони по ТХ-МС/МС.

Кортизол

За практически цели вече са въведени рутинни и бързи ТХ-МС/МС анализи на кортизол с едновременно измерване и на преднизон, преднизолон и кортизон, което решава проблема с кръстосаната реактивност – характерна за РИА и платформените ИА на кортизола при пациенти, приемащи екзогенни стероиди. Чрез този подход се избягва погрешното диагностициране – измереният кортизол чрез ИА може да е фалшиво повишен вследствие интерференцията с горепосочените глюкокортикостероиди, докато в действителност пациентът да е с хипoadrenalizъм.

Проблемите с различията в праговите стойности на имунореактивния *слюнчен кортизол*, чието измерване има висока стойност в ди-

агностиката на хиперкортизолизма, се преодоляват чрез мас спектрометричното му определяне, елиминиращо интерференцията с хидрокортизона. Много проучвания сочат, че слюнчатото МС измерване на кортизона се очертава като по-добър маркер от това на кортизола. Количественото определяне на *кортизол и други стероиди в косми от скала* също е многообещаващ диагностичен подход в ендокринологията.

Алдостерон и минералокортикоиди

При първичния алдостеронизъм (ПА) свърхсекрецията на алдостерон се съпътства с повишена продукция на други минералокортикоиди и това е регистрирано както на периферно и уринно ниво, така също и в туморната тъкан и в надбъбречната венозна плазма. Данните от МС анализа изясниха, че 18-хидроксиланите хибридни стероиди – 18-оксокортизол и 18-хидроксикортизол доминират при алдостеронизма в сравнение с билатералната хиперплазия. По този начин може да се направи точна преценка на различията в стероидния профил при двата патогенетични фенотипа на ПА и те да се подтипизират. Измерването на *минералокортикоидния метаболомикс* разкрива връзката между специфичната експресия на стероидогенните ензими, респ. съпътстващите ги соматични мутации, и подтипа на ПА.

Витамин Д

Витамин Д е считан за един от трудните за измерване аналити. Само ТХ-МС/МС методите могат да дават количествена оценка на съединенията на витамин Д чрез мултиметаболитен анализ. Възприето е, че за клинични цели трябва да се определя общият 25(ОН)Д, включващ 25(ОН)Д₃ и 25(ОН)Д₂. Някои имунологични анализи за общ 25(ОН)Д показват съществена кръстосана реактивност с 25(ОН)Д₂ и това може да се окаже проблем, тъй като суплементацията с витамин Д₂ е широко разпространена. Интерференцията с метаболити като 24,25(ОН)Д₂, който обичайно е <12 птоl/l, повлиява капацитета на витамин Д свързващия протеин и променя резултата. Освен това, преобладаващите имунализи за 25(ОН)Д са с ниска чувствителност при концентрации <20 птоl/l. Платформеният имуноанализ на общия 25-ОНД е по-евтин и по-бърз и на този етап това е съществена причина ТХ-МС/МС – най-добрият метод за определяне на витамин Д, да има ограничено разпространение за клинични цели.

Заключителни бележки

Много експерти считат, че приближава краят на ерата на имуноаналитичните методи за измерване на стероиди и някои други хормонални аналити. Ендокринната диагностика ще трябва да се „превърже“ с въвеждането на мас спектрометричната методология, която има безспорни предимства пред анти тяло-базирания анализ. Ползата ще бъде безспорна – много по-голяма точност и сравнимост на резултатите, стандартизация на хормоналните изследвания и детайлна преценка на стероидния метаболомикс. Това ще предизвика съществена промяна в представите ни както по отношение на ендокринната физиология, така и на патогенезата на някои ендокринни заболявания.

Дали процесът на „превключване“ от ИА към МС като стратегическа технология ще се осъществи бързо и ще навлязат ли последните по-широко в клиничните и ендокринни лаборатории, ще зависи от технологичното усъвършенстване на апаратурата за МС, пригодността ѝ за рутинна диагностика и финансовите разходи за изследванията. В развитите страни МС технологията намира приложение в 15% от клиничните лаборатории, чиито профил е предимно изследователски. На този етап най-разпространените МС анализи, използвани за рутинни цели в клиничните лаборатории, са тези за определяне на витамин Д, на андрогени и естрогени, за скрининг у новородени и за мониториране на имуносупресори.

За други хормонални параметри – най-вече тиреоидни хормони, тиреоглобулин и някои пептидни хормони (инсулин), МС също е с предимства пред ИА, но тяхното практическо въвеждане се очертава на по-късен етап. Свободните плазмени метанефрини са друг пример за важно рутинно ТХ-МС/МС изследване в диагностиката на катехоламин-секретиращите феохромоцитомы и параганглиоми.

* РИА – радиоимунологичен анализ, ЕЛАЙЗА – ензимно-имунологичен анализ, ХЛИА – хемилуминисцентен имуноанализ

** стероиден метаболомикс – едновременно и пълно определяне на нивата на стероидните хормони в метаболома и промените им под влияние на различни стимули.

Фигура 1.

Сравнение между 10 кита за измерване на тестостерон - 8 автоматизирани имуноанализатори: Architect i2000 (Abbott Laboratories), ACS-180, Immuno-1 (Bayer Diagnostics), Vidas (Bio-Mérieux), Immulite 2000 (Diagnostics Products Corp.), Vitros Eci (Ortho Clinical Diagnostics), AutoDelfia (Perkin-Elmer), Elecsys 2010 (Roche-Boehringer-Mannheim) и 2 РИА метода: Immuntotech (Beckman-Coulter) и Coat-A-Count DPC (Dade Behring). Референтните граници на отделните производители показват съществени вариации, както в областта на долния (6-12 nmol/l), така и на горния диапазон (27-60 nmol/l) [модифицирано по J. Taieb и сътр.].

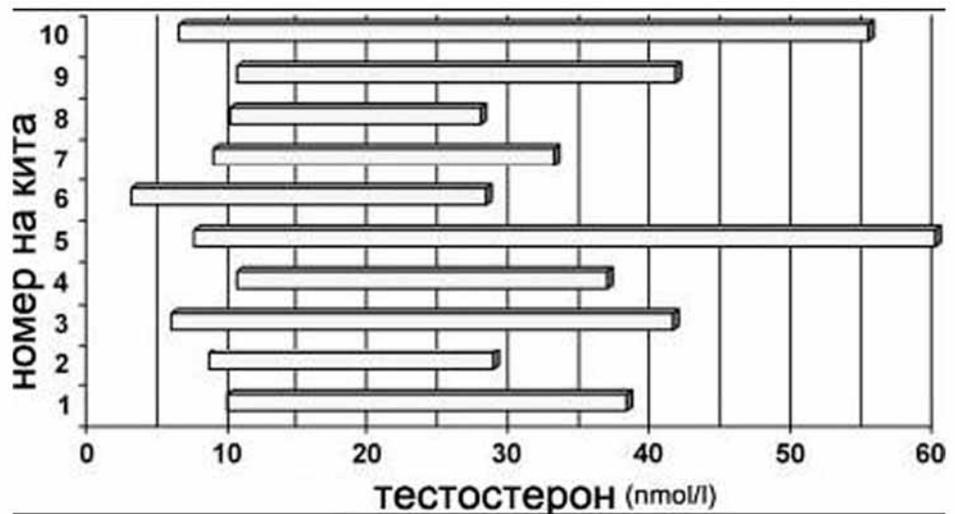
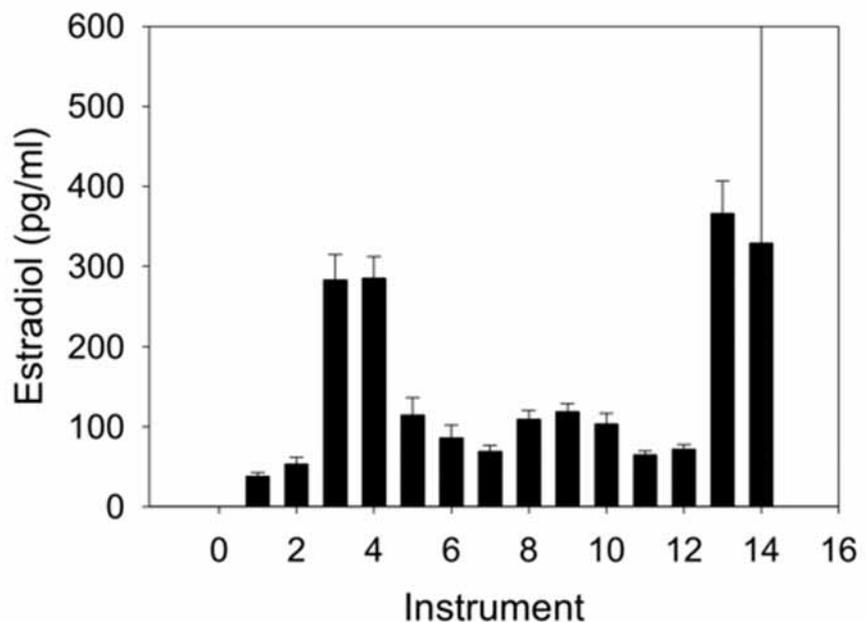


Figure 1. Comparison between 10 kits for the measurement of testosterone - eight automated immunoanalyzers: Architect i2000 (Abbott Laboratories), ACS-180, Immuno-1 (Bayer Diagnostics), Vidas (Bio-Mérieux), Immulite 2000 (Diagnostics Products Corp.), Vitros Eci (Ortho Clinical Diagnostics), AutoDelfia (Perkin-Elmer), Elecsys 2010 (Roche-Boehringer-Mannheim) and two RIA methods: Immuntotech (Beckman-Coulter) и Coat-A-Count DPC (Dade Behring). The reference range of the different manufacturers show significant variations, both in the lower (6-12 nmol / l), and the upper range (27-60 nmol / l) [modified by J. Taieb et al].



Фигура 2. Серумните нива на естрадиола (pg/ml), определени с 14 различни имуноанализаторни метода (1-14) в 1194 лаборатории показват големи различия.

Figure 2. The serum estradiol levels (pg / ml), determined by 14 different immunoassay methods (1-14) in 1194 laboratories show large differences.

1. Kirilov G. Hormonal and functional diagnostics of endocrine diseases. *Paradigma* (ed.), 2012 (in Bulgarian).
2. Aday JE, Keevil BG, Owen LJ. Liquid chromatography tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. *Ann Clin Biochem* 2015; 52:18-38.
3. Arlt W, Biehl M, Taylor A, Hahner S, Libé R, Hughes BA, et al. Urine steroid metabolomics as a biomarker tool for detecting malignancy in adrenal tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3775-3784.
4. Di Dalmazi G, Fanelli F, Mezzullo M, Casadio E, Rinaldi E, Garelli S, et al. Steroid Profiling by LC-MS/MS in Nonsecreting and Subclinical Cortisol-Secreting Adrenocortical Adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 3529-3538.
5. Farrell CJ, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann M. State-of-the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *Clinical Chemistry* 2012; 58: 531-543.
6. Handelsman DJ, Wartofsky L. Requirement for mass spectrometry sex steroid assays in the journal of clinical endocrinology and metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 3971-3973.
7. Hershel R, Singh RJ. Measurement of late-night salivary cortisol and cortisone by LC-MS/MS to assess preanalytical sample contamination with topical hydrocortisone. *Clin Chem* 2012; 58: 947-948.
8. Hoofnagle AN, Wener MH. The fundamental flaws of immunoassay and potential solutions using tandem mass spectrometry. *J Immunol Met* 2009; 347: 3-11.
9. Huhtaniemi IT, Tajar A, Lee DM, O'Neill TW, Finn JD, et al. Comparison of serum testosterone and estradiol measurements in 3174 European men using platform immunoassay and mass spectrometry; relevance for the diagnostics in aging men. *Eur J Endocrinol* 2012; 166: 983-991.
10. Ketha H, Girtman A, Singh RJ. Estradiol assays -The path ahead. *Steroids* 2015; 99 (Pt A): 39-44.
11. Moors M, Williams T, Deinum J, Eisenhofer G, Reincke M, Lenders JW. Steroid Hormone Production in Patients with Aldosterone Producing Adenomas. *Horm Metab Res* 2015; 47: 967-972.
12. Müller MJ, Volmer DA. Mass spectrometric profiling of vitamin D metabolites beyond 25-hydroxyvitamin D. *Clin Chem* 2015; 61:1033-1048.
13. Noppe G, de Rijke YB, Dorst K, Stalder T. LC-MS/MS-based method for long-term steroid profiling in human scalp hair. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015; 83: 162-166.
14. Owen LJ, Wu FC, BG Keevil. A rapid direct assay for the routine measurement of oestradiol and oestrone by liquid chromatography- tandem mass spectrometry without derivatisation. *Ann Clin Biochem* 2014; 51: 360-367.
15. Peitzsch M, Dekkers T, Haase M, Sweep FC, Quack I, Antoch G, et al. An LC-MS/MS method for steroid profiling during adrenal venous sampling for investigation of primary aldosteronism. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 14: 75-84.
16. Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM, Raff H. Position statement: utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 405-413.
17. Rosner W, Hankinson SE, Sluss PM, Vesper HW, Wierman ME. Challenges to the measurement of estradiol: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 1376-1387.
18. Rothman MS, Carlson NE, Xu M, Wang C, Swerdloff R, Lee P, et al. Reexamination of testosterone, dihydrotestosterone, estradiol and estrone levels across the menstrual cycle and in postmenopausal women measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Steroids* 2011; 76: 177-182.
19. Shackleton C. Clinical steroid mass spectrometry: a 45-year history culminating in HPLC-MS/MS becoming an essential tool for patient diagnosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 481-490.
20. Strathmann F, Hoofnagle N. Current and Future Applications of Mass Spectrometry to the Clinical Laboratory. *Am J Clin Pathol* 2011; 136: 609-616.
21. Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N, et al. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women, and children. *Clin Chem* 2003; 349: 1381-1395.
22. Taylor A, Keevil B, Huhtaniemi I. Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. *Eur J Endocrinol* 2015; 173: D1-D12.
23. Turpeinen U, Hämäläinen E. Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013; 27: 795-801.
24. Vesper HW, Botelho JC, Vidal ML, Rahmani Y, Thienpont LM, Caudill SP. High variability in serum estradiol measurements in men and women. *Steroids* 2014; 82: 7-13.
25. Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B, Swerdloff, RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 534-543.
26. Wester VL, Rossum van EF. Clinical applications of cortisol measurements in hair. *Eur J Endocrinol* 2015;173: M1-10.

Address for correspondence:

Проф. д-р Георги Кирилов

Клиничен Център по Ендокринология
и Геронтология,
Медицински Университет – София
1431 София, ул. „Здраве“ No 2
e-mail: drgkirilov@abv.bg

Prof. Georgi Kirilov

Clinical Center of Endocrinology and
Gerontology, Medical University – Sofia
2 Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria
e-mail: drgkirilov@abv.bg

Показатели за гликемичен контрол по време на бременност

Бояджиева, Мария В.

Клиничен Център по Ендокринология, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, Медицински Университет, София

Indicators for Glycemic Control During Pregnancy

Boyadzhieva, Maria V.

Clinical Center of Endocrinology, USHATE „Acad. Ivan Penchev“, Medical University, Sofia

Резюме

Данните от редица проучвания доказваха, че дори и леки нарушения във въглехидратния толеранс по време на бременност увеличават честотата на усложненията, както за майката, така и за плода. Това доведе до преосмисляне и промяна в определението и диагнозата на гестационния захарен диабет (ГЗД). С въвеждането на новите критерии, с цел намаляване честотата на майчините и фетални усложнения при жени с ГЗД или захарен диабет (ЗД), се поставиха и нови таргетни стойности за оптимален гликемичен контрол. Добър гликемичен контрол не може да бъде постигнат без надеждни показатели за оценка на гликемията. „Златен стандарт“ за диагноза и оценка на нивото на кръвната захар за изминал период от време при пациенти със ЗД е гликираният хемоглобин A_{1c} (HbA_{1c}). Резултатите от няколко проучвания едновременно доказват, че HbA_{1c} не е достатъчно точен показател по време на бременност, най-вече поради наличния желязен дефицит. От друга страна, гликираният албумин (ГА), друг показател за оценка на гликемичния контрол, не се влияе от нивото на желязото, поради което най-вероятно е по-точен от HbA_{1c} при бременните жени с ГЗД и ЗД. Необходимо е провеждането на епидемиологични проучвания за доказването на неговата значимост.

Ключови думи:

бременност, гликемичен контрол, гликиран хемоглобин, гликиран албумин

Abstract

Data from multiple clinical trials show that even mild abnormal glucose intolerance during pregnancy increases the prevalence of maternal-fetal complications. This has led to changes in the definition and diagnostic criteria of gestational diabetes mellitus (GDM). The introduction of the new criteria, which are mainly focused on the reduction of maternal-fetal complications, has set up new target values for good glycemic control. Strict glycemic control cannot be attained without an indicator of glycemic control. The current gold standard for diagnosis and evaluation of blood glucose in patients with diabetes mellitus remains glycated hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}). However, results from recent studies show that HbA_{1c} is not a reliable indicator during pregnancy due to iron deficiency. On the other hand, glycated albumin (GA), which is another indicator of glycemic control, is not affected by iron. Therefore, GA might be better indicator for glycemic control in pregnant women with GDM or diabetes mellitus. Epidemiological studies are needed to evaluate its clinical importance.

Key words:

pregnancy, glycemic control, glycated hemoglobin, glycated albumin

Честотата на захарния диабет (ЗД) в световен мащаб се увеличава значимо (1). Паралелно се наблюдава покачване и на въглехидратните нарушения в хода на бременността. С въвеждането на критериите на International Association of Pregnancy Study Groups (IADPSG), честотата на гестационния захарен диабет (ГЗД) достига до 17,8% (2). В проучване, проведено в България сред високо-рискова група бременни жени, се установи честота на ГЗД, достигаща 29% (3).

До момента, всяко нарушение във въглехидратния метаболизъм, възникнало или за първи път установено по време на бременност, се приема за ГЗД (2). През 2015 г. Международната Федерация по Акушерство и Гинекология (FIGO), създаде препоръки за диагноза и поведение по време на бременност, които следва да бъдат адаптирани повсеместно (4). Според тях, жените, чиито стойности на кръвната захар в хода на ОГПТ са по-високи или равни на тези за поставяне на диагноза ЗД (критерии на СЗО), трябва да бъдат приемани за ЗД, независимо от срока на бременността. Това разделение се налага с оглед на по-високия риск за плода от неблагоприятен изход от бременността при жените със ЗД спрямо тези с ГЗД.

Рисковете за плода по време на вътреутробното развитие са свързани с нивото на майчината хипергликемия, която води до фетална хипергликемия. По този начин се стимулира феталния панкреас да произвежда по-голямо количество инсулин, а от там и изразено по-бързите темпове на растеж и несъответствие между размерите на плода и гестационната седмица (до степен на макрозомия) с натрупване на мастна тъкан, предимно абдоминално разположена (5-7). Неконтролираната майчина хипергликемия и развилата се фетална хиперинсулинемия водят до хипогликемия на новороденото (8). Макрозомията на плода води от своя страна до настъпване на травми по време на раждането и раменна дистокция, като често е и показание за Цезарово сечение като метод на родоразрешение (9). ГЗД е свързан с повишен риск за новороденото от респираторен дистрес, ретардация или макрозомия, полицитемия, вродени малформации, хипокалциемия, хипомагнезиемия, по-тежко протичаща жълтеница (10). Лошият гликемичен контрол е отговорен за 49,2% от перинаталната смъртност при новороденото (11). Нарушената глюкозна хомеостаза по време на бременност има своето дълготрайно отражение върху новороденото. На по-късен етап от живота, децата на майки, имали ГЗД, са с повишен риск от затлъстяване, нарушения в глюкозния толеранс – предиабет, ЗД тип 2 и сърдечно-съдови заболявания (10, 12-15).

По време на бременността жените с ГЗД имат увеличен риск за развитие на гестационна хипертония, прееклампсия и еклампсия (10). След приключване на бременността, те имат 40-60% по-висок риск за развитие на ЗД тип 2 през следващите 5-15 години, спрямо риска от 15% в общата популация (16, 17).

Хипергликемията по време на бременността несъмнено представлява заплаха за майката и за плода (2). Състоянието би могло да се контролира чрез индивидуален подход, включващ хранителен и двигателен режим, както и инсулин. Понастоящем лечението на ГЗД е фокусирано основно върху мониториране, оценка и контрол на кръвната захар. В клиничната практика се използват два типа показатели – кръвна захар и гликиран хемоглобин (HbA_{1c}) – показател, даващ оценка на гликемията за по-дълъг период от време. Всеки показател има своите недостатъци. Кръвната захар зависи от множество фактори – хранене, психическо състояние, стрес. Тя варира значимо във времето, което я прави недостатъчно точен показател за цялостния гликемичен контрол. За разлика от ЗД, където HbA_{1c} се използва като рутинен диагностичен показател, при ГЗД неговата роля не е доказана. Стойностите на HbA_{1c} по време на бременността се влияят от скъсения полуживот на еритроцитите и релативната анемия в резултат на хемодилуцията (18). Гликираният хемоглобин дава информация за предходните 2-3 месеца, което го прави показател с ниска чувствителност по време на бременност. От друга страна, гликирането на протеините и в частност на албумина, дава информация за гликемията само за предходните 2-3 седмици. Това го прави по-чувствителен показател за гликемичен контрол при едно динамично състояние, каквото е бременността. В допълнение, гликираният албумин (ГА) не се влияе от полуживота на еритроцитите. В проучването HAPO (Hyperglycemia and adverse pregnancy outcome), на базата на което са изградени настоящите препоръки на IADPSG за скрининг за ГЗД, не се предлагат ясни стойности по отношение на показателите за оценка на гликемичния контрол. До момента не е възприета стойност на HbA_{1c} или ГА за поставяне на диагноза ГЗД.

1. Гликиран хемоглобин (HbA_{1c})

Гликираният хемоглобин се формира при неензимно свързване на глюкозата с N-терминалния валин на β -веригата на хемоглобина. Тъй като продължителността на живота на червените кръвни клетки е 120 дни, то HbA_{1c} дава отраже-

ние за глюкозната концентрация за предходните 2-3 месеца (19). Установено е, че 50% от HbA_{1c} отразява нивото на гликемията за предходния 1 месец; 25% – за последните 1-2 месеца и 25% – за последните 2-4 месеца. Гликираният хемоглобин A_{1c} е утвърден в клиничната практика показател, представляващ „златен стандарт“ за оценка на гликемичния контрол при лица със ЗД (20).

През 2008г. на среща на Международен експертен комитет, включващ представители на Американската Диабетна Асоциация (ADA), Международната Диабетна Федерация (IDF) и Европейската Асоциация за Изучаване на Диабета (EASD), се утвърждават препоръки относно ролята му за диагнозата на ЗД. Съгласно тях, $HbA_{1c} \geq 6,5\%$ е диагностичен критерий за поставяне на диагноза ЗД. Изследването на HbA_{1c} трябва да е проведено с лабораторен метод, който е сертифициран от Националната Програма за Стандартизиране на Гликиран хемоглобин – NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program). Тестът трябва да бъде повторен с изключение на случаите, когато са налице симптоми на хипергликемия или случайна кръвна захар $\geq 11,1$ ммол/л (21). На базата на този доклад ADA в стардартите си за медицински грижи при ЗД от 2010 г. въвежда HbA_{1c} като диагностичен критерий за ЗД, като диагнозата се поставя при стойности на показателя $\geq 6,5\%$ (22). В началото на 2011 г. СЗО публикува доклад, съгласно който HbA_{1c} се въвежда като средство за диагноза на ЗД при прагова стойност 6,5%. Посочва се, че под тази стойност не се изключва наличието на ЗД, диагностициран на базата на измерването на кръвната захар (23). Нараства и неговото приложение при оценка на предиабетните състояния (HbA_{1c} 5,7-6,4%) (24), като за българската популация Танкова и колектив определят стойност на HbA_{1c} над 5,5% (оптимална чувствително и специфичност), а за поставяне на диагноза на ЗД – стойност над 6,1% (25).

