



ISSN 1310-8131

# 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

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 (Нюкасъл 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)

Българско дружество по ендокринология

Том XXI / Volume XXI

Bulgarian Society of Endocrinology 3/2016

**Съдържание****Обзори**

- Колева, Даниела Ив., Орбецова, Мария М., Николова, Юлия Г.  
Инсулинова резистентност и микроциркулация 111

**Оригинални статии**

- Тошева, Гергана М., Сидерова, Мира В., Христов, Кирил Х., Бояджиева, Мила Б.,  
Бочева, Яна Д., Костова, Мила Г.  
Липиден профил при пациенти с аутоимунен тиреоидит на Хашимото 119
- Борисова, Анна-Мария И., Шинков, Александър Д., Влахов, Йордан Д., Даковска, Лилия Н., Тодоров, Тодор Ц.  
Ниво на LDL-cholesterol – ролята на пола и възрастта за оформяне на атерогенни условия за българската  
популация (епидемиологично проучване на Българско дружество по ендокринология '2012г) 134
- Семерджиева, Ния Е., Денчев, Стефан В., Цакова, Аделина Д., Христова, Жулиета З., Абрашев,  
Радослав И., Лозанов, Валентин С., Господинова, Мариана В., Димитров, Симеон И., Кундурджиев, Тодор Г.  
Хипогонадизъм при мъже с остър коронарен синдром – клинични корелати и прогностично значение 154

**Клиничен случай**

- Иванова, Ива В., Сидерова, Мира В., Бъчварова, Мариела Б., Христов, Кирил Х., Хаджиева, Елица Г.,  
Бочев, Павел Х., Бочева, Яна Д.  
Приложение на литий като средство за овладяване на резистентна на тиреостатици Базегова болест 176

- Указания за авторите 104

**Journal ENDOCRINOLOGIA** volume XXI, number 3, 2016**Contents****Reviews**

- Koleva, Daniela Iv., Orbetzova, Maria M., Nikolova, Julia G.  
Insulin resistance and microcirculation 111

**Original articles**

- Tosheva, Gergana M., Siderova, Mira V., Hristozov, Kiril H., Boyadzhieva, Mila B.,  
Bocheva Yana D., Kostova, Mila, G.  
Lipid Profile in Patients with Autoimmune Thyroiditis of Hashimoto 126
- Borissova, Anna-Maria I., Shinkov, Alexander D., Vlahov, Jordan D., Dakovska, Lilia N., Todorov, Todor C.  
LDL-Cholesterol Level – the Role of Gender and Age in Forming Atherogenic Conditions for the  
Bulgarian Population (epidemiological study of the Bulgarian Society of Endocrinology, 2012) 144
- Semerdzhieva, Nia E., Denchev, Stefan V., Tsakova, Adelina D., Hristova, Julieta Z., Abrashev, Radoslav I.,  
Lozanov, Valentin S., Gospodinova, Mariana V., Dimitrov, Simeon I., Kundurdjiev, Todor G.  
Clinical Correlates and Prognostic Significance of Male Hypogonadism in Acute Coronary Syndrome 160

**Clinical Case**

- Ivanova, Iva V., Siderova, Mira V., Bachvarova Mariela B., Hadjieva, Elitsa G., Hristozov, Kiril H., Bochev, Pavel H.,  
Bocheva, Yana D.  
The use of lithium in the treatment of resistant Graves' Thyrotoxicosis 167

- Instructions to authors 176



## Инсулинова резистентност и микроциркулация

Колева, Даниела Ив.<sup>1</sup>, Орбецова, Мария М.<sup>1</sup>, Николова, Юлия Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, Медицински Университет, Пловдив

<sup>2</sup> Катедра по Физиология, Медицински Университет, Пловдив

## Insulin resistance and microcirculation

Koleva, Daniela Iv.<sup>1</sup>, Orbetzova, Maria M.<sup>1</sup>, Nikolova, Julia G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, „Sv. Georgy“ University Hospital, Medical University, Plovdiv

<sup>2</sup> Department of Physiology, Medical University, Plovdiv

### Резюме

Намалената инсулинова чувствителност (т. нар. инсулинова резистентност) на периферните тъкани и съпътстващата я хиперинсулинемия се явяват основни метаболитни нарушения при пациенти със затлъстяване, респ. с метаболитен синдром (МС). Установено е, че наличието на микроваскуларна дисфункция може да повлияе както процесите на усвояване на глюкоза от тъканите, така и периферната съдова резистентност с краен резултат – развитие на инсулинова резистентност (ИР) и артериална хипертония (АХ). Има доказателства, че микроваскуларната дисфункция предшества изявата на ИР и захарен диабет тип 2 (ЗД 2), като дори може да се възприеме като техен предиктивен фактор. Микросъдовите изменения могат да бъдат както вторични – на базата на поддържане на високи стойности на артериално налягане (АН), така и първични – представляващи причина, а не следствие на АХ.

Разработена е хипотеза за наличието на активно участие на периваскуларната мастна тъкан (ПВМТ) в контрола на глюкозния метаболитизъм, както и за ролята ѝ в патогенезата на ЗД 2 и сърдечно-съдови заболявания (ССЗ).

Микроциркулацията представлява обект на засилен научно-изследователски интерес с цел изясняване на ролята ѝ във възникване на ИР и изграждане на подходи за превенция и терапия на МС и ЗД 2.

### Ключови думи:

инсулинова резистентност, микроваскуларна дисфункция, затлъстяване, артериална хипертония

### Abstract

Decreased insulin sensitivity (i.e. insulin resistance) of peripheral tissues and reactive hyperinsulinemia have been interpreted as major metabolic disorders accompanying obesity and metabolic syndrome (MS), respectively. It has been demonstrated that microvascular dysfunction affects both insulin-mediated glucose disposal and peripheral vascular resistance, contributing to the development of insulin resistance (IR) and arterial hypertension (AH). Recent studies have proved that microvascular dysfunction precedes and even predicts the occurrence of IR and Type 2 diabetes mellitus (T2DM). Microvascular changes can be both secondary – based on maintaining high levels of blood pressure and primary – representing a cause, not a consequence of hypertension.

A hypothesis which represents the involvement of perivascular adipose tissue (PVAT) control of glucose metabolism and its role in the pathogenesis of diabetes and cardiovascular diseases (CVD) has been recently developed.

Microcirculation is a subject of great research interest based on the necessity of clarifying its role in IR. Thus, novel approaches for prevention and treatment of MS and T2DM can be established.

### Key words:

insulin resistance, microvascular dysfunction, obesity, arterial hypertension

## Въведение

Затлъстяването е значим световно разпространен здравен проблем. Честотата на хората с наднормено тегло нараства драматично, а това категорично води до потенциално увеличаване на риска от развитие на сърдечно-съдови заболявания (ССЗ) и мозъчно-съдови заболявания, захарен диабет тип 2 (ЗД 2), ставни и дихателни заболявания, злокачествени новообразувания (1). Намалената инсулинова чувствителност (т. нар. инсулинова резистентност) на периферните тъкани и съпътстващата я хиперинсулинемия се явяват основни метаболитни нарушения при пациенти със затлъстяване, респ. с метаболитен синдром (МС) и/или ЗД 2.

Установено е, че наличието на микроваскуларна дисфункция може да повлияе както процесите на усвояване на глюкоза от тъканите (2-4), така и периферната съдова резистентност (5) с краен резултат – развитие на инсулинова резистентност (ИР) и артериална хипертония (АХ) (Фиг. 1). Редица автори описват наличието на нарушена съдова функция при индивиди със затлъстяване (6, 7). Доказано е, че мастната тъкан (МТ) представлява ендегенен източник на различни биоактивни субстанции (адипоцитокини), които могат да повлияват съдовата функция и инсулиновата чувствителност. По-конкретно действието на веществата, освободени от периваскуларната мастна тъкан (ПВМТ), се счита за водещо в развитието на микроваскуларна дисфункция, а впоследствие – и на ИР и АХ.

Съществуват проучвания, които доказват, че ендотелната дисфункция представлява потенциален отговорник за развитие на МС и характерните за него метаболитни нарушения – ИР, предиабет, ЗД 2, АХ, ССЗ. Поради тази причина микроциркулацията е обект на засилен научно-изследователски интерес с цел изясняване на ролята ѝ във възникване на процеса на ИР и изграждане на подходящи подходи за превенция и терапия на МС.

## Микроциркулация – основна характеристика

Клиничният и изследователски интерес към микроциркулацията през последните години е свързан с локализацията там на най-ранните промени в хода на ССЗ. Това е основание последните да представляват възможност за ранна намеса в етиологията и патологията им. При възрастни лица броят на кръвоносните съдове е около 1011. Над 99% от тях изграждат сложната мре-

жа на микроциркулаторните единици, чиито функции са регулирани чрез нервно-рефлексни и хуморални механизми. При физиологични условия както системни, така и локални метаболитни и миогенни фактори поддържат тъканния кръвен поток нормален (8). При патологични състояния (напр. затлъстяване, МС) загубата на тези механизми води до развитие на микроваскуларна дисфункция.

Микроциркулацията представлява комплекс от артериоли, капилари и венули. Причисляването на даден съд към системата на микроциркулация става на базата на следните особености: наличие на диаметър < 150  $\mu\text{m}$  и/или наличие на физиологичен отговор на вазоконстрикция при повишаване на вътрешното налягане.

Основните функции на микроциркулацията са:

1. Осъществяване на обмяна на хранителни вещества, кислород и хормони между плазмата и тъканна течност;
2. Минимизиране на флукуациите на хидростатичното налягане на ниво капилари;
3. Регулиране на периферната съдова резистентност, респективно кръвното налягане (9). Следователно поддържането на нормална микроваскуларна функция е важно за регулацията на тъканната хомеостаза и артериалното налягане (АН).

Нативната капилароскопия е неинвазивен метод за регистриране, визуализиране и архивиране на състоянието на микроциркулацията – функционални и структурни промени, чрез оценка на нутритивните капилари на нокътна гънка. Тя дава възможност за обективизиране на статични и динамични параметри – плътност (брой) на капилярната мрежа, разстояние между капилярните бримки, диаметър на артериалната и венозната им части и съотношението помежду им, стаза, кръвоток, както и размер на периваскуларната зона. Компютърната нативна капилароскопия е лесна за изпълнение и с добра информативност методика, даваща възможност за количествен и качествен анализ на характера на промените в микроциркулацията и за процесите на адаптиране на организма в хода на функционални и структурни промени. Методиката е достъпна и удобна както за изследователите, така и за пациентите (8, 9).

Интравиталните изследвания на микроциркулацията са ценни и полезни при изясняване на промените в последната, свързани с разбиваните в големите кръвоносни съдове процеси в хода на прехипертонията, АХ и МС с разнообразни промени на АН.

## Микроциркулация и инсулинова резистентност

Инсулиновата резистентност принципно се дефинира като състояние на намалена чувствителност на периферните тъкани към действието на инсулина да понижава концентрацията на плазмената глюкоза. Физиологичният ефект на инсулина се свързва със стимулиране на транслокацията на инсулино-зависими глюкозни транспортери (GLUT-4) от вътрешността на клетките към тяхната повърхност с цел осъществяване на адекватно глюкозно усвояване от таргетните тъкани. Този сложен процес включва система от сигнални пътища с основен катализатор – ензимът фосфатидилинозитол-3(PI3)-киназа (10).

Освен добре известния анаболен ефект, инсулинът притежава и специфично действие върху съдовата система. През 90-те години на 20-ти век, Baron и сътр. описват за първи път ролята на инсулина да дилатира кръвоносните съдове, като по този начин да се стигне до повишаване на общия приток на кръв към скелетната мускулатура. Авторите доказват, че успоредно с увеличаването на обема на гоставената кръв се повишава и инсулин-медирираният глюкозен внос в таргетните клетки (11). Този специфичен ефект на инсулина върху съдовете се демонстрира и в редица други проучвания (12, 13), но има и изследователи, които не намират инсулин-индуцирани изменения в притока на кръв (2). Получените противоречиви данни се обясняват с наличието на редица влияещи фактори – вариации в разпределението на мускулната маса при изследваните индивиди; използваната доза на инсулина; продължителността на инсулиновата инфузия и пр. (14).

Установено е, че в процеса на осъществяване на инсулин-медирираната вазодилатация участват следните функционални единици: ендотелен инсулинов рецептор, инсулинов рецепторен субстрат 1 и 2 (IRS1 и IRS2), PI3-киназа, фосфоинозитид-зависима киназа-1 (PDK-1) и протеинкиназа В (Akt) Вазодилаторният ефект на инсулина се осъществява чрез доказано директно стимулиране на ензима ендотелна NO-синтетаза (eNOS) и последваща увеличена продукция на азотен оксид (NO) (10, 15). Известен е и противоположен вазоконстрикторен ефект на инсулина, който се опосредства от действието на ендотелин-1 (ET-1) (10). ET-1 се синтезира и освобождава от съдовия ендотел чрез участието на интрацелуларна митоген-активна протеинкиназа (MAPK) и екстрацелуларна сигнално-ре-

гулаторна киназа-1/2 (ERK1/2) (16). В обобщение, инсулинът притежава както вазодилаторно, така и вазоконстрикторно действие, като по-често крайният му ефект е съдоразширяващ.

Доказано е влияние на инсулина и върху по-малките кръвоносни съдове, характеризиращо се със стимулиране на процеса на функционално капиларно активиране. Чрез намаляване на тонуса на прекапиларната артериола инсулинът пренасочва кръвния ток от неактивните към активните (гоставящи нутриенти на тъканите) съдове в микроваскуларното русло, постигайки увеличаване на общия брой на перфузионните капилари (10, 2). Rattigan и сътр. (17) провеждат изследване, което потвърждава наличието на инсулин-медирирано капиларно активиране в мускулна тъкан на крайник от животински модел. Този ефект на инсулина се описва и в други проучвания (18-20), включително и в такива, проведени сред популации от хора (21, 22). По-високите концентрации на инсулин при интактни инсулинови рецептори стимулират процеса на капиларно активиране и подобряват общия съдов тонус на ниво кожа и периферна мускулна тъкан (7, 23). Регистрира се наличие на силна взаимовръзка между процеса на активиране на капиларите и степента на глюкозна утилизация в периферните тъкани (22, 23). Инхибирането на инсулин-зависимите микроциркулаторни ефекти водят до 30-40% редуциране на глюкозното поемане (24). При опитни животни, представляващи модели на затлъстяване, се открива нарушено капиларно активиране и оттам – потиснат процес на глюкозно поглъщане (4). Подобни микроциркулаторни и метаболитни нарушения се описват и при хора със затлъстяване (6, 21). Посочените до момента данни поставят микроваскуларната дисфункция в основата на развитие на ИР при затлъстяване. Има доказателства, че микроваскуларната дисфункция предшества изявата на ИР и ЗД 2, като дори може да се възприеме като техен предиктивен фактор (25, 26). Потвърждение на този факт се получава от проучвания, доказващи наличието на ендотелна дисфункция при нормогликемични пациенти с наднормено телесно тегло и фамилна обремененост за ЗД 2 (27).

Ендотелната дисфункция при инсулинорезистентни пациенти със затлъстяване се доказва чрез наличие на потиснат NO-вазодилаторен отговор от страна на артериолите след приложение на класически ендотел-зависими вазодилаторни агенти (6, 28, 29). При такива индивиди се установява и нарушено капиларно активиране след предизвикана реактивна хиперемия (6). В подкрепа на ролята на затлъстява-

нето в патогенезата на ендотелната дисфункция се посочва фактът, че редуцията на телесно тегло води до категорично подобрене на ендотелната функция (30). В допълнение, при инсулинорезистентни пациенти със затлъстяване се регистрират повишени серумни нива на ET-1 - биологично-активно вещество с мощно вазоконстрикторно действие (31).

ИР е патологично състояние, при което е налице специфична увреда в RISK-зависимите сигнални пътища, като се наблюдават интактни MAPK-катализираны пътища (32, 33) с краен резултат - констрикция на съдовете. Съществуват проучвания, които демонстрират наличието на нарушена вазодилатация и липсващо капиллярно активиране на ниво кожа и скелетна мускулатура при пациенти с ИР (6, 22). Съпътстващата хиперинсулинемия, компенсаторен механизъм за поддържане на еугликемия, се изтъква като причина за стимулиране на интактната MAPK-система с последваща намалена продукция на NO и повишена секреция на ET-1 (33). Вследствие на това се стига до нарушена регулация на мускулната перфузия, глюкозната утилизация и АН (9).

### Микроциркулация и хипертония

Хипертонията засяга около 26% от общата популация в света. Тя е независим предиктор на ССЗ, мозъчно-съдови инциденти и смъртност. Честотата и тежестта им нарастват при съчетание с други фактори, оформящи МС (34, 35).

Артериалната хипертония (АХ) се свързва с функционални и структурни промени на ниво микроциркулация: нарушена авторегулация (36), увеличено съотношение на дебелина съдова стена/лумен (9), редуция на броя и плътността на капиллярните бримки (т.нар. разреждане), повишен съдов тонус и трайната вазоконстрикция (3, 7, 9). Наличието на ЕД при състояние на хипертония се обяснява с потиснат вазодилаторен отговор и нарушено капиллярно активиране под действието на типични ендотел-зависими вазодилатори (напр. ацетилхолин) и механични стимули (shear stress) (3). Напоследък доста научни изследователи в тази област описват нарушена инсулин-медицирана NO-зависима вазодилатация при различни животински модели с хипертония (17, 38). В допълнение, АХ се характеризира с паралелно увеличаване на производството на свиващия съдове биологичен фактор - ET-1, както и на ангиотензин II (Ang II) (37, 39).

Микросъдовите изменения могат да бъдат вторични - на базата на поддържане на високи стойности на АН (24), но и първични - представящи причина, а не следствие на хипертонията (5, 40). Възможно е възникване на микроваскуларни увреди в съвсем ранен етап от развитието на хипертонията. Промени в капиллярите (подобни на тези, описани при вече установена хипертония), могат да се наблюдават и при пациенти с прехипертония или при нормотензивни индивиди с фамилна предиспозиция към развитие на АХ (6). Микроваскуларната дисфункция (васкуларната инсулинова резистентност), дължаща се на наличната хипертония, може сама по себе си да доведе до намалена доставка на инсулин и глюкоза до скелетната мускулатура с краен резултат - намалена инсулинова чувствителност.

### Микроциркулация и периваскуларна мастна тъкан

В светлината на съвременните данни се възприема, че биологичните продукти, отделени от периваскуларната мастна тъкан (ПВМТ), могат да се включват в регулацията на (микро)васкуларната функция, повлиявайки инсулиновата чувствителност и органната хомеостаза (41). Разработена е хипотеза за наличието на активно участие на ПВМТ в контрола на глюкозния метаболизъм, както и за ролята ѝ в патогенезата на ЗД 2 и ССЗ.

Счита се, че ПВМТ може да се намеси в баланса между ендотел-зависимите вазодилаторни и вазоконстрикторни субстанции, каквито са NO и ET-1, респективно (42). Установено е, че ПВМТ, обхващаща микросъдовете в подкожната глутеална мастна тъкан на здрави слаби индивиди, притежава антиконтрактилни свойства. Антиконтрактилният ефект на ПВМТ се медира от действието на адипонектина и се потиска при състояния на хипоадипонектемия, каквото, е МС. Освен това, тъканната хипоксия сама по себе си води до понижаване на нивата на адипонектина, а оттам и до намаляване на антиконтрактилните свойства на ПВМТ (43, 44). Лептинът представлява атерогенен, проинфламаторен адипоцитокин, чиято концентрация е право пропорционална на количеството мастна тъкан в организма. Продуцирайки и освобождавайки лептин и свободни кислородни радикали, ПВМТ при пациенти със затлъстяване и/или МС потиска процеса на ендотел-зависима вазодилатация. Епикардната ПВМТ от сърце на опитно

животно, представляващо модел на МС, секретира по-високо количество лептин в сравнение с епикардната ПВМТ на здрав, слаб животински модел. Доказано е, че повишената продукция на лептин потиска ендотел-зависимата вазодилатация чрез процес на активиране на протеинкиназа С (45). При провеждане на проучване с опитни мишки – модели на МС в Нова Зеландия, се доказва ролята на произлизащите от ПВМТ свободни кислородни радикали в намаляването на ендотел-зависимата вазодилатация (46).

Освен, че повлиява съдовия ендотел, ПВМТ действа директно и върху васкуларната гладка мускулатура, участвайки в поддържането на съдовия диаметър и тонус чрез отделяне на вазодилаторни и вазоконстриктивни субстанции. Релаксацията на аортата е първият вазоактивен ефект, описан по отношение на влиянието на ПВМТ, като се предполага роля на произлизащ от ПВМТ релаксиращ фактор [PVRF] (47). При изследване на опитни плъхове с АХ и такива с ИР (48) се установява нарушен релаксиращ ефект на ПВМТ към мезентериалните артерии. До момента не е напълно ясна структурата на релаксиращите фактори, като редица автори намират, че молекулите на ангиотензин 1-7 (49), адипонектин (43), и хидроген сулфид (50) действат като такива. Интересно – блокирането на адипонектиновите рецептори не води до инхибиране на релаксацията ефект на ПВМТ (51). Установено е, че натрупването на ПВМТ около артериолите може да повлияе мускулната перфузия. Намесвайки се в контрола на ендотел-зависимата вазодилатация, инсулин-медираната вазореактивност и перфузията на тъканите, ПВМТ започва да се възприема като регулатор на глюкозната утилизация предиктор на риска от развитие на ЗД 2. Тези данни потвърждават хипотезата, че ПВМТ е вероятна причина за развитие на ИР (33).

### **Нативна капилароскопия - клинични проучвания**

De Jongh и сътр. провеждат изследване сред 2 групи здрави жени: 16 с нормален ИТМ (ср. ИТМ < 24 кг/м<sup>2</sup>) и 12 със затлъстяване (ср. ИТМ > 30 кг/м<sup>2</sup>), целящо оценяване (чрез метода на капилароскопия) на кожното капиларно активиране след предизвикана артериална оклузия и кожната ендотел-зависима вазодилатация чрез йонофореза с ацетилхолин и натриев нитропрусид. Жените със затлъстяване в сравнение със слабите жени се представят с по-високи стойности

на систолно АН, по-висока степен на нарушена инсулинова чувствителност и нарушено капиларно активиране, както и по-изразена нарушена ацетилхолин-медирана вазодилатация в сравнение със слабите жени. Натриев-нитропрусид-медираната вазодилатация се оказва подобна при двете изследвани групи жени. При двете групи изследвани жени се установява положителна корелационна зависимост между процеса на капиларно активиране и ацетилхолин-медирана вазодилатация и инсулиновата чувствителност ( $r=0,58$ ,  $p<0,01$  и  $r=0,55$ ,  $p<0,01$ , респективно). Регистрира се отрицателна взаимовръзка между споменатите микроциркулаторни показатели и стойностите на АН ( $r=-0,64$ ,  $p<0,001$  и  $r=-0,42$ ,  $p<0,01$ , респективно). Посочените данни са в потвърждение на ролята на нарушената микроциркулаторна функция в развитието на свързаните със затлъстяването микроангиопатия, хипертония и ИР (6).

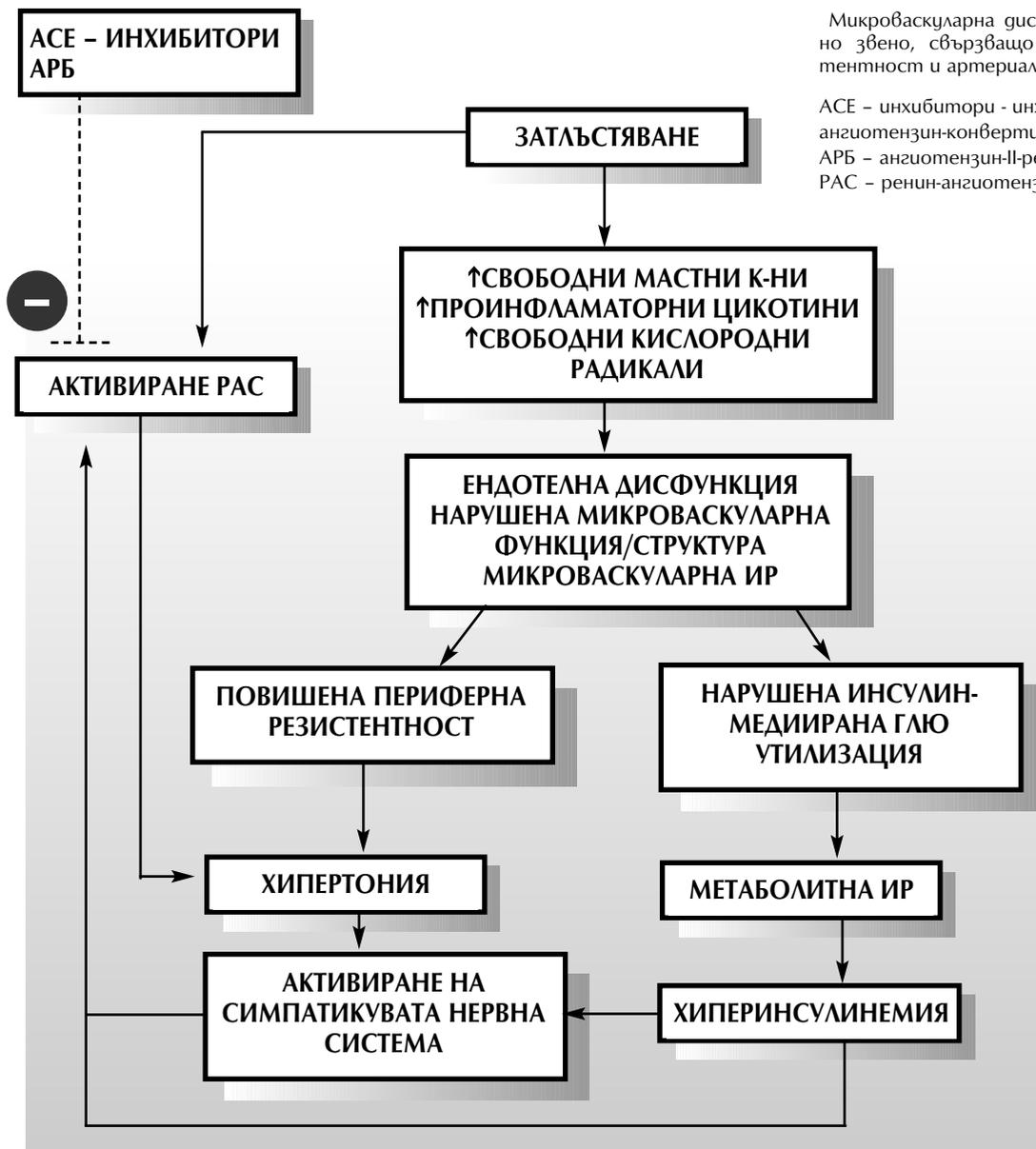
В проучване на Razos-Mouga и сътр. се извършва директно интравитално микроскопско изследване на капилари от нокътна гънка при 2 групи индивиди: 15 здрави лица и 16 пациенти с неинсулинозависим ЗД (НИЗЗД). Установява се увеличен брой на разширени капилари, както и поява на нодуларни капиларни апикални удебеления при пациентите с диабет в сравнение със здравите индивиди. Скоростта на капиларния кръвен ток (CBFV) се определя по време на покой и след 60-секундна артериална оклузия. Средните стойности на CBFV при състояние на покой не се различават статистически при двете изследвани групи жени, но средните пикови стойности на CBFV след оклузията се намират сигнификантно по-ниски при пациентите с диабет в сравнение със здравите лица ( $0,93\pm 0,13$  мм/с,  $1,49\pm 0,14$  мм/с, респективно,  $p<0,05$ ). Кожните микроциркулаторни авторегулаторни отговори са нарушени при пациентите с НИЗЗД. Нарушенията в отговора към реактивна хиперемия не могат да се свържат нито с метаболитния контрол, нито с продължителността на заболяването (52).

Екип от Клиника по Ендокринология и болести на обмяната към УМБАЛ „Св. Георги“, съвместно с изследователи от Катедра по Физиология към МУ, Пловдив, провеждат проучване, целящо оценка на микроциркулаторни параметри от нативна капилароскопия на жени с доказан поликистозен овариален синдром (PCOS) – прототип на полово-специфичен МС. До момента е извършена нативна капилароскопия (неинвазивен способ за оглеждане на капиларите по нокътната гънка) на 15 жени с установен PCOS, като първоначалните резултати показват:

Фигура 1.

Микроваскуларна дисфункция като основно звено, свързващо инсулиновта резистентност и артериалната хипертония.

АСЕ – инхибитори - инхибитори на ангиотензин-конвертиращия ензим  
АРБ – ангиотензин-II-рецепторни блокери  
РАС – ренин-ангиотензинова система



1. Неясен фон на изследваното поле при 70-80% от изследваните жени;
2. Повишен брой абнормни капилари и периваскуларна диapedеза при 80% от тях;
3. Забавен кръвен ток на капиларите (<600  $\mu\text{m}^2/\text{sec}$ )
4. Наличие на голям процент атонични капилари.

Предстои разширяване на изследването с обхващане на по-голям брой жени с PCOS, и подробен анализ на микроциркулаторните параметри и връзката им с други клинични и метаболитни показатели.

### Заклучение

Микроваскуларната дисфункция е възможна причина за възникване на метаболитни нарушения при лица със затлъстяване и синдроми на инсулинова резистентност. Несъмнено, по-дълбочените научни изследвания в тази насока биха довели до разкриването на нови патофизиологични механизми за развитие на метаболитен синдром, както и изграждането на подходящи подходи за превенция и лечение на заболяването.