Тъй като бременните жени най-често не се включват в проучвания, по-малко данни са налични за значението на HbA_{1c} в клиничната практика. От проведените проучвания и метаанализи се установява значима и независима връзка между нивата на HbA_{1c} и честотата на ГЗД, която се простира и в диапазона от стойности на показателя под характерните за захарен диабет (26, 27). В наши изследвания установихме значимо по-високи нива на HbA_{1c} в група с ГЗД спрямо контролна група. Тези стойности са значимо по-ниски спрямо описаните в литературата при пациенти с новодиагностициран ЗД. Поради тази причина е необходимо определяне на отделна

прагова стойност на HbA_{1c} за диагностициране на ГЗД и използването ѝ като средство за скрининг при нарушения в глюкозния толеранс по време на бременност. Съчетание на оптимална чувствителност (64,7%) и специфичност (62%) доказахме при прагова стойност на $HbA_{1c} \geq 5,6\%$. При тази стойност, обаче, в около 1/3 от случаите се получи фалшиво негативни, а в друга 1/3 фалшиво позитивни резултати. Литературните данни сочат, че при тези жени, които ще останат недиагностицирани, рискът за развитие на неблагоприятен изход от бременността е минимален (28). Следователно, жените, които попадат в интервала 5-6% за HbA_{1c} трябва да проведат ОГТТ. Mathiesen и колектив установяват прагова стойност на HbA_{1c} 5,6%, като според тях над тази стойност се наблюдава 3-кратно увеличен риск от макрозомия на плода и 6-кратно по-висок риск от неонатална хипогликемия (29). Подобно на посочените резултати, Rajput и колектив установяват сходни стойности на HbA_{1c} (5,95%) за поставяне на диагноза ГЗД и съчетание на оптимална чувствителност и специфичност при HbA_{1c} 5,45% (30). От друга страна, установихме значима положителна връзка между HbA_{1c} и плазмената глюкоза на гладно, както и на 120 минута в хода на ОГТТ. Тези данни сочат, че двата метода се допълват. Подобни резултати се установяват и в голям брой проучвания, чиято основна цел е определянето на прагова стойност на HbA_{1c} при предиабетните състояния (нарушена гликемия на гладно и/или нарушен глюкозен толеранс) (31). Тези данни ни дават основание да предполагаваме, че ГЗД с право би могъл да се разглежда като предиабетно състояние, подобно на НГТ и НГТ.

O'Shea и колектив определят триместър-специфични нива на HbA_{1c} на базата на изследване на 311 жени, от които 246 бременни без ЗД и 65 небременни контроли (32). Те ги разделят на 3 групи, според гестационната възраст – I, II и III триместър. Определени са референтни стойности на HbA_{1c} за здравите контроли – 4,8-5,5%, за I триместър 4,3-5,4%, за II триместър 4,4-5,4% и за III триместър 4,7-5,7%, като нивата на HbA_{1c} са значимо по-ниски спрямо контролна група. Провеждайки ретроспективен анализ, те установяват, че при 46% от пациентките, които са с диагностициран ГЗД според критериите на IADPSG (използвана кохорта от проучването HAPO), е било достатъчно изследването на HbA_{1c} (DCCT $\geq 5,4\%$). Поради тази причина, авторите препоръчват рутинното въвеждане на изследване на HbA_{1c} през II триместър от бременността като диагностичен маркер за ГЗД. С

въвеждането му в клиничната практика ще намалее броят на провежданите ОГТТ (32).

Гликираният хемоглобин все още не е приет като показател за диагностициране на ГЗД. Знае се, че нивото му е понижено, което е резултат от фето-плацентарната глюкозна утилизация, скъсения полуживот на еритроцитите и при повечето бременности с диабет – подобрен гликемичен контрол (33, 34). Въпреки това, някои проучвания сред бременни със и без ЗД установяват покачване на HbA_{1c} от началото на втория и третия триместър (34, 35). Един от главните недостатъци на HbA_{1c} е, че се наблюдават бифазни промени в нивото му по време на бременност, както и най-ниско ниво, установено през 24 гестационна седмица (36). От друга страна, за разлика от албумина, нивото на HbA_{1c} се покачва при наличието на желязо-дефицитна анемия, каквато често се наблюдава по време на бременност, независимо от нивото на кръвната захар (35).

При жените, които имат ГЗД и при тези, които имат повишен риск за развитие на такъв, HbA_{1c} може да бъде показател за неблагоприятен изход от бременността и/или постпартално развитие на ЗД. Въпреки натрупаните данни, до момента няма изградени препоръки за използване на HbA_{1c} в диагностичния подход при ГЗД.

2. Фруктозамин

По време на бременност, за първи път през 1977 г. Peterson описва гликиране на протеини, които са с по-кратък полуживот спрямо хемоглобина и които биха могли да бъдат маркер за гликемичен контрол (37). Той установява, че албуминът е протеин, който претърпява в най-голяма степен гликиране, като под термина фруктозамин се възприемат гликоалбуминът и тоталният/общ гликиран протеин.

И фруктозаминът, и гликираният хемоглобин се използват за оценка на гликемичния контрол, но тъй като полуживотът на гликирания хемоглобин е 6-8 седмици, той отразява гликемичния контрол за по-дълъг период от време, спрямо фруктозамина, чийто полуживот е само 2-3 седмици. Заради краткия полуживот на фруктозамина, той е с по-голяма чувствителност по отношение на бързо настъпващите промени в хода на бременността. Въпреки високата си чувствителност, обаче, фруктозаминът не се налага като диагностичен показател за ГЗД. Agarwal и колеги при изследване на 849 бременни жени, установяват висока чувствителност, но ниска специфичност, което налага провеждане на ОГТТ при всеки 4 от 5 жени, които са потенциални за развитие на ГЗД (38).

3. Гликиран албумин (ГА)

Гликираният албумин е кетоамин, който се образува при неензимна реакция на свързване между четири лизинови участъка на албумина с глюкозата. Образува се по схожен механизъм на HbA_{1c}, но афинитетът за свързване на албумина с глюкозата е 4,5 пъти по-голям спрямо този на хемоглобина с глюкозата (39). Тъй като полуживотът на ГА е около 14 дни, той ще е показател за гликемичния контрол за предходните 2-3 седмици спрямо предходни 2-3 месеца за HbA_{1c}. В допълнение се смята, че ГА е по-добър показател за постпрандиалната кръвна захар спрямо HbA_{1c} (35). Бременността е динамично състояние, което изисква постоянен контрол и поради това ГА ще отразява по-добре нивото на гликемията. При нормално протичаща бременност, желязният дефицит прогресира постепенно, което води и до фалшиво по-високи нива на HbA_{1c}. Това прави HbA_{1c} недостовоерен показател, най-вече в крайните етапи на бременността. При екзогенно запълване на нивата на желязо, такива промени в нивото на HbA_{1c} могат да не се наблюдават. От друга страна, Hashimoto и сътрудници доказват, че ГА не се влияе от желязния дефицит и анемията по време на бременност (40). Не трябва да се пренебрегва фактът, че ГА се влияе от метаболизма на албумина. С особено внимание трябва да се разглеждат случаите на нефрозен синдром, както и с нарушения в тиреоидната функция.

В друго проучване на Hashimoto и сътрудници, имащо за цел да анализира връзката между показателите за гликемичен контрол (HbA_{1c} и ГА) и изхода от бременността, авторите установяват линейна зависимост между ГА и неблагоприятен изход от бременността (39). Авторите вземат горната референтна стойност на показателите за гликемичен контрол при нормално протичаща бременност (HbA_{1c} 5,7% и ГА 15,7%), а по отношение на неонаталните усложнения - честотата на неонатална хипогликемия, полицитемия и респираторен дистрес синдром. Установяват по-висока честота на усложнения при стойност на ГА >15,7% спрямо стойност <15,7%. Такава линейна зависимост не се установява при жените с HbA_{1c} >5,7% спрямо <5,7%. Авторите смятат, че са необходими допълнителни анализи, както и оценка на желязния статус, но ГА се е оказал по-надежден показател по отношение на неблагоприятния изход от бременността (39).

При пациенти със ЗД тип 1 или тип 2, Yoshiuchi и сътрудници потвърждават връзка

та между ГА и кръвната захар и между HbA_{1c} и кръвната захар, като ГА е бил по-добър показател за мониториране на кръвната захар при пациентите със ЗД (41).

Заклучение

Гликираният хемоглобин не е точен показател за оценка на гликемията при всички пациенти със ЗД. При определени пациенти се наблюдава гликемична „дупка“, като паралелното изследване на ГА и HbA_{1c} би дало по-точна оценка за нивото на гликемията.

Считаме, че самостоятелното използване на HbA_{1c} не може да бъде препоръчано за поставяне на диагноза ГЗД. При стойности на HbA_{1c} между 5 и 6% трябва да се проведе ОГТТ. Налице са редица фактори, които правят HbA_{1c} неблагоприятен маркер за скрининг за ГЗД, част от които са скъсенят полуживот на еритроцитите, релативната анемия в резултат на хемодилуцията, гестационната седмица, в която се изследва, наличието на често срещана желязо-дефицитна анемия. Изследването на ГА като показател за оценка на гликемичен контрол може да допринесе както за диагноза на ГЗД, така и за мониториране на гликемичния контрол при бременни жени с ГЗД и със ЗД. Краткият полуживот на ГА дава предимство пред HbA_{1c} при едно динамично състояние, каквото е бременността. Необходимо е провеждане на епидемиологично изследване, с което освен да бъдат изработени референтни стойности, да се докаже ролята на ГА по време на бременност.

1. **International Diabetes Federation.** IDF Diabetes Atlas 6th ed., URL: http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf, 2013.
2. **Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al.** International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010; 33 (3): 676-682.
3. **Boyadzhieva MV, Atanassova I, Zacharieva S, Tankova T, Dimitrova V.** Comparative analysis of current diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *Obstetric Medicine* 2012; 5(2): 1-77.
4. **Hod M, Kapur A, Sacks DA, Hadar E, Agarwal M, Di Renzo GC, et al.** The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int J Gynaecol Obstet* 2015; 131(3): 30007-2.
5. **Jarrett RJ.** Reflections on gestational diabetes mellitus. *Lancet* 1981; 2(8257): 1220-1221.
6. **Hunter DJ.** Screening for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161(5): 1423-1424.
7. **Spellacy WN, Miller S, Winegar A, Peterson PQ.** Macrosomia-maternal characteristics and infant complications. *Obstet Gynecol* 1985; 66(2): 158-161.
8. **Cordero L, Landon MB.** Infant of the diabetic mother. *Clin Perinatol* 1993; 20(3): 635-648.
9. **Hod M, Merlob P, Friedman S, Schoenfeld A, Ovdia J.** Gestational diabetes mellitus. A survey of perinatal complications in the 1980s. *Diabetes* 1991; 2: 74-78.
10. **Davey RX, Hamblin PS.** Selective versus universal screening for gestational diabetes mellitus: an evaluation of predictive risk factors. *Med J Aust* 2001; 174(3): 118-121.
11. **Ferrara A, Hedderson MM, Quesenberry CP, Selby JV.** Prevalence of gestational diabetes mellitus detected by the national diabetes data group or the carpenter and coustan plasma glucose thresholds. *Diabetes Care* 2002; 25(9): 1625-1630.
12. **Opara PI, Jaja T, Onubogu UC.** Morbidity and mortality amongst infants of diabetic mothers admitted into a special care baby unit in Port Harcourt, Nigeria. *Ital J Pediatr* 2010; 36(1): 77.
13. **Vohr BR, McGarvey ST, Tucker R.** Effects of maternal gestational diabetes on offspring adiposity at 4-7 years of age. *Diabetes Care* 1999; 22(8): 1284-1291.
14. **Schaefer-Graf UM, Pawliczak J, Passow D, Hartmann R, Rossi R, Buhner C, et al.** Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(7): 1745-1750.
15. **Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR.** Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* 2005; 115(3): e290-e296.
16. **Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al.** Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30 (Suppl 2): S251-S260.
17. **O'Sullivan JB.** Diabetes mellitus after GDM. *Diabetes* 1991; 40 (Suppl 2): 131-135.
18. **Panzer S, Kronik G, Lechner K, Bettelheim P, Neumann E, Dudczak R.** Glycosylated hemoglobins (GHb): an index of red cell survival. *Blood* 1982; 59(6): 1348-1350.
19. **Sacks DB.** A1C versus glucose testing: a comparison. *Diabetes Care* 2011; 34(2): 518-523.
20. **Hanas R, John G.** 2010 consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. *Diabetes Care* 2010; 33(8): 1903-1904.
21. **Gillett MJ.** International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32(7): 1327-1334; *Clin Biochem Rev* 2009; 30(4): 197-200.
22. **Standards of medical care in diabetes -2010.** *Diabetes Care* 2010; 33 Suppl 1: S11-61.
23. **Organisation WHO.** Use of Glycated hemoglobin (HbA_{1c}) in the diagnosis of diabetes mellitus. 2011.

24. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011; 378 (9786): 169-181.
25. Tankova T. Assessment of total and individual risk for diabetes mellitus. Doctoral thesis, Sofia Medical University, 2012 (In Bulgarian). (Оценка на общ и индивидуален риск за захарен диабет. Дисертационен труд за присъждане на научна степен „Доктор на медицинските науки“, 2012).
26. Agarwal MM, Dhath GS, Punnose J, Koster G. Gestational diabetes: a reappraisal of HbA_{1c} as a screening test. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84(12): 1159-1163.
27. Moses RG. HbA_{1c} and the diagnosis of gestational diabetes mellitus—a test whose time has not yet come. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98(1): 3-4.
28. Aldasouqi SA, Solomon DJ, Bokhari SA, Khan PM, Muneera S, Gossain VV. Glycohemoglobin A1c: A promising screening tool in gestational diabetes mellitus. *Int J Diabetes Dev Ctries* 2008; 28(4): 121-124.
29. Mikkelsen MR, Nielsen SB, Stage E, Mathiesen ER, Damm P. High maternal HbA_{1c} is associated with overweight in neonates. *Dan Med Bull* 2011; 58(9).
30. Rajput R, Yogesh Y, Rajput M, Nanda S. Utility of HbA_{1c} for diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98(1): 104-107.
31. Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med* 2010; 7(5): 1000278.
32. O'Shea P, O'Connor C, Owens L, Carmody L, Avalos G, Nestor L, et al. Trimester-specific reference intervals for IFCC standardised haemoglobin A (1c): new criterion to diagnose gestational diabetes mellitus (GDM)? *Ir Med J* 2012; 105(5 Suppl): 29-31.
33. Mills JL, Jovanovic L, Knopp R, Aarons J, Conley M, Park E, et al. Physiological reduction in fasting plasma glucose concentration in the first trimester of normal pregnancy: the diabetes in early pregnancy study. *Metabolism* 1998; 47(9): 1140-1144.
34. Lurie S, Mamet Y. Red blood cell survival and kinetics during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 93(2):185-192.
35. Hashimoto K, Noguchi S, Morimoto Y, Hamada S, Wasada K, Imai S, et al. A1C but not serum glycosylated albumin is elevated in late pregnancy owing to iron deficiency. *Diabetes Care* 2008; 31(10):1945-1948.
36. Phelps RL, Honig GR, Green D, Metzger BE, Frederiksen MC, Freinkel N. Biphasic changes in hemoglobin A1c concentrations during normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 147(6): 651-653.
37. Peterson CM, Jones RL. Minor hemoglobins, diabetic „control“, and diseases of postsynthetic protein modification. *Ann Intern Med* 1977; 87(4): 489-491.
38. Agarwal MM, Dhath GS, Othman Y, Ljubisavljevic MR. Gestational diabetes: an evaluation of serum fructosamine as a screening test in a high-risk population. *Gynecol Obstet Invest* 2011; 71(3): 207-212.
39. Hashimoto K, Koga M. Indicators of glycemic control in patients with gestational diabetes mellitus and pregnant women with diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2015; 6(8): 1045-1056.
40. Hashimoto K, Osugi T, Noguchi S, Morimoto Y, Wasada K, S. Imai, et al. A1C but not serum glycosylated albumin is elevated because of iron deficiency in late pregnancy in diabetic women. *Diabetes Care* 2010; 33(3): 509-511.
41. Yoshiuchi K, Katakami N, Nakatani Y, Sakamoto K, Matsuoka T, Umayahara Y, et al. Glycosylated albumin is a better indicator for glucose excursion than glycosylated hemoglobin in type 1 and type 2 diabetes. *Endocrine Journal* 2008; 55: 503-507.

Address for correspondence:

Д-р Мария Бояджиева

Клиничен Център по Ендокринология,
УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“,
Медицински Университет, София
„Здраве“ №2, София 1431, България
E-mail: mariq_b@yahoo.com

Maria Boyadzhieva, MD

Clinical Center of Endocrinology,
USHATE „Acad. Ivan Penchev“,
Medical University, Sofia
2, Zdrave Street, 1431 Sofia, Bulgaria
E-mail: mariq_b@yahoo.com

Нива на дехидроепиандростерон-сулфат (DHEA-S) при жени със синдром на поликистозни яйчници

Няголова, Пресияна В., Колева, Даниела Ив., Митков, Митко Д., Орбецова, Мария М.

Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Георги“, МУ, Пловдив

Адрес за кореспонденция:

Д-р Пресияна Няголова

Клиника по Ендокринология и болести на обмяната,
УМБАЛ „Св. Георги“, МУ, Пловдив,
Пловдив - 4000, ул. „Васил Априлов“ №15А,
e-mail: presiyana_nyagolova@abv.bg

Резюме

Синдромът на поликистозни яйчници (PCOS) е най-честата ендокринопатия сред жените в репродуктивна възраст. При около 20-60% от жените с PCOS освен овариална се изявява и надбъбречно-корова хиперандрогенемия, която се характеризира с повишени серумни нива на DHEA-S.

Целта на настоящото проучване е да се анализират нивата на DHEA-S и връзката им с клинични и лабораторни показатели сред българска популация жени с PCOS.

Материали и методи. Проучването обхваща 70 жени с PCOS и контролна група от 22 съответстващи по възраст и BMI клинично здрави жени. При всички участнички в проучването са изследвани базални нива на плазмена глюкоза (FPG), общ холестерол (TC), HDL-холестерол (HDL-C), триглицериди (TG), инсулин (IRI), лутеинизиращ хормон (LH), фоликуло-стимулиращ хормон (FSH), пролактин (PRL), естрадиол (E2), андростендион (A4), тестостерон (T), секс-хормон свързващ глобулин (SHBG), дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-S) и 24-часова кортизолурия. Изчислени са BMI, LDL-холестерол (LDL-C), съотношение LH/FSH, свободен андрогенен индекс (FAI) и HOMA-индекс – по общоприети формули. На всички участнички в проучването са определяни количество и процент мастна тъкан посредством професионален биоимпедансен анализатор на телесния състав (апарат Tanita BC-420).

Резултати. Нивата на андрогените, съотношението LH/FSH, инсулинът и HOMA-индексът са сигнификантно по-високи при жените с PCOS спрямо контролите. След разделяне на пациентките с PCOS според възрастта установихме, че с нива на DHEA-S над горната референтна граница са 18 (25,7%) от жените с PCOS и 2 (9,09%) жени от контролната група ($\chi^2 = 2,72$; $P=0,0992$). Стойности на 17-ОНР над 1,3 са регистрирани при 17 (24,3%) от жените с PCOS и при една жена (4,54%) от контролната група ($\chi^2 = 4,14$; $P=0,0418$). При разделянето на пациентките според BMI не се установи значима разлика в нивата на DHEA-S и 17-ОНР, въпреки високо сигнификантните отклонения в маркерите за инсулинова резистентност и липидния профил.

Заключение. Изследването на надбъбречно-коровите андрогенни прекурсори при жени с PCOS е важно за клиничната практика с оглед комплексна оценка на актуалното и своевременен избор на подходящо терапевтично поведение при жените с PCOS.

Ключови думи: PCOS – надбъбречно-корова хиперандрогенемия – дехидроепиандростерон сулфат

Въведение

Синдромът на поликистозни яйчници (PCOS) е най-честата ендокринопатия сред жените в репродуктивна възраст (1). Изявява се с клинична и/или биохимична хиперандрогенемия, олиго/аме-

норея, поликистозно променени яйчници, като често се съпътства от инфертилитет, наднормено тегло и затлъстяване, нарушения във въглехидратния и липидния метаболизъм (2). Хетерогенността в изявата на PCOS налага преди поставяне на диагнозата да се изключат групи

причини, водещи до PCOS-подобен фенотип – нарушения в тиреоидната функция, в пролактиновата секреция, в надбъбречната стероидна продукция и др. Патогенезата на синдрома остава неясна, но се приема, че основните ендокринни отклонения, водещи до разнообразните му фенотипни прояви са инсулиновата резистентност и хиперандрогенемията. При около 20-60% от жените с PCOS освен овариална, се изявява и надбъбречно-корова хиперандрогенемия, която се характеризира с повишени серумни нива на DHEAS (3).

Кората на надбъбречните жлези произвежда три стероидни хормона с различна андрогенна активност – дехидроепиандростерон (DHEA), андростендион (A4) и тестостерон (T). Значителна част от DHEA се сулфатизира чрез ензима DHEA сулфотрансфераза (DHEA-ST) и получения DHEA-сулфат (DHEA-S) се освобождава в кръвообращението. Малка част от DHEA се метаболизира до A4, като това представлява почти цялото количество A4 (4). До скоро се приемаше, че надбъбречната кора не произвежда T, но неотдавнашни проучвания показват, че малки количества от този мощен андроген могат да бъдат синтезирани директно от надбъбречната кора след ензимно въздействие върху A4 (5).

При физиологични условия надбъбречната кора е с доста по-малък андрогенен потенциал от яйчиците. При жените андрогените служат главно като прекурсори за биосинтеза на естрогени и техните нива започват да намаляват 3-4 години преди менопаузата (6). Както при здрави жени, така и при пациентките с PCOS се наблюдава значителен спад в надбъбречната андрогенна продукция след 30 г. възраст (7). Базалните серумни нива на яйчиците андрогени, обаче, само леко се повлияват и остават сравнително стабилни до менопаузата (8).

Целта на нашето проучване е да се анализират нивата на DHEAS и да се потърси връзката им с някои клинични и лабораторни показатели при българска популация жени с PCOS.

Материали и методи

Проучването е проведено при 70 пациентки с PCOS, хоспитализирани в Клиника по Ендокринология и болести на обмяната при УМБАЛ „Св. Георги“, МУ, Пловдив и контролна група от 22 клинично здрави жени, съответстващи по възраст и BMI на пациентките с PCOS. Проучването е одобрено от Комисията по Медицинска Етика при МУ, Пловдив и всички участнички са декларирани писмено съгласие за участие. Диагнозата PCOS е поставяна според т. нар. Ротердамски критерии – наличие на поне 2, от следните 3: клинична и/или биохимична хиперандрогения, олиго/аменорея, ехографски данни за поли-

кистозно променени яйчици. Изследванията са извършвани в ранна фоликулинова фаза – 2-5-ти ден след спонтанно получен менструален цикъл и до 7-ми ден след прогестерон индуцирано отпадно кървене.

Лабораторни изследвания. Базални нива на плазмена глюкоза (FPG), общ холестерол (TC), HDL-холестерол (HDL-C), триглицериди (TG) са изследвани на клинично-химичен анализатор Konelab 60i, Thermo Electron Corporation (Финландия). Имунореактивен инсулин (IRI), лутеинизиращ хормон (LH), фоликуло-стимулиращ хормон (FSH), естрадиол (E2), андростендион (A4), тестостерон (T), секс-хормон свързващ глобулин (SHBG), дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-S), 24-часова кортизолурия и пролактин (PRL) са определени чрез хемилуминисцентен имунологичен анализ (CLIA) с помощта на анализатор ACCESS Immunoassay System, а 17-хидроксипрогестерон (17 OHP) – чрез ELISA метод. Допълнително са изчислявани BMI, LDL-холестерол (LDL-C), съотношение LH/FSH, свободен андрогенен индекс (FAI) и HOMA-индекс – по общоприети формули. На всички участнички в проучването са определени количество и процент мастна тъкан посредством професионален биоимпедансен анализатор на телесния състав (апарат Tanita BC-420).

Условие за включване в проучването е липса на остри и хронични съпътстващи заболявания и прием на медикаменти, повлияващи възглехидратния и липидния метаболизъм, телесното тегло и хормоналните показатели през последните най-малко 3 месеца. Не са включвани жени със значително отклонение в телесното тегло (BMI под 18 и над 40 кг/м²). За изключване на надбъбречно-корова патология, при някои от пациентките е провеждан стимулационен или супресионен тест.

Статистическата обработка е извършена със софтуерен пакет IBM SPSS Statistic 20. Резултатите са представени като средна аритметична ± стандартна грешка на средната аритметична (mean ± SEM). Приет е коефициент на доверителност (CI) 95% и ниво на значимост P < 0,05. Според разпределението на променливите и големината на изследваните групи са използвани параметрични или непараметрични методи за анализ.

Резултати:

Изследвани са 70 жени с PCOS на възраст от 16 до 39 г. (ср. възраст 25,06 ± 0,69 г.) и BMI между 18 и 39,5 кг/м² (ср. BMI 26,50 ± 0,83 кг/м²) и контролна група от 22 клинично здрави жени, съответстващи по възраст (от 20 до 34 г., ср. възраст 26,78 ± 1,7 г., P > 0,05) и BMI (от 18 до 28,1 кг/м², ср. BMI 23,36 ± 1,4 кг/м², P > 0,05). Резултатите от проследяваните показатели са предста-

вени в Таблицы 1-4.

При параметричен корелационен анализ се получиха следните сигнификантни корелации: за **DHEA-S** – положителни с Т (R=0,717; P<0,01), FAI (R= 0,558; P<0,01), 17-ОНР (R= 0,623; P<0,01), А4 (R= 0,558; P<0,01), свободен кортизол в урина (R= 0,432; P<0,01), % мастна тъкан (R= 0,515; P<0,01) и отрицателни със SHBG (R= -0,294; P<0,05), ТС (R= -0,320; P<0,05) и възраст (R= -0,319; P<0,05). С известни различия са сигнификантните корелации на **17-ОНР** – положителни с LH (R= 0,404; P<0,05), LH/FSH (R= 0,372; P<0,05), Т (R= 0,668; P<0,01), А4 (R= 0,706; P<0,01) и отрицателна с възрастта (R= -0,437; P<0,05). **A4** корелира сигнификантно положително с LH/FSH (R=0,452; P<0,01), Т (R= 0,752; P<0,01), FAI (R= 0,473; P<0,01), гранично положително с LH (R= 0,317; P=0,073) и гранично отрицателно с FSH (R= -0,346; P=0,052). Освен споменатите вече взаимозависимости, **възрастта** корелира сигнификантно и с още няколко от проследяваните показатели – положително с BMI (R= 0,260; P<0,05), ТС (R= 0,487; P<0,01), LDL-C (R= 0,435; P<0,01), TG (R= 0,313; P<0,05) и отрицателно с LH (R=-0,381; P<0,01) и съотношението LH/FSH (R=-0,332. Трябва да се

посочи, обаче, и тенденция към значимост на взаимовръзката и с други андрогенни маркери - Т (R= -0,216; P=0,079), FAI (R= -0,230; P=0,088).

Знае се, че нивата на DHEA-S се понижават с възрастта, поради което съществуват различни референтни граници за отделните възрастови групи. Съобразявайки се с този факт, разпределихме жените в отделни подгрупи и сравнихме получените резултати (Табл. 2).

Установихме, че с нива на DHEA-S над горната референтна граница са 18 (25,7%) от жените с PCOS и 2 (9,09%) жени от контролната група ($\chi^2 = 2,72$; P=0,0992). Стойности на 17-ОНР над 1,3 са регистрирани при 17 (24,3%) от жените с PCOS и при една жена (4,54%) от контролната група ($\chi^2 = 4,14$; P=0,0418).

Обсъждане

Установено е, че 25% от нивата на А4 и Т са с яйчников произход, 25% – с надбъбречен и 50% се произвеждат в периферните тъкани. От друга страна, кората на надбъбречната жлеза е отговорна за почти цялото количество DHEA-S (9). Циркулиращият DHEA-S, изглежда, е най-дос-

Таблица 1.

Клинична, метаболитна и хормонална характеристика на жените с PCOS и клинично здравите жени.

Параметри (mean ± SEM)	PCOS (n=70)	Контроли (n=22)	P
Възраст (г.)	25,06±0,69	26,78±1,7	NS
BMI (kg/m ²)	26,50±0,83	23,36±1,4	NS
Мазнини (%)	33,45±6,15	32,42±1,44	NS
FPG (mmol/l)	5,15±0,11	4,76±0,16	P=0,074
IRI (mIU/ml)	7,23±0,52	3,66±0,37	P=0,0003
НОМА-индекс	1,68±0,15	0,79±0,09	P=0,001
ТС (mmol/l)	4,71±0,11	4,31±0,21	P=0,084
HDL-C (mmol/l)	1,35±0,04	1,49±0,07	P=0,089
LDL-C (mmol/l)	2,89±0,09	2,93±0,23	NS
TG (mmol/l)	1,05±0,08	0,8±0,08	P=0,099
LH (IU/l)	7,24±0,67	4,92±0,81	P=0,073
FSH (mIU/ml)	6,91±0,21	7,67±0,49	NS
LH/FSH	1,11±0,11	0,67±0,11	P=0,035
E2 (pmol/l)	274,94±22,47	221,75±28,33	NS
PRL (mU/l)	348,95±28,96	190,05±39,27	P=0,058
T (ng/ml)	0,63±0,03	0,34±0,04	P=0,0001
SHBG (nmol/l)	39,14±3,17	60,26±5,55	P=0,001
FAI	9,31±1,24	1,99±0,17	P=0,014
A4 (ng/ml)	4,82±0,38	2,52±0,20	P=0,001
17ОНР (ng/ml)	1,0±0,08	0,73±0,09	P=0,078
DHEA-S (µg/dl)	269,30±17,7	175,5±20,35	P=0,006
Кортизолурия (nmol/24h)	424,25±25,12	374,2±45,06	NS

тълният маркер за надбъбречнокорова андрогенна продукция. Поради високия секреторен потенциал и нисък метаболитен клирънс, нивата му са достатъчно високи и с малки генонощни колебания. От значение е, че той е лесно и точно измерим чрез комерсиалните имунологични китове (10). DHEA-S, обаче, не е категоричен маркер за надбъбречнокоров хиперандрогенизъм, тъй като при някои форми на вродена надбъбречнокорова хиперплазия (ВНХХ) например, той често е в референтни граници (11). Вероятна причина за това е, че голяма част от прекомерно синтезирания DHEA се отклонява предимно за производство на А4. Следователно, нормалните стойности на DHEA-S **не изключват** съществуването на надбъбречен андрогенен излишък. Ето защо, в някои случаи се налага изследване и на други надбъбречнокорови показатели и/или провеждане на динамични тестове с оглед коректна оценка на състоянието.

Изследването на 17-ОНР заедно с кортизол и А4, представлява най-добрият скрининг тест за ВНХХ, причинена от 21- или 11-хидроксилазен дефицит. Той е изключително добър маркер за диаг-

ностициране на неклассическите форми на ВНХХ, които протичат с PCOS-подобен фенотип.

Според редица автори, завишени нива на DHEA-S се срещат при около 20-30% от жените с PCOS, като в референтните стойности се имат предвид възрастовите и расовите различия (7). Ние установихме подобна честота на завишен DHEA-S сред жените с PCOS.

Завишените нива на надбъбречнокоровите андрогенни прекурсори при PCOS се свързват с два механизма: (а) съществуващ още до пубертета надбъбречнокоров андрогенен излишък, който увеличава риска от развитие на PCOS и (б) този излишък е отражение на генерализирано усилване на андрогената стероидогенеза при PCOS. В действителност и двата механизма изглеждат вероятни. В подкрепа на първия са наблюденията, че до 50% от момичетата с ранно пубархе впоследствие развиват PCOS. Някои автори дори предполагат, че стресът води до усилена надбъбречнокорова секреция по време на перипубертетния период и увеличава риска от развитие на PCOS (13). Наше по-ранно проучване установи, че нивото на стрес е най-високо

Таблица 2.

Клинична, метаболитна и хормонална характеристика на жените с PCOS, разпределени по възраст.

Параметри (mean ± SEM)	до 21г.	22-30г.	над 30г.
	(n=21)	(n=36)	(n=13)
Възраст (г.)	18,8±0,38	25,51±0,44	34,17±0,66
BMI (kg/m ²)	24,17±0,95	26,87±1,16	28,86±2,48*
Мазнини %	30,97±1,72	34,03±2,20	30,38±3,92
FPG (mmol/l)	4,98±0,12	5,27±0,17†	5,24±0,28
IRI (mIU/ml)	7,16±0,64††	6,83±0,78††	8,46±1,76††
HOMA-IR	1,60±0,16††	1,60±1,10	2,08±0,57††
TC (mmol/l)	4,27±0,16	4,68±0,14	5,48±0,22*##††
HDL-C (mmol/l)	1,23±0,06††	1,35±0,06	1,36±0,12
LDL-C (mmol/l)	2,66±0,13	2,86±0,13	3,61±0,15##†
TG (mmol/l)	0,82±0,07	1,09±0,14	1,35±0,22##††
LH (IU/l)	10,56±1,67††	6,19±0,68*	5,18±1,04#
FSH (mIU/ml)	6,73±0,40	6,95±0,31	6,80±0,56
LH/FSH	1,64±0,27††	0,91±0,12**	0,87±0,20
E2 (pmol/l)	264,11±29,66	292,03±39,79	231,09±34,70
PRL (mU/l)	323,38±49,84†	390,38±37,83††	270,65±96,14
T (ng/ml)	0,74±0,06††	0,62±0,04††	0,55±0,09†
SHBG (nmol/l)	31,74±3,95††	42,74±5,11†	41,40±8,17†
FAI	13,07±3,08††	7,59±1,15*††	8,15±2,32††
A4 (ng/ml)	6,48±0,87††	4,22±0,46††	4,51±0,73††
17ОНР (ng/ml)	1,35±0,17††	1,02±0,13	0,74±0,10#
DHEA-S (µg/dl)	334,99±31,79††	264,91±24,46†	200,56±34,99#
Кортизолурия (nmol/24h)	453,24±57,64	396,82±27,17	413,13±50,81

* P<0,05; ** P<0,01 – сигнификантност на разликите с предходната група;
P<0,05; ## P<0,01 – сигнификантност на разликите между групите до 21 г. и над 30 г.
† P<0,05; †† P<0,01 – сигнификантност на разликите спрямо контролната група (вж. Табл.1).

Таблица 3.

Клинична, метаболитна и хормонална характеристика на жените с PCOS, разпределени според BMI 26,8 kg/m².

Параметри (mean ± SEM)	BMI ≤ 26,8 kg/m ² (n=43)	BMI > 26,8 kg/m ² (n=27)	P
Възраст (г.)	24,02±0,84	26,69±1,45	0,060
BMI (kg/m ²)	22,00±0,39	33,67±1,03	0,0001
Мазнини (%)	28,42±1,43	37,77±2,14	0,001
FPG (mmol/l)	5,01±0,08	5,36±0,23	0,099
IRI (mIU/ml)	5,21±0,38	10,46±0,84	0,0001
HOMA-индекс	1,16±0,08	2,52±0,27	0,0001
TC (mmol/l)	4,54±0,14	4,93±0,15	0,074
HDL-C (mmol/l)	1,41±0,05	1,24±0,07	
LDL-C (mmol/l)	2,78±0,11	3,07±0,45	NS
TG (mmol/l)	0,74±0,03	1,50±0,16	0,0001
LH (IU/l)	7,74±0,85	6,38±1,07	NS
FSH (mIU/ml)	7,00±0,26	6,78±0,39	NS
LH/FSH	1,13±0,13	1,06±0,20	NS
E2 (pmol/l)	258,74±18,2	300,2±50,3	NS
T (ng/ml)	0,57±0,04	0,72±0,06	0,034
SHBG (nmol/l)	45,41±3,48	29,17±5,52	0,011
FAI	6,11±1,02	14,17±2,43	0,001
A4 (ng/ml)	5,02±0,51	4,50±0,60	NS
17OHP (ng/ml)	1,09±0,12	0,84±0,11	NS
DHEA-S (µg/dl)	262,73±21,4	279,88±31,29	NS
Кортизолурия (nmol/24h)	372,16±20,39	503,43±51,96	0,009

при жени с репродуктивни нарушения, дължащи се на PCOS, сравнено с подобни нарушения в резултат на хиперпролактинемия или тиреоидна дисфункция (14).

Нашите резултати показват, че в групата до 21 г. са най-високите нива на всички андрогенни маркери, но само стойностите на DHEA-S и 17-ОНР сигнифи-

кантно се понижават в следващите две групи. Трябва да се посочи също, че DHEA-S не изяви сигнификантна зависимост с гонадотропните хормони, докато 17-ОНР и особено А4 показват значима корелация с тях.

Редица проучвания показват повишена секреция на надбъбречнокорови андрогенни прекурсори при PCOS в отговор на АСТН стимулация (15), особено при пациентки с повишен DHEA-S (16). Това предполага, че адренокортикалният андроген биосинтез е по-изявен при PCOS, без да става ясно обаче, дали причината е интраадrenalна или се дължи на периферни фактори. Съобразявайки се с референтните стойности за възрастта, разделихме пациентите на две подгрупи - с нормални и повишени стойности на DHEA-S (Табл. 2).

В групата с висок DHEA-S стойностите на Т, FAI, LH, LH/FSH и А4 са сигнификантно по-високи от съответните в групата с нормален DHEA-S. Това подкрепя твърдението на някои автори, че овариалният хиперандрогенизъм може да стимулира сулфатирането на DHEA и съответно да повиши циркулиращите нива на DHEA-S при жени с PCOS (17).

Обект на дискусия е отношението на DHEA-S към **въглехигратния метаболизъм** при PCOS. Нашите резултати не показват пряка зависи-

мост на надбъбречнокоровите андрогенни прекурсори с показателите за инсулинова резистентност. В групата жени над 30 г., обаче, се отчитат най-ниските нива на DHEA-S и 17-ОНР, и най-високите стойности на IRI, HOMA, TC, LDL-C, TG. В проучване от 1990 г. сред здрави доброволци е установено, че има значима корелация между индекса на телесна маса и инсулиновата чувствителност, която се проявява при BMI над 26,8 kg/m². Под тази гранична стойност няма значима корелация (R=0,1), а над тази точка има силно положителна зависимост (R=0,8; P<0,001) (18). Разделихме пациентките на две подгрупи според споменатата вече стойност на BMI (Табл.3). Установихме, че между така оформените подгрупи няма значима разлика в нивата на DHEA-S и 17-ОНР, въпреки високо сигнификантните разлики в показателите на инсулинова резистентност и липидния профил. В свое проучване през 2006 г. Carmina и Lobo намират, че пациенти с повишени нива на DHEA-S обикновено се представят с по-ниски нива на инсулин и по-благоприятни метаболитни и сърдечно-съдови рискови фактори (19). Нашите резултати, обаче, показват, че тези промени са по-скоро възрастово обусловени, отколкото в резултат на хормонални взаимодействия.

Все пак, значително по-високите стойности на 24-часовата уринна екскреция на кортизол, говори за **повишен кортизолов метаболизъм** в групата с BMI>26,8 kg/m².

Затлъстяването може да повлияе агренокортикалната функция чрез намаляване на инсулиновата чувствителност и увеличаване на инсулиновите нива, чрез секреция на адипоцитокени и продукти на хроничното възпаление (20), както и чрез увеличаване на циркулиращите нива на естрогени в резултат на повишена ароматизация в мастната тъкан (21). Въпреки това, проучвания, оценяващи ефекта на затлъстяването върху надбъбречната функция при зрели жени представят противоречиви резултати. Разделихме пациентките на четири подгрупи, според общоприетите критерии за оценка на телесното тегло – с поднормено тегло (BMI<18,5 kg/m²), нормално тегло (BMI=18,5-24,9 kg/m²), наднормено тегло (BMI=25-29,9 kg/m²) и обезитет (BMI ≥ 30 kg/m²) (Табл. 4). Стойностите на DHEAS се повишават успоредно с нарастване на BMI, но без разликите да достигат сигнификантност.

Подобна динамика се отчита за Т и кортизолурията, но повишаването на тези хормони в подгрупите с наднормено тегло и обезитет достига статистическа значимост. С повишаване на BMI, всяка следваща подгрупа е със сигнификантно по-високи стойности на IRI и НОМА. Тези данни насочват повече към асоциация на наднорменото тегло и инсулиновата резистентност с повишен кортизолов метаболизъм, отколкото към андрогенна хиперпродукция.

Възрастта се явява единственият неоспорим фактор, който води до намаляване на овариалната и супраренална андрогенна продукция както при пациентките с PCOS, така и при клинично зрели жени. Нашите резултати също потвърждават тази зависимост.

В заключение, изследването на надбъбречно-коровите андрогенни прекурсори при жени с PCOS е от особена важност за клиничната практика с оглед комплексна и точна преценка на хормоналното състояние на пациентките и своевременно избор на подходящо терапевтично поведение.

Таблица 4.

Клинична, метаболитна и хормонална характеристика на жените с PCOS, разпределени според BMI.

Параметри (mean ± SEM)	BMI<18,5 kg/m ² (n=5)	BMI=18,5-24,9 kg/m ² (n=33)	BMI=25-29,9 kg/m ² (n=15)	BMI>30 kg/m ² (n=17)
Възраст (г.)	25,6±2,34	24,40±1,02	24,13±1,5	27,06±1,43
Мазнини (%)	23,00±4,3	29,36±2,01	32,63±1,64	39,07±2,58#
FPG (mmol/l)	5,26±0,23	5,07±0,13	5,17±0,22	5,26±0,29
IRI (mIU/ml)	4,65±0,94	5,76±0,60	7,31±1,06	10,99±1,01*†
НОМА-индекс	1,09±0,22	1,35±0,19	1,71±0,29	2,53±0,29#
TC (mmol/l)	4,63±0,44	4,48±0,16	5,12±0,22	4,84±0,20
HDL-C (mmol/l)	1,59±0,24	1,34±0,05	1,53±0,12	1,13±0,06
LDL-C (mmol/l)	2,69±0,27	2,70±0,13	3,13±0,22	3,15±0,17
TG (mmol/l)	0,68±0,06	0,90±0,13	1,00±0,15	1,49±0,15#
LH (IU/l)	5,16±1,13	7,36±0,73	9,40±2,19	5,65±1,25
FSH (mIU/ml)	7,74±0,74	6,92±0,31	7,18±0,42	6,43±0,51
LH/FSH	0,67±0,15	1,09±0,13	1,43±0,35	0,97±0,22
E2 (pmol/l)	258,6±43,45	259,63±21,74	327,77±95,64	265,81±21,83
T (ng/ml)	0,30±0,06	0,59±0,04	0,72±0,09‡	0,74±0,08†
SHBG (nmol/l)	47,55±6,62	47,67±4,12	31,38±5,54	26,94±7,58#
FAI	2,71±0,64	5,15±0,58	13,02±3,24	15,59±3,17†#
Andro (ng/ml)	2,62±0,39	5,29±0,49	5,28±1,09	4,97±0,92
17OHP (ng/ml)	0,75±0,09	1,00±0,13	1,18±0,26	0,97±0,15
DHEAS (µg/dl)	153,42±24,82	262,88±21,91	264,83±43,34	327,82±43,39
Кортизолурия (nmol/24h)	275,59±15,89	394,19±28,12	410,77±46,42	544,49±71,35†

* P<0,05; ** P<0,01 – сигнификантност на разликите с предходната подгрупа;
 # P<0,05; ## P<0,01 – сигнификантност на разликите между подгрупите 2 и 4.
 † P<0,05; ‡ P<0,01 – сигнификантност на разликите между подгрупите 1 и 4.
 ‡ P<0,05; ‡‡ P<0,01 – сигнификантност на разликите между подгрупите 1 и 3.

Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEA-S) Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

Nyagolova, Presiyana V., Koleva, Daniela Iv., Mitkov, Mitko D., Orbetzova, Maria M.

Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, „Sv. Georgy“ University Hospital, Medical University, Plovdiv

Address for correspondence:

Presiyana Nyagolova, MD

Clinic of Endocrinology and metabolic diseases,
„Sv. Georgy“ University Hospital, Medical University, Plovdiv
Plovdiv 4000, 15A „Vassil Aprilov“ Blvd.,
e-mail: presiyana_nyagolova@abv.bg

Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrinopathy among women of reproductive age. In about 20-60% of women with PCOS except ovarian, also adrenocortical hyperandrogenism is manifested, which is characterized by elevated serum levels of DHEA-S.

The aim of our study was to analyze the levels of DHEA-S and their association with clinical and laboratory parameters among Bulgarian population of PCOS women.

Materials and methods: The study included 70 patients with PCOS and a control group of 22 age and BMI matched clinically healthy women. In all study participants the following parameters were tested: basal levels of fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), insulin, luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), prolactin (PRL), estradiol (E2), androstenedione (A4), testosterone (T), sex hormone binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), and 24-Hour urine cortisol excretion. Additionally, BMI, LDL-cholesterol (LDL-C), LH/FSH ratio, free androgen index (FAI) and HOMA-index were calculated according to the generally accepted formulas. Fat mass (kg and %) was determined by professional high capacity body composition analyzer (Tanita BC-420).

Results: Androgen levels, LH / FSH ratio, insulin, HOMA-index were significantly higher in the PCOS women compared to the controls. After dividing PCOS patients in subgroups according to the age, we found that with levels of DHEA-S over the upper limit were 18 (25,7%) of women with PCOS and 2 (9,09%) of the women in the control group ($\chi^2 = 2,72$; $P = 0,0992$). Values of 17-OHP over 1,3 were recorded in 17 (24,3%) of women with PCOS and in one woman (4,54%) in the control group ($\chi^2 = 4,14$; $P = 0,0418$). When we divided the patients according to the BMI, we found that between the formed subgroups there was no significant difference in the levels of DHEA-S and 17-OHP, despite of the highly significant abnormalities in markers of insulin resistance and lipid profile.

Conclusion. Determining adrenocortical androgenic precursors in PCOS women with is of essential significance for the clinical practice with a view to a complex and accurate assessment of the current hormonal status of patients and an on time selection of appropriate therapeutic approach.

Key words: PCOS, adrenocortical hyperandrogenism, dehydroepiandrosterone sulfate

Introduction

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrinopathy among women of reproductive age (1). It presents itself with clinical and/or biochemical hyperandrogenism, oligo/amenorrhea, poly-

cystic altered ovaries, often accompanied by infertility, overweight and obesity, disorders in carbohydrate and lipid metabolism (2). Heterogeneity in expression of PCOS makes it necessary to exclude other causes leading to PCOS-like phenotype - thyroid disorders, hyperprolactinemia or disturbances in adrenal steroidogene-

sis, etc. The pathogenesis of the syndrome remains unclear, but it is assumed that the main endocrine abnormalities leading to its various phenotypic manifestations are insulin resistance and hyperandrogenism. In about 20-60% of women with PCOS except ovarian also adrenocortical hyperandrogenism is manifested, which is characterized by elevated serum levels of DHEAS (3).

The adrenal cortices produce three steroid hormones with different androgenic activity – dehydroepiandrosterone (DHEA), androstenedione (A4) and testosterone (T). A significant part of DHEA is sulphated through the action of the enzyme DHEA sulfotransferase and DHEA-sulfate (DHEA-S) is released into the bloodstream. A small part of DHEA is metabolized to A4, which represents nearly all the amount of A4 (4). It was assumed that the adrenal cortex does not produce T, but recent studies have shown that small amounts of the potent androgen can be synthesized directly after adrenal enzyme action on A4 (5).