1. Koleva DI, Orbetzova MM, Atanassova PK. Adipose tissue hormones and appetite and body weight regulators in insulin resistance. *Folia Med* 2013; 55(1):25-32
2. Clark MG, Wallis MG, Barrett EJ, Vincent MA, Richards SM, Clerk LH, Rattigan S. Blood flow and muscle metabolism: a focus on insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E241-258.
3. Serne EH, Gans RO, ter Maaten JC, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc Res* 2001; 49:161-168.
4. Wallis MG, Wheatley CM, Rattigan S, Barrett EJ, Clark AD, et al. Insulin-mediated hemodynamic changes are impaired in muscle of Zucker obese rats. *Diabetes* 2002; 51:3492-3498.
5. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Rarefaction of skin capillaries in borderline essential hypertension suggests an early structural abnormality. *Hypertension* 1999; 34:655-658.
6. de Jongh RT, Serne EH, Ijzerman RG, de Vries G, Stehouwer CD. Impaired microvascular function in obesity: implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance. *Circulation* 2004; 109:2529-2535.
7. Jonk AM, Houben AJ, Schaper NC, de Leeuw PW, Serne EH, Smulders YM, Stehouwer CD. Meal-related increases in microvascular vasomotion are impaired in obese individuals: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Diabetes Care* 2011; 34:S342-348.
8. Verdant C, De Backer D. How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 240-244.
9. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* 2001; 104:735-740.
10. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113: 1888-1904.
11. Baron AD, Steinberg H, Brechtel G, Johnson A. Skeletal muscle blood flow independently modulates insulin-mediated glucose uptake. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1994; 266:E248-E253.
12. Cardillo C, Kilcoyne CM, Nambi SS, Cannon RO, 3rd Quon MJ, Panza JA. Vasodilator response to systemic but not to local hyperinsulinemia in the human forearm. *Hypertension* 1998; 32:740-745.
13. Tack CJ, Lutterman JA, Vervoort G, Thien T, Smits P. Activation of the sodium-potassium pump contributes to insulin-induced vasodilation in humans. *Hypertension* 1996; 28: 426-432.
14. Yki-Jarvinen H, Utriainen T. Insulin-induced vasodilatation: physiology or pharmacology? *Diabetologia* 1998; 41: 369-379.
15. Kubota T, Kubota N, Kumagai H, Kozono H, Takahashi T, Inoue M, et al. Impaired Insulin Signaling in Endothelial Cells Reduces Insulin-Induced Glucose Uptake by Skeletal Muscle. *Cell Metabolism* 2011; 13:294-307.
16. Eringa EC, Stehouwer CD, van Nieuw Amerongen GP, Ouweland L, Westerhof N, Sijkema P, et al. Vasoconstrictor effects of insulin in skeletal muscle arterioles are mediated by ERK1/2 activation in endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287:H2043-2048.
17. Rattigan S, Clark MG, Barrett EJ. Hemodynamic actions of insulin in rat skeletal muscle: evidence for capillary recruitment. *Diabetes* 1997; 46: 1381-1388.
18. Clark AD, Barrett EJ, Rattigan S, Wallis MG, Clark MG. Insulin stimulates laser Doppler signal by rat muscle in vivo, consistent with nutritive flow recruitment. *Clin Sci (Lond)* 2001; 100: 283-290.
19. Vincent MA, Dawson D, Clark AD, Lindner JR, Rattigan S, Clark MG, Barrett EJ. Skeletal muscle microvascular recruitment by physiological hyperinsulinemia precedes increases in total blood flow. *Diabetes* 2002; 51:42-48.
20. Zhang L, Vincent MA, Richards SM, Clerk LH, Rattigan S, Clark MG, Barrett EJ. Insulin sensitivity of muscle capillary recruitment in vivo. *Diabetes* 2004; 53: 447-453.
21. Clerk LH, Vincent MA, Jahn LA, Liu Z, Lindner JR, Barrett EJ. Obesity blunts insulin mediated microvascular recruitment in human forearm muscle. *Diabetes* 2006; 55:1436-1442.
22. Coggins M, Lindner J, Rattigan S, Jahn L, Fasy E, Kaul S, Barrett E. Physiologic hyperinsulinemia enhances human skeletal muscle perfusion by capillary recruitment. *Diabetes* 2001; 50: 2682-2690.
23. Serne EH, Gans RO, Nijveldt R, De Vries G, Evertz R, Donker AJ, et al. Direct evidence for insulin-induced capillary recruitment in skin of healthy subjects during physiological hyperinsulinemia. *Diabetes* 2002; 51:1515-1522.
24. Vincent MA, Clerk LH, Lindner JR, Klibanov AL, Clark MG, Rattigan S, et al. Microvascular recruitment is an early insulin effect that regulates skeletal muscle glucose uptake in vivo. *Diabetes* 2004; 53:1418-1423.
25. Meigs JB, O'Donnell CJ, Tofler GH, Benjamin EJ, Fox CS, Lipinska I, et al. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2006; 55: 530-537.
26. Wong TY, Klein R, Sharrett AR, Schmidt MI, Pankow JS, Couper DJ, et al. Retinal arteriolar narrowing and risk of diabetes mellitus in middle-aged persons. *JAMA* 2002; 287:2528-2533.
27. Caballero AE. Endothelial dysfunction, inflammation, and insulin resistance: a focus on subjects at risk for type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rep* 2004; 4:237-246.
28. Mavri A, Poredos P, Suran D, Gaborit B, Juhan-Vague I. Effect of diet-induced weight loss on endothelial dysfunction: early improvement after the first week of dieting. *Heart Vessels* 2011; 26:31-38.
29. Van Guilder GP, Stauffer BL, Greiner JJ, Desouza CA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in overweight and obese adult humans is not limited to muscarinic receptor agonists. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294:H1685-1692.
30. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002;105:804-809.
31. Piatti PM, Monti LD, Conti M, Baruffaldi L, Galli L, Phan CV, et al. Hypertriglyceridemia and hyperinsulinemia are potent inducers of endothelin-1 release in humans. *Diabetes* 1996;45:316-321.
32. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawat T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest* 2000;105:311-320.
33. Eringa EC, Stehouwer CD, Roos MH, Westerhof N, Sijkema P. Selective resistance to vasoactive effects of insulin in muscle resistance arteries of obese Zucker (fa/fa) rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293:E1134-1139.
34. Kearney PM, M Whelton, K Reynolds, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365:217-223.
35. World Health Report. Mental Health: New Understanding, New Hope. Geneva Switzerland: WHO, 2001; 144-149.
36. Versari D, Daghini E, Virdis A, Ghiadoni L, Taddei S. Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. *Br J Pharmacol* 2009; 157:527-536.
37. Debbabi H, Uzan L, Mourad JJ, Safar M, Levy BI, Tibirica E. Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2006; 19:477-483.
38. Li R, Zhang H, Wang W, Wang X, Huang Y, Huang C, Gao F. Vascular insulin resistance in prehypertensive rats: role of PI3-kinase/Akt/eNOS signaling. *Eur J Pharmacol* 2010; 628:140-147.
39. Ungvari Z, Csiszar A, Kaminski PM, Wolin MS, Koller A. Chronic high pressure-induced arterial oxidative stress: involvement of protein kinase C-dependent NAD(P)H oxidase and local renin-angiotensin system. *Am J Pathol* 2004; 165:219-226.
40. Eftekhari A, Mathiassen ON, Buus NH, Gotzsche O, Mulvany MJ, Christensen KL. Disproportionally impaired microvascular structure in essential hypertension. *J Hypertens* 2011; 29:896-905.

41. **Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD.** "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet* 2005; 65:1817-1820.
42. **Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsberg VW.** Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res* 2009; 335:165-189.
43. **Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M, et al.** Local Inflammation and Hypoxia Abolish the Protective Anticontractile Properties of Perivascular Fat in Obese Patients. *Circulation* 2009; 119:1661-1670.
44. **Chen B, Lam KS, Wang Y, Wu D, Lam MC, Shen J, et al.** Hypoxia dysregulates the production of adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 independent of reactive oxygen species in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341:549-556.
45. **Payne GA, Borbouse L, Kumar S, Neeb Z, Alloosh M, Sturek M, et al.** Epicardial perivascular adipose-derived leptin exacerbates coronary endothelial dysfunction in metabolic syndrome via a protein kinase C-beta pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30:1711-1717.
46. **Marchesi C, Ebrahimian T, Angulo O, Paradis P, Schiffrin EL.** Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome. *Hypertension* 2009; 54:1384-1392.
47. **Gao YJ, Lu C, Su LY, Sharma AM, Lee RM.** Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol* 2007; 151:323-31.
48. **Rebolledo A, Rebolledo OR, Marra CA, Garc?a ME, Rold?n Palomo AR, Rimorini L, et al.** Early alterations in vascular contractility associated to changes in fatty acid composition and oxidative stress markers in perivascular adipose tissue. *Cardiovasc Diabetol* 2010; 9:65.
49. **Lee RM, Lu C, Su LY, Gao YJ.** Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. *J Hypertens* 2009; 27:782-790.
50. **Fang L, Zhao J, Chen Y, Ma T, Xu G, Tang C.** Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. *J Hypertens* 2009; 27:2174-2185.
51. **Fesus G, Dubrovsk? G, Gorzelnik K, Kluge R, Huang Y, Luft FC, et al.** Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc Res* 2007; 75:719-727.
52. **Pazos-Moura CC, Moura EG, Bouskela E, Torres Filho IP, Breitenbach MM.** Nailfold capillaroscopy in non-insulin dependent diabetes mellitus: blood flow velocity during rest and post-occlusive reactive hyperaemia. *Clin Physiol* 1990; 10(5): 451-461.

*Address for correspondence:***Д-р Даниела Колева**

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

**Dr Daniela Koleva**

Clinic of Endocrinology and metabolic diseases,  
„Sv. Georgy“ University Hospital,  
15A „Vassil Aprilov“ Str., 4000 Plovdiv  
e-mail: nelka\_medicine@abv.bg

## Липиден профил при пациенти с аутоимунен тиреоидит на Хашимото

Тошева, Гергана М.<sup>1</sup>, Сигерова, Мира В.<sup>1</sup>, Христов, Кирил Х.<sup>1</sup>, Бояджиева, Мила Б.<sup>1</sup>, Бочева, Яна Д.<sup>2</sup>, Костова, Мила Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Клиника по Ендокринология и Болести на Обмяната, <sup>2</sup>Централна Клинична Лаборатория, <sup>3</sup>Спешно Отделение; Университетска болница „Св. Марина“, Варна

### Адрес за кореспонденция:

Д-р Гергана Тошева Маринова

Клиника по Ендокринология, УМБАЛ „Св.Марина“, Варна

Бул. „Хр.Смирненски“ 1, 9010 Варна,

Тел. 0035952/978361

e-mail: gergana\_tosheva@abv.bg

### Резюме

**Целта** на това ретроспективно проучване е оценка на липидните нарушения при аутоимунен тиреоидит на Хашимото.

**Материали и методи:** Участваха 1380 пациента, хоспитализирани в Клиника по Ендокринология към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна за периода 2004-2015г. След изключване на повлияващи липидната обмяна състояния останаха 771 пациента, от които 36 мъже и 735 жени на средна възраст  $49,81 \pm 13,98$ г. Пациентите са разделени на три групи според стойностите на ТСХ – група А (0,4-4 mU/l), група Б (4,0-10 mU/l), група В ( $\geq 10,01$  mU/l). Група Б допълнително е разделена на две подгрупи – Б1 с негативни тиреопероксидазни антитела (ТПО АТ) и Б2 с ТПО позитивни антитела. Анализирани са ултразвукови (УЗ) данни и следните лабораторни изследвания: ТСХ, свободен Т3 (СТ3), свободен Т4 (СТ4), ТПО АТ, общ холестерол (ОХ), триглицериди (ТГ), LDL- и HDL-холестерол.

**Резултати:** С повишаване на серумния ТСХ се установи увеличение в нивото на триглицеридите (група А – ТГ 1,34 mmol/l; група Б – ТГ 1,44 mmol/l; група В – ТГ 1,69 mmol/l), както и на LDL-холестерола (съответно група А – 3,41 mmol/l; група Б – 3,53 mmol/l; група В – 4,19 mmol/l). Сравнението на двете подгрупи Б1 и Б2 отчете нарастване на стойностите на ОХ, ТГ, LDL-холестерол и понижаване на HDL-холестерола. Сигнификантна разлика в стойностите на ТГ се отчете между група А и В ( $p=0,001$ ) и в LDL-холестерол между група А и В ( $p=0,000$ ), група Б и В ( $p=0,000$ ), както и между група Б2 и пациентите с явен хипотиреоидизъм (група В) ( $p=0,001$ ). 16,9% от пациентите от група Б и 17,1% от група В имат реализирано сърдечно-съдово заболяване – коронарна болест и/или мозъчно-съдова болест.

**Изводи:** Аутоимунният тиреоидит като една от най-честите причини за хипотиреоидизъм се свързва с липидни нарушения и повишен кардио-васкуларен риск, които са по-изразени при явния, отколкото при субклиничния хипотиреоидизъм.

**Ключови думи:** аутоимунен тиреоидит, липиден профил, субклиничен и явен хипотиреоидизъм

### Въведение

Тиреоидната функция регулира широк спектър от метаболитни прояви в човешкия организъм. Тя оказва ефект върху липопротеинната обмяна и някои кардио-васкуларни рискови фак-

тори, повлиявайки общия сърдечно-съдов риск (1,2). Докладвани са зависимости между нивата на тирео-стимулиращия хормон (ТСХ), дори в рамките на референтните стойности, и липидните параметри. С покачване на стойностите на ТСХ се наблюдава паралелно повишение в общия холестерол, липопротеините с ниска плът-

ност (LDL) и триглицеридите, както и линейно понижение в стойностите на липопротеините с висока плътност (HDL) (3).

Хроничният лимфоцитарен тиреоидит на Хашимото е аутоимунно щитовидно заболяване с хетерогенна клинична и хормонална характеристика, която покрива целия спектър от еутиреоидизъм, през субклиничен до изявен хипотиреоидизъм. Най-рядка е хормоналната конституция на хипертиреоидизъм, съобщавана с честота около 4,5% от пациентите с тиреоидит на Хашимото (4).

Хипотиреоидизмът е клиничен синдром, характеризира се с дефицит на щитовидни хормони с най-честа подлежаща причина аутоимунен тиреоидит (5). Честотата на първичния хипотиреоидизъм е около 1%, но нараства приблизително до 5%, когато към това се добавят и случаите на субклиничен хипотиреоидизъм (6). Проучването NHANES III показва 4,6% честота на всички случаи на хипотиреоидизъм в общата популация, а проучване, проведено в Колорадо - 9,5% (2). Тиреоидната дисфункция е по-честа сред жени и се увеличава с напредване на възрастта (1), като представлява честа причина за вторична дислипидемия (7). В българско епидемиологично проучване честотата на хипотиреоидизма, дефинирана с ТСХ > 4,2 mU/l е 6,33%, като при 63,5% от хипотиреоидните лица се установява повишено ниво на общия холестерол (> 5,2 mmol/l) (8).

Субклиничният хипотиреоидизъм (СКХ) се характеризира с повишени серумни нива на ТСХ при нормални стойности на свободен Т4 (СТ4) и свободен Т3 (СТ3), независимо от наличието или липсата на клинична изява. Среща се значително по-често от явния хипотиреоидизъм, като честотата му в общата популация варира между 4,3 и 9% (2,9). Най-честа причина за СКХ е аутоимунният тиреоидит на Хашимото, като 20-50% от пациентите със субклинична тиреоидна недостатъчност развиват клинично изявен хипотиреоидизъм за период от 4-8 години (10). Прогресията от субклиничен към явен хипотиреоидизъм възлиза на 2-5% от случаите годишно. Степента на тази прогресия е по-висока при пациенти с позитивни тиреопероксидазни антитела (ТПО-АТ) (11). Обратно, повишените стойности на ТСХ могат да се нормализират при негативни за ТПО-АТ лица, както и при тези с нормален ехографски образ на жлезата (12).

Въпреки че понижението на тиреоидната функция е съпроводено с намалена активност на ензима 3-хидрокси-3-метил-глутарил-коензим А (ХМГ-Ко А) редуктаза, стойностите на общия холестерол (ОХ) и LDL-холестерола са повишени

при пациенти с явен хипотиреоидизъм (13,14). Това се дължи на намалена активност на LDL-рецептора, водеща до намален катаболизъм на LDL и на липопротеините с междинна плътност (IDL) (15,16). При хипотиреоидните пациенти се наблюдава и понижена активност на липопротеинлипазата, водеща до намален клирънс на богатите на триглицериди липопротеини (17). Тази липидна конституция е свързана с повишен сърдечно-съдов риск (18,19).

И при субклиничния хипотиреоидизъм са докладвани повишени серумни нива на общ холестерол и LDL (20,21). Данните от NHANES III показват повишение на общия холестерол при субклинична тиреоидна недостатъчност в сравнение с еутиреоидни контроли (22), докато други студии не достигат статистически значима разлика в липидните параметри (14,23).

Тъй като данните за асоциирана със СКХ дислипидемия са противоречиви, целта на проучването е да се оценят липидните нарушения при лица с аутоимунен тиреоидит на Хашимото и да се изследва връзката на различните липидни параметри и нивата на ТСХ, периферните тиреоидни хормони и тиреоидните антитела.

## **Материали и методи**

В това ретроспективно проучване са включени 1380 пациента с аутоимунен тиреоидит на Хашимото, хоспитализирани в Клиниката по ендокринология и болести на обмяната към УМБАЛ „Св. Марина“, гр. Варна за периода 2004-2015 година. След изключване на повлияващи липидната обмяна състояния като придружаващ захарен диабет, затлъстяване с ИТМ > 30, както и изключване на пациентите, приемащи липидопонижаващи медикаменти, останаха 771 лица, от които 36 мъже и 735 жени на средна възраст 49,81 години ( $\pm 13,98$ ). Диагнозата аутоимунен тиреоидит на Хашимото е поставена въз основа на лабораторни изследвания (положителни тиреопероксидазни антитела и/или тиреоглобулинови антитела), ехографски промени, типични за тиреоидит, а при 48 пациента – с тънкоиглена аспирационна биопсия и цитологично изследване.

Пациентите са разделени на три групи според стойностите на ТСХ – група А (ТСХ 0,4-4,0 mU/l), група Б (ТСХ 4,01-10 mU/l), група В (ТСХ > 10 mU/l). Група Б допълнително е разделена на две подгрупи – Б1, обхващаща лица с ТПО негативни антитела и подгрупа Б2 с ТПО позитивни пациенти. Анализирани са резултатите от следните лабораторни изследвания: ТСХ, СТ4, СТ3, тиреопероксидазни антитела (ТПО-АТ), общ холес-

терол (ОХ), триглицериди (ТГ), LDL- и HDL-холестерол, както и клиничната характеристика на пациентите.

Показателите ТСХ, СТ4 и СТ3 са изследвани по хемилуминисцентна имуноензимна методика, с китове на Siemens Healthcare Diagnostics, на автоматичен имунохимичен анализатор ADVIA Centaur XP и Immulite 2000 със следните референтни стойности: ТСХ 0,4-4,0 mU/l; СТ4 10,3-24,0 pmol/l; СТ3 2,8-6,5 pmol/l. Тирео-пероксидазните антитела (ТПО-АТ) и тиреоглобулинови антитела (ТГ-АТ) са изследвани по хемилуминисцентна имуноензимна методика, с китове на Siemens Healthcare Diagnostics, с горепосочения автоматичен имунохимичен анализатор със следните референтни стойности: ТПО-АТ (10-100 IU/ml); ТГ-АТ (20-40 IU/ml). Общият холестерол (ОХ) е изследван по ензимен метод, триглицеридите (ТГ) - по метода на Trindler, HDL-с е определян директно посредством елиминация/ ензимна катализа, а за определянето на LDL-с при ТГ пог 4,5 mmol/l е използван методът на Friedewald, а при ТГ над 4,5 mmol/l - директен метод посредством елиминация/ ензимна катализа. Референтните стойности на липидните показатели са съответно: ОХ 2,7- 5,2 mmol/l; ТГ до 1,7 mmol/l; HDL-с 1,0- 1,6 mmol/l; LDL- с до 2,6 mmol/l.

Статистическият анализ на данните е извършен с помощта на статистически пакет SPSS версия 19,0 за Windows. Резултатите са представени като средни стойности  $\pm$  стандартно отклонение. За откриване на сигнификантност между групите е използван Post Hoc Test на метода ANOVA, като статистически значима разлика се прие при  $p < 0,05$ . Корелационният анализ на Pearson е използван за анализирането на връзката между липидните и хормоналните параметри. Силата на корелация е определена в зависимост от стойността на „r“, както следва - силна корелационна зависимост (-1,0 до -0,5 или 0,5 до 1,0), средна корелационна зависимост (-0,5 до -0,3 или 0,3 до 0,5), слаба корелационна зависимост (-0,3 до -0,1 или 0,1 до 0,3), без или с много слаба корелационна зависимост (-0,1 до 0,1).

## Резултати

Установихме следното разпределение на участниците според нивата на серумното им ТСХ (Табл.1). Най-многобройна е групата на еутиреоидните пациенти с автоимунен тиреоидит (група А), включваща 535 пациента (27 мъже и 508 жени). Средната стойност на ТСХ в тази група е  $1,81 \pm 0,96$  mU/l, а на СТ4 и СТ3, съответно  $15,2 \pm 3,04$  pmol/l и  $5,08 \pm 1,40$  pmol/l. Повишение показват единствено тиреопероксидазните ан-

титела ( $399,15 \pm 847,44$  IU/ml), като това е елемент от диагнозата на заболяването.

Група Б включва 148 пациента (3 мъже и 145 жени) с автоимунен тиреоидит на Хашимото и субклиничен хипотиреоидизъм с ТСХ в диапазона от 4,01 до 10 mU/l. Средната стойност на серумния ТСХ в тази група е  $5,98 \pm 1,47$  mU/l, ТПО-АТ  $759,49 \pm 1225,5$  IU/ml, при средни нива на СТ3 и СТ4, попадащи в референтни граници, съответно  $6,00$  pmol/l и  $13,28$  pmol/l.

Група В е съставена от 88 пациента (6 мъже и 82 жени) с автоимунен тиреоидит на Хашимото и ТСХ над 10 mU/l. Хормоналната конституция при тази група пациенти е типична за явен хипотиреоидизъм - средни серумни нива на ТСХ  $49,69 \pm 61,87$  mU/l, с ниски средни стойности на СТ4  $8,79 \pm 4,13$  pmol/l и среден СТ3, попадащ в референтни граници ( $4,13 \pm 1,26$  pmol/l). Лицата от група В имат най-високи стойности на тиреопероксидазните антитела -  $955,25 \pm 1129,69$  IU/ml.

Резултатите от сравнителния анализ на тиреоидните параметри в трите групи са представени в Таблица 2. Достигната е сигнификантна разлика в стойностите на ТСХ и СТ4 между трите групи. Резултатите от изследването на СТ3 не достигат статистическа значима разлика между отделните групи. Тиреопероксидазните антитела показват тенденция за покачване при прехода от еутиреоидизъм към СКХ и явен хипотиреоидизъм, като статистическа значимост се регистрира между серумните нива на ТПО-АТ при еутиреоидните лица и тези със СКХ ( $p=0,000$ ), както и между еутиреоидните и тези с явен хипотиреоидизъм ( $p=0,000$ ).

В Таблица 3 са представени резултатите от двете подгрупи на пациентите със СКХ - лица с ТПО-негативни антитела (група Б1) и лица с ТПО-позитивни антитела (група Б2). При сравнение на двете подгрупи стойностите на ТСХ показват тенденция за покачване, а тези на СТ4 на понижаване с позитивирането на тиреопероксидазните антитела, като това обаче не достига статистическа значимост.

Сигнификантна разлика в стойностите на общия холестерол се доказва между група А и група В ( $p=0,000$ ), както между група Б и група В ( $p=0,000$ ), подчертавайки влиянието на явния хипотиреоидизъм върху липидната обмяна (Фиг. 1). Между група А и група Б2 (пациенти с автоимунен тиреоидит на Хашимото, субклиничен хипотиреоидизъм и положителни тиреопероксидазни антитела) се достига разлика с гранична сигнификантност ( $p=0,080$ ). Макар и незначима, установихме тенденция за покачване на стойностите на общия холестерол в подгрупа Б2 в сравнение с Б1.

Очаквано нивата на LDL-холестерола показва линейно покачване от средни нива  $3,41 \pm 1,02$

**Таблица 1.** Клинични, хормонални и биохимични показатели при трите групи пациенти с аутоимунен тиреоидит

Показател	Група А TSH (0,4-4 mU/l)	Група Б TSH (4,01-10 mU/l)	Група В TSH (>10 mU/l)
Брой участници	535	148	88
Мъже/жени	27/508	3/145	6/82
Средна възраст (г.)	50,39 (±14,04)	48,29 (±14,00)	48,62(±12,67)
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	25,76 (±5,28)	25,53 (±5,49)	28, 02 (±6,36)
ТСХ (mU/l)	1,81 (±0,96)	5,98 (±1,47)	49,69 (±61,87)
СТ4 (pmol/l)	15,2 (±3,04)	13,28 (±3,23)	8,79 (±4,13)
СТ3 (pmol/l)	5,08 (±1,40)	6,08 (±8,18)	4,13(±1,26)
ТПО-АТ (IU/ml)	399,15 (±847,44)	759,49 (±1225,5)	955,25 (±1129,69)
Брой (%) ТПО позитивни пациенти	347 (64,86%)	122 (82,43%)	86 (97,73%)
Общ холестерол (mmol/l)	5,35 (±1,14)	5,26 (±1,14)	6,22 (±1,92)
Триглицериди (mmol/l)	1,34 (±0,81)	1,44 (±0,87)	1,69 (±1,17)
HDL-холестерол (mmol/l)	1,39 (±0,33)	1,48 (±0,43)	1,42 (±0,46)
LDL-холестерол (mmol/l)	3,41 (±1,02)	3,53 (±0,87)	4,19 (±1,63)
Пациенти с реализирано ССЗ (ИБС и/или МСБ)	83 (15,5%)	25 (16,9%)	15 (17,1%)
Кръвна глюкоза (mmol/l)	4,86 (±1,80)	4,89 (±1,75)	4,29 (±2,05)

**Таблица 2.** Сравнение и статистическа значимост в разликите на хормоналните и липидните параметри при трите основни групи пациенти с аутоимунен тиреоидит.

Междугрупово сравнение	Група А спрямо Б	Група А спрямо В	Група Б спрямо В
ТСХ	p= 0,042	p= 0,000	p= 0,000
СТ4	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000
СТ3	p= 0,293	p= 0,613	p= 0,092
ТПО-АТ	p= 0,042	p= 0,042	p= 0,397
Общ холестерол	p= 1,000	p= 0,000	p= 0,000
Триглицериди	p= 0,612	p= 0,001	p= 0,108
LDL-холестерол	p= 1,000	p= 0,000	p= 0,000
HDL-холестерол	p= 0,282	p= 1,000	p= 1,000

mmol/l при еутиреоидните лица с тиреоидит на Хашимото, през  $3,53 \pm 0,87$  mmol/l при СКХ, до  $4,19 \pm 1,63$  mmol/l при манифестен хипотиреоидизъм (Фиг. 1). Позитивните тиреопероксидазни антитела при лицата с ТСХ между 4 и 10 mU/l са съпроводени от по-висок LDL-холестерол ( $3,42$  mmol/l в група Б1 и  $3,6$  mmol/l в група Б2).

Статистически значима разлика в нивата на LDL-холестерола се достига между група А и В ( $p=0,000$ ), група Б и В ( $p=0,000$ ), както и между група Б2 и пациентите с явен хипотиреоидизъм (група В) ( $p=0,001$ ). С еволюцията на заболяването от еутиреоидизъм към хипотиреоидизъм, се наблюдава повишаване на стойностите на триглицеридите

**Таблица 3.** Сравнение на клиничните, хормоналните и биохимични показатели при двете подгрупи пациенти (ТПО - негативни и позитивни) със субклиничен хипотиреоидизъм и ТСХ 4,01-10,0 mU/l.

Показател	Подгрупа Б1 TSH (4,01-10 mU/l) ТПО-АТ (-)	Подгрупа Б2 TSH (4,01-10 mU/l) ТПО-АТ (+)	P
Брой участници	26	122	
Мъже/жени	0/26	3/119	1,000
Средна възраст (г.)	51,19 (±15,91)	47,68 (±13,55)	1,000
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	26,13 (±5,29)	25,39 (±5,57)	1,000
TSH (mU/l)	5,54 (±0,87)	6,07 (±1,55)	1,000
FT3 (pmol/l)	5,84 (±2,79)	6,03 (±8,84)	1,000
FT4 (pmol/l)	13,72 (±2,33)	13,21 (±3,36)	1,000
Anti TPO (IU/ml)	19,11 (±22,25)	917,28 (±1296,75)	0,000
Общ холестерол (mmol/l)	5,00 (±1,26)	5,32 (±1,00)	1,000
Триглицериди (mmol/l)	1,27 (±0,58)	1,48 (±0,91)	1,000
HDL-холестерол (mmol/l)	1,6 (±0,57)	1,45 (±0,40)	1,000
LDL-холестерол (mmol/l)	3,42 (±1,16)	3,60 (±0,82)	1,000
Лица с ИБС	4 (15,38%)	14 (11,47%)	1,000
Лица с МСБ	1 (3,84%)	6 (4,91%)	1,000
Кръвна глюкоза (mmol/l)	4,45 (±1,75)	5,01 (±1,74)	1,000

между трите групи, както и между подгрупи Б1 и Б2 (Фиг. 2). Сигнификантна разлика се отчита единствено между групи А и В ( $p=0,001$ ).

Наблюдават се разнопосочни тенденции в стойностите на HDL-с между различните групи, като в нито една не се отчете средна стойност, попадаща в критериите за метаболически синдром (мъже  $<1,03$  mmol/l; жени  $<1,29$  mmol/l). Еутиреоидните лица имат средно серумно ниво на HDL-с  $1,39 \pm 0,33$  mmol/l. Пациентите с явен хипотиреоидизъм имат по-нисък среден HDL-с от тези със СКХ ( $1,42 \pm 0,46$  mmol/l срещу  $1,48 \pm 0,43$  mmol/l). Антимяло-позитивните лица със СКХ са с по-нисък HDL-холестерол от антимяло-негативните ( $1,45 \pm 0,4$  mmol/l срещу  $1,60 \pm 0,57$  mmol/l), без достигане на статистическа значимост (Фиг. 2).

Слаба положителна сигнификантна корелация се откри между стойностите на ТСХ и общия холестерол ( $r=0,212$ ;  $p=0,000$ ), между ТСХ и триглицеридите ( $r=0,134$ ;  $p=0,000$ ), както и между ТСХ и LDL-с ( $r=0,276$ ;  $p=0,000$ ). Положителна, но много слаба и несигнификантна е корелацията между серумните нива на ТСХ и HDL-холестерола ( $r=0,069$ ;  $r=0,186$ ).

При изследване на връзката между СТ4 и ли-

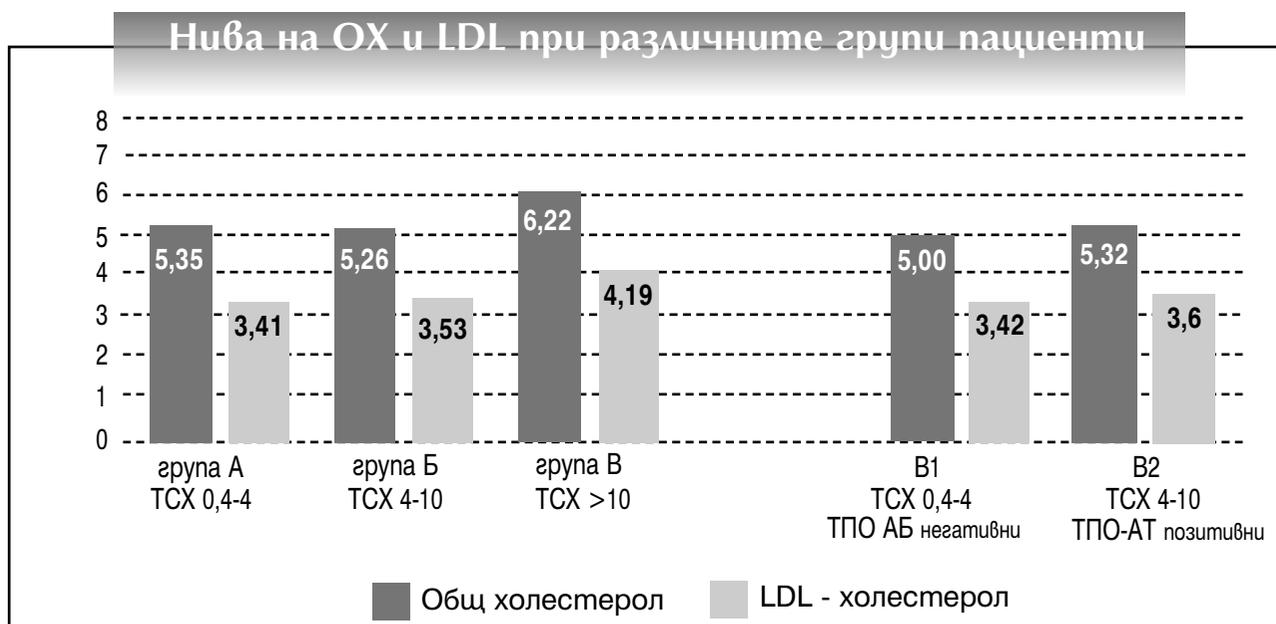
пидните показатели се установи слаба отрицателна сигнификантна корелация с общия холестерол ( $r = -0,179$ ;  $p = 0,000$ ), триглицеридите ( $r=0,101$ ;  $p=0,009$ ) и LDL-с ( $r=-0,254$ ;  $p=0,000$ ). Слаба отрицателна, но несигнификантна е корелацията между СТ4 и HDL-холестерола ( $r=-0,056$ ;  $p=0,330$ ). Слаба негативна връзка се откри между СТ3 и общия холестерол, триглицеридите и LDL-с и положителна връзка между СТ3 и HDL-с.

Статистически значима корелация се наблюдава единствено между СТ3 и общ холестерол ( $p=0,024$ ).

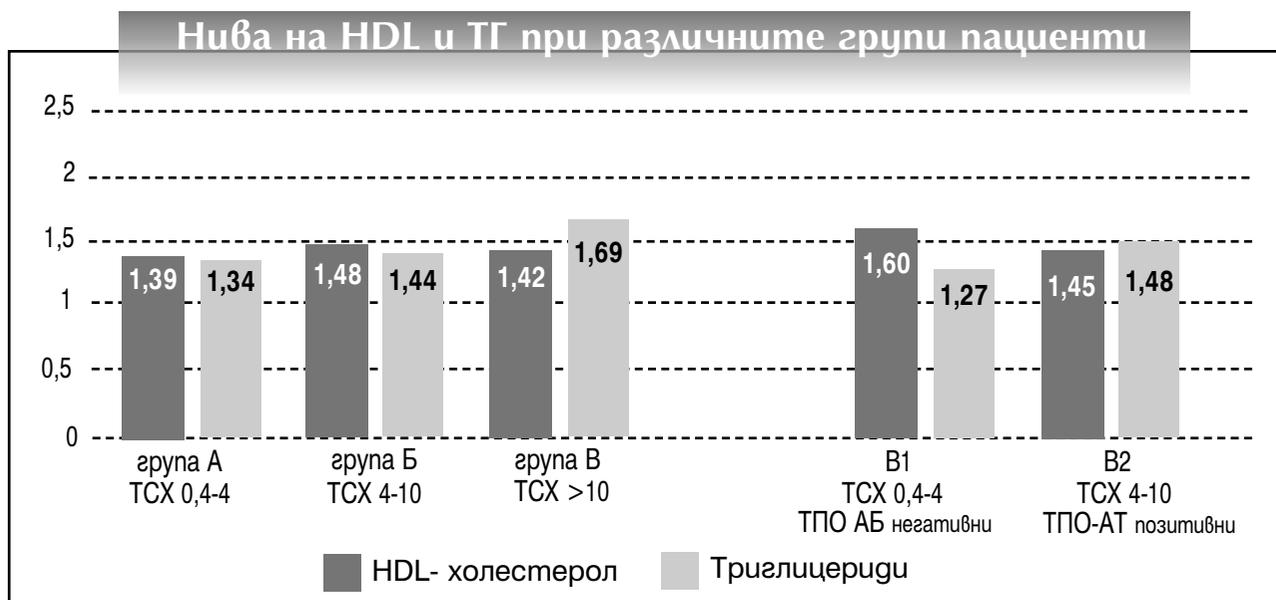
Много слаба и незначима е корелацията между титъра на тиреопероксидазните антитела и липидните показатели, като при всички, с изключение на HDL-с, е положителна.