Under physiological conditions, the adrenal cortex has a much lower androgenic potential than the ovaries. In women, androgens serve mainly as a precursor for the biosynthesis of estrogens and their levels begin to decline 3-4 years before the menopause (6). In both healthy and in PCOS women there appears to be a significant decrease in adrenal androgen production after 30 years of age (7). Basal serum levels of ovarian androgens, however, are only slightly affected, and remain relatively stable until menopause (8).

The **aim** of our study was to analyze the levels of DHEAS and to associate them with clinical and laboratory parameters of PCOS among a Bulgarian population of women, as the distribution of both, PCOS and congenital adrenal hyperplasia (CAH), varies greatly depending on the diagnostic criteria, genetic differences, geographical, racial and ethnic origin.

Materials and methods

The study included 70 patients with PCOS, hospitalized in the Clinic of Endocrinology and metabolic diseases at the University Hospital „Sv. Georgy“, Medical University Plovdiv and a control group of 22 clinically healthy women, corresponding in age and BMI to the patients with PCOS. The study was approved by the Committee on Medical Ethics at Medical University Plovdiv and all participants have declared their consent to participate. PCOS is diagnosed according to the Rotterdam Criteria – the presence of at least 2 of the following 3: clinical and/or biochemical hyperandrogenism, oligo/amenorrhea and ultrasound evidence of polycystic altered ovaries. Studies were carried out in the early follicular phase - 2-5th day after spontaneous

menstrual cycle and up to 7th day after progesterone-induced withdrawal bleeding.

Hormonal and Biochemical Measurements and Calculations

Basal levels of fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG) were tested on the clinical chemistry analyzer Konelab 60i, Thermo Electron Corporation (Finland). Insulin, luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), androstenedione (A4), testosterone (T), sex hormone binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), 24-Hour urine cortisol excretion and prolactin (PRL) were determined by chemiluminescence immunoassay (CLIA) using the ACCESS 2 Immunoassay Analyzer System, a 17-OH progesterone (17 OHP) – by ELISA method. Additionally BMI, LDL-cholesterol (LDL-C), LH/FSH ratio, free androgen index (FAI) and HOMA-index were calculated according to the generally accepted formulas. Fat mass (kg and %) was determined by a professional high capacity body composition analyzer (Tanita BC-420).

A condition to participate in the study was the lack of acute and chronic illnesses or use of medication affecting carbohydrate and lipid metabolism, body weight and hormonal indicators over the last at least 3 months. Women with significant variation in body weight (BMI under 18 and over 40 kg / m²) were not included. In order to exclude adrenocortical pathology, a stimulation or suppression test was carried out in some of the patients.

Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistic 20 for Windows. The data are presented as mean±standard error for mean (mean±SEM). The Kolmogorov-Smirnov test was used to test the normality of distribution. Odds ratio, 95% confidence interval and P-value less than 0,05 (P<0,05) were considered statistically significant. According to the distribution of the variables and the size of the groups parametric or nonparametric analysis is used, specified in the description of concrete results.

Results

Seventy women with PCOS aged 16 to 39 years were studied (mean age 25,06±0,69 years) and BMI between 18 and 39,5 kg/m² (mean BMI 26,50±0,83 kg/m²) and a control group of 22 clinically healthy women, corresponding to age (from 20 to 34, mean age 26,78±1,7; P>0,05) and BMI (18 to 28,1 kg/m², mean BMI 23,36±1,4 kg/m², P>0,05). Results of the tracked indicators are presented in Tables 1-4.

From the parametric correlation analysis the following significant correlations were received: for DHEAS

Table 1.

Clinical, metabolic and hormonal characteristics of the PCOS women and the clinically healthy women.

Variables (mean ± SEM)	PCOS (n=70)	Controls (n=22)	P
Age (years)	25,06±0,69	26,78±1,7	NS
BMI (kg/m ²)	26,50±0,83	23,36±1,4	NS
Fats (%)	33,45±6,15	32,42±1,44	NS
FPG (mmol/l)	5,15±0,11	4,76±0,16	P=0,074
IRI (mIU/ml)	7,23±0,52	3,66±0,37	P=0,0003
HOMA-index	1,68±0,15	0,79±0,09	P=0,001
TC (mmol/l)	4,71±0,11	4,31±0,21	P=0,084
HDL-C (mmol/l)	1,35±0,04	1,49±0,07	P=0,089
LDL-C (mmol/l)	2,89±0,09	2,93±0,23	NS
TG (mmol/l)	1,05±0,08	0,8±0,08	P=0,099
LH (IU/l)	7,24±0,67	4,92±0,81	P=0,073
FSH (mIU/ml)	6,91±0,21	7,67±0,49	NS
LH/FSH	1,11±0,11	0,67±0,11	P=0,035
E2 (pmol/l)	274,94±22,47	221,75±28,33	NS
PRL (mU/l)	348,95±28,96	190,05±39,27	P=0,058
T (ng/ml)	0,63±0,03	0,34±0,04	P=0,0001
SHBG (nmol/l)	39,14±3,17	60,26±5,55	P=0,001
FAI	9,31±1,24	1,99±0,17	P=0,014
A4 (ng/ml)	4,82±0,38	2,52±0,20	P=0,001
17OHP (ng/ml)	1,0±0,08	0,73±0,09	P=0,078
DHEAS (µg/dl)	269,30±17,7	175,5±20,35	P=0,006
Cort. U24 (nmol/24h)	424,25±25,12	374,2±45,06	NS

- highly positive with T (R= .717; P<0,01), FAI (R= .558; P<0,01), 17-OHP (R=0,623; P<0,01), A4 (R=0,558; P<0,01), 24-hour urine excretion of cortisol (R=0,432; P<0,01), Fat% (R=0,515; P<0,01) and negative with SHBG (R=-0,294; P<0,05), TC (R=-0,320; P<0,05) and age (R=-0,319; P<0,05). Slightly different were the significant correlations of 17-OHP - positive with LH (R=0,404; P<0,05), LH/FSH (R=0,372; P<0,05), T (R=0,668; P<0,01), A4 (R=0,706; P<0,01) and negative with age (R=-0,437; P<0,05). A4 correlates significantly positive with LH/FSH (R=0,452; P<0,01), T (R=0,752; P<0,01), FAI (R=0,473; P<0,01), borderline positive with LH (R=0,317; P=0,073) and borderline negative with FSH (R=-0,346; P=0,052). Besides the already mentioned interrelationship, age correlates significantly to several other monitored parameters - positively with BMI (R=0,260; P<0,05), TC (R=0,487; P<0,01), LDL-C (R=0,435; P<0,01), TG (R=0,313; P<0,05) and negatively with LH (R=-0,381; P<0,01) and the LH/FSH ratio (R=-0,332). It should be pointed out, however, the trend towards significance of correlation with other androgenic markers - T (R=-0,216; P=0,079), FAI (R=-0,230; P=0,088).

It is known that DHEAS levels decrease with age, and therefore there are different reference ranges for the different age groups. Taking into consideration this fact, we divided the women into separate subgroups and compared the obtained results (Table 2).

We determined that the levels of DHEAS over the upper limit are 18 (25,7%) of women with PCOS and 2 (9,09%) of the women in the control group ($\chi^2=2,72$; P=0,0992). Values of 17-OHP over 1,3 were recorded in 17 (24,3%) of women with PCOS and of one woman (4,54%) in the control group ($\chi^2=4,14$; P=0,0418).

Discussion

It was determined that 25% of A4 and T levels were with ovarian origin, 25% - with adrenal and 50% were produced in peripheral tissues. On the other hand, the adrenal cortex is responsible for almost the entire DHEAS concentration (9). Circulating DHEAS, it seems, is the most accessible marker for adrenocortical androgen production. Due to the high secretory potential and low metabolic clearance, its levels are

high enough and with low diurnal variation. It is of importance that DHEAS can be easily and accurately measured by commercial immunological kits (10). DHEAS, however, is not an unequivocal marker for adrenocortical hyperandrogenism as in some forms of CAH it is often within the normal range (11). A probable reason for this is that much of the excessive DHEA synthesis deviates mainly for the manufacture of A4. Therefore, referent values of DHEAS do not preclude the existence of adrenal androgen excess. In some cases testing of other adrenocortical indicators and/or carrying out dynamic tests for a correct evaluation of the condition are required.

Examination of the 17-OHP together with cortisol and A4, represents the best screening test for CAH caused by the 21- or 11-hydroxylase deficiency. It is an extremely good marker for the diagnosis of non-classical forms of CAH that occur with PCOS-like phenotype.

According to some authors, abnormally high levels of DHEAS occur in about 20-30% of women with PCOS, as in the reference values given; age and racial

differences are taken into consideration (7). We have determined a similar incidence of increased DHEAS in women with PCOS.

Elevated levels of androgenic adrenocortical precursors in PCOS appeared to be associated with two mechanisms: (a) existing even since puberty adrenocortical androgen excess, which increases the risk of PCOS developing and (b) this surplus is a reflection of generalized enhancement of androgen steroid genesis in PCOS. In fact, both mechanisms seem likely. In support for the first theory are the observations that up to 50% of girls with early pubarche subsequently develop PCOS. Some authors even suggest that stress leads to enhanced adrenocortical secretion during the period around puberty and increases the risk of PCOS developing (13). Our earlier study determined that the level of stress is highest in women with reproductive disorders due to PCOS, compared to similar disturbances as a result of hyperprolactinemia or thyroid dysfunction (14).

Our results show that the highest levels of all andro-

Table 2.

Clinical, metabolic and hormonal characteristics of the PCOS women divided by age.

Variables (mean ± SEM)	Up to 21 years (n=21)	22-30 years (n=36)	Over 30 years (n=13)
	Age (years)	18,8±0,38	25,51±0,44
BMI (kg/m ²)	24,17±0,95	26,87±1,16	28,86±2,48*
Fats %	30,97±1,72	34,03±2,20	30,38±3,92
FPG (mmol/l)	4,98±0,12	5,27±0,17†	5,24±0,28
IRI (mIU/ml)	7,16±0,64††	6,83±0,78††	8,46±1,76††
HOMA-IR	1,60±0,16††	1,60±1,10	2,08±0,57††
TC (mmol/l)	4,27±0,16	4,68±0,14	5,48±0,22*##††
HDL-C (mmol/l)	1,23±0,06††	1,35±0,06	1,36±0,12
LDL-C (mmol/l)	2,66±0,13	2,86±0,13	3,61±0,15##†
TG (mmol/l)	0,82±0,07	1,09±0,14	1,35±0,22##††
LH (IU/l)	10,56±1,67††	6,19±0,68*	5,18±1,04#
FSH (mIU/ml)	6,73±0,40	6,95±0,31	6,80±0,56
LH/FSH	1,64±0,27††	0,91±0,12**	0,87±0,20
E2 (pmol/l)	264,11±29,66	292,03±39,79	231,09±34,70
PRL (mU/l)	323,38±49,84†	390,38±37,83††	270,65±96,14
T (ng/ml)	0,74±0,06††	0,62±0,04††	0,55±0,09†
SHBG (nmol/l)	31,74±3,95††	42,74±5,11†	41,40±8,17†
FAI	13,07±3,08††	7,59±1,15*††	8,15±2,32††
A4 (ng/ml)	6,48±0,87††	4,22±0,46††	4,51±0,73††
17OHP (ng/ml)	1,35±0,17††	1,02±0,13	0,74±0,10#
DHEAS (µg/dl)	334,99±31,79††	264,91±24,46†	200,56±34,99#
Cort. U24 (nmol/24h)	453,24±57,64	396,82±27,17	413,13±50,81

* P<0,05; ** P<0,01 – significant differences with the previous group;
P<0,05; ## P<0,01 – significant differences between the groups < 21 years and >30 years
† P<0,05; †† P<0,01 – significant differences with the control group (Table 1).

Table 3.

Clinical, metabolic and hormonal characteristics of the PCOS women divided by BMI 26,8 kg/m².

Variables (mean ± SEM)	BMI ≤ 26,8 kg/m² (n=43)	BMI>26,8 kg/m² (n=27)	P
Age (years)	24,02±0,84	26,69±1,45	0,060
BMI (kg/m ²)	22,00±0,39	33,67±1,03	0,0001
Fats %	28,42±1,43	37,77±2,14	0,001
FPG (mmol/l)	5,01±0,08	5,36±0,23	0,099
IRI (mIU/ml)	5,21±0,38	10,46±0,84	0,0001
HOMA-индекс	1,16±0,08	2,52±0,27	0,0001
TC (mmol/l)	4,54±0,14	4,93±0,15	0,074
HDL-C (mmol/l)	1,41±0,05	1,24±0,07	
LDL-C (mmol/l)	2,78±0,11	3,07±0,45	NS
TG (mmol/l)	0,74±0,03	1,50±0,16	0,0001
LH (IU/l)	7,74±0,85	6,38±1,07	NS
FSH (mIU/ml)	7,00±0,26	6,78±0,39	NS
LH/FSH	1,13±0,13	1,06±0,20	NS
E2 (pmol/l)	258,74±18,2	300,2±50,3	NS
T (ng/ml)	0,57±0,04	0,72±0,06	0,034
SHBG (nmol/l)	45,41±3,48	29,17±5,52	0,011
FAI	6,11±1,02	14,17±2,43	0,001
A4 (ng/ml)	5,02±0,51	4,50±0,60	NS
17OHP (ng/ml)	1,09±0,12	0,84±0,11	NS
DHEA-S (µg/dl)	262,73±21,4	279,88±31,29	NS
Cort. U24 (nmol/24h)	372,16±20,39	503,43±51,96	0,009

genic precursors were in the age group up to 21 years of age, with only the values of DHEA-S and 17-OHP significantly decreased in the next two groups. It should be also noted that DHEA-S is not significantly dependant on gonadotropins, while 17-OHP and especially A4 showed a significant correlation with them.

Several studies have shown increased secretion of adrenocortical androgenic precursors in PCOS in response to ACTH stimulation (15), especially in patients having increased DHEA-S (16). This suggests that the adrenocortical androgen biosynthesis is greater in PCOS without becoming clear, however, whether the cause is due to the adrenal synthesis itself or due to peripheral factors. Considering the references for age, we divided the patients into two subgroups – with normal and elevated levels of DHEA-S (Table 2).

In the group with high DHEA-S the values of T, FAI, LH, LH/FSH ratio and A4 are significantly higher than in the corresponding group with normal DHEA-S. This supports the contention of some authors that ovarian hyperandrogenism can stimulate the sulfation of DHEA and thus to increase the circulating levels of DHEA-S in women with PCOS (17).

A subject of discussion is the ratio of DHEA-S to carbohydrate metabolism in PCOS. Our results don't show direct dependence of the adrenocortical androgenic precursors indicators with insulin resistance. In the group of women over 30 years of age, however, we acquired the lowest levels of DHEA-S and 17-OHP, and the highest values of the IRI, HOMA, TC, LDL-C, TG. In a study in 1990 among healthy volunteers a significant correlation between body mass index and insulin sensitivity is reported, which occurs at BMI over 26,8 kg/m². Below this limit no significant correlation (R = 0,1) was found, and above this point there is a strong positive correlation (R = 0,8; P < 0,001) (18). We divided patients into two subgroups based on the already mentioned value of BMI (Table 3). We determined that between the formed subgroups there is no significant difference in the levels of DHEA-S and 17-OHP, despite the highly significant abnormalities in markers of insulin resistance and lipid profile. The correlation between precursors in these subgroups showed no significant differences from the dependencies for the entire group. In a 2006 study Carmina and Lobo determined that patients with elevated levels of DHEA-S are usually presented with lower insulin levels

Table 4.

Clinical, metabolic and hormonal characteristics of the PCOS women divided by BMI.

Variables (mean ± SEM)	BMI<18,5 kg/m² (n=5)	BMI=18,5-24,9 kg/m² (n=33)	BMI=25-29,9 kg/m² (n=15)	BMI>30 kg/m² (n=17)
Възраст (г.)	25,6±2,34	24,40±1,02	24,13±1,5	27,06±1,43
Fats (%)	23,00±4,3	29,36±2,01	32,63±1,64	39,07±2,58 [#]
FPG (mmol/l)	5,26±0,23	5,07±0,13	5,17±0,22	5,26±0,29
IRI (mIU/ml)	4,65±0,94	5,76±0,60	7,31±1,06	10,99±1,01 ^{*#†}
HOMA-индекс	1,09±0,22	1,35±0,19	1,71±0,29	2,53±0,29 [#]
TC (mmol/l)	4,63±0,44	4,48±0,16	5,12±0,22	4,84±0,20
HDL-C (mmol/l)	1,59±0,24	1,34±0,05	1,53±0,12	1,13±0,06
LDL-C (mmol/l)	2,69±0,27	2,70±0,13	3,13±0,22	3,15±0,17
TG (mmol/l)	0,68±0,06	0,90±0,13	1,00±0,15	1,49±0,15 [#]
LH (IU/l)	5,16±1,13	7,36±0,73	9,40±2,19	5,65±1,25
FSH (mIU/ml)	7,74±0,74	6,92±0,31	7,18±0,42	6,43±0,51
LH/FSH	0,67±0,15	1,09±0,13	1,43±0,35	0,97±0,22
E2 (pmol/l)	258,6±43,45	259,63±21,74	327,77±95,64	265,81±21,83
T (ng/ml)	0,30±0,06	0,59±0,04	0,72±0,09 [¥]	0,74±0,08 [†]
SHBG (nmol/l)	47,55±6,62	47,67±4,12	31,38±5,54	26,94±7,58 [#]
FAI	2,71±0,64	5,15±0,58	13,02±3,24	15,59±3,17 ^{†#}
Andro (ng/ml)	2,62±0,39	5,29±0,49	5,28±1,09	4,97±0,92
17OHP (ng/ml)	0,75±0,09	1,00±0,13	1,18±0,26	0,97±0,15
DHEAS (µg/dl)	153,42±24,82	262,88±21,91	264,83±43,34	327,82±43,39
Cort. U24 (nmol/24h)	275,59±15,89	394,19±28,12	410,77±46,42	544,49±71,35 [†]

* P<0,05; ** P<0,01 – significant differences with the previous group;
 # P<0,05; ## P<0,01 – significant differences between the groups 2 and 4;
 † P<0,05; †† P<0,01 – significant differences between the groups 1 and 4;
 ¥ P<0,05; ¥¥ P<0,01 – significant differences between the groups 1 and 3.

and with more favorable parameters of metabolic and cardiovascular risk factors (19). Our results, however, indicate that those changes are more age-related than a result of hormonal interaction.

However, significantly higher values of 24-hour urinary excretion of cortisol, points towards increased cortisol metabolism in the group with BMI > 26,8 kg/m². Obesity can affect adrenocortical function by reducing insulin sensitivity and through increase in insulin levels, by the secretion of adipocytokines and products of chronic inflammation (20) and by increasing the circulating levels of estrogen due to increased aromatisation of adipose tissue (21). However, studies evaluating the effect of obesity on adrenal function in healthy women present conflicting results. We divided patients into four subgroups according to generally accepted criteria for assessing weight – underweight (BMI <18,5 kg/m²), normal weight (BMI = 18,5-24,9 kg/m²), overweight (BMI = 25-29,9 kg/m²) and obese (BMI ≥ 30 kg/m²) (Table 4). The values of DHEAS were increased in parallel with the increased BMI, but

the differences were not significant. Similar dynamic is accounted for the T and 24-hour urine excretion of cortisol, but raising these hormones in subgroups of overweight and obese is statistically significant. With the increase of BMI, each successive subgroup has significantly higher values of IRI and HOMA. These data point more towards to the interaction of obesity and insulin resistance with increased cortisol metabolism, than to androgen hyperproduction.

In fact, age is the only undisputable factor which leads to a reduction in ovarian and suprarenal androgen production, both in patients with PCOS and in clinically healthy women. Our results also confirm this correlation.

In conclusion, the study of adrenocortical androgenic precursors in women with PCOS is of essential significance for clinical practice with a view to a complex and accurate assessment of the current status of patients and an on time selection of appropriate therapeutic approach in women with PCOS.

1. **Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO.** The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2745-9.
2. **Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group 2004** Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81: 19-25.
3. **Moran C, Azziz R.** The role of the adrenal cortex in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001; 28: 63-75.
4. **Longcope C.** Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15: 213-228.
5. **Nakamura Y, Hornsby PJ, Casson P, Morimoto R, Satoh F, Xing Y, et al.** Type 5 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR 1C3) contributes to testosterone production in the adrenal reticularis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2192-2198.
6. **Lasley BL, Santoro N, Randolph JF, Gold EB, Crawford S, Weiss G, et al.** The relationship of circulating dehydroepiandrosterone, testosterone, and estradiol to stages of the menopausal transition and ethnicity. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3760-3767.
7. **Kumar A, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R.** Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 644-649.
8. **Burger HG, Dudley EC, Cui J, Dennerstein L, Hopper JL.** A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2832-2838.
9. **Yildiz BO, Azziz R.** The adrenal and polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8: 331-342.
10. **Stanczyk FZ.** Diagnosis of hyperandrogenism: biochemical criteria. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006; 20: 177-191.
11. **Pall M, Azziz R, Beires J, Pignatelli D.** The phenotype of hirsute women: a comparison of polycystic ovary syndrome and 21-hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hyperplasia. *Fertil Steril* 2010; 94: 684-9.
12. **Ibanez L, Dimartino-Nardi J, Potau N, Saenger P.** Premature adrenarche - normal variant or forerunner of adult disease? *Endocr Rev* 2000; 21: 671-696.
13. **Lobo RA, Granger LR, Paul WL, Goebelsmann U, Mishell DR Jr.** Psychological stress and increases in urinary norepinephrine metabolites, platelet serotonin, and adrenal androgens in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 145: 496-503.
14. **Nyagolova P, Mitkov M, Orbetzova M.** Assessment of the level of stress in women with reproductive disorders. *Nauka Endocrinologia* 2013; 4: 138-140 (In Bulgarian) (**Няголова П, Митков М, Орбецова М.** Оценка на нивото на стрес при жени с репродуктивни нарушения. *Наука Ендокринология* 2013; 4: 138-140).
15. **Lanzone A, Ciampelli M, Petraglia F, Caruso A, Fulghesu AM, Mancuso S.** Corticotropin-releasing hormone induces and exaggerated response of adrenocorticotrophic hormone and cortisol in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995; 63: 1195-1199.
16. **Azziz R, Black V, Hines GA, Fox LM, Boots LR.** Adrenal androgen excess in the polycystic ovary syndrome: sensitivity and responsivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2317-2323.
17. **Azziz R, Gay FL, Potter SR, Bradley E Jr, Boots LR.** The effects of prolonged hypertestosteronemia on adrenocortical biosynthesis in oophorectomized women. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 1025-1030.
18. **Campbell PJ, Gerich JE.** Impact of obesity on insulin action in volunteers with normal glucose tolerance: Demonstration of a threshold for the adverse effect of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 1114-1118.
19. **Carmina E, Lobo RA.** Prevalence and metabolic characteristics of adrenal androgen excess in hyperandrogenic women with different phenotypes. *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 111-116.
20. **Ehrhart-Bornstein M, Hinson JP, Bornstein SR, Scherbaum WA, Vinson GP.** Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr Rev* 1998; 19: 101-143.
21. **Ackerman GE, Smith ME, Mendelson CR, MacDonald PC, Simpson ER.** Aromatization of androstenedione by human adipose tissue stromal cells in monolayer culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 412-417.

Зависимо от диабета качество на живот

Левтерова, Боряна А.¹, Левтеров, Георги Е.², Димитрова, Донка, Д.¹

¹ Катедра по Здравен мениджмънт, икономика на здравеопазването и обща медицина, Факултет по Обществено Здраве, Медицински Университет, Пловдив,

² Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Каспела“ ЕООД

Address for correspondence:

Д-р Боряна Левтерова

Катедра по Здравен мениджмънт, икономика на здравеопазването и обща медицина,

Факултет по обществено здраве,

Медицински Университет, Пловдив,

Бул. „Васил Априлов“ №15 А, 4002 Пловдив, България

e-mail: boriana_levterova@abv.bg

Abstract

Увод: В България се наблюдава епидемия от захарен диабет (ЗД) тип 2. Това заболяване оказва влияние върху почти всеки аспект от живота на пациента. В достъпната литература самооценката за Качество на живот (КЖ) се доказва като мощен предиктор на смъртността и заболяемостта.

Целта на проучването е да се оцени КЖ при пациенти със ЗД тип 2.

Материал и методи: Проведено е срезово проучване на 540 случайно подбрани лица със ЗД тип 2 в област Пловдив със специфичен въпросник за КЖ (ADDQoL-19). В проучването преобладават мъжете (52,55%) и жителите на градските населени места (71,05%). Средна възраст на участниците е 59,92±11,60 г.).

Резултати: Самооценката на участниците показва общото негативно въздействие на ЗД върху различни области от качеството им на живот. Подреждането на различните области по рангове показва най-силно негативно въздействие в област „свобода за хранене“ (-1,79, SD 2,60). Следват области „семеен живот“ (-1,54, SD 0,89), „физическа активност“ (-1,54, SD 0,89) и „работен живот“ (-1,54, SD 0,92). Най-малко въздействие оказва областта „реакция на околните“ (-0,93, SD 0,97).

Заключение: Докладваните от пациента оценки за здравен резултат (PROMs) предлагат голям потенциал за подобряване на качеството и резултатите от здравните услуги. Използването на специфичен въпросник позволи да се открият и оценят тези детерминанти на КЖ, които имат най-голямо значение за конкретната популация. Получените данни могат да бъдат използвани при оценка и формиране на стратегии за осигуряване на ефективно и ефикасно клинично управление при пациентите със ЗД тип 2.

Ключови думи: захарен диабет тип 2, качество на живот, ADDQoL, България

Въведение

Разпространението на хроничните незаразни болести (ХНБ) представлява глобална криза, засягайки всички страни по света и всички възрастови групи (1). В Европа разпространението на тези заболявания е много високо. Взети заедно, пет групи нозологични единици (захарен диабет, сърдечно-съдови заболявания, рак, хронични

респираторни заболявания и психични увреждания) съставляват 77% от ХНБ и причиняват около 86% от смъртните случаи в региона (2).

Захарният диабет (ЗД) е един от най-предизвикателните здравни проблеми на 21-ви век. По данни на Международната Диабетна Федерация (IDF – International Diabetes Federation) от 2013 г. 8,3% от възрастното население в света има ЗД. Около 90% от общия брой пациенти имат тип 2 (ЗД T2) и техният брой ще нарасне с 55% до

2030 г. В световен мащаб ЗД е причина за над 51 млн. смъртни случаи годишно (3). В България разпространението на ЗД придобива епидемични размери. По данни на Българското сдружение по ендокринология (БДЕ) 9,6% от населението има ЗД, а 3,7% са с предиабет (4,5).

Захарният диабет е заболяване, което оказва влияние върху почти всеки аспект от живота на заболялия. Клиничният преглед и диагностика предоставят информация за обективният здравен статус на пациента, както и за прогресията или регресията на болестта. В достъпната литература самооценката за Качество на живот (КЖ) се доказва като по-мощен предиктор на смъртността и заболяемостта от много обективни клинични показатели (6). Според СЗО качеството на живот е свързано с „представите на индивидите как те възприемат своя живот, в контекста на културните и ценностни системи, в които те живеят, и във връзка с техните цели, очаквания, стандарти, и тревоги“ (7). От гледна точка на възможностите за измерване и оценка, КЖ включва субективни оценки на положителни и отрицателни аспекти на живота на човек (8).

Съществува различия в КЖ при здрави хора и при хора с хронични болести. „Качество на живот, свързано със здравето“ (КЖСЗ, HRQoL) включва не само самооценката за физическо, психично здраве и техните корелати, но и здравни рискове, функционален статус, социална подкрепа и социално-икономически статус. Използва се за определяне на тежестта на предотвратими заболявания, травми и увреждания, и предоставя информация за връзката между КЖ и рисков фактор (9). За оценка на КЖСЗ се използват общи и специфични въпросници. Общите инструменти са подходящи за населението като цяло. Специфичните въпросници се използват за измерване на КЖ при конкретно заболяване. Те оценяват както общото качество на живот, така и проблеми или симптоми, които са специално свързани със заболяването. При измерване КЖ при ЗД това са например проблеми със зрението, увреждане на бъбреците, сърдечно-съдови заболявания, еректилна дисфункция, диабетна полиневропатия и др. (10).

Специфичните въпросници за измерване на качеството на живот се считат за по-чувствителни от „общите“ (11). Одит на зависимо от захарния диабет качество на живот (Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life, ADDQOL - 19) е един от най-широко използваните специфични инструменти в света (12,13). Този въпросник се опитва изчерпателно да проучи перспективата на пациента за въздействието на ЗД върху ре-

дица области от качеството му на живот (14). Инструментът позволява всеки въпрос да се прецени по целесъобразност и да се премахнат тези елементи, които не се отнасят за даден пациент (N/A- неприложимо) (15). Полезността на ADDQoL-19 е призната от много изследователски институти и се използва в много страни в света, което дава възможност за сравнение на получените резултати (16-24). Въпросникът съдържа два общи въпроса и 19 въпроса за специфични области от КЖ: активност в свободното време, работен живот, пътуване, почивка, физическо здраве, семеен живот, приятелства и социален живот, близка лична връзка, сексуален живот, външен вид, самочувствие, мотивация, реакция на хората, чувства за бъдещето, финансово състояние, условия на живот, зависимост от други хора, свобода на хранене и свобода на пиене. Скалата за отговори е 5-степенна за рейтинг на въздействие (от -3 до 1) и 4-степенна за рейтинг на важност (от 3 до 0). Претегленият рейтинг (AWI - показател) се калкулира по формула и варира от -9 до +9. От 19-те области, 5 са с N/A опция. Ниските резултати съответстват на по-ниско КЖ. Обобщеният показател се изчислява за цялата скала приложими области (14).

Целта на проведеното проучване беше оценка на качеството на живот при пациенти със ЗД тип 2 с българска версия на специфичен въпросник Одит на зависимо от захарния диабет качество на живот (ADDQoL-19 BUL).

Материал и методи

Проведено е срезово проучване сред случайна извадка от 540 лица със ЗД тип 2 в периода септември 2013 г. – декември 2014 г. Пациентите бяха избрани на случаен принцип от 9 специализирани практики по ендокринология и болести на обмяната – 25% от всички практики сключили договор с РЗОК Пловдив. Всички участници подписаха информирано съгласие за участие, съгласно Декларацията от Хелзинки. Проучването е одобрено от Комисията по научна етика на Медицински университет, Пловдив.

Върнати бяха 423 анкетни карти (възвращаемост 78,33%), а годни за обработване бяха 411. **Критерии за включване:** възраст над 18 г., ЗД тип 2. **Критерии за изключване:** ЗД тип 1, гестационен ЗД, налични когнитивни увреди, налични други заболявания, водещи вторично до дисгликемия (напр. рак на панкреаса и др.). Участниците бяха анкетирани с ADDQOL-19 BUL и анкетна карта със социално-демографска информация (възраст, пол, етническа принадлежност, ниво

на образование, заетост, вредни навици, фамилна обремененост), давност на заболяването, усложнения на ЗД, други хронични заболявания, терапия. Събрани бяха данни за клинични показатели (HbA_{1c}, общ холестерол, HDL-холестерол, триглицериди) и биологични мерки (телесно тегло, височина).

Статистическата обработка се извърши със SPSS 17 и EXCEL 2010. Използвани бяха методи на дескриптивната статистика, параметричен и непараметричен анализ, корелационен анализ. Пациенти с 6 или повече липсващи отговора са изключени от всички анализи.

Резултати

В проучването участваха 411 лица – 52,55% мъже (n=216) и 47,40% жени (n=195). Преобладават жителите на градските населени места 71,05% (n=292). Възрастта на участниците варира от 28 до 88 г. (средна възраст 59,92±11,60 г.). При жените най-голям относителен дял имат тези на възраст 60-69 г., а при мъжете това е възрастовата група 50-59 г. (Табл.1). Съпътстващи заболявания (извън ЗД, но тясно свързани с него) са докладвани от 92,21% (n=379) от респондентите. Най-чести са: хипертонична болест (n=343; 83,45%) и сърдечно-съдови заболявания – напр. ИБС (n=188; 45,74%).

Почти всеки пациент има усложнение вследствие на ЗД, като диабетна невропатия (378; 91,97%), последвано от диабетна ретинопатия (59; 14,36%). Новодиагностицирана дислипидемия се наблюдава при 51 пациента (12,4%) като съществува пропорционална зависимост между телесното тегло и нивото на мазнините (по-изразена по-отношение на триглицеридите). Нивата на „добрия“ холестерол (HDL-холестерол) е в обратна зависимост от индекса на телесна маса (ИТМ). Съществува зависимост между ниво на образование и наличието на диабетни усложнения ($\chi^2=9,60$, $P<0,05$), ($U=4259,00$, $P<0,01$).

Оценката на анкетираните лица за „Общо (настоящо) качество на живот“ показва, че най-голяма част от респондентите приемат състоянието си като „добро“ 54,5% (n=224), а 10,9% (n=45) го определят в различни степени на „лошо“. Близо една четвърт от участниците не могат го определят като „добро“ или „лошо“ (Фиг. 1). Съществуват значими различия в оценката за настоящо КЖ в зависимост от пола ($U=20332,00$, $P<0,05$). Жените отчитат по-ниско КЖ от мъжете. Установява се статистически значима разлика между КЖ и възраст ($\chi^2=325,41$, $P<0,01$). С напредване на възрастта намалява се

беоценката за КЖ. Проучването установи статистически значими различия в оценката за настоящо КЖ и наличието на диабетни усложнения, като с нарастване на усложненията намалява общата оценка ($\chi^2=12,386$, $P<0,01$). Оценката на анкетираните лица показва общото негативно въздействие на ЗД върху всяка област от качеството им на живот (Фиг. 2).

Подреждането на различните области по рангове показва най-силно негативна претеглена оценка на въздействие – 3,97 (SD 2,60) в област „свобода за хранене“. Тази област оказва и най-голямо влияние върху КЖ (среден рейтинг на въздействие -1,79, SD 0,87). Следват области „семеен живот“ (-1,54, SD 0,89), „физическа активност“ (-1,54, SD 0,89) и „работен живот“ (-1,54, SD 0,92). Най-малко въздействие върху КЖ оказва областта „реакция на околните“ (-0,93, SD 0,97).

Одигат на зависимото от диабета качество на живот е въпросник, който позволява да не се отговаря на тези области, които респондента счита за неприложими за самия него. А именно „работен живот“, „почивка“, „семеен живот“, „близка лична връзка“ и „сексуален живот“. Анализът на моделите на отговор показва, че четири области („работен живот“, „сексуален живот“, „почивка“ и „близки лични отношения“) представляват по-голямата част от непълните данни.

Обсъждане

Проведено е първото изследване на КЖ при пациентите със ЗДТ2 със специфичен инструмент в България. Използването на ADDQoL-19 показва почти универсалното отрицателно въздействие на диабета върху всички области от КЖ на пациентите със ЗД тип 2. Възрастта, пола, семейното положение и образованието са важни фактори, влияещи върху самооценката за качество на живот, което позволява да бъде изработен специфичен профил на пациентите и техните потребности за изработване на адекватни подходи за здравно обучение (25). По-ниска самооценка за общо КЖ имаха лицата с по-ниско ниво на образование, лицата от ромски произход, несемеините, лицата без работа и тези с ниски доходи. Това може да бъде обяснено с по-ниска здравна култура и с по-ниско ниво на пригържане към терапия. Проучванията откриват пряка зависимост между диабетно обучение, по-добро управление на заболяването и по-доброто КЖ (26, 27).

Проведеното проучване установи статистически значими различия в оценката за настоя-

Таблица 1. Социо-демографски и здравни характеристики на участниците (n=411)

Характеристики	n	%
Пол		
Мъже	216	52,55
Семейно положение		
Семейни	271	65,94
Несемейни	150	34,06
Образование		
Основно	15	3,65
Средно	298	72,50
Полувисше, висше	98	23,85
Етническа принадлежност		
Българска	296	72,02
Друга /Турска, Ромска и др.	181	27,98
Фамилно обременени	230	55,96
Работещи	183	44,53
Пушачи	99	24,09
Давност на ЗДТ2 >5 years	244	59,37
Усложнения	379	92,21
Терапия		
Диета	2	0,49
Перорални средства	252	61,31
Комбинирана терапия	111	27,01
Инсулин	46	11,19
	Mean (SD)	Range
Възраст	59,92 (11,60)	28-88
ИТМ (kg/m ²)	30,86 (5,50)	18,59-55,94
HbA _{1c}	8,08 (0,85)	6,10-10,80

що КЖ и наличието на диабетни усложнения при участниците (най-значима при диабетна полиневропатия). Тава определя наличието на диабетни усложнения като най-силен предиктор за КЖ, въздействие и удовлетвореност от лечение (27).

Областта „свободата за хранене“ има максимална отрицателно оценка на въздействие и отразява силното влияние на диетичните ограничения върху КЖ при ЗД. Това откритие се повтаря в различни страни и проучвания, което предполага, че интервенциите, които насърчават хранителна свобода съобразно терапевтичния режим, ще направят много, за да се подобри качеството на живот (16-24).

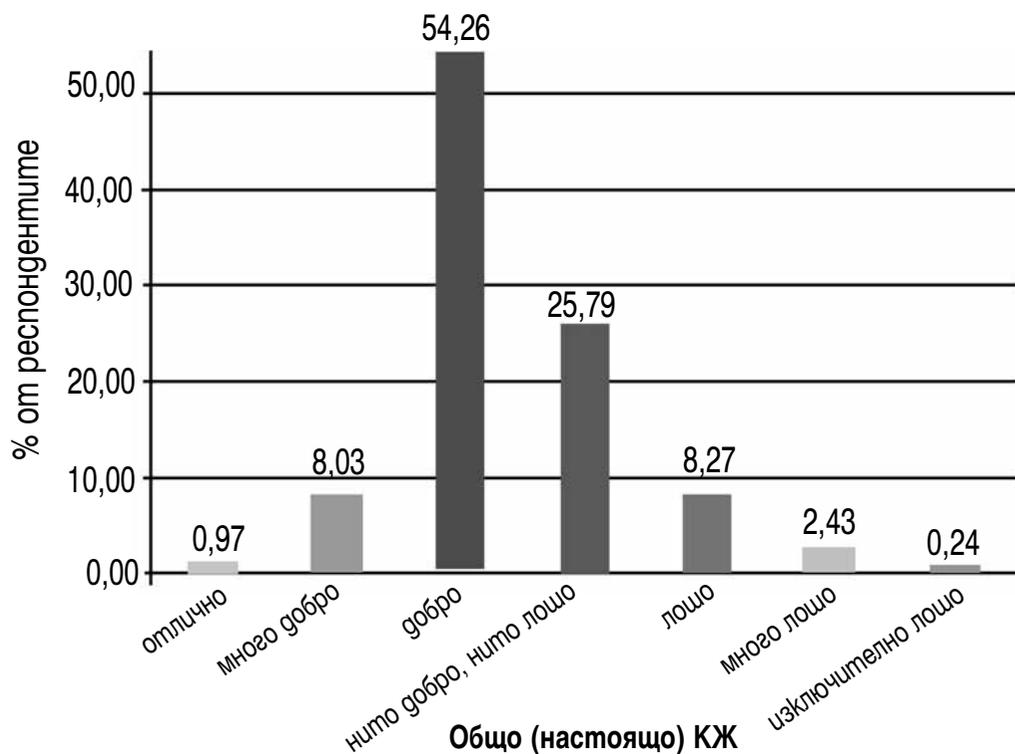
Висока оценка на влияние получават и областите „семеен живот“, „физическа активност“ и „работен живот“. Това може да се тълкува с факта, че в ценностната култура на българите залягат силните семейни връзки и личните взаимоотношения. Ограниченията на ЗД върху „физическата активност“ се дължи най-често на налични диабетни усложнения, които ограничават физическата издръжливост и затрудняват извършването на ежедневните дейности. Негативно влияние оказва ЗД и върху работния живот, което се потвърждава и с по-чести отсъствия от работа поради временна нетрудоспособност.

Пациентите лекувани с инсулин показват по-ниско КЖ в сравнение с тези, лекувани с диета и/или перорални средства. Преминването към ежедневно аплициране на инсулин, както и необходимостта от по-стриктен контрол, водят до допълнителен стрес за пациентите и до по-ниска самооценка за КЖ (28). „Свободата да се храня, както аз искам“ е най-негативно повлияният аспект на живота и за двете изследвани подгрупи, независимо дали те са били лекувани с инсулин или не.

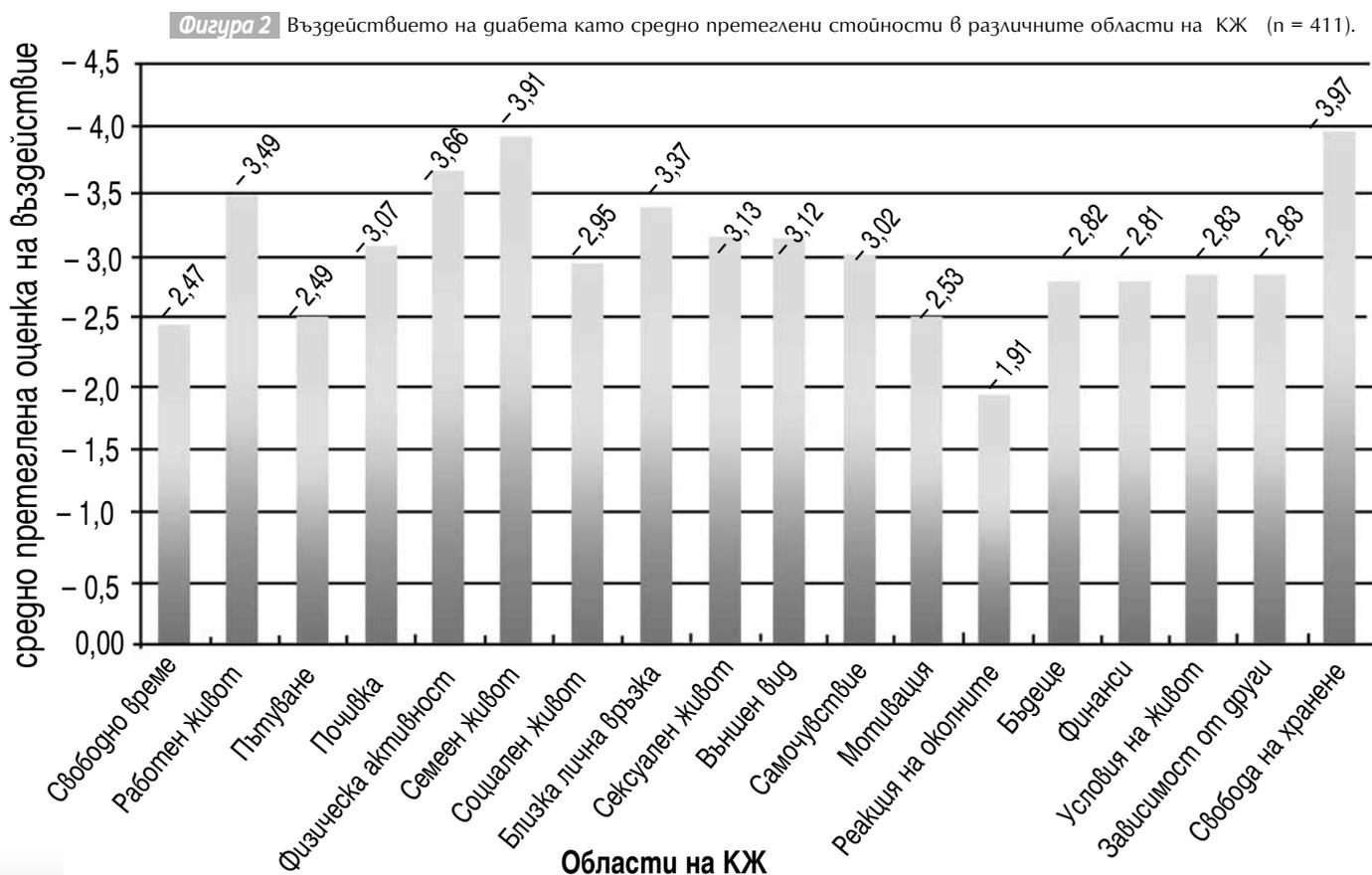
Заклучение

Използването на ADDQoL позволява да се открият и оценят тези детерминанти на КЖ, които имат най-голямо значение за българската популация. Захарният диабет има общо негативно влияние върху качеството на живот на пациентите. Пациентите със ЗД тип 2 имат по-ниско КЖ във всички области от пациентите без ЗД. Свързаните със ЗД усложнения са по-важни предиктори на КЖ, в сравнение с демографската и социална характеристика на извадката.

Правилното управление на ЗД тип 2 е от решаващо значение за постигане на добър метаболитен контрол, намаляване на усложненията и по-високо КЖ на пациентите. Докладваните от пациента оценки за здравен резултат (PROMs), предлагат голям потенциал за подобряване на качеството и резултатите от здравните услуги. Данните, докладвани от пациентите, са важни за здравните професионалисти като обратна връзка за грижите, които се оказват. Субективната оценка на здравето представлява фактор, който има силно въздействие върху качеството на живот на пациентите и представлява важен компонент в оценката на ефективността на диабетния мениджмънт и организацията на диабетните грижи.



Фигура 1
Разпределение на отговорите на участниците според самооценката за общо КЖ (n=411).



Фигура 2 Въздействието на диабета като средно претеглени стойности в различните области на КЖ (n = 411).

Благодарност

Благодарим на пациентите, които се включиха в проучването и на лекарите ендокринолози, които участваха в събирането на данните.

Diabetes Dependent Quality of Life

Levterova, Boryana A.¹, Levterov, Georgi E.², Dimitrova, Donka D.¹

¹ Department Health management, health economic and family medicine, Faculty of Public Health, Medical University, Plovdiv,

² Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, UMHAT „Kaspela“ Ltd

Address for correspondence:

Boryana Levterova MD, MSc

Department Health management, health economic and family medicine, Faculty of Public Health, Medical University, Plovdiv,

15A Vasil Aprilov Blv, 4002 Plovdiv, Bulgaria

e-mail:boryana_levterova@abv.bg

Abstract

Introduction: In Bulgaria there is an epidemic of diabetes mellitus type 2. This disease affects almost every aspect of the life of the patient. The available literature indicates that self-assessment of quality of life (QoL) has proved to be a powerful predictor of mortality and morbidity.

The aim of the study was to assess the quality of life in patients with diabetes mellitus type 2.

Material and Methods: A cross-sectional study was conducted on 540 randomly selected individuals with type 2 diabetes in the region of Plovdiv who were asked to complete a specific questionnaire about their quality of life (ADDQoL-19). The participants were predominantly men (52,55%) and residents of urban settlements (71,05%). The average age of the participants was 59,92 years (SD+11,60).

Results: Self-assessment of the participants showed an overall negative impact of diabetes on different areas of their quality of life. The greatest negative impact on patients was reported for „freedom to eat“ (mean -1,79; SD 0,87). This was followed by „family life“ (-1,54, SD 0,89), „physically can do“ (-1,54, SD 0,89) and „working life“ (-1,54, SD 0,92). The least impact was on „people's reaction“ (mean -0,93; SD 0,97).