### Обсъждане

Връзката между хипотиреоидизма и повишения риск от атеросклероза е доказана в много епидемиологични проучвания и клинични студии (24). Хипотиреоидизмът често се съпътства от дислипидемия, повишена съдова резистентност и диастолна хипертония. Субклиничният хипотиреоидизъм, чиято честота на разпрост-



Фигура 1. Серумни нива на общ холестерол и LDL- холестерол при различните групи пациенти



Фигура 2. Серумни нива на HDL- холестерол и триглицериди при различните групи пациенти

ранение е далеч по-голяма от тази на явния, също се асоциира с повишен риск от атеросклероза и миокарден инфаркт (25,26).

Настоящото проучване демонстрира преход на еутиреоидните форми на тиреоидита на Хашимото (69,4%) над тези със субклинични (19,2%) и явен хипотиреоидизъм (11,4%). По литературни данни приблизително 80% от пациентите с аутоимунен тиреоидит са с нормални нива на ТСХ при поставяне на диагнозата (27). В

проучването Colorado 26% от лицата с повишен ТСХ имат серумно нива на ТСХ над 10 mU/l (2). В нашето проучване са включени само хоспитализирани пациенти, което обяснява по-малкия дял на еутиреоидните форми и по-големия на пациентите с ТСХ > 10 mU/l (37,3% от всички лица с повишен ТСХ).

Резултатите ни показват очаквана сигнификантна разлика в стойностите на ТСХ и СТ4 между трите групи, а липсата на значима разлика

в нивата на СТЗ отразява късното му понижение в хода на заболяването, и то основно на тъканно ниво. Значимото повишение на титъра на ТПО-АТ при прехода от еутиреоидизъм към СКХ и явен хипотиреоидизъм подчертава тяхната роля в прогресията на заболяването (10-12).

Подобно на очакванията, нивата на ОХ са най-високи в групата лица с явен хипотиреоидизъм, без да е налице линейно повишение при прехода между групите. В нашето изследване се установи по-висока стойност на ОХ в групата на еутиреоидните пациенти, в сравнение с тази на пациентите със субклиничен хипотиреоидизъм. Efsthadiou и сътр. докладват сигнификантно по-високи стойности на общия холестерол при хора със субклиничен хипотиреоидизъм, сравнено с еутиреоидни контроли (28), но нашата група със стойност на ТСХ в рамките на нормата, е съставена от пациенти с автоимунен тиреоидит. Резултатите ни могат да се обяснят с докладваното от Michalorouliou завишено ниво на ОХ при пациенти с ТСХ в горната половина на нормата (2-4 mU/l) и положителни тиреопероксидазни антитела (29). Интерес би представлявало сравнение на липидните параметри при еутиреоидни лица с автоимунен тиреоидит и здрави контроли, особено при сравними нива на ТСХ.

С повишаване на серумния ТСХ нарастват и стойностите на триглицеридите (30), вероятно дължащо се на понижената активност на липопротеинлипазата и намален клирънс на богатите на триглицериди липопротеини (17). Подобни на нашите резултати са тези на Efsthadiou и съавт. (28), докато в други студии тази тенденция е отчетливо сигнификантна (3,31).

Ние наблюдаваме най-висока стойност на HDL-с при пациентите със субклиничен хипотиреоидизъм, а най-голямо понижение - в еутиреоидната група. Това противоречи на повечето автори, които докладват най-ниски стойности на HDL-с при хипотиреоидните болни (28,32). Подобно на нашите резултати, студии проведени от de Castro (33) и Michalorouliou (34) посочват значимо по-висок HDL-с при пациенти със субклиничен и явен хипотиреоидизъм. Описаните

от нас повишени стойности на HDL-с би могло да се дължат на повишена концентрация основно на HDL2 частиците (35) или на намалена активност на холестерол-естер-трансферния протеин (СЕТР) (36). Друго възможно обяснение на неочаквано високия HDL-с при пациентите със СКХ е влиянието на допълнителни фактори като пола. Именно в групата на СКХ делът на жените бе най-висок (98% срещу 95% в група А и 93% в група В).

Подобно на повечето описани наблюдения на други автори, се потвърди сигнификантно по-високата стойност на LDL-с в групата лица с явен хипотиреоидизъм, спрямо останалите две групи (12-14;20,21). Asvold и сътр. съобщават за подобна тенденция, дори и при ТСХ в рамките на референтните стойности (3). Нашите резултати показват нарастване на средната стойност на този показател с увеличаване серумното ниво на ТСХ, както и с позитивизиране на ТПО-АТ в група Б, което предполага понижаване на LDL-рецепторната активност с влошаване на тиреоидната функция.

С нарастване на средната серумна концентрация на ТСХ в трите групи се увеличава и сърдечно-съдовият риск, изразен като процентно съотношение на пациентите с исхемична болест на сърцето (ИБС) и/или мозъчно-съдова болест (МСБ) от общия брой в съответната група. Нашите резултати потвърждават данните на Tunbridge и съавт. за повишен кардио-васкуларен риск при хипотиреоидните пациенти (37), обясняван с диастолна хипертония, нарушена ендотелна функция, повишен LDL-с.

**В заключение,** въз основа на нашите резултати за влошаване на липидните показатели и повишаване на сърдечно-съдовия риск с повишаване на ТСХ при пациенти с автоимунен тиреоидит на Хашимото, при последните е уместно изследване на разширен липиден профил. Необходимо са допълнителни проспективни проучвания за ефекта на заместителното левотироксिनско лечение върху липидните параметри и нуждата от допълнителна липидопонижаваща терапия.

## Lipid Profile in Patients with Autoimmune Thyroiditis of Hashimoto

Tosheva, Gergana M.<sup>1</sup>, Siderova, Mira V.<sup>1</sup>, Hristozov, Kiril, H.<sup>1</sup>, Boyadzhieva, Mila B.<sup>1</sup>, Bocheva Yana D.<sup>2</sup>, Kostova, Mila, G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases,

<sup>2</sup>Central Clinical Laboratory,

<sup>3</sup>Emergency Department; University Hospital „St. Marina“, Varna

### Address for correspondence:

Gergana Tosheva Marinova, MD  
University Hospital „St. Marina“, Varna  
9010 Varna, bul. Hr. Smirnenki 1  
Tel. 0035952/978361  
e-mail: gergana\_tosheva@abv.bg

### Резюме

The **aim** of this retrospective study was to assess the lipid disturbances in patients with autoimmune thyroiditis.

**Methods:** 1380 patients with autoimmune thyroiditis, hospitalized in Endocrinology department of „St. Marina“ Hospital, Varna for the period of 2004-2015 year, participated in the study. After excluding conditions influencing lipid profile, 771 patients remained for analysis (36 men and 735 women, mean age  $49,81 \pm 13,98$  years). They were divided in three groups according to TSH values – group A ( $> 0,4 - 4$  mU/l), group B ( $4,01-10$  mU/l), group C ( $>10,01$  mU/l). Group B was divided into two subgroups: B1 – patients with negative thyroperoxidase antibodies (TPO Ab) and B2 – patients with positive TPO Ab. We evaluated thyroid ultrasound data, TSH, free T3 (FT<sub>3</sub>), free T4 (FT<sub>4</sub>), TPO-Ab, total cholesterol (TC), triglycerides (TG), LDL – and HDL-c levels.

**Results:** With the increase of TSH value, we observed elevation in serum TG (Group A – 1,34 mmol/l, Group B – 1,44 mmol/l, Group C – 1,69 mmol/l); as well as in LDL-c values (Group A – 3,41 mmol/l; Group B – 3,53 mmol/l; Group C – 4,19 mmol/l). The comparison of the two subgroups B1 and B2 found out an increase in TC, TG, LDL-c levels and a decrease in HDL-c levels. A significant difference in TG between patients in Group A and Group C was observed ( $p=0,001$ ). Significant differences in LDL-c levels were found between Group A and Group C ( $p<0,000$ ), Group B and Group C ( $p<0,000$ ), Group B2 and Group C ( $p=0,001$ ). 16,9% of the patients in group B and 17,1% in group C were diagnosed with coronary heart disease and/or cerebrovascular disease.

**Conclusions:** Autoimmune thyroiditis as one of the main reasons for hypothyroidism is associated with lipid abnormalities and increased cardiovascular risk, that are more pronounced in overt than in subclinical hypothyroidism.

**Ключови думи:** autoimmune thyroiditis, hypothyroidism, lipid profile, subclinical and overt hypothyroidism

### Introduction:

Thyroid function regulates a wide variety of metabolic activities in the human body. It affects lipoprotein metabolism as well as some cardiovascular disease risk factors thus influencing the overall cardiovascular risk (1,2). Even within the reference range of thyroid-stimulating hormone (TSH) correlations between TSH and lipid parameters have been reported. A linear increase

in total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) and triglycerides (TG) and a linear decrease in high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) levels has been observed with increasing TSH (3).

Chronic lymphocytic thyroiditis of Hashimoto is an autoimmune thyroid disease with heterogeneous clinical and hormonal characteristics which cover the entire spectrum of euthyroidism, through subclinical hypothyroidism to overt hypothyroidism. The most

rare is the hormonal constellation of hyperthyroidism, with a frequency of approximately 4,5% of all the patients with Hashimoto's thyroiditis (4).

Hypothyroidism is a clinical syndrome characterized by a deficiency of thyroid hormones with the most common underlying cause being autoimmune thyroiditis (5). The incidence of primary hypothyroidism is about 1%, but increases to approximately 5% with cases of subclinical hypothyroidism (6). The NHANES III survey shows a 4,6% prevalence of hypothyroidism in the general population, while a study conducted in Colorado – 9,5% (2). Thyroid failure is more common in women and its prevalence increases with age, as it represents a common cause of secondary dyslipidemia (7). A Bulgarian epidemiological study reports an incidence of hypothyroidism of 6,33%, defined as TSH > 4,2 mU/l, and elevated levels of total cholesterol (> 5,2mmol/l) in 63,5% of hypothyroid individuals (8).

Subclinical hypothyroidism (SH) is characterized by elevated serum TSH levels with normal levels of free T4 (FT<sub>4</sub>) and free T3 (FT<sub>3</sub>) regardless of the presence or absence of clinical expression. It occurs much more frequently than overt hypothyroidism, and its incidence in the general population ranges between 4,3 and 9% (2,9). The most common cause for SH is autoimmune thyroiditis, as 20-50% of the patients with subclinical thyroid disease develop clinically manifest hypothyroidism for a period of 4-8 years (10). Progression from subclinical to overt hypothyroidism accounts for 2-5% of all the cases annually. The rate of progression is higher with the concomitant presence of thyroperoxidase antibodies (TPO-Ab) (11). Conversely, elevated TSH levels could be normalized in patients with negative TPO-Ab and also in those with a normal ultrasound image of the gland (12).

Although decreased thyroid function is accompanied by reduced activity of the enzyme 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG- CoA) reductase, TC and LDL-c levels are increased in patients with overt hypothyroidism (13,14). This is due to the decreased LDL-receptors' activity, resulting in decreased catabolism of LDL and intermediate density lipoproteins (IDL) (15,16). A decrease in lipoprotein lipase (LPL) activity is found in hypothyroid patients impairing the clearance of triglyceride-rich lipoproteins (17). This lipid constellation is associated with increased cardiovascular risk (18,19).

Increased serum levels of total cholesterol and LDL-c have also been reported in patients with subclinical hypothyroidism (20,21). The information from NHANES III shows increasing total cholesterol levels in subclinical thyroid insufficiency compared to euthyroid controls (22) while other studies do not reach a statistically significant difference in lipid parameters (14,23).

Since the data for associated with SH dyslipidemia are controversial, the purpose of this study was to evaluate lipid characteristics in individuals with autoimmune thyroiditis and to investigate the relationship of various lipid parameters and levels of TSH, peripheral thyroid hormones and thyroid antibodies.

## Materials and Methods:

1380 patients with autoimmune thyroiditis, hospitalized in the Endocrinology Department of „St. Marina“ Hospital, Varna for the period 2004-2015 participated in this retrospective study. After excluding conditions influencing lipid profile such as diabetes, obesity with BMI > 30 and excluding patients, taking lipid-lowering medications, 771 people remained (36 men and 735 women, mean age 49,81±13,98 years). Hashimoto's autoimmune thyroiditis is diagnosed on the basis of laboratory tests (positive thyroid peroxidase antibodies and/or thyroglobulin antibodies), ultrasonographic changes typical of thyroiditis and in 48 patients by fine needle aspiration biopsy and cytological examination.

The patients were divided into three groups according to TSH values – group A (0,4- 4,0 mU/l), group B (4,01-10,0 mU/l), group C (>10,0 mU/l). Group B was subdivided into two subgroups – subgroup B1, including patients with negative thyroperoxidase antibodies (TPO Ab) and subgroup B2, comprised of patients with positive TPO Ab. We evaluated the results of the following laboratory tests: TSH, FT<sub>4</sub>, FT<sub>3</sub>, TPO-Ab, total cholesterol (TC), triglycerides (TG), LDL- and HDL-c levels and the clinical characteristics of the patients.

Serum TSH, FT<sub>4</sub> and FT<sub>3</sub> levels were evaluated by the chemiluminescent enzyme immunoassay method, with Siemens Healthcare Diagnostics kits on an automated immunochemical analyser ADVIA Centaur XP and Immulite 2000 with the following reference values: TSH – 0,4-4,0 mU/l; FT<sub>4</sub> – 10,3-24,0 pmol/l; FT<sub>3</sub> – 2,8-6,5 pmol/l. TPO-Ab and thyroglobulin antibodies (TG-Ab) were tested by the chemiluminescent enzyme immunoassay method, with Siemens Healthcare Diagnostics kits on an automated immunochemical analyser with these reference values: TPO-Ab (10-100 IU/ml); TG-Ab (20-40 IU/ml). Total cholesterol was examined by an enzyme method. TG – by the Trindler method. HDL-c was determined directly by the elimination/catalase enzyme method. For the examination of LDL-c in TG below 4,5 mmol/l the Friedewald method was used, and for TG over 4,5 mmol/l by the elimination/enzyme catalase method. The reference values of lipid parameters are: TC – 2,7-5,2 mmol/l; TG up to 1,7 mmol/l; HDL-c – 1,0-1,6 mmol/l; LDL-c up to 2,6 mmol/l.

The statistical analysis was performed by using SPSS version 19,0 for Windows. The results are presented as mean values  $\pm$  standard deviation. A Post Hoc Test of the ANOVA method was used to detect differences between groups and a statistically significant difference is accepted at  $p < 0,05$ . The Pearson correlation coefficient test is performed to evaluate the correlation of lipid and hormonal parameters. The strength of the correlation is determined depending on the value of „r“, as follows – strong correlation (-1,0 to -0,5 or 0,5 to 1,0), moderate correlation (-0,5 to -0,3 or 0,3 to 0,5), weak correlation (-0,3 to -0,1 or 0,1 to 0,3), none or very weak correlation (-0,1 to 0,1).

### Results:

We found the following distribution of the participants according to their TSH levels (Table 1). The largest group is the group of euthyroid patients with autoimmune thyroiditis (Group A) including 535 patients (27 men and 508 women). The mean value of TSH in this group is  $1,81 \pm 0,96$  mU/l, and the values of FT<sub>4</sub> and FT<sub>3</sub> are  $15,2 \pm 3,04$  pmol/l and  $5,08 \pm 1,40$  pmol/l, respectively. Only the thyroid peroxidase antibodies are increased ( $399,15 \pm 847,44$  IU/ml) as an element of the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis.

Group B is comprised of 148 patients (3 men and 145 women) with Hashimoto's autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism with TSH in the range of 4,01 to 10 mU/l. The mean value of the serum TSH in this group is  $5,98 \pm 1,47$  mU/l, TPO-Ab  $759,49 \pm 1225,5$  IU/ml, with mean levels of FT<sub>3</sub> and FT<sub>4</sub> within the reference range,  $6,00$  pmol/l and  $13,28$  pmol/l, respectively.

Group C is composed of 88 patients (6 men and 82 women) with Hashimoto's autoimmune thyroiditis and TSH above 10 mU/l. The hormonal constellation in this group of patients is typical for overt hypothyroidism - mean serum levels of TSH  $49,69 \pm 61,87$  mU/l, with decreased mean values of FT<sub>4</sub> ( $8,79 \pm 4,13$  pmol/l) and mean FT<sub>3</sub> in the reference range ( $4,13 \pm 1,26$  pmol/l). Patients from group C have the highest levels of thyroid peroxidase antibodies –  $955,25 \pm 1129,69$  IU/ml.

The results of comparative analysis of thyroid parameters in the three groups are presented in Table 2. A significant difference in the values of TSH and FT<sub>4</sub> between the three groups has been achieved. The difference of FT<sub>3</sub> levels in the three groups does not reach statistical significance. Thyroid peroxidase antibodies tend to rise during the transition from euthyroidism to subclinical hypothyroidism and overt hypothyroidism and significant difference is registered between serum levels of TPO-Ab in euthyroid patients and those with subclinical hypothyroidism ( $p = 0,000$ ), and between euthyroid ones and those with overt hypothyroidism ( $p = 0,000$ ).

Table 3 presents the results of the two subgroups in patients with subclinical hypothyroidism – patients with negative TPO antibodies (Group B1) and those with positive TPO antibodies (Group B2). Comparing the two subgroups, values of serum TSH tend to increase, while those of FT<sub>4</sub> tend to decrease along with the rise of thyroid peroxidase antibodies, which however did not reach statistical significance.

A significant difference in total cholesterol is registered between group A and group C ( $p = 0,000$ ), and also between group B and group C ( $p = 0,000$ ), highlighting the influence of overt hypothyroidism on lipid metabolism (Figure 1). Between group A and subgroup B2 (patients with Hashimoto's autoimmune thyroiditis, subclinical hypothyroidism and positive thyroid peroxidase antibodies) a difference in total cholesterol with borderline significance ( $p = 0,080$ ) is reached. Although insignificant, we establish a tendency for increasing values of total cholesterol in subgroup B2 compared to B1.

As expected, levels of LDL-cholesterol increase linearly from average levels of  $3,41 \pm 1,02$  mmol/l in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis, through  $3,53 \pm 0,87$  mmol/l in subclinical hypothyroidism, to  $4,19 \pm 1,63$  mmol/l in those with overt hypothyroidism (Figure 1). In people with TSH levels between 4 and 10 mU/l positive thyroid peroxidase antibodies are accompanied by higher LDL-c levels ( $3,42$  mmol/l for group B1 and  $3,6$  mmol/l for group B2). A statistically significant difference in levels of LDL-c is registered between group A and C ( $p = 0,000$ ), group B and C ( $p = 0,000$ ), and between B2 group and patients with overt hypothyroidism (group C) ( $p = 0,001$ ).

With the evolution of the disease from euthyroidism to hypothyroidism, there is an increase in triglyceride values among the three groups, as well as between subgroup B1 and B2 (Figure 2). A significant difference is reported only between group A and C ( $p = 0,001$ ).

There are diverse trends in the levels of HDL-c in the comparison between the groups, but the mean HDL of none of the groups fulfill the criteria for metabolic syndrome (males  $< 1,03$  mmol/l; females  $< 1,29$  mmol/l). Euthyroid patients have an average level of HDL-c  $1,39 \pm 0,33$  mmol/l. Patients with overt hypothyroidism have lower average HDL-c than those with subclinical hypothyroidism ( $1,42 \pm 0,46$  mmol/l versus  $1,48 \pm 0,43$  mmol/l). Antibody-positive patients with subclinical hypothyroidism have lower HDL-c from those who are antibody-negative ( $1,45 \pm 0,4$  mmol/l versus  $1,60 \pm 0,57$  mmol/l), however without statistical significance (Figure 2).

We find a weak, positive and significant correlation between the values of TSH and total cholesterol ( $r = 0,212$ ;  $p = 0,000$ ), between TSH and triglycerides

**Table 1.** Clinical, hormonal and biochemical parameters in the three groups of patients with autoimmune thyroiditis

Indicator	Group A TSH (0,4-4 mU/l)	Group B TSH (4,01-10 mU/l)	Group C TSH (>10 mU/l)
Number of participants	535	148	88
Men/ Women	27/508	3/145	6/82
Mean age (years)	50,39 (±14,04)	48,29 (±14,00)	48,62(±12,67)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,76 (±5,28)	25,53 (±5,49)	28, 02 (±6,36)
TSH (mU/l)	1,81 (±0,96)	5,98 (±1,47)	49,69 (±61,87)
FT <sub>4</sub> (pmol/l)	15,2 (±3,04)	13,28 (±3,23)	8,79 (±4,13)
FT <sub>3</sub> (pmol/l)	5,08 (±1,40)	6,08 (±8,18)	4,13(±1,26)
TPO-Ab (IU/ml)	399,15 (±847,44)	759,49 (±1225,5)	955,25 (±1129,69)
Number (%) TPO positive patients	347 (64,86%)	122 (82,43%)	86 (97,73%)
Total cholesterol (mmol/l)	5,35 (±1,14)	5,26 (±1,14)	6,22 (±1,92)
Triglycerides (mmol/l)	1,34 (±0,81)	1,44 (±0,87)	1,69 (±1,17)
HDL (mmol/l)	1,39 (±0,33)	1,48 (±0,43)	1,42 (±0,46)
LDL (mmol/l)	3,41 (±1,02)	3,53 (±0,87)	4,19 (±1,63)
Patients with IHD and/or CVD	83 (15,5%)	25 (16,9%)	15 (17,1%)
Blood glucose (mmol/l)	4,86 (±1,80)	4,89 (±1,75)	4,29 (±2,05)

**Table 2.** Comparison and statistical significance for differences in hormonal and lipid parameters in three main groups of patients with autoimmune thyroiditis.

Intergroup comparison	Group A toward B	Group A toward C	Group B toward C
TSH	p= 0,042	p= 0,000	p= 0,000
FT <sub>4</sub>	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000
FT <sub>3</sub>	p= 0,293	p= 0,613	p= 0,092
TPO-Ab	p= 0,042	p= 0,042	p= 0,397
Total cholesterol	p= 1,000	p= 0,000	p= 0,000
Triglycerides	p= 0,612	p= 0,001	p= 0,108
LDL- cholesterol	p= 1,000	p= 0,000	p= 0,000
HDL- cholesterol	p= 0,282	p= 1,000	p= 1,000

( $r=0,134$ ;  $p=0,000$ ), as well as between TSH and LDL-c ( $r=0,276$ ;  $p=0,000$ ). There is a positive but very weak correlation between serum levels of TSH and HDL-c ( $r=0,069$ ;  $r=0,186$ ).

The analysis of the relation between FT<sub>4</sub> and lipid

parameters revealed a weak negative significant correlation with total cholesterol ( $r=-0,179$ ;  $p=0,000$ ), triglycerides ( $r=-0,101$ ;  $p=0,009$ ) and LDL-c ( $r=-0,254$ ;  $p=0,000$ ). There is a weak, negative and insignificant correlation between FT<sub>4</sub> and HDL-c ( $r=-0,056$ ;

**Table 3.** Comparison of the clinical, hormonal and biochemical parameters in both subgroups of patients (TPO - negative and positive) with subclinical hypothyroidism and TSH 4,01-10,0 mU / l.

Indicator	Subgroup B1 TSH (4,01-10 mU/l) ТПО-AT (-)	Subgroup B2 TSH (4,01-10 mU/l) ТПО-AT (+)	P
Number of participants	26	122	
Men/women	0/26	3/119	1,000
Mean age (years)	51,19 (±15,91)	47,68 (±13,55)	1,000
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,13 (±5,29)	25,39 (±5,57)	1,000
TSH (mU/l)	5,54 (±0,87)	6,07 (±1,55)	1,000
FT <sub>3</sub> (pmol/l)	5,84 (±2,79)	6,03 (±8,84)	1,000
FT <sub>4</sub> (pmol/l)	13,72 (±2,33)	13,21 (±3,36)	1,000
Anti TPO IU/ml	19,11 (±22,25)	917,28 (±1296,75)	0,000
Total cholesterol (mmol/l)	5,00 (±1,26)	5,32 (±1,00)	1,000
Triglycerides (mmol/l)	1,27 (±0,58)	1,48 (±0,91)	1,000
HDL (mmol/l)	1,6 (±0,57)	1,45 (±0,40)	1,000
LDL (mmol/l)	3,42 (±1,16)	3,60 (±0,82)	1,000
People with CAD	4 (15,38%)	14 (11,47%)	1,000
People with CVD	1 (3,84%)	6 (4,91%)	1,000
Blood glucose (mmol/l)	4,45 (±1,75)	5,01 (±1,74)	1,000

p=0,330). A weak, negative correlation is established between FT<sub>3</sub> and total cholesterol, triglycerides and LDL-c and a positive correlation between FT<sub>3</sub> and HDL-c. A statistical significance is observed only between FT<sub>3</sub> and total cholesterol levels (p=0,024). Very weak and insignificant is the relation between the titers of TPO-Ab and lipid parameters, as for all of them, except for HDL-c, the correlation is positive.

### Discussion:

The association between hypothyroidism and an increased risk of atherosclerosis has been demonstrated in many epidemiological and clinical studies (24). Hypothyroidism is often accompanied by dyslipidemia, increased vascular resistance and diastolic hypertension. Subclinical hypothyroidism, the prevalence of which is far greater than overt hypothyroidism, is also associated with an increased risk of atherosclerosis and myocardial infarction (25,26).

The present study demonstrates that the majority of patients with Hashimoto's thyroiditis are euthyroid (69,4%), followed by those with subclinical hypothyroidism (19,2%) and overt hypothyroidism (11,4%).

According to the literature data, approximately 80% of patients with autoimmune thyroiditis have normal levels of TSH at the time of diagnosis (27). In the Colorado's study, 26% of participants with elevated serum TSH levels had TSH above 10 mU/l (2). Since our study included only hospitalized patients, this could explain the smaller percentage of euthyroid ones and the greater part of patients with TSH >10 mU/l (37,3% of all patients with an increased TSH). Our results show an expected significant difference in values of TSH and FT<sub>4</sub> between the three groups. The insignificant difference in the levels of FT<sub>3</sub> reflects its late decrease in the course of the disease, mainly at tissue level. The significant increase in titers of TPO-Ab from euthyroidism through SCH to overt hypothyroidism emphasizes their role for the progression of the disease (10-12).

As expected, the highest levels of TC are registered in the group of patients with overt hypothyroidism, without a linear increase through different groups. In our study the euthyroid group has a higher value of the TC compared to the group of patients with subclinical hypothyroidism. Efstathiadou et al. reported significantly higher levels of total cholesterol in subclinical hypothyroidism compared to euthyroid

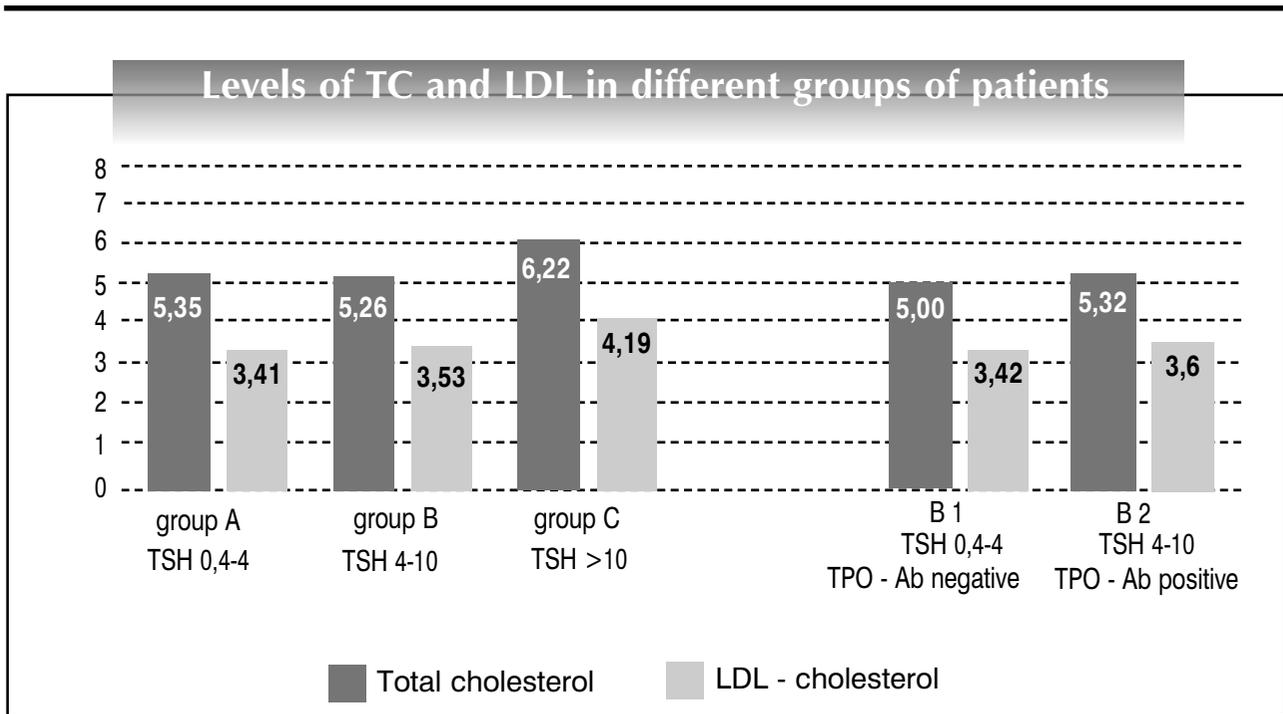


Figure 1. Serum levels of total cholesterol and LDL-C in different groups of patients

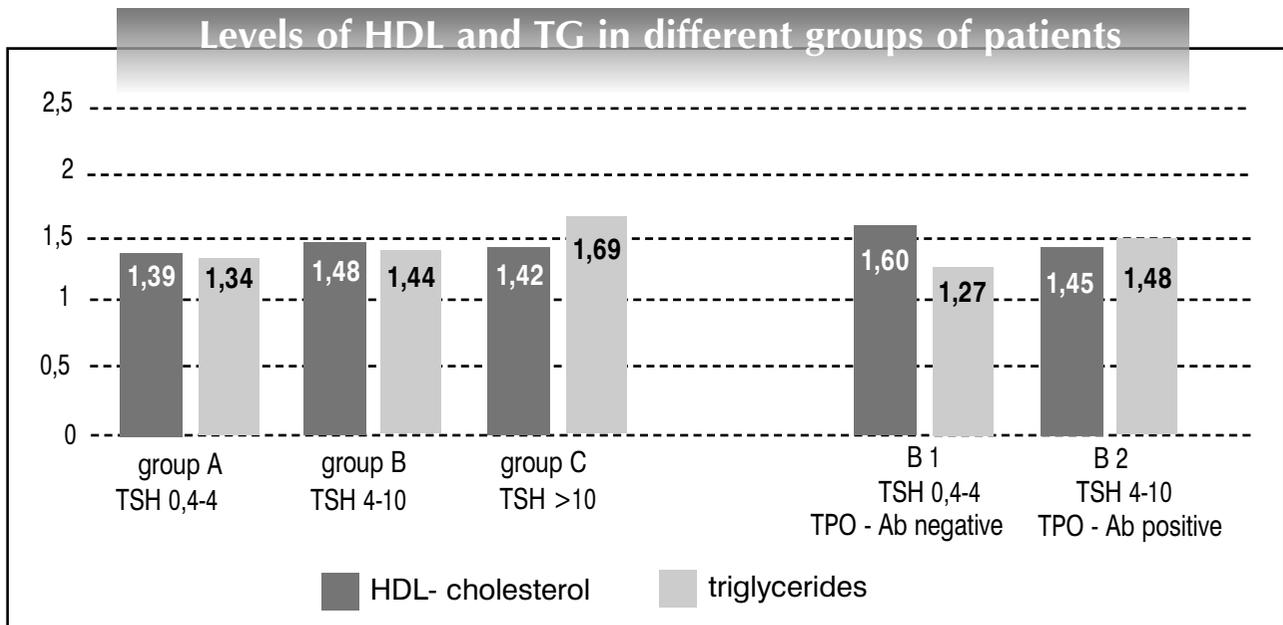


Figure 2. Serum levels of HDL-c and triglycerides in the different patient groups

controls (28). In our study the euthyroid group with a value of TSH in the normal range, is composed of patients with autoimmune thyroiditis. Our results could be explained by an increased level of TC in patients with TSH in the upper half of the range (2-4 mU/l) and positive for TPO-Ab (29) reported by Michalopoulou. A comparison in lipid parameters between euthyroid patients with autoimmune thyroiditis and healthy controls, especially with comparable levels of TSH would be interesting as a future research.

With the increase of serum TSH, TG values raise (30), probably due to lower activity of lipoprotein lipase and decreased clearance of Tg-rich lipoproteins (17). Our results are similar to those of Efstathiadou et al. (28), whereas other studies report a clearly significant correlation (3.31).

We observe the highest levels of HDL-c in patients with subclinical hypothyroidism, and the lowest in the euthyroid group. This is in contrast to most studies, reporting the lowest levels of HDL-c in hypo-

thyroid patients (28.32). Similar to our results, studies conducted by de Castro (33) and Michalopoulou (34) indicate significantly higher HDL-c in patients with subclinical and overt hypothyroidism. The elevated values of HDL-c, described by us, could be explained by an increased concentration of HDL2 fraction (35) or with a reduced activity of cholesteryl-ester-transfer protein (CETP) (36). Another possible explanation of the unexpectedly high HDL-C in patients with subclinical hypothyroidism is the influence of other factors such as gender. Indeed the percentage of women in the group of subclinical hypothyroidism is the highest compared to other groups (98% vs. 95% in group A and 93% in group C).

Like most described observations of other authors, a significantly higher amount of LDL-c is confirmed in the group of people with overt hypothyroidism, compared to the other two groups (12-14; 20-21). Asvold et al. reported a similar trend, even with TSH in the reference range (3). Our results show an increase in the mean value of LDL-c with increasing serum levels of TSH, as well as the raise of TPO-Ab in subgroup B2, which implies a decrease in the activity of LDL-receptor with deterioration of thyroid function.

Along with the increase of mean serum concentration of TSH in the three groups the cardiovascular risk raises, expressed as a percentage of patients with ischemic heart disease (IHD) and / or cerebrovascular disease (CVD), from the total number in the group. Our results confirm the data of Tunbridge et al. on increased cardiovascular risk in hypothyroid patients (37), explained by diastolic hypertension, impaired endothelial function, increased LDL-c.

**In conclusion**, based on our results for the deterioration of lipid parameters and cardiovascular risk with the increase of TSH in patients with autoimmune thyroiditis, it is reasonable to evaluate a full lipid profile in Hashimoto's patients. Further prospective studies are needed to elucidate the effect of levothyroxine replacement therapy on lipid parameters and the need for additional lipid-lowering therapy.

1. Duntas LH. Thyroid disease and lipids. *Thyroid* 2002;12:287-293.
2. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med* 2000; 160: 526-534.
3. Asvold BO, Vatten LJ, Nilsen TI, Bjoro T. The association between TSH within the reference range and serum lipid concentrations in a population-based study. The HUNT Study. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 181-186.
4. Harsch IA, Hahn EG, Strobel D. Hashitoxicosis - Three cases and a review of the literature. *Touch Briefings (European Endocrinology)* 2008. p. 70-2. Available from: <http://www.touchbriefings.com/pdf/3186/strobel.pdf>. [Last accessed on 2012 Jan 9].
5. Pearce EN, Farwell AP, Braveman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med* 2003; 348(26):2646-2655.
6. Walker BR, Toft AD. Endocrine disease. In: Haslett C, Chilvers ER, Boon NA, Colledge NR (eds). *Davidson's principles and practice of medicine*. 19th edn. London: Churchill Livingstone, 2002:683-746.
7. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am* 1994; 78: 117-141.
8. Borissova A-M, Kovatcheva R, Shinkov A, Atanassova I, Aslanova N, Vlahov J, Vukov M. Hypothyroidism and metabolic syndrome. *Endocrinologia*, 2009; 14 (2): 118-126 (in Bulgarian) (Борисова А-М, Ковачева Р, Шинков А, Атанасова И, Асланова Н, Влахов Й, М, Вуков. Хипотиреоидизъм и метаболитен синдром. *Ендокринология*, 2009, том XIV, книжка 2: 118-126.)
9. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 489-499.
10. Surks MI, Ocampo E. Subclinical thyroid disease. *Am. J. Med* 1996; 100: 217-224.
11. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 55-68.
12. Somwaru LL, Rariy CM, Arnold AM, Cappola AR. The natural history of subclinical hypothyroidism in the elderly: the cardiovascular health study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1962-1969
13. Pearce EN, Wilson PW, Yang Q, Vasan RS, Braverman LE. Thyroid function and lipid subparticle sizes in patients with short-term hypothyroidism and a population-based cohort. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 888-894.
14. Teixeira Pde F, Reuters VS, Ferreira MM, Almeida CP, Reis FA, Buescu A, et al. Lipid profile in different degrees of hypothyroidism and effects of levothyroxine replacement in mild thyroid failure. *Transl Res* 2008; 151: 224-231.
15. Walton KW, Scott PJ, Dykes PW, Davies JW. The significance of alterations in serum lipids in thyroid dysfunction. II. Alterations of the metabolism and turnover of 131-I-low-density lipoproteins in hypothyroidism and thyrotoxicosis. *Clin Sci* 1965; 29: 217-238.

16. **Abrams JJ, Grundy SM.** Cholesterol metabolism in hypothyroidism and hyperthyroidism in man. *J Lipid Res* 1981; 22: 323-338.
17. **Nikkila EA, Kekki M.** Plasma triglyceride metabolism in thyroid disease. *J Clin Invest* 1972; 51: 2103-2114.
18. **Tzotzas T, Krassas GE, Konstantinidis T, Bougoulia M.** Changes in lipoprotein(a) levels in overt and subclinical hypothyroidism before and during treatment. *Thyroid* 2000; 10: 803-808.
19. **Klausen IC, Nielsen FE, Hegedus L, Gerdes LU, Charles P, Faergeman O.** Treatment of hypothyroidism reduces low-density lipoproteins but not lipoprotein (a). *Metabolism* 1992; 41: 911-914.
20. **Jung CH, Sung KC, Shin HS, Rhee EJ, Lee WY, Kim BS, et al.** Thyroid dysfunction and their relation to cardiovascular risk factors such as lipid profile, hsCRP, and waist hip ratio in Korea. *Korean J Intern Med* 2003; 18: 146-153.
21. **Walsh JP, Bremner AP, Bulsara MK, O'Leary P, Leedman PJ, Feddema P, et al.** Thyroid dysfunction and serum lipids: a community-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63: 670-675.
22. **Hueston WJ, Pearson WS.** Subclinical hypothyroidism and the risk of hypercholesterolemia. *Ann Fam Med* 2004; 2: 351-355.
23. **Brenta G, Berg G, Arias P, Zago V, Schnitman M, Muzzio ML, et al.** Lipoprotein alterations, hepatic lipase activity, and insulin sensitivity in subclinical hypothyroidism: response to L-T(4) treatment. *Thyroid* 2007; 17: 453-460.
24. **Kahaly JK.** Cardiovascular and atherogenic aspects of subclinical hypothyroidism. *Thyroid* 2000; 10: 665-679.
25. **Biondi B, Palmieri EA, Lombardi G, Fazio S.** Effects of subclinical thyroid dysfunction on the heart. *Ann Intern Med* 2002; 137: 904-914.
26. **Hristozov K, Siderova M, Penev A.** Thyroid dysfunction and cardiovascular outcomes. *Endocrinologia* 2007; 12 (1):25-32 (in Bulgarian) (**Христозов К, Сидерова М, Пенев А.** Тиреоидна дисфункция и късни сърдечно-съдови последици. *Ендокринология*, 2007, том XII, ?1:25-32)
27. **Vanderpump MPJ.** The epidemiology of thyroid disease. *British Medical Bulletin* 2011; 99: 39-51
28. **Efstathiadou Z, Bitsis S, Millionis HJ, Kukuvtis A, Bairaktari ET, Elisaf MS, et al.** Lipid profile in subclinical hypothyroidism: is L-thyroxine substitution beneficial? *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 705-710.
29. **Michalopoulou G, Alevizaki M, Piperigos G, Mitsibounas D, Mantzos E, Adamopoulos P, Koutras DA.** High serum cholesterol levels in persons with „high-normal“ TSH levels: should one extend the definition of subclinical hypothyroidism? *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 141-145.
30. **Shinkov A, Borissova A-M, Kovatcheva R, Atanassova I, Vlahov J, Dakovska L.** The prevalence of the metabolic syndrome increases through the quartiles of thyroid stimulating hormone in a population-based sample of euthyroid subjects. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2014; 58 (9): 926-932.
31. **Toruner F, Altinova AE, Karakoc A, Yetkin I, Ayvaz G, Cakir N, et al.** Risk factors for cardiovascular disease in patients with subclinical hypothyroidism. *Adv Ther* 2008; 25: 430-437.
32. **Erdem TY, Ercan M, Ugurlu S, Balci H, Acbay O, Gundogdu S.** Plasma viscosity, an early cardiovascular risk factor in women with subclinical hypothyroidism. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 38: 219-225.
33. **de Castro AV, Bononi AP, Aragon F, Padovani CR, Nogueira CR, Mazeto GM, Pimenta.** Clinical and laboratory evaluation of hyperlipemia and hypothyroid patients. *Arq Bras Cardiol* 2001;76:119-126.
34. **Michalopoulou G, Alevizaki M, Piperigos G, Mitsibounas D, Mantzos E, Adamopoulos P et al.** High serum cholesterol levels in persons with 'high normal' TSH levels: should one extend the definition of subclinical hypothyroidism? *Eur J Endocrinol* 1998;138:141-145.
35. **Heimberg M, Olubadewo JO, Wilcox HG.** Plasma lipoproteins and regulation of hepatic metabolism of fatty acids in altered thyroid states. *Endocrine Rev* 1985; 6: 590-607.
36. **Dullaart RP, Hoogenberg K, Groener JE, Dikkeschei LD, Erkelens DW, Doorenbos H.** The activity of cholesteryl ester transfer protein is decreased in hypothyroidism: a possible contribution to alterations in high-density lipoproteins. *Eur J Clin Invest* 1990; 20: 581-587.
37. **Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, et al.** Lipid profiles and cardiovascular disease in the Whickham area with particular reference to thyroid failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1977; 7: 495-508.

## Ниво на LDL-cholesterol – ролята на пола и възрастта за оформяне на атерогенни условия за българската популация (епидемиологично проучване на Българско дружество по ендокринология'2012г)

Борисова, Анна-Мария И., Шинков, Александър Д., Влахов, Йордан Д., Даковска, Лилия, Н., Тодоров, Тодор Ц.

Университетска болница по ендокринология, Медицински университет, София

### Адрес за кореспонденция:

Проф. Анна-Мария Борисова

Университетска болница по ендокринология,

Медицински университет, София, България

ул. „Здраве“ №2, 1431, София, България

E-mail: anmarbor@abv.com

### Abstract

Редукцията в нивото на LDL-холестерол (LDL-ch) с 1 mmol/l води до намаление с 22% на сърдечно-съдовата смъртност (ССС) за срок над 5 години.

**Целта** на настоящото проучване е да се уточни разпространението на повишения LDL-ch в българската популация.

**Материал и методи:** Проведено е трансверзално (cross-sectional) мултицентрово проучване сред българска популация с 2032 участника [1049 жени (53,4%) и 917 мъже (46,6%), на средна възраст  $49,30 \pm 14,75$  г. ( $\geq 20$ -80 г.)], които са разделени по региони, пол и възраст според данните на НСИ, 2011 г. Кръвни проби са вземани след 12-часов нощен глад за определяне на липиден профил – общ холестерол, HDL-холестерол и триглицериди (ТГ) изследвани чрез Enzymatic Colour Test (CHO-POD). При 66 от изследваните 2032 лица се установи серумно ниво на ТГ  $\geq 4,5$  mmol/l (3,2%). Тези лица бяха изключени от анализа. При останалите 1966 лица по установена формула се изчисли нивото на LDL-ch. Изследваните лица са разпределени в три групи според нивото на LDL-ch: оптимално –  $< 3,37$  mmol/l; високо –  $> 3,37$  –  $< 4,1$  mmol/l; много високо –  $> 4,1$  mmol/l.

**Резултати:** Честотата на LDL-ch  $> 4,1$  mmol/l нараства двукратно с напредване на възрастта (20,5% при 20-44 г. срещу 41% при 45-59 и  $\geq 60$  г). Особености в трите възрастови категории при мъжете: от 20 до 44 г. нивото на LDL-ch нараства с  $\sim 1,0$  mmol/l; от 45 до 55 г. нивото на LDL-ch се задържа на едно ниво и след 55 г. спада. При жените от 20 до 44 г. нивото на LDL-ch нараства, което персистира и за възрастта 45-59 г. Едва след 70/75 г. нивото на LDL-ch спада. Много високо ниво на LDL-ch в младата възраст на жените е 2 пъти по-рядко в сравнение с мъжете (13,6% срещу 27,7%). В третата възраст, обаче, ситуацията се променя и жените имат по-голяма честота на много високо ниво на LDL-ch в сравнение с мъжете (49% срещу 32%).

**Заклучение:** Целенасочен скрининг трябва да се провежда при млади мъже, тъй като близо  $\frac{1}{3}$  от тях имат много високо ниво на LDL-ch и вероятно това е свързано с недиагностицирана фамилна хиперхолестеролемия. В третата възраст това тежко нарушение в липидите е по-често, но много повече са жените – половината от тях срещу само  $\frac{1}{3}$  от мъжете.

**Key words:** популационна честота на LDL-ch, възрастова динамика на LDL-ch при мъже, възрастова динамика на LDL-ch при жени

В повечето страни само около 1% от случаите на хетерозиготна фамилна хиперхолестеролия (ФХ) са диагностицирани. Преполога се, че в света има от 14 до 34 милиона лица с ФХ. Тя е честа генетична причина за ранно коронарно сърдечно заболяване (1). Понастоящем се смята, че има над 1200 мутации на рецептора за LDL-ch, които са причина за ФХ (2). При хетерозиготната форма общият холестерол е 8-15 mmol/L и сърдечно-съдово заболяване (ССЗ) се развива обикновено преди 55-60 г. възраст. При хомозиготната форма общият холестерол е обичайно 12-30 mmol/L и ССЗ се развива твърде рано – преди 20-годишна възраст. При ФХ рискът от ССЗ е 13 пъти по-висок (95% CI:10-17-пъти) при липса на лечение със статини и намалява до 10-кратно повишение (95% CI:8-14-пъти) при провеждане на статиново лечение. За съжаление, статини се предписват твърде късно в живота, когато вече е налице тежка атеросклероза.

Прегледът на данните от 26 рандомизирани проучвания и мета-анализи със 170 000 участници установява, че редукцията в нивото на LDL-ch с 1 mmol/l води до намаление с 22% на сърдечно-съдовата смъртност (ССС) и с 12% на смъртността от всякаква причина за срок над 5 години (3).

По принцип се препоръчва скриниране за ФХ в случаите, когато член от семейството има ФХ, при ниво на общия холестерол  $\geq 8$  mmol/L за възрастен или  $\geq 6$  mmol/L за дете, при ранно развитие на ССЗ – преди 55 г. за мъже и преди 60 г. за жени, при внезапна смърт на член от семейството или при ксантоми(4).

American Association Clinical Chemistry съвместно с партньори от 17 Сдружения постигат консенсус относно връзката между повишеното ниво на LDL-ch и риска от ССЗ. Съгласно National Cholesterol Education Program, 2001(5) и актуализираните данни на NIH от 2005 г. (6), нивото на LDL-ch при липса на други рискови фактори да се оценява, както следва:

- Под 100 mg/dL (2,59 mmol/L) – *оптимално*
- 100-129 mg/dL (2,59-3,34 mmol/L) – *близо до оптималното*
- 130-159 mg/dL (3,37-4,12 mmol/L) – *гранично високо*
- 160-189 mg/dL (4,15-4,90 mmol/L) – *високо*
- Много над 189 mg/dL (4,90 mmol/L) – *много високо*

Големите рискови фактори за ССЗ според NIH, 2001(5), които могат да променят таргета за LDL-ch са:

1. Възраст (мъже над 45 г. и жени над 55 г)
2. Артериална хипертония (кръвно налягане

$\geq 140/90$  mmHg или прием на антихипертензивни средства)

3. Предшестващо коронарно сърдечно заболяване

4. Захарен диабет

5. Фамилност за сърдечно-съдово заболяване (първа степен роднини-мъже под 55 г. или жени под 65 г.)

6. Тютюнопушене

Таргетните стойности на LDL-ch за включване на лечение при наличие на рискови фактори според Препоръките на ACC/AHA, 2013 (7) и препотвърдени на 5 юли 2016 г. от American College of Cardiology/ National Lipid Association (8) са:

1. Болни с клинично ССЗ
2. Болни с LDL-ch  $\geq 190$  mg/dL ( $>4,9$  mmol/l), което не се дължи на вторична причина
3. Болни от 40 до 75 г. с диабет и LDL-ch 70 до 189 mg/dL (1,8-4,9 mmol/l)
4. Болни от 40 до 75 г. без диабет, но с LDL-ch 70 до 189 mg/dL (1,8-4,9 mmol/l) и 10-годишен риск от ССЗ  $\geq 7,5\%$

**Крайната цел** при провеждане на антилипемичното лечение е нивото на LDL-ch да бъде:

1. под 100 mg/dL (2,59 mmol/L) – *при налично сърдечно-съдово заболяване или диабет\**
2. под 130 mg/dL (3,37 mmol/L) – *при налични 2 или повече рискови фактори (среден риск за сърдечно-съдово заболяване)*
3. под 160 mg/dL (4,14 mmol/L) – *без или при наличие на 1 рисков фактор (нисък риск за сърдечно-съдово заболяване)*

\*LDL-c под 70 mg/dL (1,82 mmol/L), ако лицето е със ССЗ или е имало сърдечна атака.

Според Препоръките на ADA от 2016 (9) терапевтичният алгоритъм следва три стъпки:

- 1 Включване на лечение със статин според горните критерии. Достигане на максимално толерантната доза и снижение на серумното ниво на LDL-ch с 30-50% спрямо изходното му ниво. При непостигане на желаното снижение в нивото на LDL-ch, при липса на толерантност към статин или при странични ефекти следва втора стъпка.
- 2 Към достигнатата максимално поносима доза статин се добавя ezetimibe. При непостигане на желаното снижение в нивото на LDL-ch с това комбинирано лечение, следва трета стъпка.
- 3 Добавяне към максимално толерантната доза статин на PCSK9 инхибиторите evolocumab или alirocumab.

**Целта** на настоящото проучване е да се уточни разпространението на повишения LDL-ch в изследваната кохорта и уточни ролята на пола и възрастта за оформяне на атерогенни условия за българската популация.

### Материал и методи

Българско дружество по ендокринология провежда през м. януари-февруари 2012 г. трансверзално (cross-sectional) мултицентрово проучване сред българска популация. Проучването включва 3450 лица – жени и мъже на възраст  $\geq 20$ -80 г., които са поканени за участие със специално подготвено писмо-обръщение. Всички отзовали се 2032 лица (58,8% от поканените) най-напред се запознаха с характера на изследванията и подписаха Информирано съгласие, което предварително бе разгледало и утвърдено от местната Етична комисия. Участниците попълниха въпросник, който включваше: демографски данни, настоящия им здравен статус, минали заболявания, фамилност с основни хронични заболявания (хипертония, захарен диабет, тиреоидни заболявания, бъбречни заболявания), лечение в миналото и настоящето. Изследваните 2032 участника са разделени по региони, пол и възраст според популационното разпределение, описано в последното национално преброяване от м. декември 2011 г. на Националния Статистически Институт (10) – 27,5% селско население и 72,5% градско население от 5 географски региона на страната:

1. Северозападен (Видин, Дунавци, Монтана, Троян и прилежащите села) – 431 участници, 21,2% от кохортата;
2. Североизточен (Добрич, Русе, Бяла и прилежащите села) – 454 участници, 22,3% от кохортата;
3. Югоизточен (Сливен, Стара Загора и прилежащите села) – 384 участници, 18,9% от кохортата;
4. Югозападен (Благоевград, Сангански и прилежащите села) – 406 участници, 20% от кохортата;
5. Централен западен (София и прилежащите села) – 357 участници, 17,6% от кохортата.

В настоящото субпроучване са включени 1049 жени (53,4%) и 917 мъже (46,6%), на средна възраст  $49,30 \pm 14,75$  г. ( $\geq 20$ -80 г.), които са разпределени в три възрастови групи: млада възраст ( $\geq 20$ -44 г.) – 894 лица (45,5%); средна възраст (45-59 г.) – 534 лица (27,2%); трета възраст ( $\geq 60$ -80 г.) – 538 лица (27,3%).

### Лабораторни изследвания

Кръвни проби чрез венепункция на *a.cubitalis* са вземани след 12-часов нощен глад за определяне на липиден профил – общ холестерол, HDL-холестерол, TG. Общият холестерол, HDL-холестерол и TG са изследвани чрез *Enzymatic Colour Test (CHO-POD)* с напълно автоматизиран анализатор *UniCel® DxС 660i System, Beckman Coulter*. Аналитичните качества на липидните и липопротеинните измервания съответстват на препоръчителните критерии на NCEP (*The US National Cholesterol Education Program*) за аналитична точност и обща грешка (5). Общоприетите критерии за дислипидемия са съгласно *National Cholesterol Education Programme (NCEP) guidelines (5)*, които са утвърдени и в поредицата Препоръки на *International Diabetes Federation* в периода 2005-2011 г. (11-13):

- Хиперхолестеролемия  $\geq 5,2$  mmol/l
- Хипертриглицеридемия (TG)  $\geq 1,7$  mmol/l
- Нисък HDL-холестерол при мъже  $<1,03$  mmol/l и при жени  $<1,3$  mmol/l
- Висок LDL-холестерол  $\geq 3,4$  mmol/l

При 66 от общо изследваните 2032 лица се установи серумно ниво на TG  $\geq 4,5$  mmol/l (3,2%). Тези лица бяха изключени от анализа. При останалите 1966 лица по установена формула се изчисли нивото на LDL-ch (14,15).

Имайки предвид Стандарта на ADA от 2016 г (9) и Препоръките на ESC/EAS, 2011(16) разпределихме изследваните лица в три групи според нивото на LDL-ch:

1.  $<3,37$  mmol/l – близо до оптималното ниво
2.  $>3,37$ - $<4,1$  mmol/l – високо
3.  $>4,1$  mmol/l – много високо

### Резултати и обсъждане

Оказва се, че 5,54% от изследваните имат серумно ниво на общия холестерол  $\geq 8,0$  mmol/l и попадат в групата лица, които подлежат на скрининг за изключване високо и много високо ниво на LDL-ch. Между двата пола няма разлика в честотата, но връзката е подчертана с напредване на възрастта (от 2,79% при младата група достига 7,49% в средната възрастова група и 8,17% в третата възрастова група) (Табл. 1).

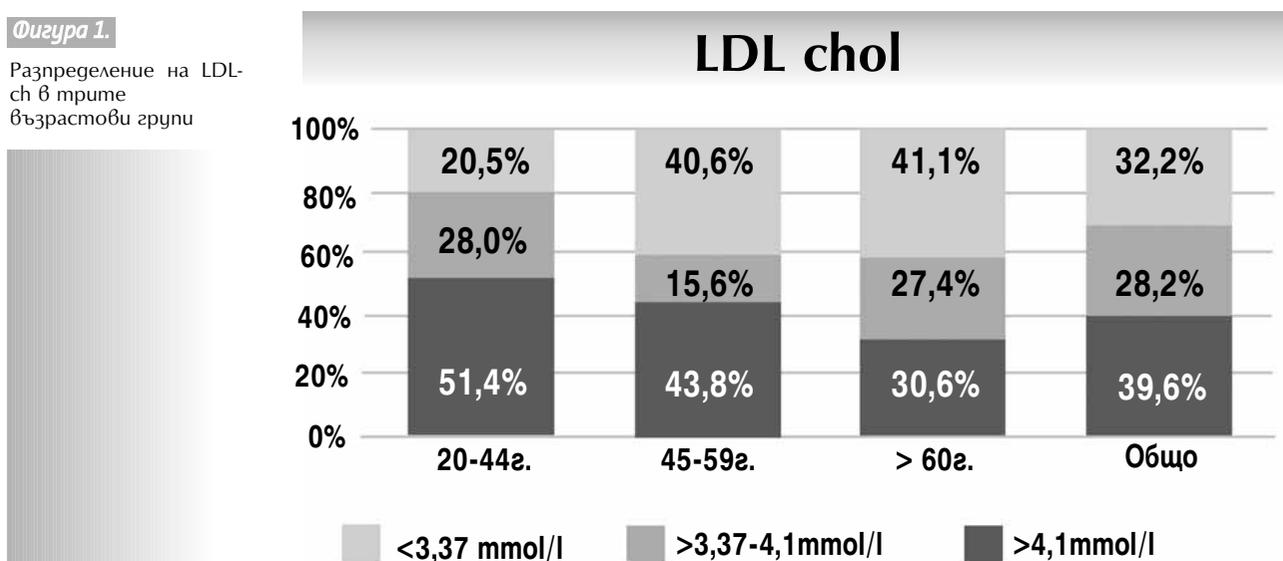
Оптимално ниво на LDL-ch имат само 40% от всички изследвани, 28% имат високо ниво на LDL-ch ( $>3,37$ - $<4,1$  mmol/l), а 32% имат много високо ниво на LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l). Честотата на LDL-ch  $>4,1$  mmol/l нараства двукратно с напредване на възрастта (20,5% при 20-44г. срещу 41% при 45-59г. и  $\geq 60$ г.). Честотата на LDL-ch  $>3,37$ - $<4,1$  mmol/l спада двукратно с напредване на възрастта (28% при 20-44г. срещу 15,6% при 45-59г.

**Table 1.** Разпределение на общия холестерол според нивото му (<5.2, 5.2-6.0, 6.0-7.0, 7.0-8.0, 8.0-9.0, 9.0-10.0 и над 10.0 mmol/l)

Серумно ниво на общ холестерол (mmol/l)	Общо (брой- %)	Жени (брой- %)	Мъже (брой- %)	20-44 г (брой- %)	45-59 г (брой- %)	≥ 60г (брой/ %)
<5,2	633 (32,2%)	349 (33,27%)	284 (31%)	398 (44,5%)	120 (22,5%)	115 (21,4%)
5,2-6,0	499 (25,4%)	255 (24,3%)	244 (26,6%)	265 (29,6%)	137 (25,7%)	97 (18%)
6,0-7,0	486 (24,7%)	251 (23,9%)	235 (25,65%)	144 (16,1%)	155 (29%)	187 (34,8%)
7,0-8,0	239 (12,1%)	135 (12,7%)	104 (11,35%)	62 (6,9%)	82 (15,4%)	95 (17,7%)
8,0-9,0	78 (4,0%)	42 (4,7%)	36 (3,9%)	19 (2,2%)	30 (5,6%)	29 (5,4%)
9,0-10,0	24 (1,2%)	14 (1,3%)	10 (1,1%)	5 (0,55%)	8 (1,5%)	11 (2%)
>10,0	7 (0,35%)	3 (0,28%)	4 (0,43%)	1 (0,11%)	2 (0,37%)	4 (0,74%)
<b>Брой</b>	1966	1049	917	894	534	538
<b>Общ Холестерол ≥8,0</b>	<b>109/1966 (5,54%)</b>	<b>59/1049 (5,45%)</b>	<b>50/917 (5,62%)</b>	<b>25/894 (2,79%)</b>	<b>40/534 (7,49%)</b>	<b>44/538 (8,17%)</b>

**Фигура 1.**

Разпределение на LDL-ch в трите възрастови групи



и се възстановява при лицата ≥ 60 г. Само 30% от лицата ≥ 60 г. имат оптимално ниво на LDL-ch <3,37 mmol/l срещу 51% от 20-44 г. (Фиг. 1).

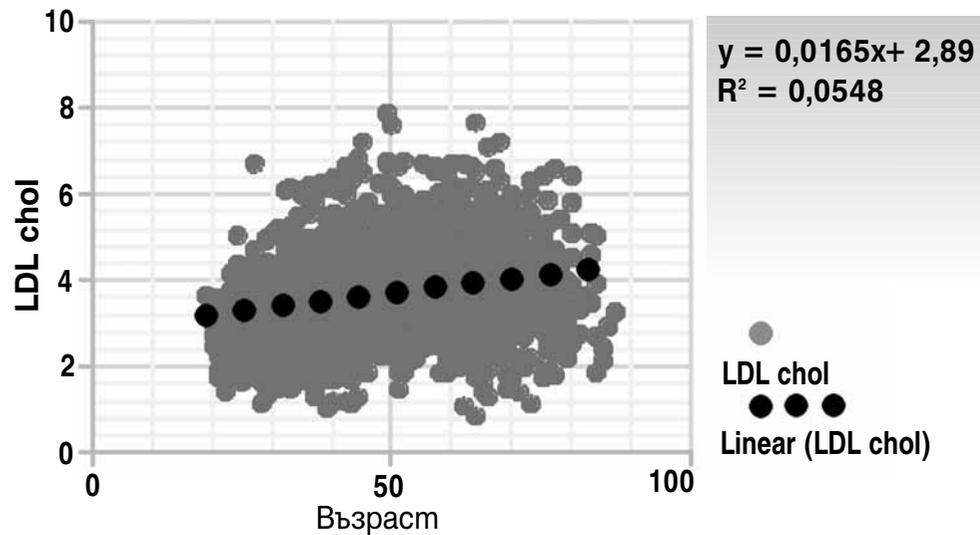
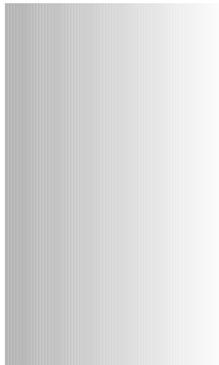
Влиянието на възрастта върху нивото на LDL-ch е много силно и от графиката по-долу е видно, че в цялата група с напредване на възрастта ни-

вото на LDL-ch нараства с ~1,0 mmol/l (Фиг. 2).

След корекция за възраст с напредване на възрастта нивото на LDL-ch нараства до 60-65-годишна възраст, след което леко спада (Фиг. 3). В следващите фигури 4, 5 и 6 са представени особеностите на ролята на възрастта върху

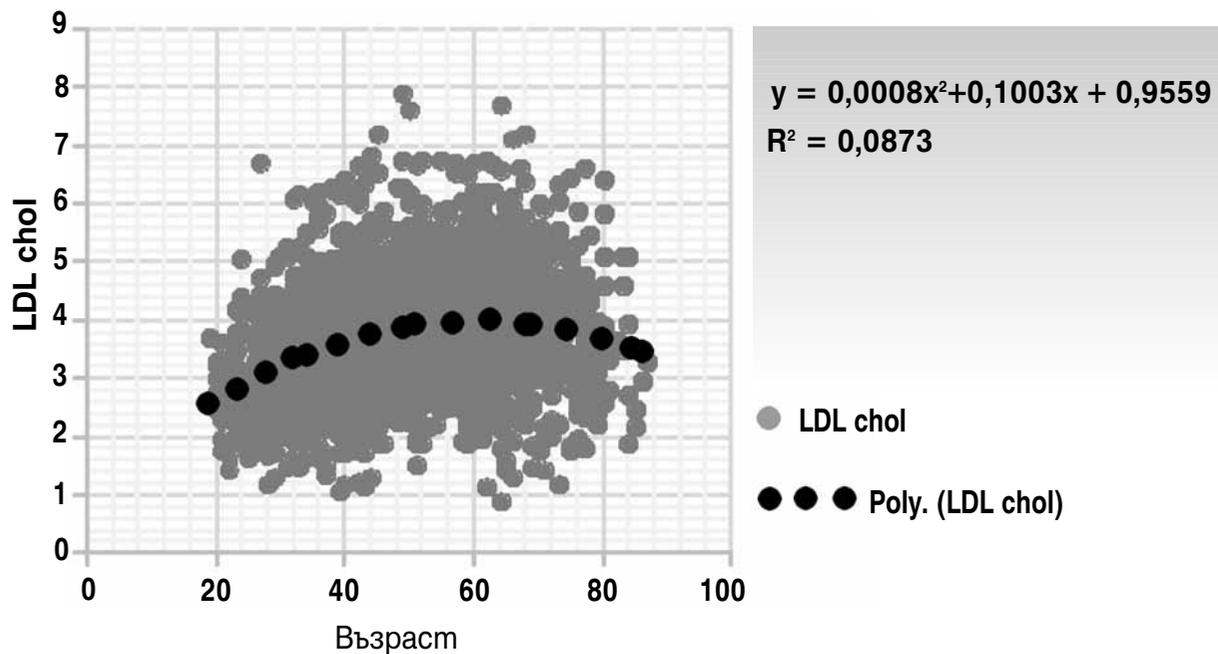
**Фигура 2.**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch общо за цялата група изследвани



**Фигура 3**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch общо за цялата група изследвани след ажустиране за възраст



нивото на LDL-ch във всяка една от трите възрастови групи. В общата група на младите (20-44 г.) от 20 до 44-годишна възраст нивото на LDL-ch нараства с ~1,0 mmol/l (Фиг. 4). В общата група на средната възраст (45-59 г.) нивото на LDL-ch не се променя, а в третата група след 60-годишна възраст нивото на LDL-ch спада.

В следващите няколко фигури е представено влиянието едновременно на пола и възрастта върху нивото на LDL-ch.