Conclusion: patient-reported assessments of health outcome (PROMs) offer great potential for improving the quality and outcomes of health services. Using a specific questionnaire allowed the discovery and understanding of the determinants of QoL which have the greatest significance for a specific population. The data obtained can be used for the evaluation and formation of strategies to ensure the effective and efficient clinical management of patients with type 2 diabetes mellitus.

Ключови думи: type 2 diabetes mellitus, quality of life, ADDQoL, Bulgaria

Introduction

The prevalence of chronic non-communicable diseases (NCDs) is a global crisis affecting all countries and all age groups (1).

In Europe, the prevalence of these diseases is extremely high. Taken together five groups of diseases (diabetes, cardiovascular diseases, cancer, chronic respiratory diseases and mental disorders) constitute 77%

of NCDs and cause about 86% of deaths in the region (2).

Diabetes mellitus (DM) is one of the most challenging health problems of the 21st century. According to the International Diabetes Federation (IDF) 8,3% of the adult population worldwide have diabetes mellitus (in 2013). About 90% of patients have a type 2 diabetes mellitus (T2DM) and their number will grow by 55% by 2030. Globally, diabetes is responsible for over 51 million deaths annually (3)

In Bulgaria, the incidence of diabetes is increasing in epidemic proportions. According to the Bulgarian Society of Endocrinology (BSE), 9,6% of the people have DM and 3,7% have prediabetes (4,5).

Diabetes mellitus is a disease that affects almost every aspect of the patient's life. Clinical examination and diagnosis provide information about the objective health condition of the patient and the progression or regression of disease. In the available literature, self-assessment of quality of life (QoL) proved to be a more powerful predictor of mortality and morbidity than many objective clinical parameters (6).

According to the WHO, quality of life is related to the concept of *individuals how they perceive their lives in the context of cultural and value systems in which they live, and in relation to their goals, expectations, standards and concerns* (7). In terms of opportunities to measure and evaluate, QoL includes subjective assessments on positive and negative aspects of a person's life (8).

There are differences in QoL in healthy people and in people with chronic diseases. Health related Quality of life (HRQoL) includes not only physical self-esteem of mental and physical health and their correlates, but also health risks, functional status, social support and social and economic status. It is used to determine the severity of preventable illnesses, injuries and disabilities, and provides information about the relationship between QoL and a risk factor (9).

For the assessment of HRQoL, both general and specific questionnaires are used. Common tools are suitable for the population as a whole. Specific questionnaires are used to measure the QoL in a specific disease. They evaluate both the overall quality of life and problems or symptoms that are specifically associated with the disease. When measuring the QoL in diabetes, these are, for example, vision problems, kidney failure, cardiovascular disease, erectile dysfunction, diabetic neuropathy etc. (10).

Specific questionnaires for measuring the quality of life are considered more sensitive than general ones (11).

Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQO) is one of the most widely used specific tools in the world (12,13). This questionnaire seeks to comprehensively examine the patient's perspective as to the impact of diabetes on many areas of his quality of life (14). The tool allows each issue to be considered, where appropriate, and those items that do not apply to a patient, to be eliminated (N/A- Not applicable) (15).

Usefulness of ADDQoL-19 is recognized by many research institutes, and used in many countries in the world allowing a comparison of the achieved results (16-24).

The questionnaire contains two general questions

and 19 specific life domains: leisure activities, working life, local or long distance journeys, holidays, physically can do, family life, friendships and social life, close personal relationship, sex life, physical appearance, self-confidence, motivation, people's reaction, feelings about the future, financial situation, living conditions, dependence on others, freedom to eat and freedom to drink. The impact of each domain is scored on a five-point scale (from -3 to 1), and the corresponding importance is rated on a four-point scale (3 to 0). The weighted score of each domain is calculated by multiplying the impact and importance rating (-9 to +3). Of the 19 domains are five with N/A option. Low results are consistent with the lower QoL. Summary indicator is calculated for the whole scale of relevant fields (14).

The aim of this study was to evaluate the quality of life in patients with type 2 diabetes mellitus with a Bulgarian version of the specific questionnaire Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL-19 BUL).

Material and methods

A cross-sectional study was conducted among a random sample of 540 individuals with type 2 diabetes mellitus in the period September 2013 - December 2014. Patients were randomly selected by nine specialized practices in endocrinology and metabolic diseases - 25% of all practices contracted with National Health Insurance Fund - Plovdiv. All participants signed an informed consent to participate, according to the Declaration of Helsinki. The Research and Ethics Committee of the Medical University - Plovdiv, approved the study.

423 questionnaires were returned (response rate 78,33%), and 411 were capable of being processed.

Inclusion criteria: age over 18, type 2 diabetes mellitus.

Exclusion criteria: type 1 diabetes mellitus, gestational diabetes, patients with cognitive disorders, patients with other diseases, leading to secondary dysglycemia (eg. pancreatic cancer, etc.).

Participants were interviewed with ADDQOL-19 BUL and a questionnaire with social and demographic information (age, gender, ethnicity, education level, employment, bad habits, and family history), duration of the disease, complications of diabetes, other chronic diseases, therapy. We collected data on clinical indicators (HbA_{1c}, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides) and biological measures (weight, height).

Statistical processing was performed with SPSS 17 and EXCEL 2010. Methods of descriptive statistics, parametric and nonparametric analysis, and correlation analysis were used. Patients with six or more missing answers were excluded from all analyses.

Table 1. Social and health characteristics of the respondents (n=411)

Characteristics	n	%
Sex		
Male	216	52,55
Marital status		
Married	271	65,94
Single /Widowed/ Divorced	150	34,06
Education		
Primary education	15	3,65
Secondary education	298	72,50
College and High	98	23,85
Ethnicity		
Bulgarian	296	72,02
Other /Turkish, Roma, etc	181	27,98
Family history of T2DM		
Yes	230	55,96
Employed		
	183	44,53
Smoking		
	99	24,09
Duration of T2DM ≥5 years		
	244	59,37
Complications		
	379	92,21
DM treatment		
Diet	2	0,49
Oral only	252	61,31
Oral + insulin injections	111	27,01
Insulin injections	46	11,19
	Mean (SD)	Range
Age	59,92 (11,60)	28-88
BMI (kg/m ²)	30,86 (5,50)	18,59-55,94
HbA _{1c}	8,08 (0,85)	6,10-10,80

Results

The study involved 411 individuals – 52,55% men (216) and 47,40% women (195). The majority are residents of urban areas 71,05% (292). Ages varied from 28 to 88 years (average age 59,92 years (SD+11,60)). The largest number of women were aged 60-69, while the largest number of men were in the age group 50-59 years. (Table 1). Comorbidities (except diabetes but related to it) were reported by 92,21% (379) of respondents. The most common were hypertension (343; 83,45%) and cardiovascular diseases – eg. IHD(188; 45,74%).

Nearly every patient had complications due to

diabetes, such as diabetic neuropathy (378; 91,97%), followed by diabetic retinopathy (59; 14,36%). Newly diagnosed dyslipidaemia was observed in 51 patients (12,4%) and there is a proportional correlation between body weight and the fat content (more expressed in terms of triglyceride). Levels of „good cholesterol“ (HDL) is inversely related to BMI.

There is a correlation between the level of education and the presence of diabetic complications ($\chi^2 = 9,60$, $P < 0,05$), ($U = 4259,00$, $P < 0,01$).

Assessment of the respondents to the 'present QoL' shows that the majority of respondents accept their condition as „good“, 54,5 % (224) and 10,9% (45) define it „bad or very bad“. Nearly a quarter of respondents could not define it as „neither good nor bad“. (Fig. 1). There are significant differences in the assessment of current QoL based on gender ($U = 20332,00$, $P < 0,05$). Women reported lower quality of life than men did. There was a statistically significant difference between QoL and current age ($\chi^2 = 325,41$, $P < 0,01$). As we get older, self-esteem for QoL reduces. The study found statistically significant differences in the assessment of current QoL and the presence of diabetic complications such as with increased complications, the overall evaluation reduces ($\chi^2 = 12,386$, $P < 0,01$). Assessment of the respondents indicates the total negative impact of diabetes on every field of quality of life. (Fig. 2)

The arrangement of the different fields in ranks shows the most heavily weighted negative assessment of impact – 3,97 (SD 2,60) in the „freedom to eat“ field. This field has the greatest impact on QoL too (average rating of impact -1,79, SD 0,87). Fields of „family life“ (-1,54, SD 0,89), „physically can do“ (-1,54, SD 0,89) and „working life“ (-1,54, SD 0,92) are next. „People's reaction“ field has the least impact on QoL (-0,93, SD 0,97).

Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life, ADDQoL is a questionnaire that allows the respondent not to answer those fields that the respondent considers „not applicable“ to her/him. Namely „working life“, „holidays“, „family life“, „close personal relationship“ and „sex life“. The analysis of patterns of response indicates that four fields („working life“, „sex life“, „holidays“ and „close personal relationship“) constitute the majority of the incomplete data.

Discussion

The first study of QoL was conducted in patients with T2DM with a specific instrument in Bulgaria. Using ADDQoL-19 displays an almost universal negative impact of diabetes on all fields of the QoL of patients with type 2 diabetes mellitus. Age, gender, family status and education are important factors influencing the self-esteem of quality of life, allowing the

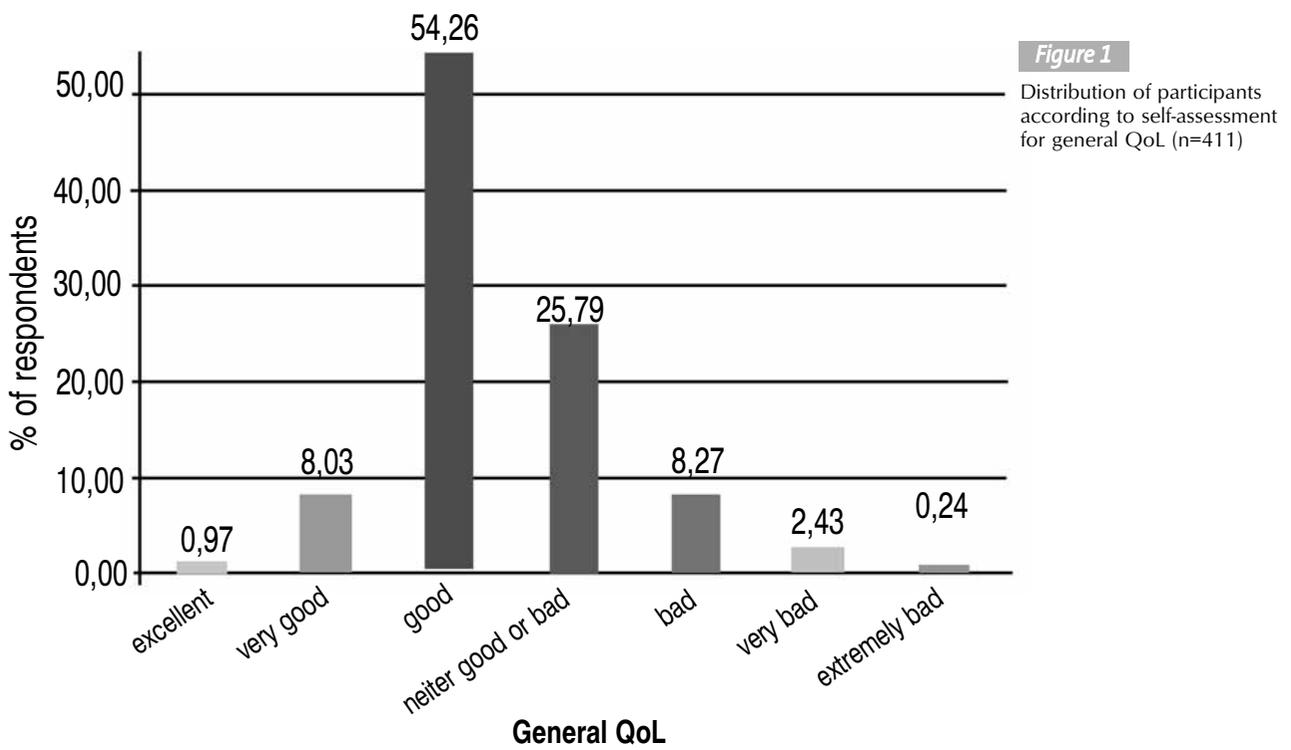
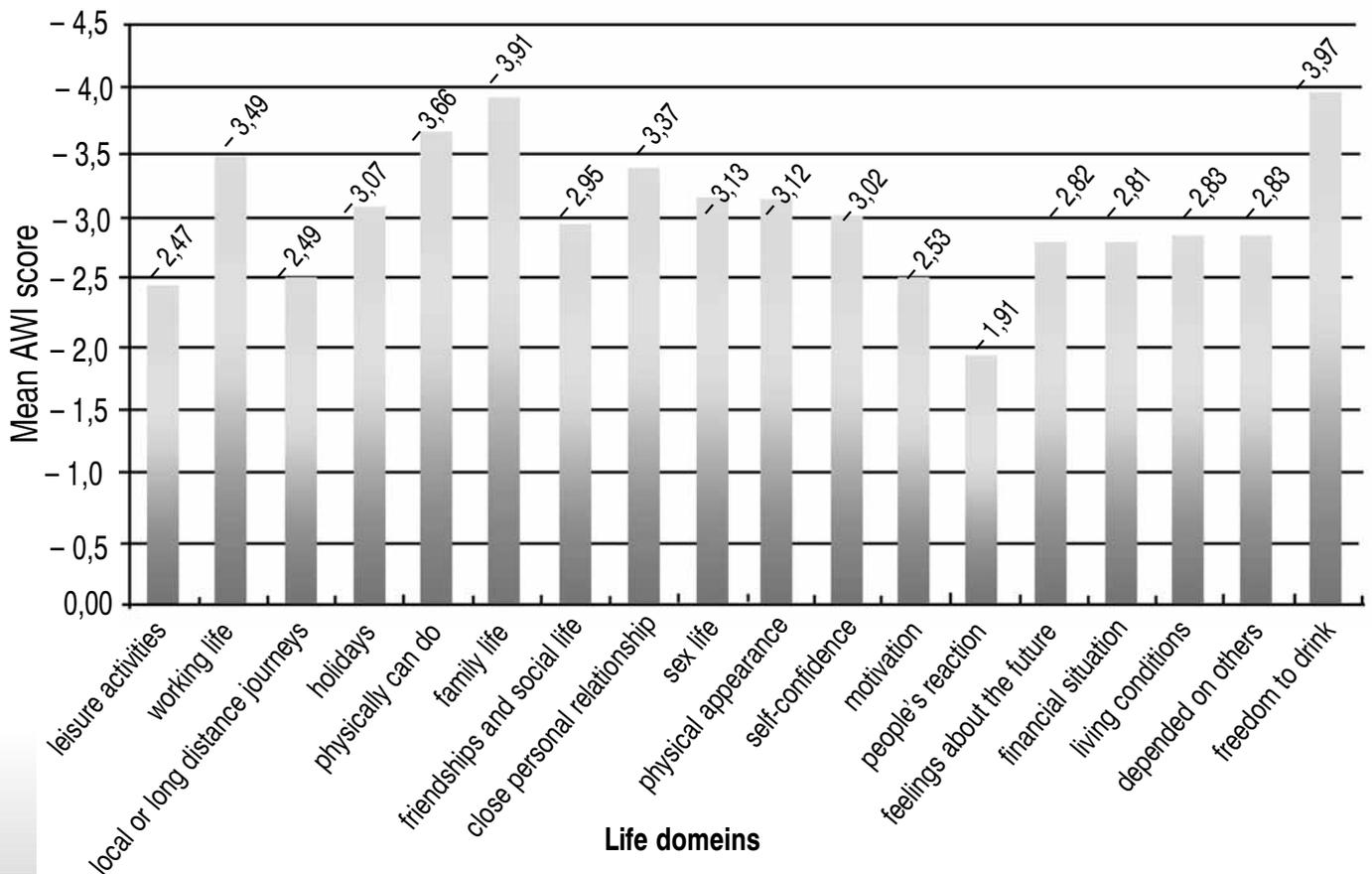


Figure 2 Diabetes impact on quality of life of patients with T2DM (n=411)



production of a specific profile of patients and their needs to develop adequate approaches to health education (25). Less educated persons, Roma, unmarried, unemployed persons and those with low income had lower self-esteem for general QoL. This can be explained by a lower health culture and with a lower level of adherence to the therapy. Studies found a direct correlation between diabetes education, better management of the disease and better QoL (26, 27).

The conducted study found statistically significant differences in the assessment of the current QoL and the presence of diabetic complications in participants (most significant in diabetic neuropathy). This determines the presence of diabetic complications as the strongest predictor of QoL, impact and satisfaction with treatment (27).

The field „freedom to eat“ has the greatest negative assessment of impact and reflects the strong influence of dietary restrictions on QoL in DM. This discovery is repeated in different countries and studies, suggesting that interventions that promote food freedom according to therapeutic regimen will do much to improve the quality of life (16-24).

„Family life“, „physically can do“ and „working life“ also have high assessment of impact. This can be interpreted by the fact that in the value system of Bulgarians, strong, family relationships and personal relationships have the greatest impact. Limitations of diabetes on the „physically can do“ are caused more often by available diabetic complications, which limit physical endurance and hinder daily activities. Diabetes has a negative impact on working life, too, which is confirmed with more frequent absences from work due to temporary working disability.

Patients treated with insulin showed less QoL compared to those treated with diet and / or oral agents. Moves to daily insulin application as well as the

need for strict control lead to additional stress for patients and lower self-assessment of QoL (28). The „freedom to eat as I want“ is the most negatively affected aspect of life for both subgroups, regardless of whether they were treated with insulin or non-insulin treated.

Conclusion

Using ADDQoL allowed the discovery of and the appreciation of the determinants of QoL that have the greatest importance for the Bulgarian population. Diabetes mellitus has a great negative impact on the quality of life of patients. Patients with type 2 diabetes mellitus have lower QoL in all fields than patients without diabetes.

Diabetes complications are more important predictors of quality of life than the social and demographic characteristics of the sample.

Relevant management of type 2 diabetes mellitus is crucial for achieving good metabolic control, reduction of complications and higher quality of life of patients.

Patient reported outcome measures (PROMs), offer great potential for improving the quality and outcomes of health services. Data reported by the patients are important for health professionals as feedback on the care that is provided. The subjective assessment of health is a factor that has a major impact on the quality of life of patients and is an important component in evaluating the effectiveness of diabetic management and the arrangement of diabetic care.

Acknowledgement

We thank the patients for their kind participation in the study and the endocrinologists for their dedicated participation in the data collection.

References

1. **IDF. Diabetes Atlas, 6th ed.** Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013. <http://www.idf.org/diabetesatlas/update-2014>.
2. **WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2014, WHO global report.** Global Status Report on Non-communicable Diseases. Geneva, World Health Organization, 2014. Available http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf.
3. **Guariguata L, Whiting D, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw J.** Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Prac* 2014; 103(2): 137-149.

4. **Borrisova A-M, Shinkov A, Vlahov Y, Dakovska L, Blajeva E, Todorov T.** Prevalence of Diabetes Mellitus and Prediabetes in Bulgaria Today. *Endocrinologia* 2012; 4(4): 182-192 (in Bulgarian). (Борисова А-М, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Блажева Е, Тодоров Т. Разпространение на захарния диабет и предиабет в България днес. *Ендокринология* 2012; 17(4):182-192.)
5. **Borrisova A-M, Shinkov A, Kovatcheva R, Vlahov Y, Dakovska L, Todorov T.** Changes in the Prevalence of Diabetes Mellitus in Bulgaria (2006-2012). *Clinic med insights Endocrinology diabetes* 2015; 8: 41-45.
6. **Snoek FJ.** Quality of life: a closer look at measuring patients' well-being. *Diabet spectrum*, 2000; 13(1): 24-28.

7. **Barbotte E, Francis G, Chau N.** Prevalence of impairments, disabilities, handicaps and quality of life in the general population: a review of recent literature. *Bull World Health Organ* 2001; 79(11): 1047-1055.
8. **Hornquist JO.** The concept of quality of life. *Scand J Soc Med* 1982; 10 (2):57-61.
9. **CDC.** Measuring Healthy Days. Atlanta, Georgia: 2000.
10. **Testa MA, Simonson DC.** Assessment of quality-of-life outcomes. *N Engl J Med* 1996; 334(13): 835-840.
11. **Bradley C.** Importance of differentiating health status from quality of life. *Lancet* 2001; 357 (9249): 7-8.
12. **Garratt AM, Schmidt L, Fitzpatrick R.** Patient-assessed health outcome measures for diabetes: a structured review. *Diabet Med* 2002; 19 (1): 1-11.
13. **El Achhab Y, Nejari C, Chikri M, Lyoussi B.** Disease-specific health-related quality of life instruments among adults diabetic: A systematic review. *Diabet Res Clin Pract* 2008; 80 (2): 171-184.
14. **Bradley C, Todd C, Gorton T, Symonds E, Martin A, Plowright R.** The development of an individualized questionnaire measure of perceived impact of diabetes on quality of life: the ADDQoL. *Qual Life Res* 1999; 8(1-2): 79-91.
15. **Bradley C, Speight J.** Patient perceptions of diabetes and diabetes therapy: assessing quality of life. *Diabet Metab Res Rev* 2002; 18: S64-69.
16. **Wee H, Tan C, Goh S, Li S.** Usefulness of the Audit of Diabetes-Dependent Quality-of-Life (ADDQoL) questionnaire in patients with diabetes in a multi-ethnic Asian country. *Pharmacoeconomics* 2006; 24 (7): 673-682.
17. **Soon S, Goh S, Bee Y, Poon J, Li S, Thumboo J, et al.** Audit of diabetes-dependent quality of life (ADDQoL)[Chinese version for Singapore] questionnaire. *Appl Health Econ Health Policy* 2010; 8 (4): 239-249.
18. **Kong D, Ding Y, Zuo X, Su W, Xiu L, Lin M, et al.** Adaptation of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life questionnaire to people with diabetes in China. *Diabet Res Clin Pract* 2011; 94 (1): 45-52.
19. **Holmanova E, Zakova K.** Audit diabetes-dependent quality of life questionnaire: usefulness in diabetes self-management education in the Slovak population. *J Clin Nurs* 2009; 18 (9): 1276-1286.
20. **Costa F, Guerreiro J, Duggan C.** An audit of diabetes dependent quality of Life (ADDQoL) for Portugal: exploring validity and reliability. *Pharm Pract* 2006; 4 (3): 123-128.
21. **Speight J, Reaney M, Barnard K.** Not all roads lead to Rome-a review of quality of life measurement in adults with diabetes. *Diabet Med* 2009; 26 (4): 315-327.
22. **Ostini R, Dower J, Donald M.** The Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life 19 (ADDQoL): feasibility, reliability and validity in a population-based sample of Australian adults. *Qual Life Res* 2012; 21 (8): 1471-1477.
23. **Turk E.** Patient Reported Outcomes in Elderly Patients with Diabetes Mellitus Type 2 in Slovenia. *E. Turk, Copyright © 2013 Acta Univ. Oul. D 1226.*
24. **DePablos-Velasco P, Salguero-Chaves E, Mata-Poyo J, DeRivas-Otero B, Garcia-Sanchez R, Viguera-Ester P.** Quality of life and satisfaction with treatment in subjects with type 2 diabetes: Results in Spain of the PANORAMA study. *Endocrinol Nutr* 2014; 61(1): 18-26.
25. **Unden A, Elofsson S, Andreasson A, Hillered E, Eriksson I, Brismar K.** Gender differences in self-rated health, quality of life, quality of care, and metabolic control in patients with diabetes. *Gender Med* 2008; 5 (2): 162-180.
26. **Tankova T, Dakovska G, Koev D.** Education and quality of life in diabetic patients. *Patient Educ Couns* 2004; 3 (3): 285-290.
27. **Ali S, Stone M, Skinner T, Robertson N, Davies M, Khunti K.** The association between depression and health-related quality of life in people with type 2 diabetes: a systematic literature review. *Diabet Met Res Rev* 2010; 26 (2): 75-89.
28. **Polonsky W, Anderson B, Lohrer P, Welch G, Jacobson A, Aponte J, et al.** Assessment of diabetes-related distress. *Diabetes Care* 1995; 18 (6): 754-776.