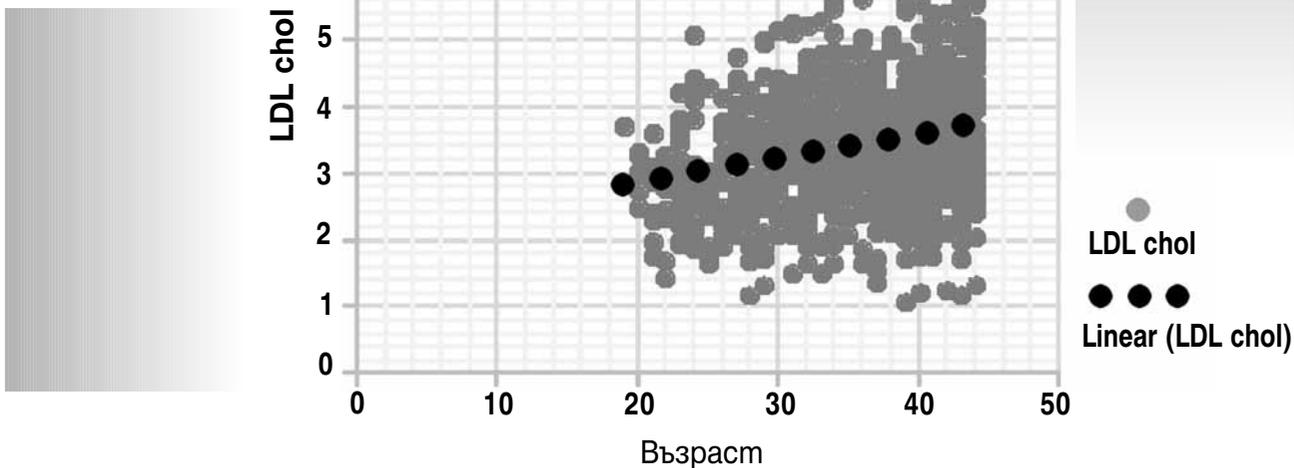
### Мъже

Висок LDL-ch (>3,37-4,1 mmol/l) и много висок LDL-ch (>4,1 mmol/l) имат 61% от изследваните мъже. Само 39% от мъжете имат близо до оптималното ниво LDL-ch (<3,37 mmol/l). Възрастовите промени в честотата на LDL-ch не са съществени (Фиг. 7).

С напредване на възрастта нараства нивото на LDL-ch до 60-годишна възраст, след което

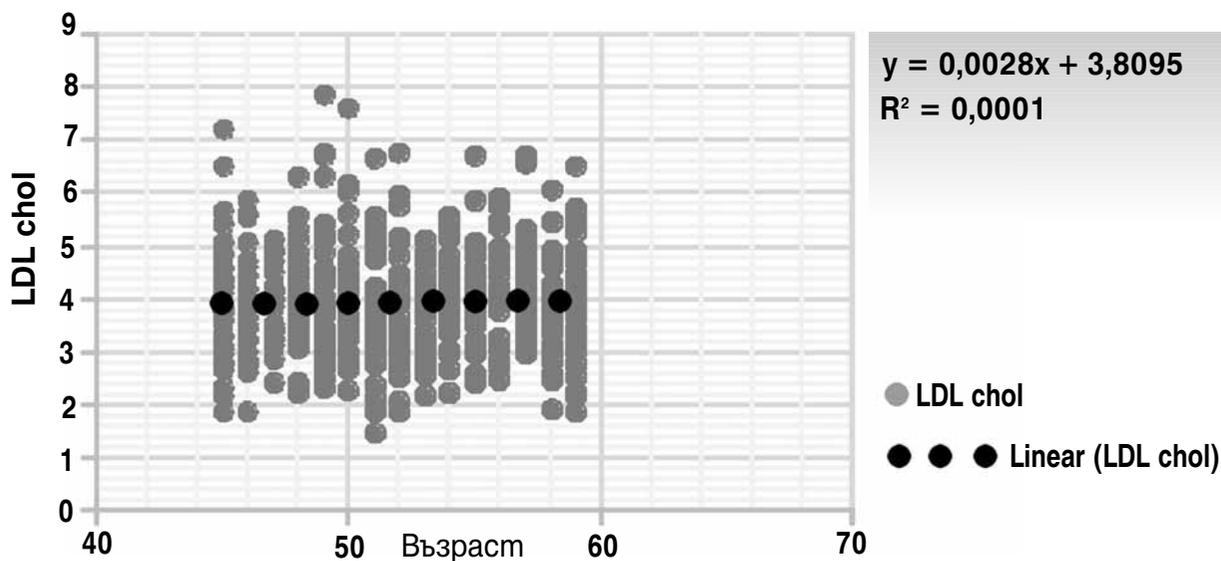
**Фигура 4.**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в общата група на младите (20-44 г)



**Фигура 5**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch общо за цялата група изследвани след ажустиране за възраст



леко спада (след корекция за възраст) (Фиг. 8).

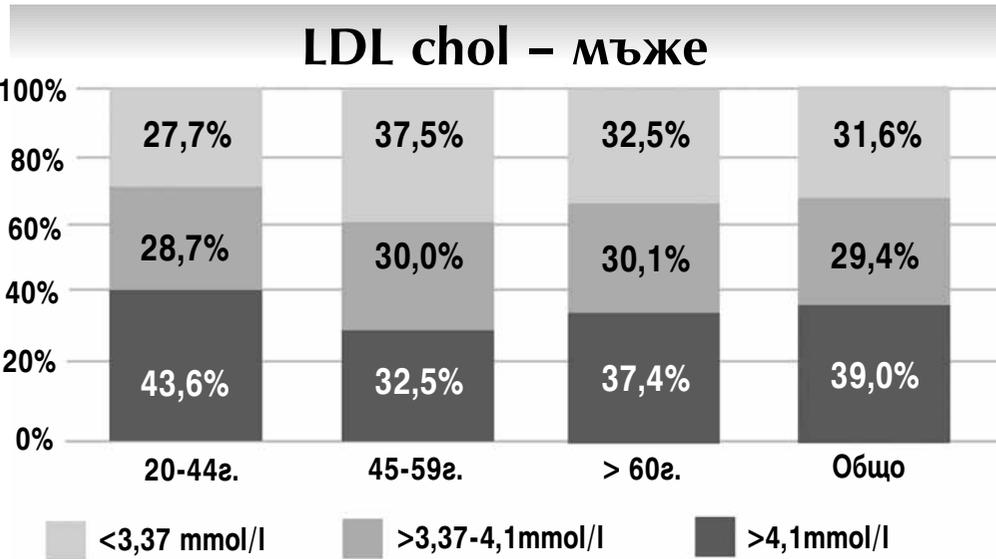
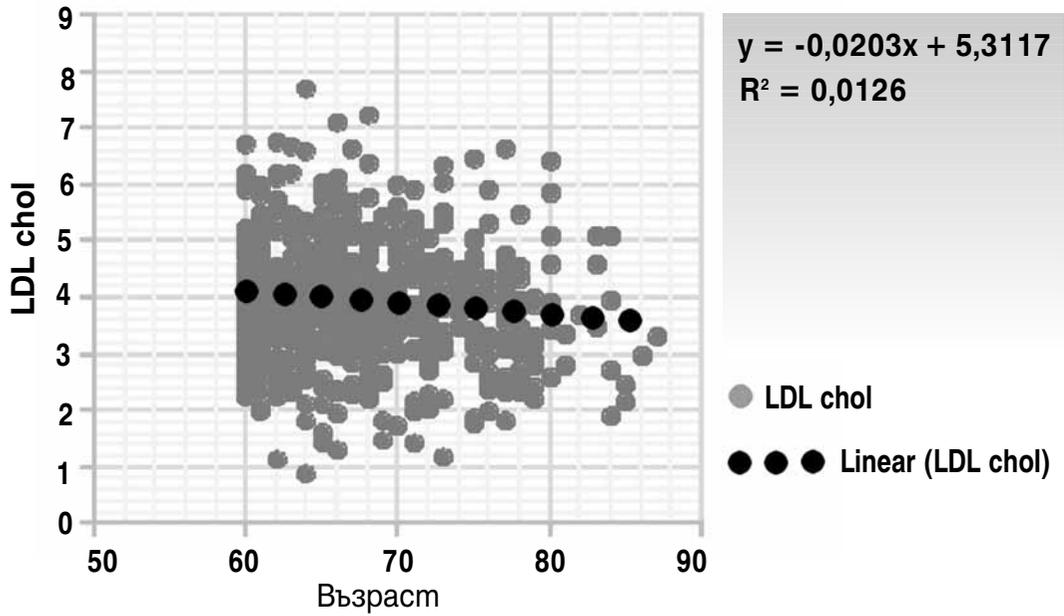
Особеностите в трите възрастови категории при мъжете са следните: от 20 до 44-годишна възраст нивото на LDL-ch нараства с  $\sim 1,0$  mmol/l; От 45 до 55-годишна възраст нивото на LDL-ch се задържа на едно ниво и след 55-годишна възраст спада (след корекция за възраст); След 60-годишна възраст нивото на LDL-ch спада (Фиг. 9-11).

### Жени

Оптимално ниво на LDL-ch имат 53% от жените, а 47% – високо и много високо ниво. Честотата на много високия LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) нараства 3,5 пъти с напредване на възрастта (13,6% при 20-44 г. срещу 49% при  $\geq 60$  г.), а честотата на високия LDL-ch ( $>3,37$ - $<4,1$  mmol/l) спада 8-кратно с напредване на възрастта (27,4% при 20-44 г. срещу 13,9% при  $\geq 60$  г.) (Фиг. 12).

Фигура 6.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в общата група на третата възраст ( $\geq 60$  г)

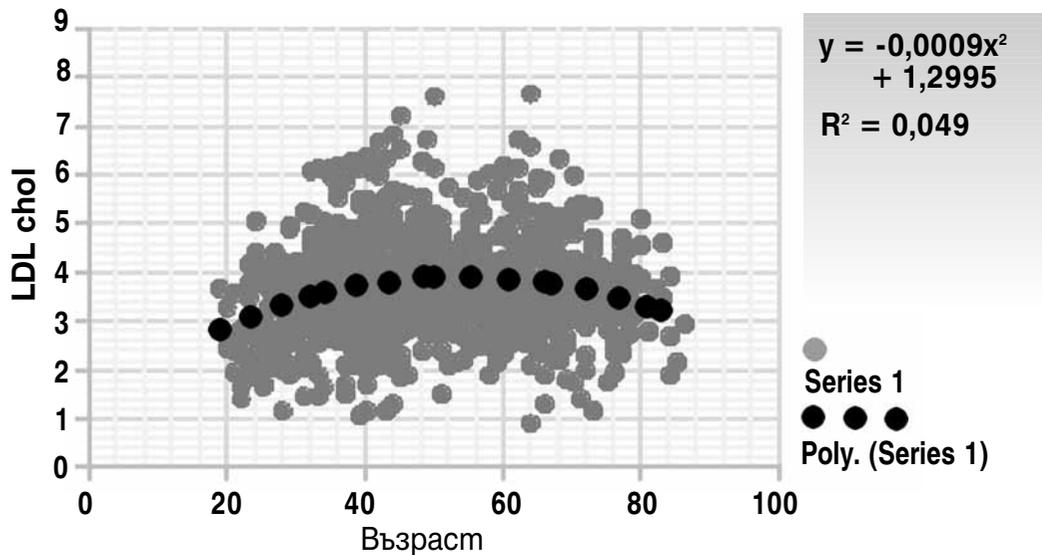


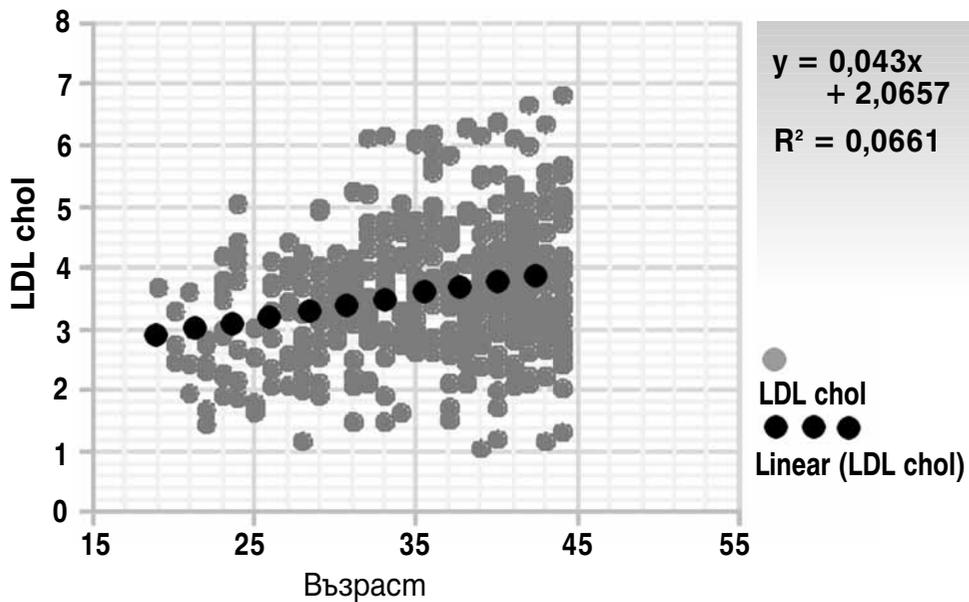
Фигура 7.

Разпределение на LDL-ch в трите възрастови групи на мъжете

Фигура 8.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch общо за цялата група мъже след ажустиране за възраст



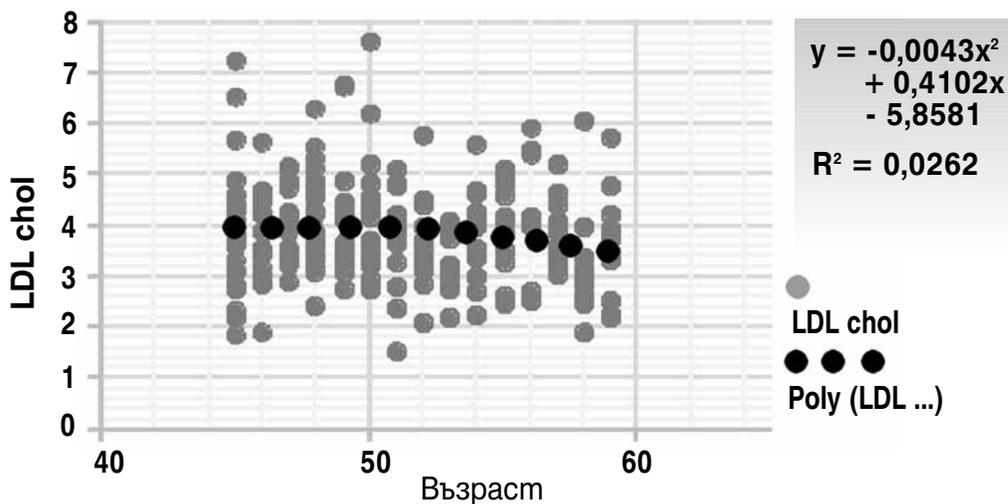


**Фигура 9.**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на младите мъже (20-44 г)

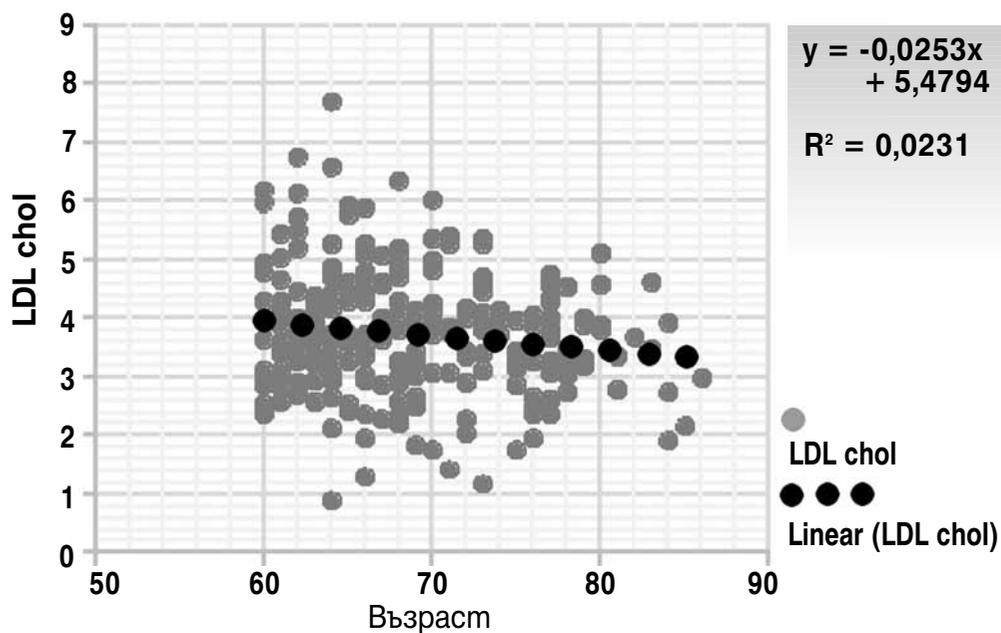
**Фигура 10.**

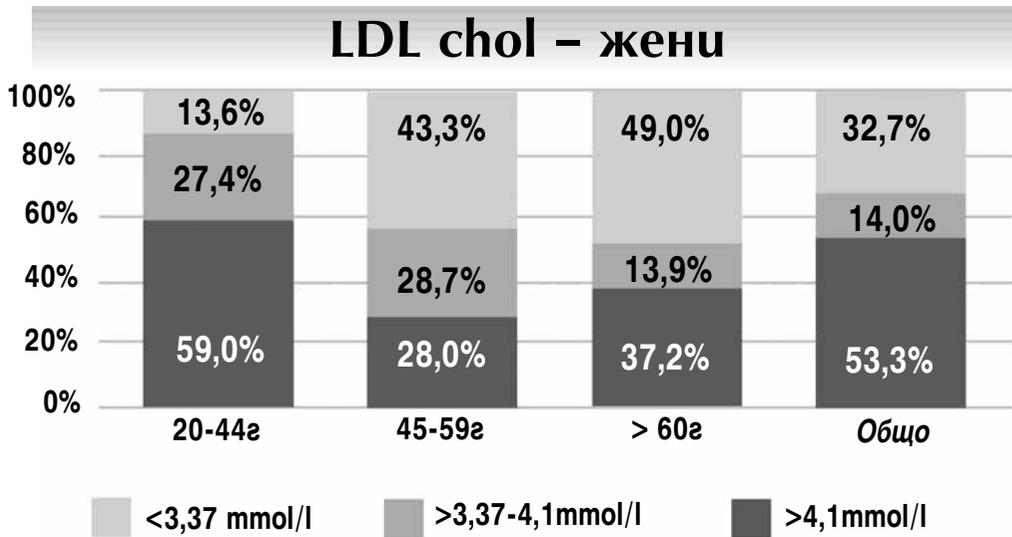
Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на мъжете от средната възраст (45-59 г) след корекция за възраст



**Фигура 11.**

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на мъжете от третата възраст ( $\geq 60$  г)



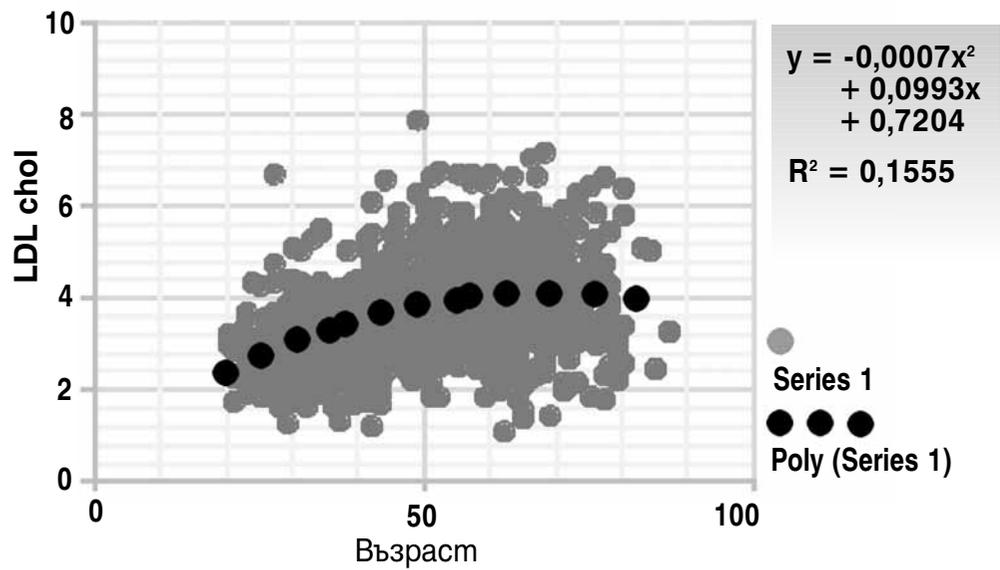


Фигура 12.

Разпределение на LDL-ch в трите възрастови групи на жените

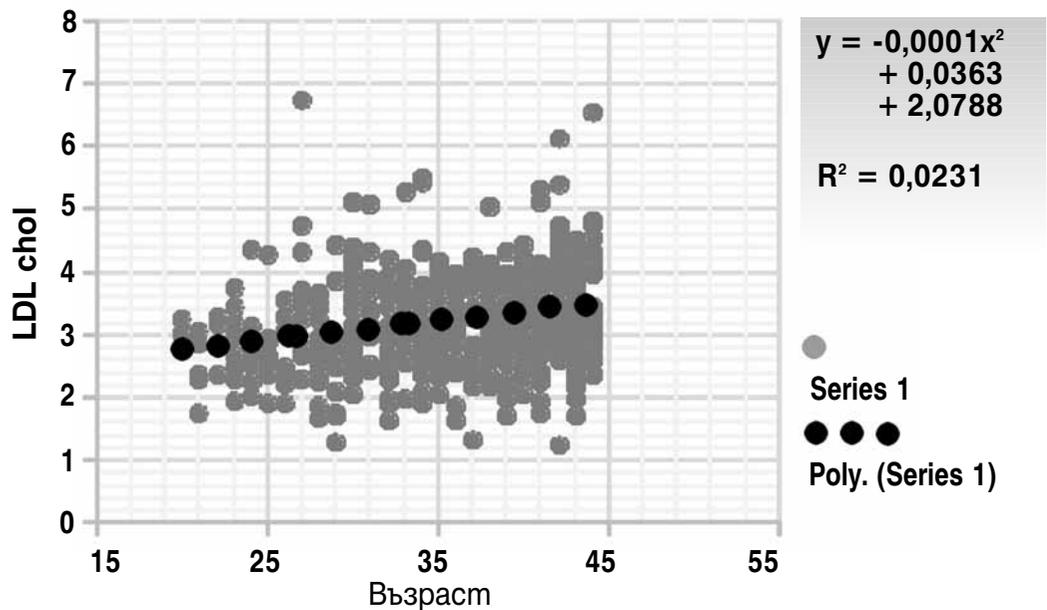
Фигура 13.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch общо за цялата група жени след ажустиране за възраст



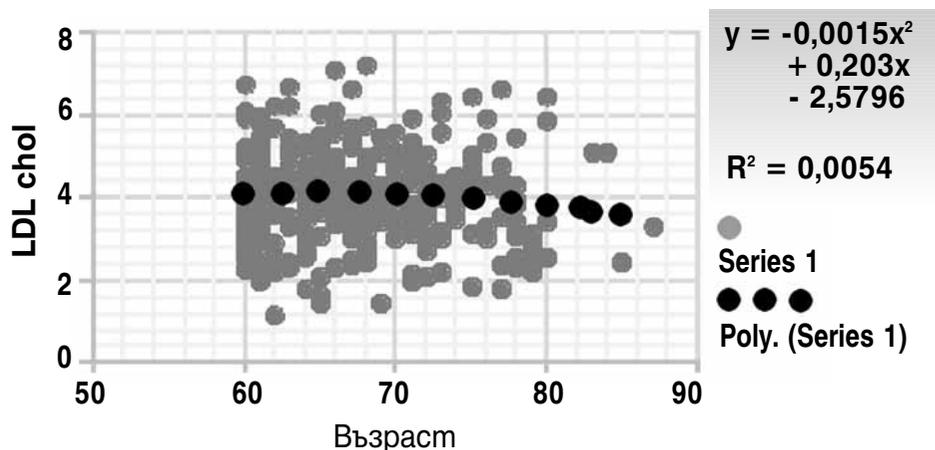
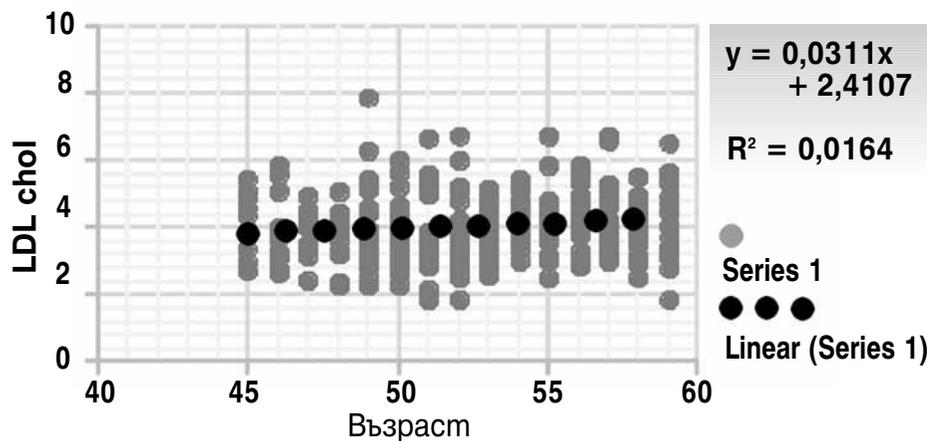
Фигура 14.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на младите жени (20-44 г)



Фигура 15.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на жените от средната възраст (45-59 г.)



Фигура 16.

Влияние на възрастта върху нивото на LDL-ch в групата на жените от третата възраст ( $\geq 60$  г.)

При жените с напредване на възрастта нараства нивото на LDL-ch до 70-75-годишна възраст, след което леко спада (след корекция за възраст) (Фиг. 13).

От 20 до 44-годишна възраст нивото на LDL-ch нараства, което персистира и в следващата възрастова категория 45-59 г. (макар и незначително). Едва след 70-75-годишна възраст нивото на LDL-ch спада (след корекция за възраст) (Фиг. 14-16).

Сравнителният анализ (Фиг. 7 и 12) между двата пола общо и по възрастови групи показва, че високият LDL-ch ( $>3,37$ - $4,1$  mmol/l) се наблюдава 2 пъти по-рядко при жените в сравнение с мъжете, както в общата група, така и в групата на третата възраст (14% срещу 29,4%, респ. 13,9% срещу 30,1%).

Много високо ниво на LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) в младата възраст на жените е 2 пъти по-рядко в сравнение с мъжете (13,6% срещу 27,7%). В третата възраст, обаче, ситуацията се променя и жените имат по-голяма честота на много високо ниво на LDL-ch в сравнение с мъжете (49% срещу 32%). В проучванията на Benn M, et al, 2012 (17) и Neil HA, et al, 2000 (18) също се установява, че е идентична честотата на високо ниво на LDL-ch при жени и мъже до 60-годишна възраст,

но след 60 г. са повече жените. Вероятно повечето мъже с дислипидемия умират в по-ранна възраст, споделят цитираните автори. Трябва да се има предвид още и наличието на допълнителни рискови фактори, които са обичайно по-чести при мъжете - хипертония, тютюнопушене, захарен диабет, високо ниво на ТГ/респ. нисък HDL-ch (4).

**Заклучение:** С настоящото изследване се насочва вниманието на медицинската общност (ендокринолози, кардиолози, ангиолози, общо-практикуващи лекари) към младите мъже, тъй като близо  $\frac{1}{3}$  от тях имат много високо ниво на LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) и вероятно това е свързано с недиагностицирана фамилна хиперхолестеролемия. В третата възраст това тежко нарушение в липидите е по-често, но много повече при жените - половината от тях срещу само  $\frac{1}{3}$  от мъжете. Така се оформя определена насока за провеждане на целенасочен скрининг и включване на адекватно антилипемично лечение, насочено към високия LDL-ch с цел превенция на коронарно сърдечно заболяване, както твърдят Perk J, et al. 2012 (19), докато същите автори смятат, че хипертонията е водещата причина за инсулт, а тютюнопушенето - за атеросклерозата в долните крайници.

# LDL-Cholesterol Level – the Role of Gender and Age in Forming Atherogenic Conditions for the Bulgarian Population

## (epidemiological study of the Bulgarian Society of Endocrinology, 2012)

Borissova, Anna-Maria I., Shinkov, Alexander D., Vlahov, Jordan D., Dakovska, Lilia N., Todorov, Todor C.

University Hospital of Endocrinology, Medical University, Sofia, Bulgaria

### Address for correspondence:

Prof. Anna-Maria Borissova

University Hospital of Endocrinology, Medical University-Sofia, Bulgaria  
2 Zdrave Str, 1431 - Sofia, Bulgaria, E-mail: anmarbor@abv.com

### Abstract

The reduction of the LDL-ch level by 1 mmol/l leads to a reduction of the threat of sudden cardiac death (SCD) by 22 % for a period of 5 years. The aim of this study is to establish the prevalence of high LDL-ch levels among the Bulgarian population.

**Materials and methods:** A cross-sectional, multi-center study was conducted among the Bulgarian population, including 2,032 subjects [1,049 women (53,4%) and 917 men (46,6%), median age 49,30±14,75 years ( $\geq 20$ -80 y)], divided by region, gender and age according to data of the National Statistical Institute of 2011. Fasting blood (12 hrs) was drawn from all participants to determine lipid profile – total, HDL and triglycerides – by means of Enzymatic Colour Test (CHO-POD). In 66 of the 2,032 tested persons we established a triglyceride serum level of  $\geq 4,5$  mmol/l (3,2 %). These persons were excluded from the analysis. The LDL-ch level for the other 1,966 subjects was calculated according to the established formula. The subjects were distributed in three groups according to the LDL-ch level: optimal –  $<3,37$  mmol/l; high –  $>3,37$ - $<4,1$  mmol/l; very high –  $>4,1$  mmol/l.

**Results:** The frequency of LDL-ch $>4,1$  mmol/l doubles with the advancement of age (20,5% in 20-44 y against 41% in 45-59 y and  $\geq 60$  y). Specific features in the three age groups of men: from 20 to 44 y the level of LDL-ch increases by  $\sim 1,0$  mmol/l; from 45 to 55 y the level of LDL-ch remains the same and drops after 55 y. In women from 20 to 44 y the level of LDL-ch increases, which also persists for the age of 45-59 y. Only after 70/75 y the level of LDL-ch drops. A very high level of LDL-ch in the young women is twice more infrequent than in the case of men (13,6% against 27,7%). In the case of the third age, however, the situation changes and women more frequently have a very high level of LDL-ch in comparison to men (49% against 32%).

**Conclusion:** Young men should be subjected to purposeful screening as nearly  $\frac{1}{3}$  of them have a very high level of LDL-ch and this is probably related to undiagnosed familial hypercholesterolemia. In the third age this severe condition with the lipids is much more frequent, but it is found much more among women – half of them against only  $\frac{1}{3}$  of the men.

**Ключови думи:** population frequency of LDL-ch, age dynamics of LDL-ch in men, age dynamics of LDL-ch in women

In most countries only about 1% of the cases of heterozygous familial hypercholesterolemia (FH) are diagnosed. It is assumed that there are from 14 to 34 million persons with FH in the world. It is a frequent genetic reason for early coronary heart disease (1). It is now considered that there are over 1,200 mutations of

the receptor for LDL-ch, which are the reason for FH (2). In the case of the heterozygous form the total cholesterol is 8-15 mmol/L and cardiovascular disease (CVD) develops usually at an age before 55-60. In the case of the homozygous form the total cholesterol is usually 12-30 mmol/L and CVD develops too early –

before the age of 20. With FH the risk of CVD is 13 times higher (95% CI:10-17-times) at no treatment with statins and drops to tenfold increase (95% CI:8-14-times) with statin treatment. Regrettably, statins are prescribed to late in like when severe atherosclerosis has already set in.

A review of the data from 26 randomised studies and meta-analyses with 170,000 subjects established that the reduction in the level of LDL-ch by 1 mmol/l leads to a reduction of cardiovascular death rate by 22 % and a reduction of the death rate for any reason by 12 % for a period over 5 years (3).

On principle, screening for FH is recommended in the cases when a member of the family has FH, at a total cholesterol level of  $\geq 8$  mmol/L for an adult or  $\geq 6$  mmol/L for a child, in the case of early development of CVD – before the age of 55 for men and before 60 for women, in the case of sudden death of a family member or in the case of xanthomas (4).

American Association Clinical Chemistry together with partners from 17 associations achieved consensus as regards the connection between the high LDL-ch level and the risk of cardiovascular disease. According to the National Cholesterol Education Program, 2001 (5) and the updated data of NIH from 2005 (6), the level of LDL-ch at the lack of other risk factors should be evaluated as follows:

- Under 100 mg/dL (2,59 mmol/L) – *optimal*
- 100-129 mg/dL (2,59-3,34 mmol/L) – *near optimal*
- 130-159 mg/dL (3,37-4,12 mmol/L) – *bordering on high*
- 160-189 mg/dL (4,15-4,90 mmol/L) – *high*
- Much above 189 mg/dL (4,90 mmol/L) – *very high*

The major risk factors for cardiovascular disease according to NIH, 2001 (5), which can change the target for LDL-ch are:

7. Age (men over 45 and women over 55)
8. Arterial hypertension (blood pressure  $\geq 140/90$  mmHg or use of antihypertensive drugs)
9. Preceding coronary heart disease
10. Diabetes mellitus
11. Familial cardiovascular disease (first degree of consanguinity – men under 55 and women under 65)
12. Smoking

The target values of LDL-cholesterol for beginning of treatment in the case risk factors exist are the following according to the Recommendations of ACC/AHA, 2013 (7) reconfirmed on 5 July 2016 by the American College of Cardiology/National Lipid Association (8):

5. Patients with clinical CVD
6. Patients with LDL-ch  $\geq 190$  mg/dL ( $>4,9$  mmol/l), which is not due to a secondary reason
7. Patients aged from 40 to 75 with diabetes and LDL-ch 70 to 189 mg/dL (1,8-4,9 mmol/l)
8. Patients aged from 40 to 75 without diabetes but

with LDL-ch 70 up to 189 mg/dL (1,8-4,9 mmol/l) and 10-year risk of CVD  $\geq 7,5$  %

The target of antilipemic treatment is the level of LDL-ch should be:

4. under 100 mg/dL (2,59 mmol/L) – in the case of cardiovascular disease or diabetes \*
  5. under 130 mg/dL (3,37 mmol/L) – in the case of 2 or more risk factors (median risk of cardiovascular disease)
  6. under 160 mg/dL (4,14 mmol/L) – in the case of no or in the case of 1 risk factor (low risk of cardiovascular disease)
- \*LDL-c under 70 mg/dL (1,82 mmol/L), if the person has cardiovascular disease or has suffered a heart attack.

According to the Recommendations of ADA from 2016 (9), the therapeutic algorithm follows three steps:

- 1 Therapy with statins according to the above criteria. Achievement of maximally tolerated doses and lower serum level of LDL-ch 30-50% compared to baseline. Step 2 follows if the desired reduction LDL-ch is not achieved, if statin cannot be tolerated or in the case of side effects.
- 2 Ezetimibe is added to the maximally tolerated dose of statin. Step three follows when the desired reduction of LDL-ch is not achieved with this combined therapy.
- 3 Addition of the novel PCSK9 inhibitors, evolocumab and alirocumab, to maximally tolerated doses of statin therapy

The **aim** of this study is to specify the degree of high LDL-ch in the studied cohort and to specify the role of gender and age for forming atherogenic conditions for the Bulgarian population.

## Material and methods

In January-February 2012 the Bulgarian Society of Endocrinology conducted a cross-sectional multicenter study among Bulgarian population. The study included 3,450 subjects – women and men – who were invited with a specially prepared letter. All 2,032 persons who responded (58,8% of the invited) were first acquainted with the character of the tests and signed an Informed Consent form, which was reviewed and discussed and endorsed by the local Ethics Committee in advance. The participants filled in a questionnaire which included: demographic data, their current health status, past conditions, family members with main chronic diseases (hypertonia, diabetes, thyroid conditions, renal diseases), past and present treatments. The 2,032 subjects studied were divided by regions, gender and age according to the population distribution described in the last census of December 2011 of the National Statistical Institute (10) – 27,5% rural population and 72,5% urban population in 5 geographical regions in Bulgaria:

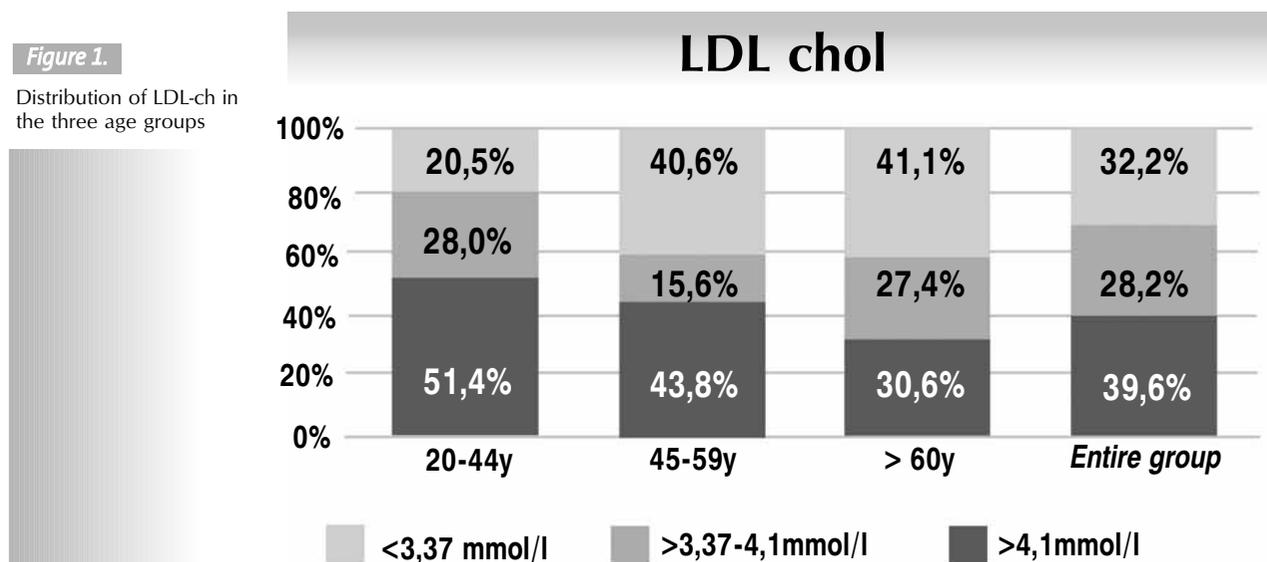
6. Northwestern (*Vidin, Dunavtsi, Montana, Troyan and the adjacent villages*) – 431 subjects, 21,2% of the cohort;

**Table 1.** Comparison of the clinical, hormonal and biochemical parameters in both subgroups of patients (TPO – negative and positive) with subclinical hypothyroidism and TSH 4,01-10,0 mUI / l.

Total cholesterol serum level (mmol/l)	Total number – %	Women number – %	Men number – %	20-44 y number – %	45-59 y number – %	≥ 60 y number – %
<5,2	633 (32,2%)	349 (33,27%)	284 (31%)	398 (44,5%)	120 (22,5%)	115 (21,4%)
5,2-6,0	499 (25,4%)	255 (24,3%)	244 (26,6%)	265 (29,6%)	137 (25,7%)	97 (18%)
6,0-7,0	486 (24,7%)	251 (23,9%)	235 (25,65%)	144 (16,1%)	155 (29%)	187 (34,8%)
7,0-8,0	239 (12,1%)	135 (12,7%)	104 (11,35%)	62 (6,9%)	82 (15,4%)	95 (17,7%)
8,0-9,0	78 (4,0%)	42 (4,7%)	36 (3,9%)	19 (2,2%)	30 (5,6%)	29 (5,4%)
9,0-10,0	24 (1,2%)	14 (1,3%)	10 (1,1%)	5 (0,55%)	8 (1,5%)	11 (2%)
>10,0	7 (0,35%)	3 (0,28%)	4 (0,43%)	1 (0,11%)	2 (0,37%)	4 (0,74%)
<b>Number</b>	1966	1049	917	894	534	538
<b>Total cholesterol ≥8,0</b>	<b>109/1966 (5,54%)</b>	<b>59/1049 (5,45%)</b>	<b>50/917 (5,62%)</b>	<b>25/894 (2,79%)</b>	<b>40/534 (7,49%)</b>	<b>44/538 (8,17%)</b>

**Figure 1.**

Distribution of LDL-ch in the three age groups



7. Northeastern (*Dobrich, Rousse, Byala and the adjacent villages*) – 454 subjects, 22,3% of the cohort;  
 8. Southeastern (*Sliven, Stara Zagora and the adjacent villages*) – 384 subjects, 18,9% of the cohort;  
 9. Southwestern (*Blagoevgrad, Sandanski and the adjacent villages*) – 406 subjects, 20% of the cohort;  
 10. Central Western (*Sofia and the adjacent vil-lages*) – 357 subjects, 17,6% of the cohort.

The present sub-study includes 1,049 women

(53,4%) and 917 men (46,6%), at an average age of 49,30±14,75 years (≥ 20-80 y), distributed in three age groups: young age (≥ 20 44 years) – 894 individuals (45,5%); middle age (45-59 years) – 534 individuals (27,2%); third age (≥ 60-80 y) – 538 individuals (27,3%).

**Laboratory tests**

Blood samples by venipuncture of *a.cubitalis* were taken after a 12-hour overnight fast to determine lipid profile - total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-

cholesterol), triglycerides (TGL). Total cholesterol, HDL-cholesterol and TGL were tested by means of the Enzymatic Colour Test (CHO-POD) with a completely automatic clinical system UniCel®DxC 660i System, Beckman Coulter. The analytical of the lipid and lipoprotein counts meet the recommended criteria of NCEP (The US National Cholesterol Education Program) for analytical accuracy and general fault (5). The generally accepted criteria for dyslipidemia are according to the National Cholesterol Education Programme (NCEP) guidelines (5), which are also endorsed in the series of Recommendations of the International Diabetes Federation in the period 2005-2011 y (11, 12,13):

- Hypercholesterolemia  $\geq 5,2$  mmol/l
- Hypertriglyceridemia (TGL)  $\geq 1,7$  mmol/l
- Low HDL-cholesterol in men  $<1,03$  mmol/l and in women  $<1,3$  mmol/l
- High LDL-cholesterol  $\geq 3,4$  mmol/l

In 66 of all the tested 2,032 persons a serum level of TGL  $\geq 4,5$  mmol/l was found (3,2%). These individuals were excluded from the analysis. For the rest of the 1,966 individuals the level of LDL-ch was calculated by an established formula (14, 15).

Bearing in mind the Standard of ADA of 2016 (9) and the Recommendations of ESC/EAS, 2011 (16) we distributed the studied subjects into three groups according to the level of LDL-ch:

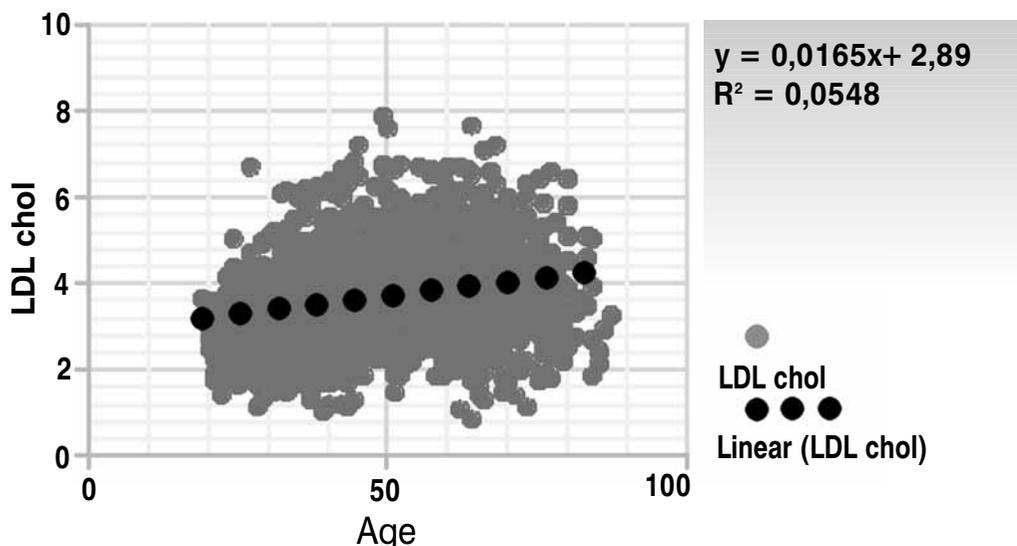
4.  $<3,37$  mmol/l – near optimum level
5.  $>3,37 - <4,1$  mmol/l – high
6.  $>4,1$  mmol/l – very high

## Results and discussion

It turned out that 5,54% of the subjects have serum level of total cholesterol  $\geq 8,0$  mmol/l and fall within the group of persons who should be subjected to screening for exclusion of high and very high level of LDL-ch. There is no difference in frequency between the two genders, but the connection is underscored with the increase of age (from 2,79% in the young group it reaches 7,49% in the middle-aged group and 8,17% in the third age group), Table 1.

**Figure 2.**

The influence of age on the level of LDL-ch generally for the entire group of subjects



Only 40% of all tested have an optimum LDL-ch level, 28% have high level LDL-ch ( $>3,37 <4,1$  mmol/l), and 32% have a very high level of LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l). The frequency of LDL-ch  $>4,1$  mmol/l increases two fold with the advancement of age (20,5% in 20-44 y against 41% in 45-59 y and  $\geq 60$  y). The frequency of LDL-ch  $>3,37 <4,1$  mmol/l drops two fold with the advancement of age (28 % in 20-44 y against 15,6 % in 45-59 y and is resumed in persons  $\geq 60$  y). Only 30% of the persons above  $\geq 60$  y have optimal level of LDL-ch  $<3,37$  mmol/l against 51% of 20-44 y, Fig. 1.

The influence of age on the level of LDL-ch is very strong and it can be seen from the chart below that with the advancement of age for the entire group the level of LDL-ch rises by  $\sim 1,0$  mmol/l, Fig. 2. Following correction for age with its advancement the level of LDL-ch rises until age of 60-65y, after which it slightly declines (Fig. 3).

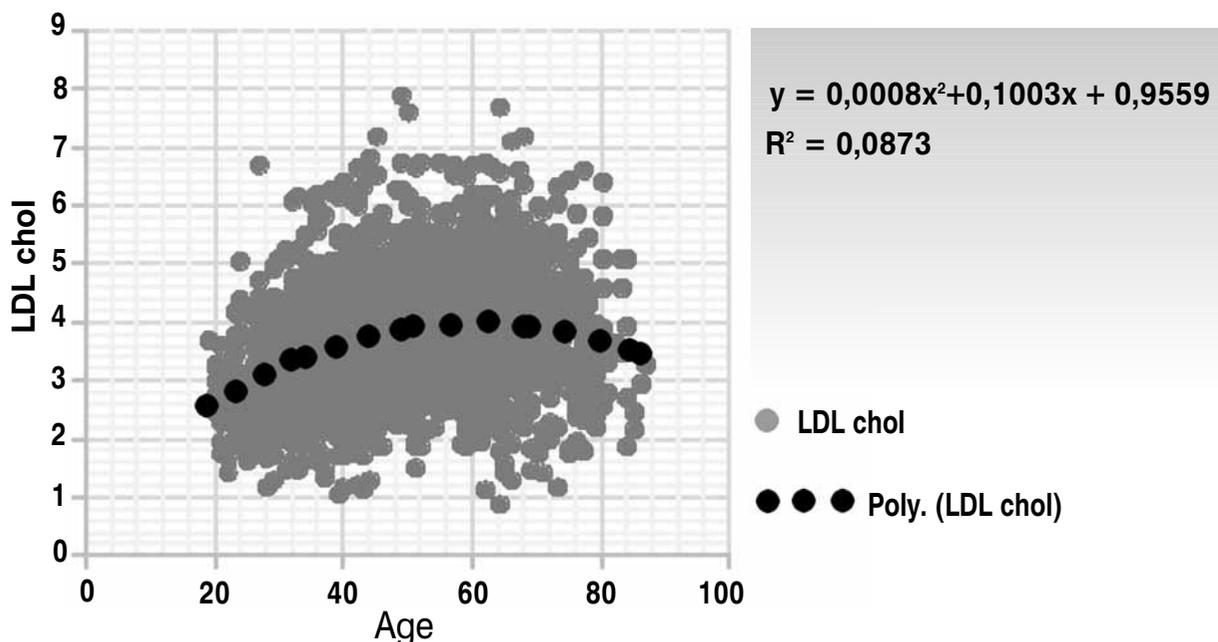
The following figures 4, 5 and 6 present the peculiarities of the role of age for the level of LDL-ch in each of the three age groups. In general group of the young (20-44 y) from 20 to 44 years of age the level of LDL-ch rises by  $\sim 1,0$  mmol/l, Fig. 4. In the general group of the middle-aged (45-59 y) from 45 to 59 years of age the level of LDL-ch does not change, while in the third group after 60y the level of LDL-ch drops.

The following several figures present the influence of gender and age simultaneously the levels of LDL-ch (figures 4,5,6).

## Males

High LDL-ch ( $>3,37 <4,1$  mmol/l) and very high LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) in 61% of the men studied. Only 39% of the men have near optimal level of LDL-ch ( $<3,37$  mmol/l). The age changes in the frequency of LDL-ch are not essential, figure 7. Following correction for age with its advancement the

**Figure 3.** The influence of age on the level of LDL-ch for the entire group of subjects after adjustment for age



**Figure 4.** The influence of age on the level of LDL-ch in the general group of the young (20-44 y)



**Females**

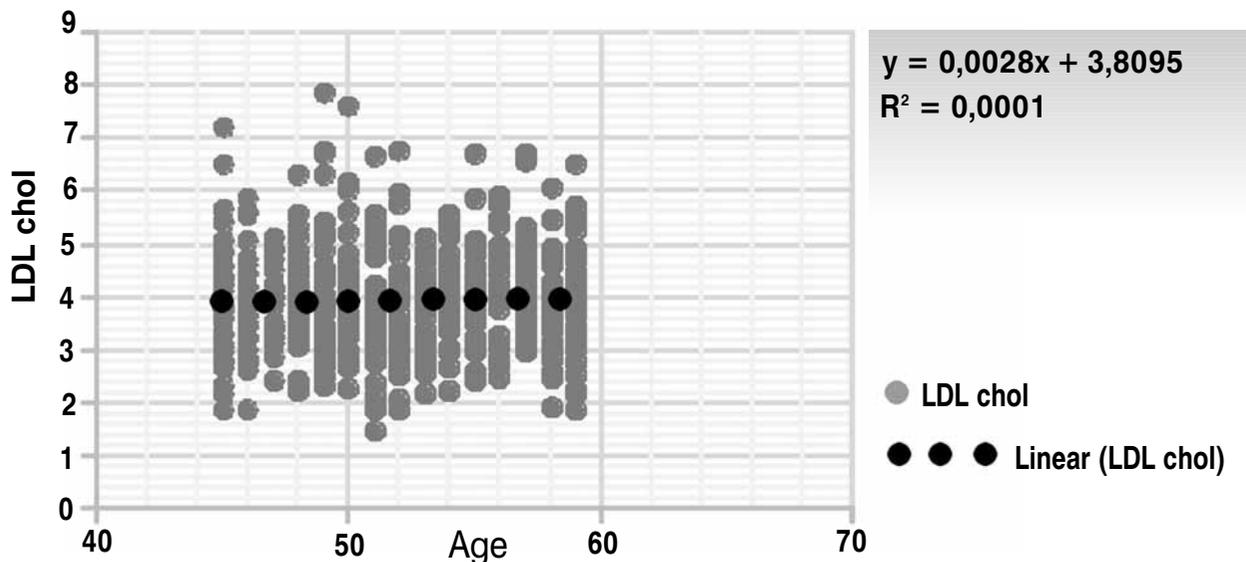
level of LDL-ch rises until age of 60-65y, after which it slightly declines, figure 8.

The peculiarities in the three age groups in men are the following: from 20 to 44 years of age the level of LDL-ch rises by ~1,0 mmol/l; from 45 to 55 years of age the level of LDL-ch remains constant and after 55 years of age it drops (after correction for age); After 60 years of age the level of LDL-ch declines (figures 9,10,11).

Only 53% of women have optimal level of LDL-ch, while 47% have high and very high level. The frequency of very high LDL-ch (>4,1 mmol/l) increases 3,5-fold (13,6% in 20-44 y against 49% in ≥ 60 y), while the frequency of high LDL-ch (>3,37 <4,1 mmol/l) declines twofold with the advancement of age (27,4 % in 20-44 y against 13,9% in ≥ 60 y), figure 12.

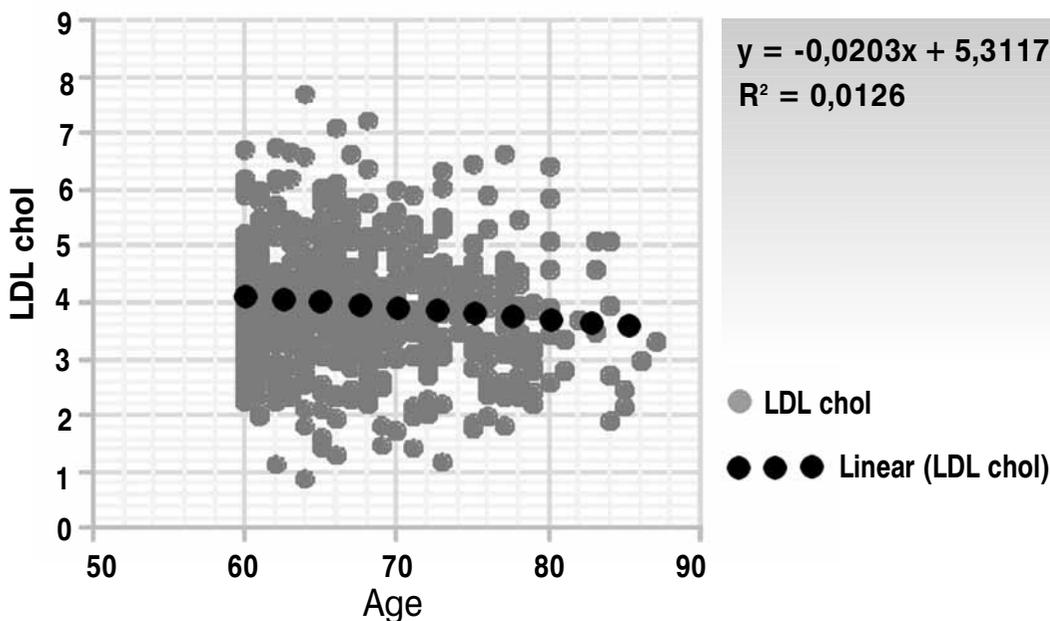
In women with the advancement of age the level of LDL-ch rises until 70-75 years of age, after which it

**Figure 5.** The influence of age on the level of LDL-ch for the entire group of subjects after adjustment for age



**Figure 6..**

The influence of age on the level of LDL-ch in the general group of the third age ( $\geq 60y$ )



declines slightly (after correction for age), figure 13. From 20 to 44 years of age the level of LDL-ch rises, which also persists in the next age category 45-59 y (albeit insignificant). Only after 70/75 years of age the level of LDL-ch declines (after correction for age), figures 14, 15 and 16.

The comparative analysis (figures 7 and 12) between the two sexes generally and by age groups shows that high LDL-ch ( $>3,37$   $4,1$  mmol/l) is observed times less in women compared to men, both in the general group and in the third age group (14% against 29,4%, respectively 13,9% against 30,1%).

A very high level of LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) at young age in women is twice as rare in comparison to

men (13,6% against 27,7%). In the third age, however, the situation changes and women have more frequent very high level of LDL-ch in comparison with men (49 % against 32%). The studies of Benn M. et al, 2012 (17) and Neil HA. et al, 2000 (18) establish that there is identical frequency of high level of LDL-ch in men and women under 60y, but after 60y the women are more. Probably most of the men with dyslipidemia die at an earlier age, the quoted authors find. It should also be born in mind that there are additional risk factors which are usually more frequent in men – hypertonia, smoking, diabetes, high level of TGL/ respectively low HDL-ch (4).

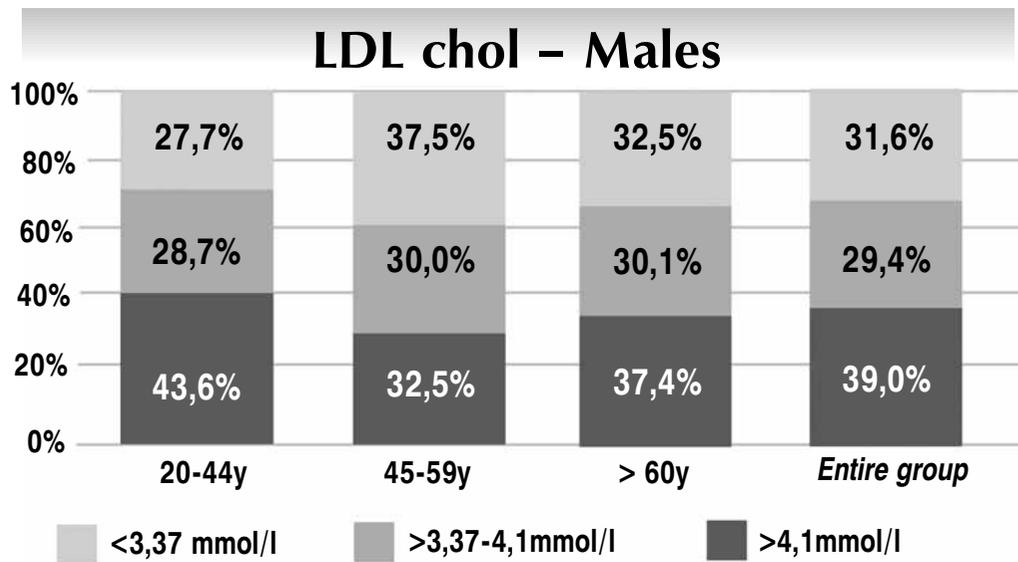


Figure 7..

Distribution of LDL-ch in the three age groups of men

Figure 8.

The influence of age on the level of LDL-ch generally for the entire group of men after adjustment for age

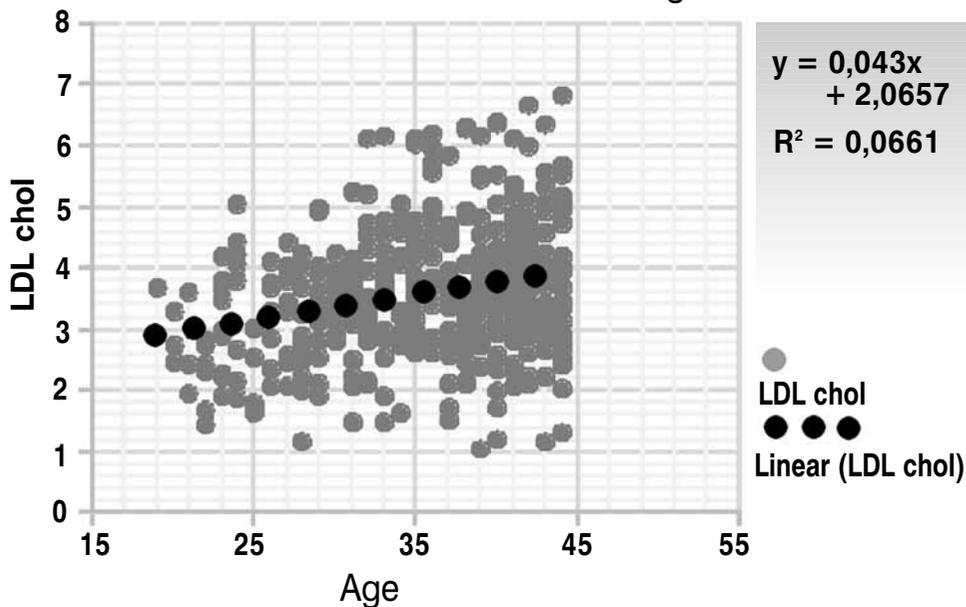
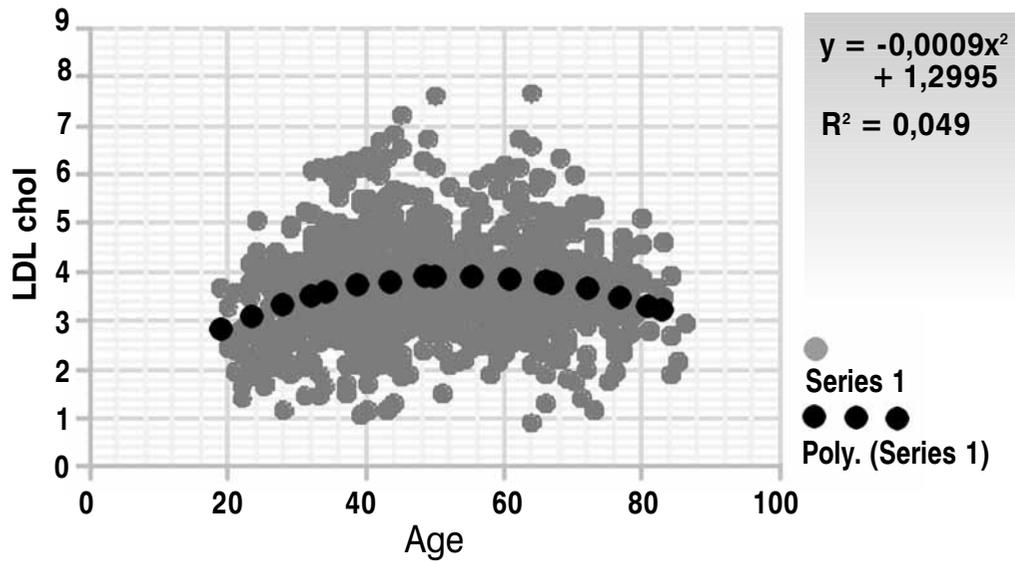
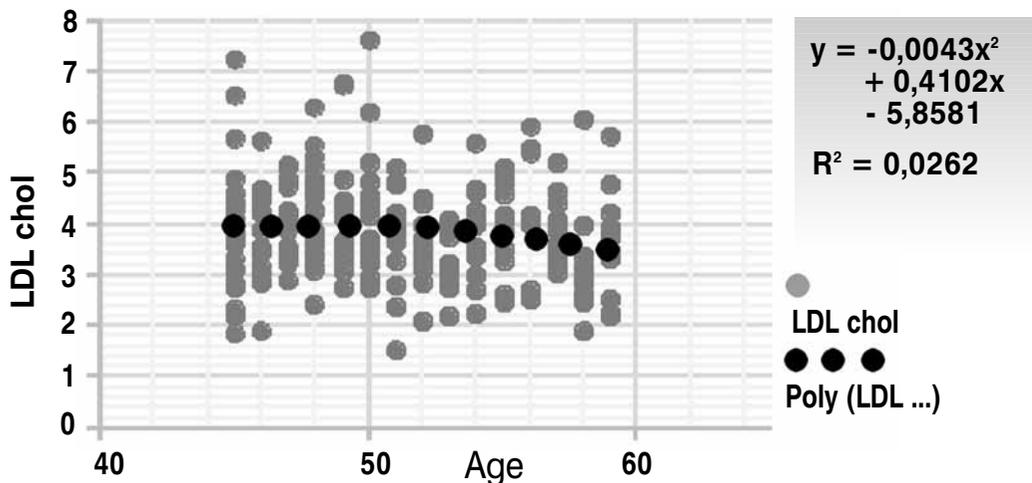


Figure 9.

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of young men (20-44 y)

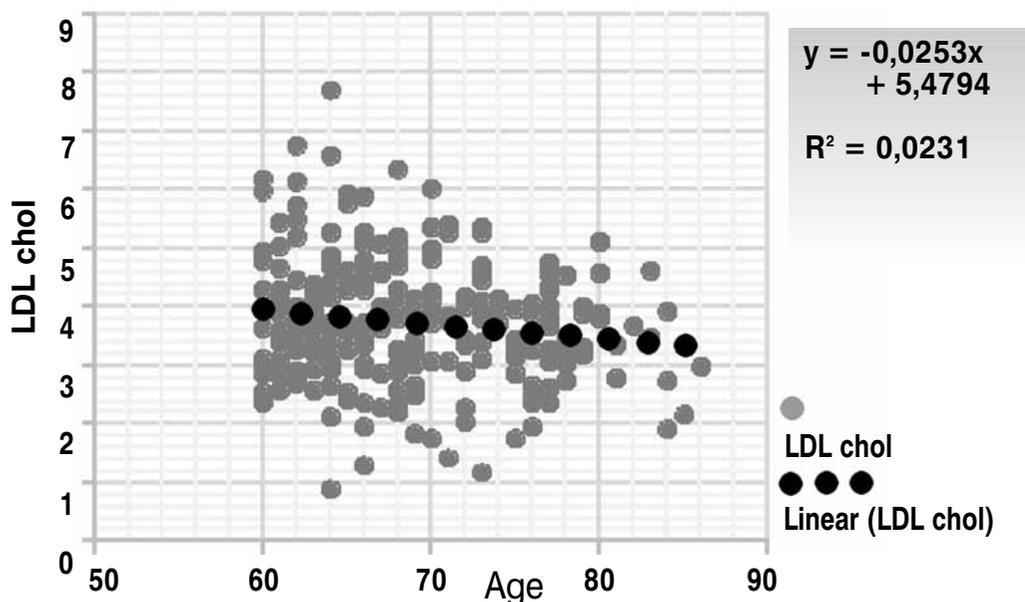
**Figure 10.**

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of middle-aged men (45-59 y) after adjustment for age

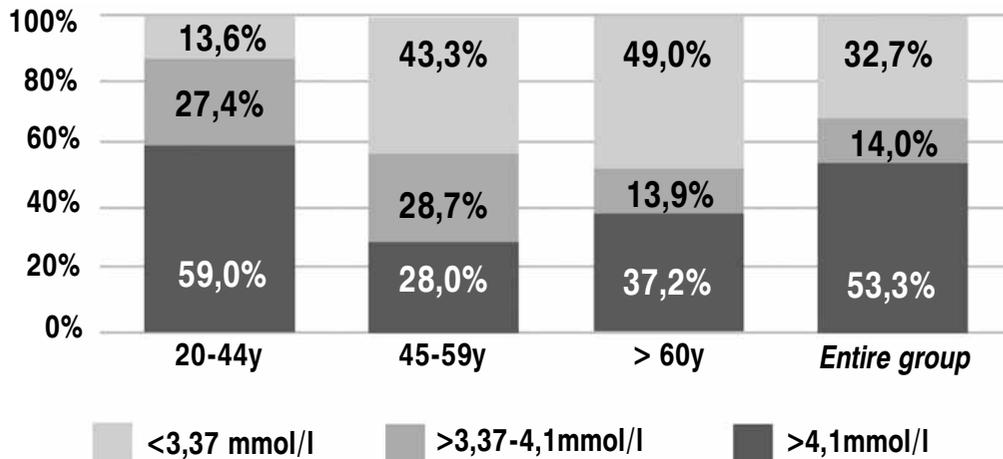


**Figure 11.**

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of men in the third age ( $\geq 60$  y)



### LDL chol – Females



**Figure 12.**

Distribution of LDL-ch in the three age groups of women

Figure 13.