Динамични промени в нивото на ТСХ при жени с аутоимунни тиреоидни заболявания подлежащи на контролирана овариална хиперстимулация

^{1,3} Бодурска, Татяна Т., ² Тодорова, Катя Н., ³ Конова, Емилиана И.,

¹ Попов, Йордан Д.

¹ Клиника по Акушерство и Гинекология, Медицински Университет, Плевен

² Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, МУниверситет, Плевен

³ Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

Адрес за кореспонденция:

г-р Татяна Бодурска,

Клиника по Акушерство и Гинекология,

Медицински Университет, Плевен,

Гр. Плевен 5800, ул. „Ген. Владимир Вазов“ №91

E-mail: tatianabodurska@yahoo.com

Резюме

Въведение: От повече от 50 години е известно, че нормалното функциониране на щитовидната жлеза е от изключително значение за осъществяването на нормална репродукция. От друга страна, непрекъснато се получават данни за влиянието на асистираните репродуктивни техники (АРТ) върху нормалното функциониране на щитовидната жлеза, особено в случаите на предшестваща тиреоидна патология, включително аутоимунни заболявания.

Цел: Да се изследва в динамика промяната в нивата на ТСХ преди и по време на контролирана овариална хиперстимулация (КОХ).

Дизайн: Проспективно, обсервационно проучване върху селектирана група от 45 жени със стерилитет, подлежащи на КОХ за *in vitro* фертилизация (ИВФ). Проследена е промяната в нивата на ТСХ в хода на овариалната хиперстимулация при 2 групи жени – първа група без предшестващо аутоимунно тиреоидно заболяване (АИТЗ); (n1=24) и втора група с установено АИТЗ; (n2=21). Таргетирания нива на ТСХ преди започване на КОХ са били под 2,5 mIU/ml в двете наблюдавани групи. Жените с доказано АИТЗ са лекувани с левотироксин преди и по време на КОХ.

Резултати: Нивата на ТСХ се повишават сигнификантно в хода на КОХ и в двете групи, но с по-изразено покачване в групата жени без предходно установено АИТЗ.

Заклучение: Яйчниковата хиперстимулация се отразява директно върху нивата на ТСХ, поради което е необходимо предварително тестване на всички пациентки, подлежащи на КОХ.

Ключови думи: щитовидна жлеза, тиреоидни хормони, яйчникова хиперстимулация, асистирана репродукция.

Въведение

От повече от 50 години е известно, че нормалното функциониране на щитовидната жлеза е от изключително значение за осъществяването на нормална репродукция (12). Особеност на съвременното общество е отлагането на репро-

дукцията и раждането на дете в по-напреднала възраст.

Възрастта сама по себе си е свързана с увеличаване честотата на някои заболявания, вкл. тези на щитовидната жлеза. От друга страна, при жените с инфертилитет, които прибягват до асистираните репродуктивни техники (АРТ), се

установява по-голям процент на тиреоидни заболявания (21). Употребата на АРТ цели добиването на по-голям брой кумулус-овоцитни комплекси, което пък неизбежно е свързано с повишена продукция на естрадиол от по-големия брой развиващи се фоликули. Тази рязка и бързо настъпваща хиперестрогенемия до нива, които са характерни за втори триместър на бременността, води до напрежение в оста хипоталамус-хипофиза-щитовидна жлеза и може значително да промени разпределението и кинетиката на щитовидните хормони. Установено е, че гонадотропините и тироксинът заедно са необходими за оплождането на яйцеклетката и развитието на бластоциста. От своя страна ТСХ е важен предиктор за неуспешно оплождане (22). Хиперестрогенемията предизвиква повишение на Т4-свързващия глобулин (Т4-binding globulin, ТВГ), който има голям афинитет за свързване с Т4. Нормално неговите нива се увеличават по време на бременност, което води до допълнително повишение в нуждите от продукция на Т4. Повишението на Т4-свързващия глобулин е причина за покачване на ТСХ при овариална хиперстимулация, както и при настъпване на бременност. При здрави бременни това повишение може лесно да бъде посрещнато (10, 18, 20). Няколко различни проучвания доказват промяна във функционирането на щитовидната жлеза по време и след асистирана репродукция. Повечето от тях, обаче, са проведени при жени без предшестващо тиреоидно заболяване (23).

Съпътстващият хипотиреоидизъм по време на бременност има доказано неблагоприятен ефект върху изхода на бременността, напр. по-висока честота на спонтанни аборти (2, 19, 26), гестационен диабет, хипертония по време на бременността, интраутеринна смърт на плода, влияние върху нервно-интелектуалното развитие на плода и др. (4, 11, 14, 17). Според клиничните препоръки на Endocrine Society при всички жени, които планират бременност, ТСХ трябва да се коригира до стойности под 2,5 mIU/ml (7). Според други автори като Красас това важи и за жени, на които предстои КОХ (15). Авторы като Abalovich и съавт. (3) понижават още преконачно горната граница на ТСХ под 1,2 mIU/ml. Според American Thyroid Association ТСХ не трябва да се повишава над 2,5 mIU/ml през първия триместър на бременността (24). В изследване на Fumarola и сътр. при използване на АРТ бременност настъпва в 22% при ТСХ < 2,5 mIU/ml и в 8,9% при ТСХ > 2,5 mIU/ml (9). В проучване от 2012 г. екип от американски учени прави проспективно изследване на промяната във

функцията на щитовидната жлеза по време на КОХ до две седмици след теста за бременност. Те установяват разлика в промените на функцията при еутиреоидните и хипотиреоидните жени, с по-значително повишение на ТСХ и намаление на свободния Т4 (FT4) във втората група. Еутиреоидната група успява по-добре да реагира на повишението на ТВГ и да поддържа по-постоянни нива на ТСХ в сравнение с хипотиреоидната група. При всички хипотиреоидни пациентки етиологията е тиреоидит на Хашимото (13).

Цел: Целта на настоящето проучване е да се изследват в динамика нивата на ТСХ по време на яйчникова хиперстимулация.

Дизайн: Проспективно, обсервационно проучване в селектирана група от 45 амбулаторни жени, страдащи от стерилитет, подлежащи на КОХ с цел АРТ в Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен, включващо периода м. юли 2014 г. – м. март 2015 г.

Материал и методи:

В проучването са включени 45 жени, разделени на 2 групи преди старта на КОХ – I^{ва} група без анамнеза за АИТЗ, с нива на ТСХ под 2,5 mIU/ml, без лечение с левотироксин, с отрицателни тиреопероксидазни антитела (ТРО-Ab) и/или тиреоглобулинови антитела (Тг-Ab); (n1=24) и II^{ра} група с анамнеза за АИТЗ с нива на ТСХ под 2,5 mIU/ml, лекувани с левотироксин преди старта на КОХ, с положителни ТРО-Ab и/или Тг-Ab; (n2=21). Проследени са стойностите на ТСХ в динамика трикратно – преди началото на КОХ (на нулев ден), в хода на КОХ (5-7^{ми} ден) и в деня на фоликулната пункция (12-13^{ми} ден).

Подборът на пациентките е осъществен по следните критерии за включване: възраст до 37 г., нормални стойности на ТСХ, ТРО-Ab и Тг-Ab в контролната група и патологични стойности на ТСХ преди старта на КОХ (което е било коригирано с екзогенен тироксин), или ТРО-Ab, или Тг-Ab в основната (сравнителна) група, наличие на подписано информирано съгласие за участие.

От проучването са отпадали участничките, които са изпълвали следните критерии за изключване: предшестваща електрофенестрация на яйчниците, оперативно отстранен един или два яйчника, липса на информирано съгласие за участие в проучването. Всички включени пациентки са информирани за целта и начина на провеждане на проучването, получено е одобрение от Комисия по етика към МУ, Плевен.

АРТ процедура При всички пациентки е проведена КОХ след предварителна хипофизарна десенсибилизация чрез комбинирането на рекомбинантен GnRH агонист и уринарен или рекомбинантен FSH препарат. Реакцията на яйчниците към КОХ е проследявана чрез изследване нивата на естрадиола и ултразвукови гинекологични прегледи. След достигане на размери повече от 18 мм на повече от 2 фоликула са прилагани 10 000 IU рекомбинантен човешки хорионгонадотропин и 36 часа по-късно са аспирирани яйцеклетките чрез фоликулна пункция с вагинален достъп под ехографски контрол.

Серумни тестове Серумните нива на ТСХ, ТРО-Ab и Тg-Ab са измерени чрез електрохемилюминисцентен имуноанализ, ECLIA на апарат Beckman-Coulter. Целевите стойности за ТСХ в серума, преди започване на КОХ са били между 0,34-2,50 mIU/ml.

Статистически анализ: Прилаган е параметричен анализ – Т тест за две независими извадки (Independent Samples T-Test), за проверка за равенство на две средни. Методът на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) е добавен за проверка нормалността на разпределението на количествени променливи. Стойностите са представени като средни стойности с тяхното стандартно отклонение (\pm SD). Прието е критично ниво на значимост когато Р стойността (P-value) е по-малка от 0,05. За обработката на данните от проучването е използвана версията на SPSS – SPSS for Windows 13,0.

Резултати:

Установените средни стойности на серумните нива на ТСХ преди започване на КОХ са били близки до таргетните ($\leq 2,5$ mIU/ml) без сигнификантни различия между двете групи жени (P=0,475).

Измерените в хода на КОХ динамични промени в стойностите на ТСХ са представени на Таблица 1. В групата на жените без АИТЗ (n1) се

установява прогресивно покачване на стойностите на ТСХ със статистически значими различия в нивата на ТСХ между 0 и 5-ти ден (P=0,044), между 5-ти ден и 12-13-ти ден (P=0,008) и съответно между 0 ден и 12-13-ти ден (P<0,0001). В групата на жените с АИТЗ (n2) също се установява динамично покачване на ТСХ между 0 и 12-ти ден, но с някои особености. През първите дни, в периода между 0 и 5-ти ден, КОХ не причинява сигнификантно покачване на ТСХ (P=0,246), но след 5-ти ден повишението на ТСХ нараства значимо [ТСХ между 5-ти и 12-13-ти ден; (P<0,0001)]. Сравняването на нивата на ТСХ преди започване на КОХ и след нейното приключване показва, че покачването на ТСХ е също значимо [ТСХ между 0-ден и 12-13-ти ден; (P<0,0001)].

При сравняване на средните стойности в динамиката на ТСХ между жените от двете групи се установява, че здравите жени реагират с по-голямо покачване на ТСХ, в сравнение с жените с АИТЗ и установените различия в стойностите на трите измервания са сигнификантни. Пرابи впечатление това, че в n1 групата се достига до сигнификантна разлика в отскока на ТСХ между 0 ден и 5-ти ден, докато в n2 групата такава сигнификантна разлика няма.

Обсъждане:

Двустранното влияние между щитовидната жлеза и яйчника е предмет на множество проучвания и дебати. Значението на това взаимодействие придобива все по-голямо значение в съвременната медицина с все по-широката употреба на АРТ и има отношение към успеваемостта на процедурата.

В нашето проучване получихме резултати, които илюстрират динамичните промени в ТСХ в процеса на КОХ при жени без АИТЗ и те са в потвърждение на наблюденията и на други автори (11). Хиперестрогенемията в резултат на КОХ води до повишение на ТВГ с последващо понижение на циркулиращите тиреоидни хормони

Таблица 1. Динамика на стойностите на ТСХ преди и в хода на КОХ

Изследвани групи	ТСХ 0-ден	ТСХ 5-7-ми ден	ТСХ 12-13-ти ден
N1 =24	1,62 \pm 0,80*	1,94 \pm 1,14**	2,47 \pm 1,09**
N2 = 21	1,39 \pm 0,65*	1,52 \pm 0,80**	2,23 \pm 1,20**

Легенда: *P>0,05, ** P<0,05

и съответно повишение на ТСХ. При нормални условия последва бързо възстановяване на хормоналното равновесие. Това обаче може да е трудно постижимо в случаите на намален функционален резерв на щитовидна жлеза, напр. съществуване на АИТЗ. Така ОХ може да предизвика (субклиничен) хипотиреозизъм преди имплантацията и при липсата на адекватно лечение да се повиши риска за бременността и плода (25).

Това, което е новото и различното в нашето проучване, е че ние установяваме същите динамични промени в стойностите на ТСХ между 0-ден, 5-ми ден и 12-13-ми ден и при жените в АИТЗ, но ТСХ отговорът към КОХ при тях е по-слаб в сравнение със здравите жени. Логично е да твърдим, че лечението с левотироксин е най-вероятната причина за по-слабата динамика в повишението на ТСХ при жените с предшестващо АИТЗ.

Нашите резултати са в съгласие с тези на други автори. Venaglia и сътр. в свое проучване установяват, че при една от три еутиреозни жени ТСХ се повишава над 2,5 mIU/ml в хода на КОХ (5). Fleischer и сътр. установяват повишение на ТСХ в резултат на КОХ при здрави жени сравнени със здрави жени, които провеждат *in vitro* процедура на спонтанен менструален цикъл (8). Velkeniers и сътр. установяват, че адекватното лечение с левотироксин води до повишение на имплантацията и живоражданията и намаление на спонтанните аборти. Те отчитат ползата от заместителното лечение както при АИТЗ, така и при субклиничен хипотиреозизъм (27), което съвпада и с мнението на други автори (6, 16).

Нашето изследване включва както контролна група от пациентки без предшестващо тиреозно заболяване, така и с тиреозно заболяване. По този начин се получава типична извадка на пациентките, провеждащи процедура по асистирана репродукция чрез *in vitro* фертилизация

и характеризира тиреозната функция при яйчникова хиперстимулация. Слабост на нашето изследване е проследяването на промените само в ТСХ в хода на стимулацията. Считаме, че за по-пълното проследяване на тиреозната функция е необходимо включването и на FT4, както и проследяване ѝ непосредствено след края на КОХ и при евентуално настъпване на бременност. Друг недостатък, който отчитаме, е малкият брой на включените в проучването пациентки.

В заключение, ние демонстрираме значителни промени в нивата на ТСХ в хода на овариалната хиперстимулация, като това което установяваме в контраст с останалите автори е, че тези промени са по-изразени в групата на жените без заболяване на щитовидната жлеза.

Изводи:

КОХ има директен ефект върху нивата на ТСХ, както при пациентки с АИТЗ, така и при пациентки без заболяване на щитовидната жлеза. Необходимо е предварително изследване на ТСХ и тиреозни антитела на всички жени със стерилитет преди започване на стимулация със стриктен контрол в хода и след самата процедура. Идентифицирането на жените с неадекватно висок отговор на ТСХ, който води до повишението му над 2,5 mIU/ml в резултат на КОХ, ще позволи своевременно лечение с левотироксин в дните преди трансферирание на ембриона. Необходими са повече данни за това дали жените със заболяване на щитовидната жлеза трябва да бъдат мониторираны и лекувани различно преди КОХ в сравнение с общата популация, както и в сравнение с жените, които не подлежат на КОХ.

Настоящата работа е финансирана със средства по научен проект № 13 на МУ-Плевен от 2014 г.

Dynamic Changes in TSH Levels in Women with Autoimmune Thyroid Diseases Undergoing Controlled Ovarian Hyperstimulation

^{1,3}Bodurska, Tatyana T., ²Todorova, Katia N., ³Konova, Emiliana I., ¹Popov, Yordan D.

¹ Clinic of Obstetric and Gynecology, Medical University, Pleven

² Clinic of Endocrinology and Metabolic Disease, Medical University, Pleven

⁴ Clinical Institute of Reproductive Medicine, Pleven

Address for correspondence:

Dr. Tatyana Bodurska,
Clinic of Obstetric and Gynecology,
Medical University, Pleven,
Pleven 5800, №91 „Gen. Vladimir Vazov“
E-mail: tatianabodurska@yahoo.com

Abstract

Introduction For more than 50 years it has been well known that normal thyroid function is required for normal reproduction. On the other hand an increasing amount of data have shown the impact of assisted reproductive technologies (ART) on the normal function of the thyroid gland, especially in cases of pre-existing thyroid disease including autoimmune thyroid disease (AITD).

Aim: To evaluate the dynamic changes in TSH levels before and during a controlled ovarian hyperstimulation (COH).

Design: A prospective, observational research study in a selected group of 45 women, suffering from infertility, undergoing COH for *in vitro* fertilization (IVF) was performed. The changes in the TSH levels were assessed during the COH procedure in two groups of women: the first group without pre-existing AITD (n1=24), and the second group with pre-existing AITD (n2=21). The targets of the TSH levels before starting COH were less than 2,5 mIU/ml in both groups. Women with pre-existing AITD were treated with levothyroxin before and during COH.

Results: Significant increases in TSH levels during the COH procedure were observed in both groups with a predominate rise in the women without AITD.

Conclusion: Ovarian hyperstimulation has a direct impact on TSH levels, necessitating pre-starting TSH assessment for all patients undergoing COH.

Key words: thyroid gland, thyroid hormones, ovarian hyperstimulation, assisted reproduction

Introduction

For more than 50 years it has been well known that normal thyroid function is of particular importance for normal reproduction (12). An essential feature of modern society is the postponing of reproduction and having a child at a later age.

Age in itself is connected to increased frequency of some diseases, including those of the thyroid gland. Furthermore, in infertile women who resort to assisted reproductive technologies (ATR), a higher percent of thyroid diseases is identified (21). The application of ART is focused on the production of a larger number of cumulus-oocyte complexes, which on the other hand is inevitably connected with increased production of estradiol by the larger number of developing

follicles. This sharp and rapidly occurring hyperestrogenemia up to levels typical for the second trimester of pregnancy causes stress on hypothalamus-pituitary-thyroid gland axis and can considerably modify thyroid hormones distribution and kinetics. It has been found that both gonadotropins and thyroxin together are required for fertilization and for blastocyst development. On the other hand, TSH is an important predictor of failed fertilization (22). Hyperestrogenemia causes an increase of T4-binding globulin (TBG), having a high affinity to bind with T4. Normally, during pregnancy (), its levels are increased, causing a further increase in production of required T4. The growth of T4-binding globulin is the reason for the increase of TSH in case of ovarian hyperstimulation, and also in case of occurring pregnancy. In pregnant women in

good health this increase is easily tolerated (10, 18, 20). Several different studies have proved a change in the functioning of the thyroid gland during and after assisted reproduction. The majority of the studies, however, have been carried out with women without previous thyroid disease (23).

The co-existing hypothyroidism across pregnancy has a proven unfavourable effect on pregnancy outcome, for instance, a higher frequency of spontaneous abortions (2, 19, 26), gestation diabetes, pregnancy hypertension, intra-uterine fetal death, affecting neurological and intellectual development of the fetus, etc. (4, 11, 14, 17). According to clinical recommendations of the Endocrine Society, for all women planning for pregnancy, TSH must be adjusted to levels below 2,5 mIU/ml (7). According to other authors, such as Krasas, this applies also to women undergoing controlled ovarian hyperstimulation (COH) (15). Authors like Abalovich et al. (3) tend to lower further the TSH upper limit below 1,2 mIU/ml preconceptionally. According to the American Thyroid Association, TSH should be increased above 2,5 mIU/ml during the first trimester of pregnancy (24). In a study carried out by Fumarola et al. with the application of ART, pregnancy occurs in 22% with TSH <2,5 mIU/ml and in 8,9% with TSH < 2,5 mIU/ml (9). In a study carried out in 2012, a team of American scientists carried out a prospective study of changes of the thyroid gland function during COH within two weeks of the pregnancy test. They found differences in function changes in euthyroid and hypothyroid women, with a more significant increase of TSH and reduction of free T4 (FT4) in the second group. The euthyroid group was able to respond better to the increase of TBG and to maintain more constant levels of TSH in comparison with the hypothyroid group. In all hypothyroid patients the etiology was Hashimoto's thyroiditis (13).

Objective: The objective of this paper was to study TSH levels dynamics over time during a controlled ovarian hyperstimulation.

Design: A prospective, observational study of a selected group of 45 outpatient women, suffering from infertility, undergoing COH for ART in Clinical Reproductive Medicine Institute, Pleven, within the period July 2014 - March 2015.

Material and methods: The study consisted of 45 women, divided into two groups before the start of COH - Group 1 without AITD anamnesis, with TSH levels below 2,50 mIU/ml, without treatment with Levothyroxin, with negative thyroid peroxidase antibodies (TPO-Ab) and/or thyroglobulin antibodies (Tg-Ab); (n1=24) and Group 2 with anamnesis for AITD with TSH levels below 2,5 mIU/ml, treated with Levothyroxin before the start of COH, with positive TPO-Ab and/or Tg-Ab; (n2=21). TSH levels were monitored over time, three times - before the start of COH

(on day zero), in the course of COH (day 5 - 7) and on the day of a follicular puncture (day 12 - 13).

Patient selection was carried out based on the following entry criteria: maximum age 37 years; normal TSH, TPO-Ab and Tg-Ab levels in the control group; pathological TSH levels before the start of COH, which had been normalized with exogenous thyroxin, or elevated levels of TPO-Ab, or Tg-Ab in the pathological (comparative) group; signed statement of informed consent. The following participants were excluded from the study for meeting the following exclusion criteria: earlier ovarian electric fenestration, operatively removed one or two ovaries and the absence of informed consent. All included patients were informed of the objective and the method of carrying out the study. Approval by the Ethics Commission of Plevan Medical University was obtained.

APT procedure COH was carried out in all patients after preliminary pituitary desensibilization by combining recombinant GnRH agonist and urinary or recombinant FSH preparation. The response of the ovaries to COH was monitored through estradiol levels assessment and ultrasonic gynecological examinations. On reaching dimensions equal to and exceeding 18 mm by more than 2 follicles, 10 000 IU of recombinant human choriogonadotropin was administered, and 36 hours later ovaries were aspirated by follicular puncture with vaginal access under sonographic control.

Serum tests Serum levels of TSH, TPO-Ab and Tg-Ab were measured through electrical chemiluminescent immune analysis, ECLIA on a Beckman-Coulter analyzer. Target values of TSH in serum before the start of COH were between 0,34 and 2,50 mIU/ml.

Statistical analysis: Parametric analysis was used - Independent Samples T-Test, for verification of the equality of two means. The Kolmogorov-Smirnov method was added for verification of normality distribution of quantitative variables. Values have been presented as mean values with their standard deviation (\pm SD). A critical level of importance of P-value less than 0,05 has been assumed. SPSS - SPSS version for Windows 13,0 was used to process the obtained study data.

Results: The established mean values of serum levels of TSH before the start of COH have been close to the target ones (\leq 2,5 mIU/ml) without significant differences between the two groups of women (P=0,475).

The dynamic changes of TSH values measured in the course of COH are presented in Table 1. In the group of women without AITD (n1) a progressive increase of TSH values has been found with statistically significant differences in TSH levels between day 0 and day 5 (P=0,044), between day 5 and day 12-13 (P=0,008) and, respectively, between day 0 and day 12-13 (P<0,0001). In the group of women with AITD

(n2) a dynamic increase of TSH levels was also identified between day 0 and day 12, however, with some specifics. During the first days, in the period between day 0 and day 5 COH does not cause a significant increase in TSH levels ($P=0,246$), but after day 5 TSH it increases considerably. [TSH between day 6 and day 12-13 ($P<0,0001$)]. A comparison of TSH levels before the start of COH and after its completion shows that TSH increase is also significant [TSH between day 0 and day 12-13; ($P<0,0001$)].

The comparison of mean values of TSH dynamics of women of both groups shows that healthy women responded with a much higher increase in TSH in comparison to women with AITD, where the identified differences of three test values were significant. It is worth mentioning that in the Group n1 there was a significant difference in the rise of TSH between day 0 and day 5, while in the Group n2 there was not such a significant difference.

Discussion:

Double-sided influence between the thyroid gland and the ovary is a subject of numerous studies and discussions. This correlation is of greater significance in modern medicine because of the expanding application of ART and is linked to the success rate of the procedure.