The influence of age on the level of LDL-ch generally for the entire group of women after adjustment for age

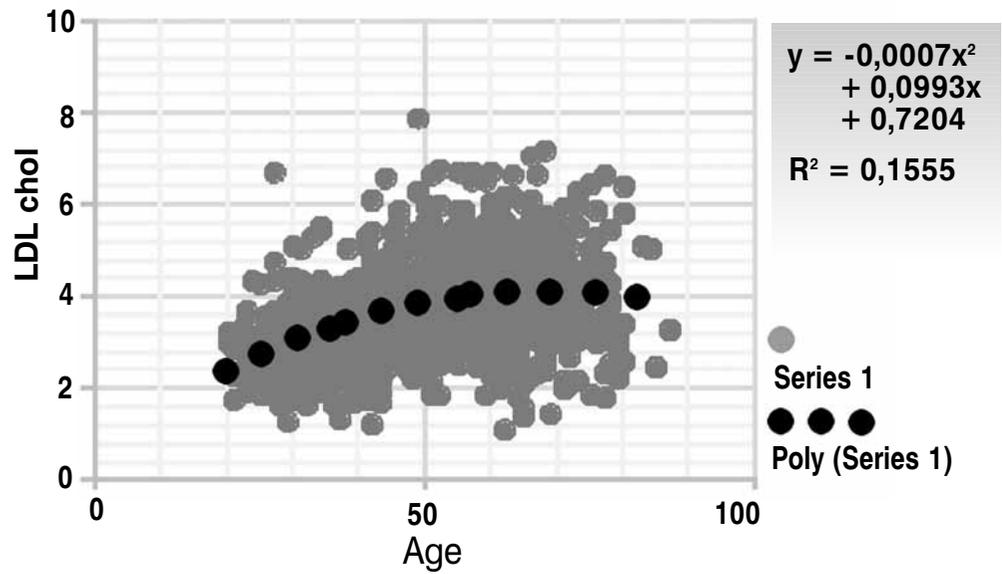


Figure 14.

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of young women (20-44 y)

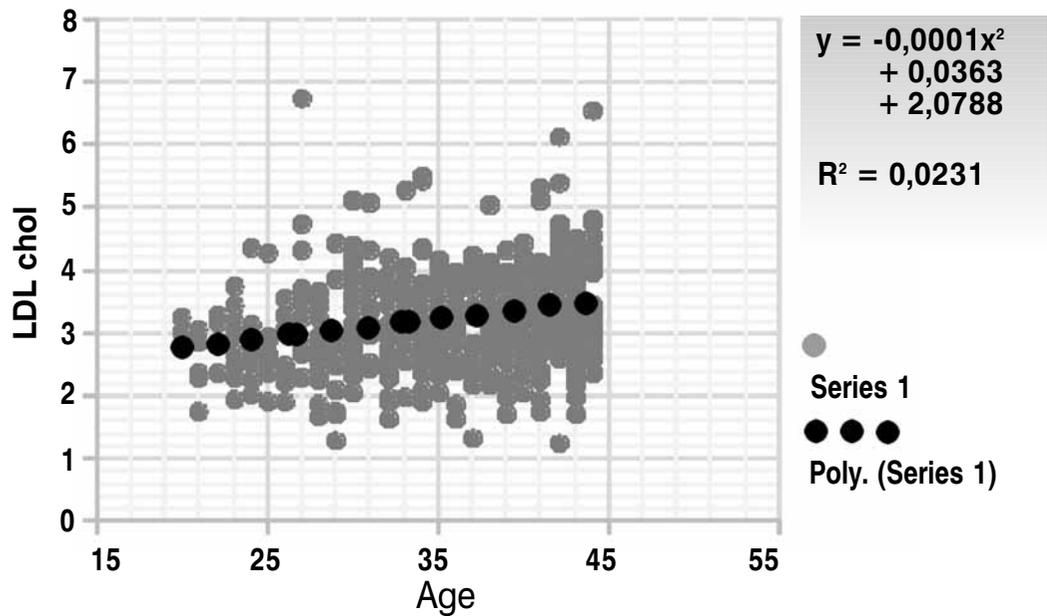
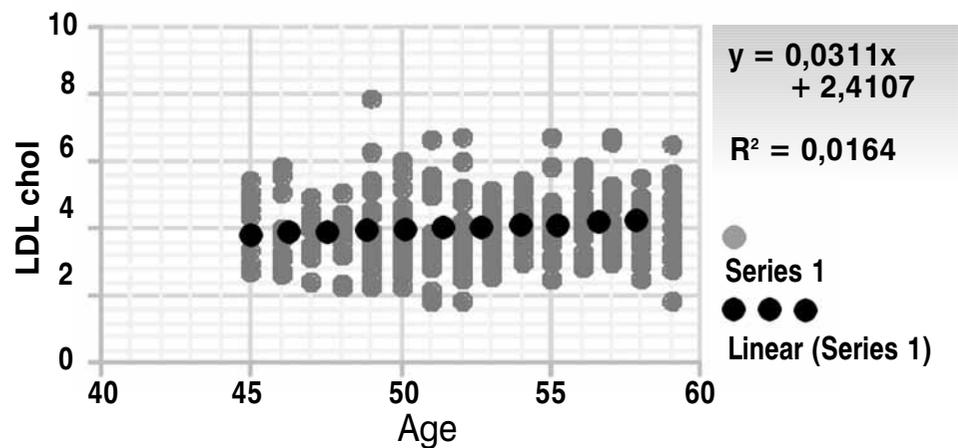


Figure 15.

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of middle-aged women (45-59 y)



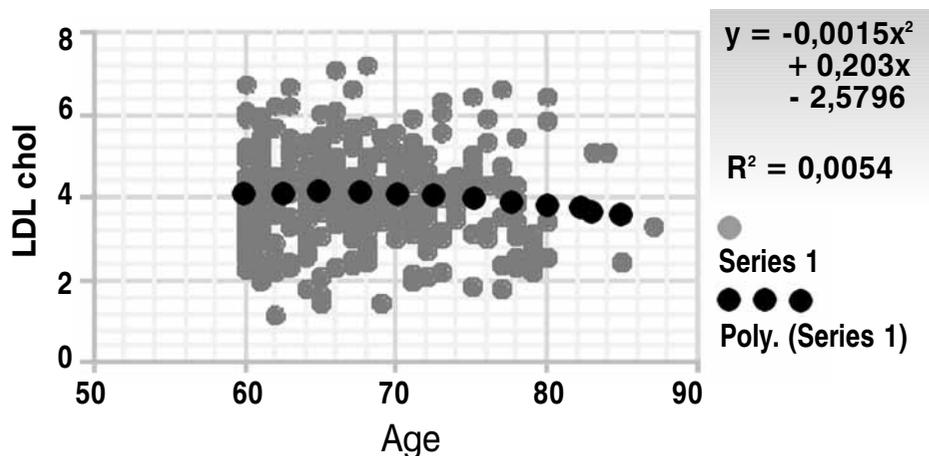


Figure 16.

The influence of age on the level of LDL-ch in the group of women in the third age ( $\geq 60$  y)

**Conclusion:** This study draws the attention of the medical community (endocrinologists, cardiologists, angiologists, GPs) to young men as merely  $\frac{1}{3}$  of them have a very high level of LDL-ch ( $>4,1$  mmol/l) and this is probably related to undiagnosed familial hypercholesterolemia. In the third age this grave condition with the lipids is found more frequently, but much more in women – half

of them against only  $\frac{1}{3}$  of the men. This forms a certain guideline for purposeful screening and following adequate antilipemic treatment aimed at high LDL-ch to prevent coronary heart disease, as Perk J. De BG. et al. 2012 (19) claims, while the same authors think that hypertension is the leading cause for stroke and smoking – for atherosclerosis in the lower limbs.

## References

1. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 407-420.
2. Usifo E, Leigh SE, Whittall RA, Lench N, Taylor A, Yeats C, et al. Low-density lipoprotein receptor gene familial hypercholesterolemia variant database: update and pathological assessment. *Ann Hum Genet* 2012;76:387-401.
3. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Peto R, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010;376:1670-1681.
4. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. *Eur Heart J* 2013; 34: 3478-3490.
5. National Institutes of Health: Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Executive Summary. Bethesda, MD, National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute, 2001 (NIH publ. no.01-3670).
6. National Institutes of Health. High Blood Cholesterol: What You Need To Know. 2005.
7. Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, Merz CNB, Lloyd-Jones DM, Blum CB, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013. DOI: 10.1161/01.cir.0000.437738.63853.7a.
8. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, Birtcher KK, Daly DD, DePalma SM, et al. Expert Consensus Decision Pathway | July 05, 2016 by American College of Cardiology/National Lipid Association. Expert Consensus Decision Pathway on the Role of Non-Statins Therapies for LDL-Cholesterol Lowering in the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk: A Report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus. *J Am Coll Cardiol* 2016;68(1):92-125. doi:10.1016/j.jacc.2016.03.519.
9. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes - 2016. *Diabetes Care Volume 39, Supplement 1*, January 2016:S1-S109.
10. National Statistical Institute. 17th National Census in Bulgaria, 1-28 February 2011 (In Bulgarian) (Национален статистически институт. 17то Национално преброяване на населението в България, 1-28 февруари 2011) (<http://censusresults.nsi.bg/Census/Reports/2/2/R1.aspx>).
11. International Diabetes Federation: The IDF Consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, June 2005.
12. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 4th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2009.
13. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 5th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2011.
14. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of Low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
15. Bachorick PS, Ross JW. For the Nat CholEducProg Working Group on Lipoprotein Measurements - Recommendations for measurement of LDL-Chol. *Clin Chem* 1995;41: 1414-1420.
16. Reiner Z, Catapano AL, De BG, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S. et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011;32:1769-1818.
17. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the Danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3956-3964.
18. Neil HA, Hammond T, Huxley R, Matthews DR, Humphries SE. Extent of underdiagnosis of familial hypercholesterolemia in routine practice: prospective registry study. *BMJ* 2000; 321:148.
19. Perk J, De BG, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, Albus C, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis* 2012;223:1-68.

## Хипогонадизъм при мъже с остър коронарен синдром – клинични корелати и прогностично значение

Семерджиева, Ния Е.<sup>1</sup>, Денчев, Стефан В.<sup>2</sup>, Цакова, Аделина Д.<sup>3</sup>, Христова, Жулиета З.<sup>3</sup>, Абрашев, Радослав И.<sup>4</sup>, Лозанов, Валентин С.<sup>5</sup>, Господинова, Мариана В.<sup>2</sup>, Димитров, Симеон И.<sup>6</sup>, Кундурджиев, Тодор Г.<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Клиника по кардиология, УБ „Александровска“, Медицински университет, София

<sup>2</sup> Клиника по кардиология, Медицински институт на МВР, София

<sup>3</sup> Централна клинична лаборатория, УБ „Александровска“, Медицински университет, София

<sup>4</sup> Институт по микробиология, Българска академия на науките, София

<sup>5</sup> Катедра по биохимия, Медицински университет, София

<sup>6</sup> Отделение по инвазивна кардиология, МБАЛ „Христо Ботев“, Враца

<sup>7</sup> Факултет по обществено здраве, Медицински университет, София

### Адрес за кореспонденция:

Д-р Ния Емилова Семерджиева

Клиника по кардиология, УМБАЛ „Александровска“

ул. „Г. Софийски“ 1, 1431, София, България

Телефон: 09889 62 418

e-mail: niaemilova@yahoo.com

### Резюме

**Цел:** Цел на проучването е изследване на клиничните корелати и прогностичното значение на хипогонадизма при мъже с остър коронарен синдром (ОКС).

**Материал и методи:** Включени са 77 мъже с ОКС, лекувани в Кардиологична клиника на УМБАЛ „Александровска“ в периода 2011-2013 г. При пациентите са определени плазмените нива на половите хормони (общ тестостерон – Т, общ 17 $\beta$ -естрадиол – Е2 и дехидроепиандростерон-сулфат – DHEAS), на оксидативни (активност на екстрацелуларната супероксиддисмутаза – есSOD и нива на оксидирани липопротеини с ниска плътност – oxLDL) и възпалителни маркери (левкоцитен брой – WBC и високосензитивен С-реактивен протеин – hsCRP). Използвани са ензимни, имунологични тестове (електрохемилюминесцентен - ECLIA и ензимосвързан имуноен метод – ELISA) и усилена с частици имунонефелометрия. Пациентите са проследени за една година, като са регистрирани настъпите неблагоприятни събития.

**Резултати:** Отношението на нивата на естрадиола към тези на тестостерона (Е2/Т) при възрастни мъже с остър коронарен синдром корелира значимо с интензивността на острия възпалителен отговор ( $r = 0,324$ ,  $p = 0,008$  за hsCRP;  $r = 0,334$ ,  $p = 0,007$  за левкоцити).

**Заклучение:** В острата фаза на коронарен синдром при възрастни мъже е налице връзка между интензивността на възпалителния отговор и периферната конверсия на тестостерона в естрадиол. Хипогонадизмът не се асоциира с патологичните механизми на остро миокардно увреждане и не е значим прогностичен показател при едногодишно проследяване след коронарен инцидент.

**Ключови думи:** хипогонадизъм, остър коронарен синдром, отношение естрадиол-тестостерон

## Въведение

Хипогонадизмът е клиничен синдром, който включва симптоми и биохимични данни за дефицит на тестостерон и е свързан с патогенезата на коронарната болест (1-7). Един от най-често използваните параметри за диагностициране на хипогонадизъм при мъже са ендогенните нива на общия тестостерон (1-3,7). В клиничната практика определянето на гонадотропините в серума не спомага за откриване на хипогонадизъм при стареещи мъже (2). В тази група не се долавя добро съответствие между симптомите на хипогонадизъм и серумните нива на тестостерон (2). Няма общоприета референтна долна граница за ендогенните нива на тестостерон при мъже, при която се поставя диагноза (5). Приема се, че при нива около 12 nmol/l не се налага заместително лечение. Последното е индицирано при плазмени концентрации по-ниски от 8 nmol/l (1, 3, 7). При възрастни мъже (76±3,2 г.) cut-off стойностите, дефиниращи състоянието са по-ниски (6,4 nmol/l) (8).

**Цел** на проучването е изследването на клиничните корелати и прогностичното значение на хипогонадизма при мъже с остър коронарен синдром (ОКС).

## Материал и методи

Изследвани са 77 пациента, хоспитализирани в Кардиологична клиника на УМБАЛ „Александровска“ в периода 2011-2013 г. При всички са определени плазмените нива на половите хормони - общ тестостерон (Т), общ естрадиол (Е2) и дехидроепиандростерон-сулфат (DHEA-S). При индексната хоспитализация са измерени концентрациите в плазмата на оксидативни маркери - активност на екстрацелуларна супероксиддисмутаза (ecSOD) и оксидирани липопротеини с ниска плътност (oxLDL) при съответно 35 (45,5%) и 55 (71,4%) пациента. Определени са също и нивата на възпалителните медиатори - левкоцитен брой (WBC) и високосензитивен С-реактивен протеин (hsCRP) при 69 (89,6%) и 75 (97,4%) пациенти от групата. При 75 (97,4%) е проведена селективна коронарна артериография (СКАГ) и е определена тежестта на коронарната атеросклероза чрез изчисляване на сбора по SYNTAX.

Тринадесет мъже на възраст сходна с тази на пациентите, с ниска клинична вероятност или изключена чрез СКАГ коронарна болест, служат като контролна група.

Плазмените нива на половите хормони, hsCRP и количествената оценка на левкоцитите

са проведени в Централна клинична лаборатория на УМБАЛ „Александровска“. Нивата на половите хормони са изследвани с помощта на електрохемилюминесцентен имуноен тест (ECLIA), с реактиви на фирмата Roche Diagnostics (Mannheim, Germany) и анализатор Elecsys 2010, по установена методика (9). Методите на изследване на 17β-естрадиола и тестостерона са стандартизирани чрез изотопно-газова хроматография/мас спектрофотометрия (ID-GC/MS). Методът за изследване на DHEA-S е стандартизиран спрямо специално произведен разтвор на човешка плазма с точно определена понижена концентрация на хормона. Калибрацията на използваните реактиви (Estradiol II 03000079190, Testosterone II 05200067190 и Dehydroepiandrosterone-sulphate 0300087122) в Централна клинична лаборатория, УМБАЛ „Александровска“ е проведена със съответните специално произведени калибрационни продукти на Roche Diagnostics - PeriControl Universal. Минималните плазмени концентрации на тестостерон, естрадиол и DHEA-S, които могат да се определят с използваните тестове (граница на откриване) са: 0,087 nmol/l за Т; 18,4 pmol/l за Е2 и 0,003 μmol/l за DHEA-S. Коефициентът на вариабилност (CV) при екстремно ниски и високи концентрации на хормоните съответно е: 8,4% и 2,8% за Т; 9,9% и 5,8% за Е2; 3,6% и 2,4% за DHEA-S. Резултатите от изследването на хормоните с посочените тестове могат да се повлияят от лечение с високи дози биотин, използването на нандролон, скорошно прилагане на ваксини, съдържащи заешки серум. Тестовете за половите хормони не интерферират с високи серумни нива на билирубин (Вl до 222 μmol/l), биотин (до 123 nmol/l), при хемолиза (Hb до 135 nmol/l), и изразена хиперлипидемия. Няма взаимодействие с високи нива на ревматоиден фактор (до 600 UI).

Определянето на нивата на hsCRP е проведено чрез усилена с частици имунонефелометия, като е използван реактив CardioPhase hsCRP (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) за анализатор COBAS INTEGRA 700 (10).

Левкоцитозата е оценена количествено по стандартен метод - чрез автоматично изброяване на левкоцитите в периферна кръв.

При оценката на плазмените концентрации на oxLDL е използван ензимно свързан имуноен метод (ELISA) и реактив OxiSelect Human Oxidized LDL ELISA (MDA-LDL) (Cell Biolabs, San Diego, USA) (11). Активността на ecSOD в плазма е определена с ензимен метод с ксантин-оксидаза (OxiSelect Superoxide Dismutase Activity Assay, Cell Biolabs, San Diego, USA) (12). Изследванията са направени съ-

ответно в Катедра по биохимия, Медицински университет, София и Институт по микробиология, Българска академия на науките, София. Прецизността на тестовете е определена чрез готови калибрационни продукти на съответните фирми производители и трикратно провеждане на изследването за всяка проба. Редуциращи агенти като аскорбинова киселина, редуциран глутатион могат да интерферират с определянето на активността на есSOD. Плазмените концентрации на oxLDL не са свързани с нивата на билирубин и приема на високо възлехигратна храна чрез пряка интерференция с типа на използвания тест.

СКАГ е проведена в съответствие с установен в клиниката протокол.

Пациентите са проследени за период от една година след индексната хоспитализация, като са регистрирани настъпилите неблагоприятни събития (исхемично обусловени рехоспитализации, повторен ОКС, реваскуларизации, транзиторни исхемични атаки, мозъчни инсулти и смърт, независимо от причината).

Критерии за изключване са: известни заболявания на хипоталамус, хипофиза и надбъбречни жлези, които биха могли да променят нивата на половите хормони; провеждането на хормонална или имуномодулираща терапия; травми; големи оперативни интервенции; остри и хронични възпалителни и инфекциозни заболявания в последните седмици преди и в хода на провеждане на проучването; подозирано или диагностицирано неопластично заболяване.

Всички участници са подписали информирано съгласие, съобразено с изискванията на етичната комисия на болницата.

При статистическия анализ са използвани методи за проверка на вида на разпределението на променливите (тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк), както и методи за оценка на зависимости - параметрични (t тест на Стюдънт, параметричен корелационен и регресионен анализ) и непараметрични (Хи-квадрат метод, точни тестове на Фишър, метод на Ман-Уитни, непараметричен корелационен анализ). За статистически значими се приемат зависимости с Р-стойност по-голяма от 0,05. Анализът е проведен с версия 19 на програмата SPSS (Chicago, IL, USA) за Windows.

## **Резултати**

Честотата на хипогонадизъм при изследваните мъже с остър коронарен синдром е 14,5%. При пациентите се установяват статистически значимо по-ниски нива на общ Т, по-висока честота на хипертонична болест и дислипидемия, по-високи нива на hsCRP и плазмена активност на

есSOD в сравнение с контролната група (Табл. 1).

Наличието на хипогонадизъм не е свързано с възрастта на изява на острия коронарен синдром, атеросклеротичните рискови фактори, наличието на обструктивна коронарна болест и ангиографската ѝ тежест, както и с интензивността на оксидативния стрес и възпалението в острия фаза. Абнормно ниските нива на общ Т нямат прогностично значение в изследваната група при едногодишно проследяване (Табл. 2).

Отношението на естрадиола към тестостерона (Е/Т), което е маркер за степента на периферна конверсия на тестостерон при възрастни мъже, корелира статистически значимо с интензивността на острия възпалителен отговор ( $r=0,324$ ,  $p=0,008$  за hsCRP;  $r=0,334$ ,  $p=0,007$  за левкоцити). Установява се само тенденция за връзка между този показател и разпространението на затлъстяването ( $p=0,094$ ) и метаболитния синдром ( $p=0,074$ ) при изследваните мъже с коронарна болест (Табл. 3).

## **Обсъждане**

Получените от нас данни показват, че хипогонадизмът при мъжкия пол не се асоциира с риска за развитие на коронарна атеросклероза, нито с механизмите на остро миокардно увреждане и не оказва влияние върху едногодишната прогноза. При възрастни мъже с остър коронарен синдром, е налице връзка между интензивността на възпалителния отговор и периферната конверсия на тестостерона в естрадиол.

## **Хипогонадизъм и рискови фактори за атеросклероза**

Хипогонадизмът при мъжкия пол е свързан с рискови фактори и патогенетични механизми за атеросклероза (3, 5, 13-15). В предходни изследвания се описва позитивна връзка между степента на понижаване на андрогенните нива при хипогонадизъм и броя на компонентите на МС. Коригирането на тежестта на метаболитните нарушения с тестостерон-заместителна терапия намалява рецидивите на исхемия при исхемична болест на сърцето (3). Хиперинсулинемията при екстремно затлъстяване и нарушения на глюкозната обмяна и образуването на голямо количество адипокини, реактивни кислородни съединения и др. от мастната тъкан при затлъстяване имат пряко инхибиращо действие върху тескуларната стероидогенеза, потискат синтеза на свързващия половите хормони глобулин и повлияват гонадната ос (продукцията на лютеинизиращ хормон) (3, 7, 13-15). Разпространението на хипогонадизъм в изследваната от нас група мъже с остър коронарен синдром е 14,5%,

Таблица 1. Характеристики на пациентите и контролните лица

Показател	Мъже с ОКС, n-75	Контролна група, n-13	Различия
Хипогонадизъм, n (%)	11 (14,5%)	0 (0%)	-
Възраст, години	63,7±13,9	53,5±16,0	p=0,068
E2, pmol/l	150,64±68,22	130,77±68,24	p=0,523
T, pmol/l	13,6±5,22	18,97±9,08	p=0,024
DHEA-S, μmol/l	4,14±2,47	4,91±2,67	p=0,368
Хипертонична болест, n (%)	65 (87,8%)	5 (38,5%)	p=0,001
Захарен диабет, n (%)	26 (35,1%)	0 (0%)	-
Дислипидемия, n (%)	30 (41,1%)	3 (23,1%)	p=0,004
Затлъстяване, n (%)	34 (45,9%)	0 (0%)	-
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28,4±4,2	-	-
Метаболитен синдром, n (%)	29 (39,2%)	0 (0%)	-
Три РФ за атеросклероза	23 (29,9%)	0 (0%)	-
hsCRP, mg/dl	34,2±48,4	1,86±1,62	p<0,0001
WBC, G/L	9,9±3,4	8,7±1,6	-
oxLDL, mg/dl	9,97±6,60	6,53±2,62	p=0,108
ecSOD, U/l	0,75±1,10	1,19±0,91	p=0,004
STEMI	40 (51,9%)	-	-
Обструктивна КБ, n (%)	68 (90,7%)	-	-
SYNTAX сбор	14,5±10,1	-	-
Ишемични усложнения, n (%)	48 (63,2%)	-	-
Реваскуларизации, n (%)	22 (28,9%)	-	-

Легенда: BMI - индекс на телесната маса; РФ - рискови фактори; STEMI - остър миокарден инфаркт със ST елевация; КБ - коронарна болест

при използване на плазмени нива на общ T<8 pmol/l за дефиниране на състоянието. Тази честота съответства на установената в големи проучвания (13). Липсата на статистически значима зависимост между честотата на хипогонадизъм и традиционни рискови фактори за атеросклероза, както и с тежестта на рисковия товар (три рискови фактора за атеросклероза) в нашето проучване е най-вероятно резултат от изследването на малък брой лица, релативно ниската честота на метаболически синдром (39,2%) и затлъстяване (45,9%), както и на липсата на екстремно затлъстяване (BMI – 28,4±4,2 kg/m<sup>2</sup>) сред нашите пациенти.

#### Хипогонадизъм и възпаление

В проучванията при мъже с хипогонадизъм се наблюдава хронично нискостепенно повишена възпалителна активност (5, 17). Тестостеронът осъществява негативна регулация върху обра-

зуването на хемокини и други възпалителни медиатори и този ефект е независим от възрастта и индекса на телесната маса (18). При мъже в острата фаза на коронарен синдром е описана корелация между плазмените нива на общ T и левкоцитния брой, което индиректно потвърждава имunosупресивния ефект на този андроген (4, 6). Този биологичен ефект на T вероятно е слаб и свързан с действието на допълнителни фактори, тъй като остава статистически неизявен в малки групи, като изследваната от нас.

#### Хипогонадизъм и коронарна болест

Коронарната болест и острите коронарни синдроми днес се възприемат като едно от усложненията на хипогонадизма при мъже (19-22). Ниските андрогенни нива повлияват възпалението, а с това и атеросклеротичната плакова нестабилност (18, 19). Релативното нарастване на естрогенните нива при мъже, в резултат

Таблица 2. Хипогонадизъм - клинични корелати и връзка с едногодишната честота на усложнения при ОКС

Показател/ група	Без хипогонадизъм	С хипогонадизъм	Различия
Общ тестостерон, nmol/l	15,10±4,63	5,47±2,64	p=0,633
Възраст, години	63,7±12,9	58,7±14,6	p=0,250
Захарен диабет, n (%)	22 (35,5%)	4 (36,4%)	p=0,955
Затлъстяване, n (%)	29 (46,8%)	5 (45,5%)	p=0,936
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28,8±4,0	27,0±4,6	p=0,210
Метаболитен синдром, n (%)	22 (35,4%)	7 (63,6%)	p=0,079
Три РФ за атеросклероза	20 (32,3%)	2 (18,2%)	p=0,346
DHEAS, μmol/l	3,99±2,28	5,31±3,47	p=0,249
hsCRP, mg/dl	32,75±48,85	42,62±58,33	p=0,536
WBC, G/L	9,7±3,2	10,8±4,1	p=0,450
oxLDL, mg/dl	9,47±6,11	12,57±9,81	p=0,280
ecSOD, U/l	0,78±1,14	0,61±0,92	p=0,615
STEMI	36 (55,4%)	4 (36,4%)	p=0,332
Обструктивна КБ, n (%)	58 (92,1%)	9 (81,8%)	p=0,284
SYNTAX сбор	15,1±10,4	11,8±8,2	p=0,332
Реваскуларизации, n (%)	19 (29,7%)	2 (18,2%)	p=0,432
Ишемични усложнения, n (%)	41 (64,1%)	6 (54,5%)	p=0,737

Легенда: BMI – индекс на телесната маса; РФ – рискови фактори; STEMI – остър миокарден инфаркт със ST елевация; КБ – коронарна болест

Показател	E2/T
Възраст	r = - 0,075, p = 0,545
Захарен диабет	p = 0,144
Затлъстяване	p = 0,094
BMI	r = - 0,122, p= 0,331
Метаболитен синдром	p = 0,072
Три РФ за атеросклероза	p = 0,897
hsCRP	r = 0,324, p = 0,008
WBC	r = 0,334, p = 0,007
oxLDL	r = 0,052, p = 0,720
ecSOD	r = - 0,163, p = 0,365
STEMI	p = 0,437
Обструктивна КБ	p = 0,210
SYNTAX сбор	r = 0,214, p = 0,082
Реваскуларизации	p = 0,149
Ишемични усложнения	p = 0,959

Легенда: BMI – индекс на телесната маса; РФ – рискови фактори; STEMI – остър миокарден инфаркт със ST елевация; КБ – коронарна болест

Таблица 3.

E2/T връзка с клинични показатели и едногодишната честота на неблагоприятни събития

на повишена конверсия на тестостерон в естрадиол при състояния с хиперинсулинемия е свързано с промени в еритроцитите и хематокрита, които предразполагат към системни тромбози (24, 25). Ние не успяваме да потвърдим, установената в предходни проучвания положителна специфична зависимост между хипотестостеронемията и тежестта на коронарните атеросклеротични промени (4). Изследваната от нас група е малка, за да се наблюдава статистически сигнификантна зависимост. В допълнение, някои от наличните данни сочат, че рискът от остър миокарден инфаркт на фона на отклонения в нивата на ендогенните полови хормони при мъжкия пол се модулира от възрастта. Връзката с ниските нива на андрогените е налице преди 40-годишна възраст (22), т.е. по-ранна от средната в изследваната група.

---

Не откриваме връзка и с честотата на усложнения при едногодишно проследяване след ОКС. Дефицитът в продукцията на половите стероиди е по-слаб предиктор за усложнения при пациенти с коронарна атеросклероза от други прогностични показатели (26). Ние сме дефинирали неблагоприятните събития, като комбиниран краен показател от коронарни и мозъчно-съдови инциденти. Налице са данни, които поставят под съмнение ролята на ендогенните нива на Т за развитието на коронарни събития - остър миокарден инфаркт, въпреки определящото им значение за изявата на мозъчен инсулт (23).

#### **Отношение E2/T при пациенти с остър коронарен синдром**

Голям брой от неблагоприятните ефекти на хормоналния дисбаланс при мъже са зависими не от абсолютните плазмени концентрации на Т, а от релативното повишение на естрадиола спрямо тестостерона (16, 19). Проведеното проучване, както и преходен наш анализ на изследваната група, демонстрират, че отношението E2/T и ендогенните концентрации на естрадиол при мъже с остър коронарен синдром са значимо свързани с максималните нива на възпалителните маркери. Възпалението има независимо полово специфично неблагоприятно значение за клиничния изход при мъже с коронарна атеросклероза (4, 16).

Основен недостатък на проведеното от нас проучване е еднократното изследване на половите хормони – единствено в острата фаза на коронарния инцидент. Не можем да изключим влияние на значима промяна в ендогенните нива на тестостерон във фазата на остра исхемия върху получените резултати.

#### **Заключение**

При възрастни мъже с остър коронарен синдром е налице връзка между интензивността на възпалителния отговор и периферната конверсия на тестостерона в естрадиол. Хипогонадизмът при мъжкия пол не се асоциира с патологичните механизми на остро миокардно увреждане и не е значим прогностичен показател при едногодишно проследяване след коронарен инцидент.

#### **Благодарност**

Настоящото изследване е финансирано от Медицински Университет – София, във връзка с одобрен научно-изследователски проект № 6-Д/2013 г. (Договор № 5-Д/2013 г.).