The results of our study, which illustrate dynamic changes of TSH in the process of COH in women without AITD, confirm the observations of other authors (11). Hyperestrogenemia as a result of COH causes an increase of TBG with a subsequent reduction of circulating thyroid hormones and respectively an increase of TSH. Under normal conditions, there is a quick recovery of hormonal balance. However, this can hardly be achieved in cases of reduced functional reserve of the thyroid gland for example – existence of AITD. Thus, COH can cause (sub-clinical) hypothyroidism before the implantation and in case of inadequate treatment the risk for the pregnancy and the fetus would be increased (25).

Of interest is that our study found the same dynamic changes of TSH values between day 0, day 5 and day 12-13 also in women in AITD, however their response to COH is less strong in comparison with healthy women. Logically, we can maintain that the medication with Levothyroxin is the most probable reason for the weaker dynamics of TSH increase in women with previous AITD.

Our results are in line with the one shared by other authors. Benaglia et al. in their study have found out that in one of every three euthyroid women TSH is increasing and exceeding 2,5 mIU/ml in the course of COH (5). Fleischer et al. have established an increase of TSH as a result of COH in healthy women in comparison with other healthy women undergoing in vitro procedure with spontaneous menstrual cycle (8). Velkeniers et al. have found out that adequate treatment with Levothyroxin results in an increase of implantation and live birth and reduction of spontaneous abortions. They take into account the benefit from the replacing therapy both in cases of AITD and in sub-clinical hypothyroidism (27) which is in line with the opinion shared by other authors (6, 16).

Our study includes both the reference group of female patients without previous thyroid disease, and those with thyroid disease. Thus, a typical sample of patients undergoing assisted reproduction procedure through in vitro fertilization is obtained which characterises thyroid function in case of ovarian hyperstimulation. The weakness of our study is the monitoring of only TSH in the course of stimulation. We believe that for more complete monitoring of thyroid function it is necessary to include also FT4, and also its monitoring immediately after the end of COH and in case of possible occurrence of pregnancy. Another disadvantage we take into account is the small number of patients covered by the study.

In conclusion, we have demonstrated significant changes in TSH levels in the course of controlled ovarian hyperstimulation, and what we have found in contrast to other authors is that these changes are more significantly displayed in the group of women without a thyroid gland disease.

Table 1. Dynamics of TSH levels before and during COH.

Study groups	TSH Day 0	TSH Day 5-7	TSH Day 12-13
N1 =24	1,62±0,80*	1,94±1,14**	2,47±1,09**
N2 = 21	1,39±0,65*	1,52±0,80**	2,23±1,20**

* $P>0,05$, ** $P<0,05$

Conclusions:

COH directly affects TSH levels both in patients with AITD and in patients without a thyroid gland disease. A preliminary test of TSH and thyroid antibodies is required for all women with sterility prior to proceeding to stimulation with strict control in the course of and after the end of the procedure. Identification of women with an inadequately high response to TSH leading to its increase to levels exceeding 2,5 mIU/ml

as a result of COH will allow timely medication with Levothyroxin on the days before fetus transfer. Further data is required as regards whether women with thyroid gland disease must be monitored and treated differently before COH in comparison with the general population, and also in comparison with women not undergoing COH.

This present work is financed with funds under research project No. 13 of MU - Pleven of 2014.

References

1. **Todorova K.** Auto-immune thyroid diseases and pregnancy. *Nauka Endocrinologia*. 2014; 3: 95-98 (In Bulgarian). (К. Тодорова. Автоимунни тиреоидни заболявания и бременност. *Наука Ендокринология* 2014; 3: 95-98).
2. **Todorova K, Konova E, Genova M, Tzachev C.** Antithyroid autoantibodies and miscarriages. *Acta Medica Bulgarica* 2007; vol. XXXIV; 1; 7-13.
3. **Abalovich M., Alcaraz G, Kleiman-Rubinsztein J, Pavlove MM, Cornelio C, Levalle O, et al.** The relationship of preconception thyrotropin levels to requirements for increasing the levothyroxine dose during pregnancy in women with primary hypothyroidism. *Thyroid* 2010; 20: 1175-1178.
4. **Abalovich M, Gutierrez S, Alcaraz G, Maccallini G, Garcia A, Levalle O.** Overt and subclinical hypothyroidism complicating pregnancy. *Thyroid* 2002;12: 63-68.
5. **Benaglia L, Busnelli A, Somigliana E, Leonardi M, Vannucchi G, De Leo S, et al.** Incidence of elevation of serum thyroid-stimulating hormone during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;173:53-57.
6. **Busnelli A, Somigliana E, Benaglia L, Sarais V, Guido R, Fedele L.** Thyroid axis dysregulation during in vitro fertilization in hypothyroid-treated patients. *Thyroid* 2014; 24(11): 1650-1655.
7. **De Groot L, Abalovich M, Alexander EK, Amino N, Barbour L, Cobin RH, et al.** Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(8): 2543-2565.
8. **Fleischer K, Muller AF, Hohmann FP, de Jong FH, Eijkemans MJC, Fauser BCJM, et al.** Impact of controlled ovarian hyperstimulation on thyroid function. *Reprod Biol Insights* 2014; 7(1): 9-16.
9. **Fumarola A, Grani G, Romanzi D, Del Sordo M, Bianchini M, Aragona A, et al.** Thyroid function in infertile patients undergoing assisted reproduction. *Am J Reprod Immunol* 2013; 70(4): 336-341.
10. **Glinoe D.** The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 1997;18: 404-433.
11. **Goel P, Radotra A., Devi K, Malhotra S, Aggarwal A, Huria A, et al.** Maternal and perinatal outcome in pregnancy with hypothyroidism. *Indian J Med Sci* 2005; 59:116-117.
12. **Goldsmith RE, Sturgis SH, Lerman J, Standburg JB.** The menstrual pattern in thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1952; 12: 846-855.
13. **Gracia CR, Morse CB, Chan G, Schilling S, Prewitt M, Sammel MD, et al.** Thyroid function during controlled ovarian hyperstimulation as part of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2012; 97: 585-591.
14. **Karakosta P, Alegakis D, Georgiou V, Roumeliotaki T, Fthenou E, Vassilaki M, et al.** Thyroid dysfunction and auto-antibodies in early pregnancy are associated with increased risk of gestational diabetes and adverse birth outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 4464-4472.
15. **Krassas GE, Poppe K, Glinoe D.** Thyroid function and human reproductive health. *Endocrine Reviews* 2010; 31(5): 702-755.
16. **Magri F, Capelli V, Gaiti M, Brambilla E, Monteson L, Rotondi M, et al.** Impaired outcome of controlled ovarian hyperstimulation in women with thyroid autoimmune disease. *Thyroid* 2013; 10: 1312-1318.
17. **Mannisto T, Vaarasmaki M, Pouta A, Hartikainen AL, Ruokonen A, Surcel HM, et al.** Perinatal outcome of children born to mothers with thyroid dysfunction or antibodies: a prospective population based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 772-779.
18. **Muller AF, Verhoeff A, Mantel MJ, De Jong FH, Berghout A.** Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 545-548.
19. **Negro R, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Stagnaro-Green A.** Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 44-48.
20. **Poppe K, Glinoe D, Tournaye H, Schiettecatte J, Devroy P, van Steirteghem A, et al.** Impact of ovarian hyperstimulation on thyroid function in women with and without thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3808-3812.
21. **Poppe K, Glinoe D, van Steirteghem A, Tournaye H, Devroye P, Schiettecatte J, et al.** Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. *Thyroid* 2002; 12: 997-1001.
22. **Poppe K, Velkeniers B.** Female infertility and the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004; 18(2):153-165.
23. **Reinblatt S, Herrero B, Correa JA, Shalom-Paz E, Ata B, Wiser A, et al.** Thyroid stimulation hormone levels rise after assisted reproductive technology. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30: 1347-1352.
24. **Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, et al.** Guidelines of the American thyroid association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011; 21: 1081-1125.
25. **Unuane D., Poppe K** Female infertility: do we forget the thyroid? *J Endocrinol Invest* 2015; 38: 571-574.
26. **Van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, van Wely M, van der Post JA, Goddijn M, et al.** Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: systematic review. *Hum Reprod Update* 2011; 17: 605-619.
27. **Velkeniers B, Van Meerhaeghe A, Poppe K, Land JA, van Wely M, van der Post JA, Goddijn M.** Levothyroxine treatment and pregnancy outcome in women with subclinical hypothyroidism undergoing assisted reproduction technologies: systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update* 2013; 19: 251-255.

Българско дружество по ендокринология

Национален симпозиум

„Костни промени при различни заболявания“

20-22 октомври 2016 г. – Пловдив

Такса правоучастие – 500,00 лева



РЕГИСТРАЦИОННАТА ТАКСА ВКЛЮЧВА:

- ✓ Хотелско настаняване – легло в двойна стая
- ✓ Сутрешна закуска
- ✓ Закуска при пристигането – 20. 10. 2016 г.
- ✓ Обеди – 21 и 22. 10. 2016 г.
- ✓ Вечеря „Добре дошли“ – 20 октомври 2016 г.
- ✓ Вечеря – 21 октомври 2016 г.
- ✓ Официална вечеря – 22 октомври 2016 г.
- ✓ Кафе - паузи
- ✓ Достъп до научните сесии и Сателитни симпозиуми
- ✓ Достъп до медицинската изложба
- ✓ Научна програма и резюмета
- ✓ Сертификат за участие от БЛС по места (според изискванията на БЛС)

Превод на такса правоучастие
лично или чрез спонсор
по банков път:

Райфайзенбанк

IBAN: BG51RZBB91551004828459

BIC: RZBBBGSF

КЕЙ ЕНД УАЙ КОНСУЛТАНТС ООД

за Национален симпозиум

„Костни промени при различни заболявания“
20-22 октомври 2016 г. Новотел – Пловдив



Българско дружество по ендокринология *Bulgarian Society of Endocrinology*

Списание
ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ISSN 1310-8131

Journal
ENDOCRINOLOGIA ISSN 1310-8131

Адрес на редакционната колегия:

Клиничен център – УСБАЛЕ
„Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431
София;
Проф. Мария Обецова, Главен редактор
тел. (02) 985 6001; факс (02) 987 4145;
Мобилен: 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg

Editorial Board address for correspondence:

Clinical Center of Endocrinology
„Acad. Iv. Penchev“, University Hospital 2,
Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Prof. Maria Orbetzova, *Editor in Chief*
Tel (+359) 2-895 6001; Fax C 2-987 4145;
Mobile (+359) 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg

Списание „Ендокринология“, издание на Българското дружество по ендокринология, излиза в 4 книжки годишно. В него се отпечатват оригинални научни статии, описания на клинични случаи, обзори, рецензии, информация за проведени и предстоящи научни събития и други материали в сферата на клиничната ендокринология. Обзорните материали от български автори излизат на български език с резюме на български и английски език. Оригиначните статии и казуси се отпечатват едновременно на български и английски език. По усмотрение на авторските колективи и преценка на редакционната колегия въз основа характера на материала, някои оригинални статии могат да бъдат публикувани само на български език. Материалите, предоставени от чужди автори, се поместват на английски език с цялостен или подбран превод на български език по преценка на редакционната колегия.

Материалите се изпращат на български език в електронен вид с шрифт Times New Roman, размер 12 на e-mail на главния редактор

The journal of the Bulgarian Society of Endocrinology „Endocrinologia“ is published in 4 issues per year. It accepts for publication original research papers, case reports, short communications, reviews, opinions on new medical books, commentaries and announcements for past of future scientific events (congresses, symposia, etc.) in all fields of clinical Endocrinology.

The reviews are published in Bulgarian language with an abstract both in Bulgarian and English. The original papers and case reports are published also in both languages. Some original research papers may be published in Bulgarian only, depending on the content and the decision of the authors and the editors. Papers of non-Bulgarian authors are published in English with full of partial translation into Bulgarian, provided by the Editorial board.

The manuscripts should be submitted initially in Bulgarian (for materials from abroad – in English) as MS Word.doc files, formatted in 12 pt. Times New Roman typeface. The manuscript is then checked for compliance with the edition's requirements and sent to the reviewers. If accepted for publication after the review, the authors are

(за чуждестранните материали – на английски език). След рецензиране и приемане за печат в срок до 3 седмици окончателният вариант се представя с превод на английски език (с изключение на обзорите) на e-mail на главния редактор с придружително писмо на адреса на редакцията, подписано от авторите, с което потвърждават съгласието си за участие и декларират, че материалът не е отпечатван в други научни списания, освен като резюме на съобщение, изнесено на научен форум.

Обемът на представените материали не трябва да превишава 10 стандартни (по 1800 знака) страници за оригиналните статии, 14 страници за обзорните статии, 4 страници за казусите, 2 страници за информацията относно научни прояви и научни дискусии, 1 страница за рецензии на монографии, учебници и пр. В посочения обем не се включват титулната страница и резюмето.

Структурата на статиите трябва да отговаря на следните изисквания:

Титулна страница

а) заглавие, имена на авторите, месторабота, научна организация. При повече авторски звена с арабска цифра се маркират кореспондиращите им автори.

б) същите данни на английски език се изписват под българския текст. При статии от чужди автори българският текст следва английския.

в) адрес за кореспонденция – съдържа данните на автора за кореспонденция на български и английски език – име, месторабота, пощенски и електронен адрес.

Резюме

Резюмето се представя на отделна страница в обем до 250 думи. То трябва да бъде структурирано както следва: цел, материали и методи, резултати и заключения. Тази структура не важи за обзорните статии. Посочват се до 5 ключови думи.

Основен текст

Оригиналните статии трябва да са структурирани както следва: въведение, материал и методи, резултати, обсъждане, заключение и/или изводи. В текста се допускат само официално приети международни съкращения, останалите трябва да бъдат

required to submit within 3 weeks the corrected version together with the English language translation (not applicable for review articles). A cover letter, signed by all authors is mailed to the editors, stating any conflicts of interest and that the manuscript in full or any part of it has not been published elsewhere or simultaneously submitted for publication, except as an abstract of congress participation.

The size of each paper should not exceed 10 standard pages (1800 characters) for original research articles, 14 pages for reviews, 4 pages for case reports, 2 pages for short communications, discussions or scientific events announcements or comments and 1 page on medical book reviews. The manuscripts should be structured as follows:

Title page

a. Title, names of the authors (family name followed by given name), affiliation. If more than one affiliation, they should be designated by Arabic numbers in Bulgarian and English languages.

b. A short title up to 8 words should be provided

c. Address of the corresponding author name, postal address (business or home as preferred), phone number, fax number, email address.

Abstract

The abstract should occupy the next page of the manuscript and not exceed 250 words. The abstracts of original research papers should be clearly structured with Aim; Materials and methods; Results; Conclusions. Abstracts of review papers may not follow that structure. Up to five key words should be written after the abstract.

Main text

Original papers should be structured as follows: Introduction; Aim; Materials and methods; Results; Discussion; Conclusions. Any abbreviation that is not commonly accepted should be written in full followed by the abbreviation in parentheses at first mention in the text. The International System of Units (SI) should be used for all measurement units. Citations in the text are designated by their bibliography sequential numbers in parentheses.

Tables and figures

Each table should be on a separate page after the bibliography with the table caption preceding it. All illustrations should be submitted as separate

пояснени в текста при първата им поява. За мерните единици е задължителна международната система SI. Цитатите вътре в текста се отбелязват само с номерата им в книгописа, оградени с малки скоби.

Таблицы и илюстрации

Всяка таблица се представя на отделна страница след книгописа. Заглавията на таблиците се изписват над тях. Илюстрациите се представят на отделни файлове. Графики и диаграми се представят във формати .xls (MS Excel), .ppt (MS PowerPoint), .eps (encapsulated postscript), които позволяват редактиране. Снимки (собствени), както и репродукциите на ползвани от чужди източници от Интернет да бъдат представяни с добро качество във формат JPEG и резолюция 300 dpi. Текстът към илюстрациите се представя в края на основния текст, след таблиците. Номерацията на таблиците и илюстрациите е с арабски цифри и се посочва в основния текст. При използване на чужд илюстративен материал, последният трябва да бъде придружен със съответно съгласие за възпроизвеждане от носителя на авторските права. Това се указва в текста към илюстрацията.

Книгопис

Книгописът се представя на отделна страница. Броят на цитираните източници е препоръчително да не надхвърля 25 (за обзорните статии 40) като следва да включва актуални източници от последните 5 години, както и публикации от български автори, работили по съответния проблем. Подреждането на източниците да става по реда на поява в текста. Книгописът се оформя съгласно Унифицираните изисквания за публикации в областта на биологията и медицината и е опростена версия на стил Ванкувър (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>). Всички автори се отбелязват с фамилно име, последвано от инициалите. При повече от шест автори, след шестия се поставя et al. Следва цялото заглавие на цитираната статия (с главна буква е само началната дума), название на списанието изписано съкратено според Index Medicus, година, том, брой на книжката в малки скоби (незадължителен при издания с непрекъснато

files. Diagrams and graphs should be prepared in .XLS (MS Excel), PPT (MS PowerPoint), EPS (encapsulated postscript) file formats that permit further processing. Bitmap images (photographs etc.) should be submitted in JPEG format and resolution 300 dpi. The figure captions are added to the main article document after the tables. All tables and figures are numbered sequentially and should be referred to in the text. If illustrations from other sources are used, the latter should be accompanied by the relevant permission for reproduction with a reference in the figure caption.

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 25 titles for original research articles and 40 titles for the reviews. It is advisable that sources on the topic from the recent five years be used. The references are listed in their order of first appearance in the text. They should follow the Vancouver format and the Uniform requirements (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>). All authors should be listed for papers with up to six authors; for papers with more than six authors, the first six only should be listed, followed by et al. The authors are followed by the full title of the paper (Only the first word is capitalized). The journal title is abbreviated in conformity with the latest edition of Index Medicus, followed by year, volume, issue in parentheses (not necessary for periodicals with a continuous pagination throughout the volume) and full first and last page. Chapters of books are 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 last pages of the cited chapter.

Examples

Reference to a journal article:

1. **McLachlan S, Prumel MF, Rapoport B.** Cell Mediated or Humoral immunity in Graves' ophthalmopathy? *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78 (5): 1070-1074.

If the original cited paper is in Bulgarian:

2. **Christov VI, Gocheva N, Petkova M, Zacharieva S, Tankova Tz, Orbetzova M, et al.** A consensus of the Bulgarian Institute Metabolic Syndrome on the metabolic syndrome. *Nauka Endocrinologia*. 2010; 2: 53-70 (in Bulgarian)

номериране на страниците в тома), пълни начална и крайна страница. Глави (раздели) от книги се изписват по аналогичен начин, като след автора и заглавието на главата (раздела) се отбелязват имената на редакторите, пълното заглавие на книгата, издателството, градът и годината на издаване, началната и крайната страница. Източниците на кирилица следва да бъдат представени и с оригиналния им превод на английски или транслитерация (ако източникът няма оригинален превод на заглавието и резюме на английски) и със забележка в скоби (in Bulgarian). Книгописът на оригиналните статии се отпечатва след английския текст.

Примери:

Статия от списание:

1. **McLachlan S, Prumel MF, Rapoport B.** Cell Mediated or Humoral immunity in Graves' ophthalmopathy? *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78 (5): 1070-1074.

2. **Christov VI, Gocheva N, Petkova M, Zacharieva S, Tankova Tz, Orbetzova M, et al.** A consensus of the Bulgarian Institute Metabolic Syndrome on the metabolic syndrome. *Nauka Endocrinologia*. 2010; 2: 53-70 (in Bulgarian) (Христов Вл, Гочева Н, Петкова М, Захариева С, Орбецова М и съавт. Консенсус на Българския институт „Метаболитен синдром“ за поведение при метаболитен синдром. *Наука Ендокринология* 2010; 2: 53-70).

Глава (раздел) от книга:

1. **Delange F.** Endemic Cretenism. In: Brave-man L, Utiger R, editors. *The Thyroid*. 9-th ed. Philadelphia: Lippincott Co; 1991. p. 942-955.

Материалите трябва да са написани на правилен български, респективно английски език при спазване на съвременните правила за правопис и пунктуация. Препоръчително е авторите да консултират английския текст с филолог или англоговорящ. Редакцията може да насочи към квалифицирани преводачи за превод или редактиране на материалите на английски език срещу заплащане. Материали, които не отговарят на изискванията на списанието, се връщат на авторите за корекции преди да бъдат предадени за рецензиране.

(Христов Вл, Гочева Н, Петкова М, Захариева С, Орбецова М и съавт. Консенсус на Българския институт „Метаболитен синдром“ за поведение при метаболитен синдром. *Наука Ендокринология* 2010; 2: 53-70).

References to a book chapter:

1. Delange F. Endemic Cretenism. In: Brave-man L, Utiger R, editors. *The Thyroid*. 9-th ed. Philadelphia: Lippincott Co; 1991. p. 942-955.

The manuscripts should be prepared in good contemporary language with correct spelling, grammar and punctuation. Non-native English authors are advised to consult the text with a native speaker or a philologist. On demand, the editors might recommend paid qualified translators for text translation or language proof-reading. Manuscripts that do not comply with the requirements of the journal will be returned to the authors for corrections before being forwarded to the reviewers.

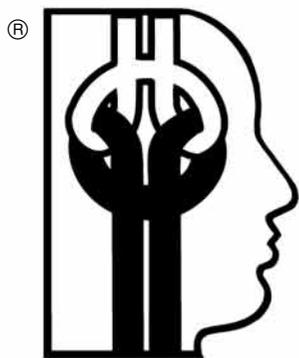
Address for sending the manuscripts and other editorial correspondence

Editorial Board Address for Correspondence:

Clinical Center of Endocrinology,
„Acad. Iv. Penchev“, University Hospital, 2
Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Prof. Maria Orbetzova, *Editor in Chief*
Tel (+359) 2-895 6001; Fax 02-987 4145;
Mobile (+359) 887771322
E-mail: morbetzova@abv.bg

Адрес на редакционната колегия:

Клиничен център – УСБАЛЕ,
„Акад. Иван Пенчев“
ул. „Здраве“ №2, 1431 София;
Проф. Мария Орбецова, *Главен редактор*
тел. (02) 985 6001; факс (02) 987 4145;
Мобилен: 0887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg



ЕНДОКРИНОЛОГИЯ

ENDOCRINOLOGIA

Списание
на Българското дружество
по ендокринология
към СНМД в България

Journal
of the Bulgarian Society
of Endocrinology (BSE)

Главен редактор

Проф. д-р Мария ОРБЕЦОВА, гм

Редактор на английския текст

Джеф ТОМАС

Отговорен редактор

Румен НИНОВ

© Първа корица и графичен дизайн

Румен НИНОВ

Editor-in-chief

Prof. Maria ORBETZOVA, MD PhD

English language editor

Jeff THOMAS

Art director Rumen NINOV

© *Cover&Design* Rumen NINOV

Технически секретар

Маргарита СЛАВЧЕВА

E mail: mora4a2@abv.bg

Tehcnical secretary

Margarita SLAVCHEVA

E mail: mora4a2@abv.bg

**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 (since
2001)

• EMBASE
• Bulgarian Citation Index
(since 1996)

Адрес на редакционната колегия: Клиничен център – УСБАЛЕ, „Акад. Иван Пенчев“ ул. „Здраве“ №2, 1431 София; тел. (02) 985 6001; факс (02) 987 4145; Мобилен: 0887771322 (проф. Орбецова), email: morbetzova@abv.bg, Маргарита Славчева – технически секретар (mobile 0889 295884) email: mora4a2@abv.bg

Editorial Board: Clinical Center of Endocrinology „Acad. Iv. Penchev“ University Hospital 2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria; Tel (+0359) 2-895 6001; Fax C 2-987 4145; Mobile (+359) 0887771322 Prof. Maria Orbetzova; email: morbetzova@abv.bg, Technical Secretary – M. Slavcheva (mobile (+0359) 0889 295884), email: mora4a2@abv.bg