#### **Конфликт на интереси**

Не е деклариран конфликт на интереси

## Clinical Correlates and Prognostic Significance of Male Hypogonadism in Acute Coronary Syndrome

Semerdzhieva, Nia E.<sup>1</sup>, Denchev, Stefan V.<sup>2</sup>, Tsakova, Adelina D.<sup>3</sup>, Hristova, Julieta Z.<sup>3</sup>, Abrashev, Radoslav I.<sup>4</sup>, Lozanov, Valentin S.<sup>5</sup>, Gospodinova, Mariana V.<sup>2</sup>, Dimitrov, Simeon I.<sup>6</sup>, Kundurdjiev, Todor G.<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Cradiology, University Hospital „Alexandrovska“, Medical University, Sofia

<sup>2</sup> Clinic of Cardiology, Medical Insitute of the Ministry of Internal Affairs, Sofia

<sup>3</sup> Central Clinical Laboratory, University Hospital „Alexandrovska“, Sofia

<sup>4</sup> Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

<sup>5</sup> Department of Biochemistry, Medical University, Sofia

<sup>6</sup> Department of Invasive Cardiology, MHAT „Hristo Botev“, Vratza

<sup>7</sup> Faculty of Public Health, Medical University, Sofia

---

### Address for correspondence:

Dr Nia Emilova Semerdzhieva

University Hospital „Alexandrovska“, 1 „Georgi Sofiiski“ Str, 1431 Sofia, Bulgaria

GSM: 09889 62 418

e-mail: niaemilova@yahoo.com

### Abstract

**Aim:** The aim of the study was the investigation of clinical correlates and the prognostic significance of male hypogonadism in acute coronary syndrome (ACS).

**Material and methods:** The study group included 77 men with ACS admitted to the Clinic of Cardiology, University Hospital „Alexandrovska“ between 2011 and 2013. The levels of sex steroids (total testosterone – T, total 17  $\beta$ -estradiol – E2 and dehydroepiandrosterone-sulphate – DHEA-S), oxidative (extracellular superoxide dismutase activity – ecSOD and levels of oxidized low-density lipoproteins – oxLDL) and inflammatory markers (white blood cell count – WBC and high-sensitive C-reactive protein – hsCRP) were assessed in plasma using enzyme immunologic (electrochemiluminescent – ECLIA, enzyme-linked immunosorbent – ELISA) methods and latex-enhanced immunoturbidimetric assay. The patients were followed for a year and any adverse cardiovascular events were recorded.

**Results:** The ratio of estradiol-to-testosterone (E2/T) was associated with significantly more intensive acute inflammatory response among the examined men ( $r = 0,324$ ,  $p = 0,008$  for hsCRP;  $r = 0,334$ ,  $p = 0,007$  for WBC).

**Conclusions:** An association of acute inflammatory response intensity and testosterone-to-estradiol conversion exists among adult men in the acute phase of coronary syndrome. Male hypogonadism is unrelated to the pathologic mechanisms of acute myocardial injury and is not a significant prognostic indicator during the one-year follow-up after ACS.

---

**Key words:** hypogonadism, acute coronary syndrome, estradiol-to-testosterone ratio

## Introduction

Hypogonadism is a clinical syndrome, diagnosed when there is the presence of symptoms and biochemical signs of testosterone deficiency (1-7). One of the most widely used parameters to establish diagnosis is serum total testosterone (1,3-7). In clinical practice the measurement of gonadotrophic hormone plasma levels is not useful for detection of hypogonadism in aging men (2). A statistically insufficient correlation is seen between symptoms and hypogonadism particularly in this patient group (2). There are no generally accepted lower limits of total testosterone plasma levels confirming hypogonadism diagnosis (5). There is, however, general agreement that total testosterone level above 12 nmol/l does not require substitution and that the patients with serum total testosterone levels below 8 nmol/l will usually benefit from testosterone treatment (7). In older men ( $76 \pm 3,2$  yr) the cut-off values which define the presence of this condition are lower (6,4 nmol/l) (8).

**The aim** of the study was the investigation of the clinical correlates and the prognostic significance of male hypogonadism in the setting of acute coronary syndrome (ACS).

## Material and methods

The study group included 77 men with ACS who were admitted to the Clinic of Cardiology, University Hospital „Alexandrovska“ between 2011 and 2013. The levels of sex steroids (total testosterone – T, total  $17\beta$ -estradiol – E2 and dehydroepiandrosterone-sulphate – DHEAS) were assessed in the whole group. The concentrations of oxidative markers (oxidized low-density lipoproteins – oxLDL and activity of extracellular superoxide dismutase – ecSOD) was performed at baseline (48 hours after the symptom onset) in 45,5% (n=35) and 71,4% (n=55) of the patients. The plasma concentrations of inflammatory markers (white blood cell count – WBC and high-sensitive C-reactive protein – hsCRP) were measured in 89,6% (n=69) and 97,4% (n=75) of all patients. A SYNTAX score was calculated in 97,4% (n=75) of the examined men with angiographically-defined coronary atherosclerosis as an objective measure of coronary disease severity.

During the same time period a control group consisting of 13 age-matched men, with low risk or excluded by selective arteriography (SCA) coronary atherosclerosis was assembled.

The plasma concentrations of sex steroids and hsCRP white blood cell counts were quantified in the Central Medical Laboratory of University Hospital „Alexandrovska“. The levels of sex steroids were mea-

sured in plasma with Roche Diaagnostics reagents (Manheim, Germany) on an Elecsys 2010 analyser using standardized electrochemiluminescent assay (ECLIA) (9). In the case of testosterone and estradiol assessment the method has been standardized via isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry (ID-GC/MS). Regarding DHEAS measurement the method was standardized against gravimetrically produced master calibrators consisting of exactly defined DHEAS concentrations in depleted human serum matrix. Each of the Elecsys reagents sets used (Estradiol II 03000079190, Testosterone II 05200067190 and Dehydroepiandrosterone-sulphate 0300087122) has its specific Roche Diagnostics product for calibration (Peri Control Universal) utilized for the laboratory quality control. The lowest detection limits for testosterone, estradiol and DHEAS are reported as follows: 0,087 nmol/l, 18,4 pmol/l and 0,003  $\mu$ mol/l. The following values are the reported coefficient of variability (CV) using Elecsys reagents for the lowest and highest plasma hormone levels: 8,4% and 2,8% for T; CV – 9,9% and 5,8% for E2; CV – 3,6% and 2,4% for DHEAS.

Erroneous test results may be obtained from samples taken from patients receiving therapy with high doses of biotin, under Nandrolone treatment, exposed to vaccines containing rabbit serum. Such patients were excluded from the study. The assays are unaffected by icterus (bilirubin  $<222$   $\mu$ mol/l), hemolysis (Hb  $<123$  nmol/l), lipemia ( $<1000$  mg/dl) and biotin  $<123$  nmol.

The concentrations of highly sensitive C-reactive protein were assessed with latex-enhanced immunoturbidimetric assay CardioPhase hsCRP (Roche Diagnostics GmbH, Manheim, Germany) for COBAS INTEGRA 700 analyzer (10).

White blood cell counts were evaluated by a peripheral blood smear with automatic counter.

A commercially available reagent – OxiSelect Human Oxidized LDL ELISA (MDA-LDL) kit (CellBio-labs, San Diego, CA, USA) and the already well-described sandwich enzyme-linked immunosorbent (ELISA) assay were used for quantitation of oxLDL in plasma (11). The activity of ecSOD was determined in plasma by the enzymatic – xanthine oxidase method (Oxiselect Superoxide Dismutase Activity Assay, Cell Biolabs, San Diego, USA) (12). These tests were carried out in the laboratory of the Faculty of Biochemistry, Medical University of Sofia and the Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia. The laboratory control of tests was affirmed with calibration products specific for the particular reagent set. Reproducing the test in a portion of samples and testing the serum of control subjects served as a method for intraobserver variability assessment.

Plasma concentrations of oxLDL are not influenced by physiologic variations in bilirubin levels and a carbohydrate-rich diet through direct interference with the assay used. Reducing agents, such as ascorbic acids and reduced forms of glutathiones, interfere with the SOD assay.

Selective coronary angiography was performed according to established protocol in the clinic.

After discharge, data about adverse events (ischaemic-driven rehospitalisations, revascularisations, acute coronary syndromes, transitory ischaemic attacks and strokes as well as cardiovascular and non-cardiac deaths) were collected through active follow-up at 12 months.

Patients with diagnosed diseases of hypothalamus, pituitary and adrenal glands that interfere with plasma concentrations of sex steroids were excluded from the study. Other exclusion criteria were: hormone or immunomodulating therapy; trauma, major surgical procedure, acute or chronic infectious or inflammatory disease within two weeks of the initial hospitalisation and during the study period as well as known or suspected neoplastic process.

All patients and controls provided written informed consent to participate in the study which was approved by the hospital ethics committee.

Data distribution was explored using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests. The variables were tested for possible relations with the use of parametric (independent samples Student's t-test, parametric correlation and regression analysis) and nonparametric ( $\chi^2$  test, Fischer exact tests, Mann-Whitney U test, non-parametric correlation) methods. In all tests, a two-tailed p-value lower than 0,05 was considered significant. Data were managed using version 19 of SPSS (Chicago, IL, USA) for Windows.

## Results

The incidence of hypogonadism in the examined group with ACS was 14,5%. Statistically lower levels of total testosterone, higher frequency of arterial hypertension and dyslipidemia, higher plasma concentrations of hsCRP and ecSOD activity were observed among patients compared to the control group (Table 1).

Hypogonadism is neither associated with the age of ACS occurrence, nor with risk factors for atherosclerosis, presence and extent of obstructive coronary disease, intensity of oxidative stress or inflammation in the coronary event's acute phase. Abnormally low plasma concentrations of total testosterone had no prognostic significance in the examined group during the one-year follow-up (Table 2).

The balance of estradiol and testosterone (E2/T ratio), which is a crucial index of the extragonadal

conversion of testosterone to estrogens correlated significantly with the increase of inflammatory markers ( $r=0,324$ ,  $p=0,008$  for hsCRP;  $r=0,334$ ,  $p=0,007$  for WBC). There was only a tendency toward association of E2/T ratio with the distribution of obesity ( $p=0,094$ ) and metabolic syndrome ( $p=0,074$ ) among the examined male patients with coronary disease.

## Discussion

Our data didn't confirm the association of male hypogonadism with the risk of coronary atherosclerosis development. It demonstrated the lack of a relationship of hypogonadism to mechanisms of acute myocardial injury as well as with prognosis a year following coronary event. Among older men with ACS there was only a significant positive relation between the intensity of acute inflammatory response and conversion of testosterone to estradiol (E2/T ratio).

### *Hypogonadism and Risk Factors for Atherosclerosis*

Male hypogonadism is linked to risk factors and pathologic mechanisms of coronary atherosclerosis (3,5, 13-15). Several studies have reported that hypogonadism was associated with metabolic syndrome (MS) incidence, and that in a particular patient decreased plasma testosterone levels correlated negatively with the number of components of MS. Testosterone substitution may have benefits on metabolic status of hypogonadal men and lessen the ischaemia recurrences in the setting of coronary heart disease (3). Hyperinsulinemia resulting from impaired glucose metabolism and extreme obesity excess circulating adipokines and reactive oxygen species produced in adipose tissue may inhibit testosterone synthesis in the testis directly by suppressing sex hormone binding globulin (SHBG) synthesis and through a functional decrease of luteinising hormone (LH) levels and negative regulatory effects on the gonadal axis (3, 7, 13-15).

The frequency of hypogonadism in the examined group with ACS was 14,5% when plasma levels of total testosterone  $< 8$  nmol/l were used for the condition definition. The incidence of hypogonadism in our study is identical to that observed in large studies (13). The lack of a statistically significant association of hypogonadism distribution with traditional risk factors for atherosclerosis and atherosclerotic risk factor burden (three atherosclerotic risk factors) in our study is most probably a result of the small number of examined men, relatively low frequency of metabolic syndrome (39,2%) and obesity (45,9%), and absence of patients with extreme obesity (mean BMI of our patients was  $28,4 \pm 4,2$  kg/m<sup>2</sup>).

### *Hypogonadism and Inflammation*

Several studies indicate increased frequency of

**Table 1.** Characteristics of patients and control subjects

Variable/patient group	Men with ACS, n-75	Controls, n-13	Differences
Hypogonadism, n (%)	11 (14,5%)	0 (0%)	-
Age, years	63,7±13,9	53,5±16,0	p=0,068
E2, pmol/l	150,64±68,22	130,77±68,24	p=0,523
T, nmol/l	13,6±5,22	18,97±9,08	p=0,024
DHEA-S, µmol/l	4,14±2,47	4,91±2,67	p=0,368
Arterial hypertension, n (%)	65 (87,8%)	5 (38,5%)	p=0,001
Diabetes mellitus, n (%)	26 (35,1%)	0 (0%)	-
Dyslipidemia, n (%)	30 (41,1%)	3 (23,1%)	p=0,004
Obesity, n (%)	34 (45,9%)	0 (0%)	-
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28,4±4,2	-	-
Metabolic syndrome, n (%)	29 (39,2%)	0 (0%)	-
Three RF for atherosclerosis	23 (29,9%)	0 (0%)	-
hsCRP, mg/dl	34,2±48,4	1,86±1,62	p<0,0001
WBC, G/L	9,9±3,4	8,7±1,6	-
oxLDL, mg/dl	9,97±6,60	6,53±2,62	p=0,108
ecSOD, U/l	0,75±1,10	1,19±0,91	p=0,004
STEMI	40 (51,9%)	-	-
Obstructive CAD, n (%)	68 (90,7%)	-	-
SYNTAX score	14,5±10,1	-	-
Ischaemic adverse events, n (%)	48 (63,2%)	-	-
Revascularisations, n (%)	22 (28,9%)	-	-

**Legend:** BMI – body mass index; RF – risk factors; STEMI – ST elevation acute myocardial infarction; CAD – coronary artery disease

higher low grade systemic inflammation in male groups with hypogonadism (5,17). Testosterone down-regulates chemokines and other inflammatory mediators – an association that is independent of age and body mass index (18). In the acute phase of coronary syndrome testosterone levels inversely correlate to the degree of leukocytosis – a fact that suggests an immunosuppressive action of the androgen (4, 6). This effect seems weak and modulated by the action of additional factors as it could not be observed in small cohorts such as the examined group.

#### **Hypogonadism and Coronary Disease**

At present coronary atherosclerosis and acute coronary syndromes are viewed as long term complications of male hypogonadism (19-22). The relatively high total and free estradiol levels due to intensive conversion of testosterone to estradiol related to hyperinsulinemia lead to erythrocyte and hematocrit changes that may contribute to an increased prevalence of thromboembolic events (24, 25). We were unable to

confirm the, already observed in prior studies, association of hypotestosteronemia with the severity of atherosclerotic coronary disease. Our patient group was a small one, so that a statistically significant association could not be proved. In addition, according to some data acute myocardial infarction risk in men is partially determined by age. The relation with low androgen levels is evident before 40 years (22) or in fact among younger patients than those included in our study.

We also did not find any association with adverse event incidence a year following ACS. Sex hormone deficit is a weaker than other predictors of cardiovascular complications (26). We have defined our study endpoint as a combination of coronary and cerebrovascular ischaemic events. There is evidence that androgen exposure is an independent predictor of some arterial thrombotic events (stroke) in contrast to others (acute myocardial infarction) (23).

#### **E2/T Ratio in Acute Coronary Syndrome**

The balance of total testosterone and total 17β-

**Table 2.** Hypogonadism – clinical correlates and association with the one-year rate of adverse events

Variable/patient group	Without hypogonadism	With hypogonadism	Difference
Total testosterone, nmol/l	15,10±4,63	5,47±2,64	p=0,633
Age, years	63,7±12,9	58,7±14,6	p=0,250
Diabetes mellitus, n (%)	22 (35,5%)	4 (36,4%)	p=0,955
Obesity, n (%)	29 (46,8%)	5 (45,5%)	p=0,936
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28,8±4,0	27,0±4,6	p=0,210
Metabolic syndrome, n (%)	22 (35,4%)	7 (63,6%)	p=0,079
Three RF for atherosclerosis	20 (32,3%)	2 (18,2%)	p=0,346
DHEAS, µmol/l	3,99±2,28	5,31±3,47	p=0,249
hsCRP, mg/dl	32,75±48,85	42,62±58,33	p=0,536
WBC, G/L	9,7±3,2	10,8±4,1	p=0,450
oxLDL, mg/dl	9,47±6,11	12,57±9,81	p=0,280
ecSOD, U/l	0,78±1,14	0,61±0,92	p=0,615
STEMI	36 (55,4%)	4 (36,4%)	p=0,332
Obstructive CAD, n (%)	58 (92,1%)	9 (81,8%)	p=0,284
SYNTAX score	15,1±10,4	11,8±8,2	p=0,332
Revascularisation, n (%)	19 (29,7%)	2 (18,2%)	p=0,432
Ischaemic adverse events, n (%)	41 (64,1%)	6 (54,5%)	p=0,737

**Legend:** BMI – body mass index; RF – risk factors; STEMI – ST elevation acute myocardial infarction; CAD – coronary artery disease

Variable	E2/T
Age	r = - 0,075, p = 0,545
Diabetes mellitus	p = 0,144
Obesity	p = 0,094
BMI	r = - 0,122, p= 0,331
Metabolic syndrome	p = 0,072
Three RF for atherosclerosis	p = 0,897
hsCRP	r = 0,324, p = 0,008
WBC	r = 0,334, p = 0,007
oxLDL	r = 0,052, p = 0,720
ecSOD	r = - 0,163, p = 0,365
STEMI	p = 0,437
Obstructive CAD	p = 0,210
SYNTAX score	r = 0,214, p = 0,082
Revascularisations	p = 0,149
Ischaemic adverse events	p = 0,959

**Table 3.**

E2/T correlation with variables and the one-year incidence of adverse events

**Legend:** BMI – body mass index; RF – risk factors; STEMI – ST elevation acute myocardial infarction; CAD – coronary artery disease

estradiol, rather than the absolute levels of androgens, is crucial in modulating the effects of androgens associated with coronary heart disease in male patients (16, 19). The present investigation as well as a prior analysis of the same group demonstrate that E2/T and endogenous 17 $\beta$  - estradiol concentrations in the acute phase of coronary syndrome are significantly associated with higher levels of inflammatory mediators. Inflammation has a sex specific negative impact on outcome among men with coronary heart disease (4, 16).

A chief limitation of the conducted study is measurement of sex steroids once and only during the acute phase of coronary syndrome. Thus, we cannot exclude a significant modulating effect of acute ischaemia on the obtained results of sex steroids endogenous levels that could have influence on the subsequent statistical analysis.

## Conclusion

An association of testosterone-to-estradiol ratio and the intensity of acute inflammatory response exists in adult men with signs of hypogonadism in the acute phase of coronary syndrome. Male hypogonadism is unrelated to the pathologic mechanisms of acute myocardial injury and is not a significant prognostic indicator during the one-year follow-up after ACS.

## Acknowledgements

The present study was funded by an investigational grant provided by the Medical University, Sofia No. 6-D/2013 (Contract No. 5-D/2013).

Conflict of interests - None

## References

1. **Angelova P.** Hypogonadism among male patients with metabolic syndrome. Dissertation abstract. Sofia. 2015, 92 pages. (in Bulgarian) (Ангелова П. Хипогонадизъм при мъже с метаболитен синдром. Автореферат на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "доктор". София. 2015, 92 стр.)
2. **Kumanov F.** Testicular dysfunction - aspects of the mechanisms of origin. Dissertation. Sofia, 2007, 290 pages. (in Bulgarian) Куманов Ф. Онтогенетични аспекти на тестикларната недостатъчност. Дисертационен труд за присъждане на научна степен (in Bulgarian) "Доктор на медицинските науки". София, 2007, 290 стр.
3. **Hristov V, Kamenov Z, Kumanov F, Slavov Ch, Uzunov H, Hinev A, et al.** Consensus for treatment of male hypogonadism. *Nauka Endocrinologia* 2012; 6: 205-210. (in Bulgarian) (Христов В, Каменов З, Куманов Ф, Славов Ч, Узунув Й, Хинев А, и др. Консенсусно становище за лечението на хипогонадизма при мъжа. *Наука "Ендокринология"* 2012; 6: 205-210.)
4. **Семерджиева Н.** Полово обусловени характеристики на острият коронарен синдром: роля на стероидните хормони, оксидативния стрес и възпалението. Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "доктор". София. 2015, 160 стр. (in Bulgarian) (Semerdzhieva N. Sex-based characteristic in acute coronary syndromes: role of sex steroids, oxidative stress and inflammation. *Dissertation*. Sofia, 2015, 160 pages.)
5. **Malkin CJ, Pugh PJ, Jones RD, Jones TH, Channer KS, et al.** Testosterone as a protective factor against atherosclerosis - immunomodulation and influence upon plaque development and stability. *J Endocrinol* 2003; 178: 373-380.
6. **Malkin CJ, Pugh PJ, Morris PD, Asif S, Jones TH, Channer KS, et al.** Low serum testosterone and increased mortality in men with coronary heart disease. *Heart* 2010; 96: 1821-1825.
7. **Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, et al.** Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: 507-514.
8. **Yeap BB, Alfonso H, Chubb SA, Handelsman DJ, Hankey GJ, Norman PE, et al.** Reference ranges and determinants of testosterone, dihydrotestosterone, and estradiol levels measured using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in a population-based cohort of older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97(11): 4030-4039.
9. **Prieto B, Miguel D, Costa M, Coto D, Alvarez FV.** New quantitative electrochemiluminescence method (ECLIA) for interleukin-6 (IL-6) measurement. *Clin Chem Lab Med*, 2010; 48: 835-838.
10. **Wood WG, Lüdemann J, Mitusch R, Heinrich J, Maass R, Frick U, et al.** Evaluation of a sensitive immunoluminometric assay for the determination of C-reactive protein (CRP) in serum and plasma and the establishment of reference ranges for different groups of subjects. *Clin Lab* 2000; 46: 131-140.

11. **Fraleay AE, Tsimikas S.** Clinical applications of circulating oxidized low-density lipoprotein biomarkers in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17: 502-509.
12. **Sun Y, Oberley LM, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Chim Chem* 1998; 34: 497-500.
13. **Antonio L, Wu FC, O'Neill TW, Pye SR, Carter EL, Finn JD, et al.** Associations between sex steroids and the development of metabolic syndrome: a longitudinal study in European men. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100 (4): 1396-1404.
14. **Lima N, Cavaliere H, Knobel M, Halpern A, Medeiros-Neto G.** Decreased androgen levels in massively obese men may be associated with impaired function of the gonadostat. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 1433-1437.
15. **Shin JY, Park EK, Ark BJ, Shim JY, Lee HR.** High-normal glucose levels in non-diabetic and pre-diabetic men are associated with decreased testosterone levels. *Korean J Fam Med* 2012; 33(3): 152-156.
16. **Corona G, Rastelli G, Monami M, Guay A, Buvat J, Sforza A, et al.** Hypogonadism as a risk factor for cardiovascular mortality in men: a meta-analytic study. *Eur J Endocrinol* 2011; 165(5): 687-701.
17. **Pepene CE, Crișan N, Coman I.** Elevated serum receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin levels in late-onset male hypogonadism. *Clin Invest Med* 2011; 34 (4): E232.
18. **Bobjer J, Katrinaki M, Tsatsanis C, Giwercman YL, Giwercman A.** Negative association between testosterone concentration and inflammatory markers in young men: a nested cross-sectional study. *PLoS One* 2013; 8(4): e61466.
19. **Zheng HY, Li Y, Dai W, Wei CD, Sun KS, Tong YQ, et al.** Imbalance of testosterone/estradiol promotes male CHD development. *Biomed Mater Eng* 2012; 22 (1-3): 179-185.
20. **Chimel A, Mizia-Stec K, Wierzbicka-Chmiel J, Rychlik S, Muras A, Mizia M, et al.** Low testosterone and sexual symptoms in men with acute coronary syndrome can be used to predict major adverse cardiovascular events during long-term follow-up. *Andrology* 2015; 3 (6): 1113-1118.
21. **Rosano GM, Sheiban I, Massaro R, Pagnotta P, Marazzi G, Vitale C, et al.** Low testosterone levels are associated with coronary artery disease in male patients with angina. *Int J Imot Res* 2007; 19: 176-182.
22. **Sewdarsen M, Vythingum S, Jialal I, Desai RK, Becker P.** Abnormalities in sex hormones are risk factors for premature manifestation of coronary artery disease in South African Indian men. *Atherosclerosis* 1990; 83 (2-3): 111-117.
23. **Yeap BB, Alfonso H, Chubb SA, Hankey GJ, Handelsman DJ, Golledge J, et al. Norman.** In older men, higher plasma testosterone or dihydrotestosterone is an independent predictor for reduced incidence of stroke but not myocardial infarction. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 4565-4573.
24. **Gluek CJ, Richardson-Royer C, Schultz R, Burger T, Labitue F, Riaz MK, et al.** Testosterone, thrombophilia, and thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2014; 201: 22-30.
25. **Paller CJ, Shiels MS, Rohrmann S, Manke A, Rifai N, Nelson WG, et al.** Association between sex steroid hormones and hematocrit in a nationally representative sample of men. *J Androl* 2012; 33: 1332-1341.
26. **Ponikowska B, Jankowska EA, Maj J, Wegrzynowska-Teodorczyk K, Biel B, Reczuch K, et al.** Gonadal and adrenal androgen deficiencies as independent predictors of increased cardiovascular mortality in men with type II diabetes mellitus and stable coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2010; 143(3): 343-348.

## The use of lithium in the treatment of resistant Graves' Thyrotoxicosis

Ivanova, Iva V.<sup>1</sup>, Siderova, Mira V.<sup>1</sup>, Bachvarova Mariela B.<sup>1</sup>, Hadjieva, Elitsa G.<sup>1</sup>, Hristozov, Kiril H.<sup>1</sup>, Bochev, Pavel H.<sup>2</sup>, Bocheva, Yana D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Endocrinology, <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine and Radiotherapy, <sup>3</sup>Central clinical laboratory; University Hospital „St. Marina“, Varna

### Abstract

We present a case of a 58-year-old woman with clinical, hormonal and immunological features of Graves' disease: TSH – 0,000 mIU/L, fT<sub>3</sub> – 12,4 pmol/L, fT<sub>4</sub> – 52,1 pmol/L, TSH-receptor antibodies – 40 IU/L. Due to an allergic reaction to her initial treatment with thyrozol 8 tb/daily, the latter was replaced with propylcil in equivalent doses and propranolol was added. Six months later she was diagnosed with mild thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) and was

treated with local application of corticosteroids. For the next two years the patient was on constant antithyroid drug therapy with the lowest possible achieved dose of 6 tb/daily, without signs of remission. Definitive radioactive iodine therapy (RAI) was planned, propylcil was stopped and lithium carbonate was initiated for 18 days before RAI in addition to oral steroid and propranolol. The treatment with lithium continued for 12 days after RAI was carried out with 7,34 mCi I<sup>131</sup>. The follow up of the patient revealed a beneficial effect of the applied management strategy.

**Key words:** resistant thyrotoxicosis, Graves' disease, Lithium, radioiodine

### Introduction:

Graves' disease is the most common cause of thyrotoxicosis – a hypermetabolic state associated with goiter and concomitant autoimmune phenomena – ophthalmopathy, dermopathy and others.

Graves' disease is the most common cause of hyperthyroidism in Europe and the United States. A study conducted in Olmstead County, Minnesota estimated the incidence to be approximately 30 cases per 100,000 persons per year (1). The Wickham study in the UK concludes that the mean incidence of hyperthyroidism in women is 0,8/1000 per year (2).

According to the joined American Thyroid Association (ATA) and American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) clinical guidelines regarding hyperthyroidism, three treatment strategies exist for patients with Graves' disease- RAI therapy with I<sup>131</sup>, thyrostatic treatment and thyroidectomy. When choosing the course of action in each case, the endocrinologist should discuss together with the patient each of the treatment options, including the benefits, expected treatment-duration and speed of recovery, potential side effects, and cost. Alternative modalities should be kept in mind for patients whose disease has proven to be a therapeutic challenge (3).

### Case presentation:

A 58-year-old woman was diagnosed with Graves' disease in February, 2013. She had complaints of weight loss, excessive sweating, palpitations and increased stool frequency when she presented herself to her physician. Treatment was started with 8 tablets of thyrozol per day based on the following laboratory test results: thyroid-stimulating hormone (TSH) – 0,000 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L), free triiodothyronine (FT<sub>3</sub>) – 12,4 pmol/L (2,25-6,0 pmol/L), free thyroxine (FT<sub>4</sub>) – 52,1 pmol/L (9,15-23,86 pmol/L), TSH-receptor antibodies (TRAb) – 40 U/ml (<1 – negative; 1,1-1,9 – borderline; >2,0 – positive). Due to the occurrence of an allergic skin rash, thyrozol was replaced with propylcil in equivalent doses and propranolol (20 mg bid) was added to the therapy. Her co-morbidities included

well controlled hypertension on therapy with an ACE-inhibitor (quinapril 20 mg) and calcium channel blocker (amlodipine 5 mg). For the next two years the patient was on constant antithyroid drug therapy with the lowest possible achieved dose of 6 tb/daily, without any signs of clinical, hormonal or immunological remission.

The patient did not agree to operative treatment. In any event, the clinical and hormonal state was inappropriate for such therapeutic management. Six months after the onset of Graves'disease the patient developed symptoms and signs of thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) – excessive lacrimation, eyeball protrusion, pain in the eyes and double vision in extreme gaze. She consulted with an ophthalmologist and the activity of TAO was defined as borderline (clinical activity score

(CAS) 2-3/7). Phonophoresis with corticosteroids was applied with subsequent symptomatic relief.

The patient was admitted to our clinic for the first time in May, 2015. The clinical examination revealed swelling and hyperpigmentation of the eyelids, conjunctival redness, exophthalmos (more prominent in the left eye), positive signs of Möbius, Graefe, Dalrymple and Stellwag for the left eye. On palpation her thyroid gland was firm and enlarged (second degree according to the WHO) and no thrill could be felt. Her cardiovascular examination revealed diastolic hypertension- the blood pressure reading was 140/100 mmHg and the heart rate was 65 beats per minute. The thyroid ultrasound showed typical for the disease changes in the parenchyma – enlarged thyroid gland (right lobe 30,3 x 31,4 mm; left lobe 25,4 x 24,4 mm; isthmus 6,4 mm), diffusely inhomogeneous with hypoechoic echotexture, increased blood flow detected by Doppler flow imaging and bilaterally observed pseudonodules (Figure 1-a,b,c). Her thyroid functional status was established (while taking 8 tablets of propylcil) - TSH <0,004 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L); FT<sub>3</sub> - 7,83 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L); FT<sub>4</sub> - 27,5 pmol/L (10,3-24 pmol/L). Her ophthalmologic exam showed no signs of active TAO, CAS was 2/7. The NOSPECS score was estimated as 1, 2B, 4A. Since thyrotoxicosis turned out to be resistant to the antithyroid drugs, the patient was deemed to be suitable for definitive treatment with RAI after preliminary preparation with lithium carbonate and oral corticosteroid. Finally she was discharged from the hospital with the following prescription: propylcil 8 tb/daily, propranolol 20 mg t.i.d., prednisolone 20 mg/daily.

On the 5<sup>th</sup> of June, 2015, propylcil therapy was withdrawn and treatment with lithium was initiated under the control of serum lithium levels. The initial dosage was 600 mg of lithium carbonate daily for the period of four days, followed by an alternating regimen- 600 mg daily on an even date and 900 mg daily on an odd date.

The serum lithium levels and hormonal status of the patient are shown on Figure 2. On the 23rd of June, 2015, RAI treatment was performed with 7,34 mCi I<sup>131</sup>.

Lithium carbonate was further continued for 12 more days after RAI therapy with gradual dose reduction. The levels of FT<sub>3</sub> and FT<sub>4</sub> were measured again followed by low-dose antithyroid drug administration while awaiting the onset of the therapeutic effect of RAI. The intake of propranolol and prednisolone (with gradual dose reduction from 20 mg/daily to 5 mg/daily) continued for 2 more months.

In July, 2015, hormone levels were checked again while the patient received treatment with propylcil 3 tb/daily, propranolol 20 mg t.i.d., prednisolone 5mg/daily - FT<sub>4</sub> 24,26 pmol/L (9,15-23,86 pmol/L), FT<sub>3</sub> - 3,88 pmol/L (2,25-6,0 pmol/L).

The next hospital admission was in September, 2015. At that time the patient had the following complaints: sleepiness, fatigue, the feeling of pressure and pain in the eyes, spinal pain and stiffness. The hormone levels measured this time (therapy unchanged) were TSH 0,005 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L), FT<sub>3</sub> 4,73 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L), FT<sub>4</sub> 17,4 pmol/L (10,3-24 pmol/L). Further laboratory examinations revealed no suspicion of intoxication. The thyroid ultrasound performed showed significant changes- a decrease in the size of the thyroid gland (right lobe 23,6/32,5mm; left lobe 21,3/19,8mm; isthmus 5,2mm) with normalized blood flow from the Doppler measurement (Figure 3-a,b,c).

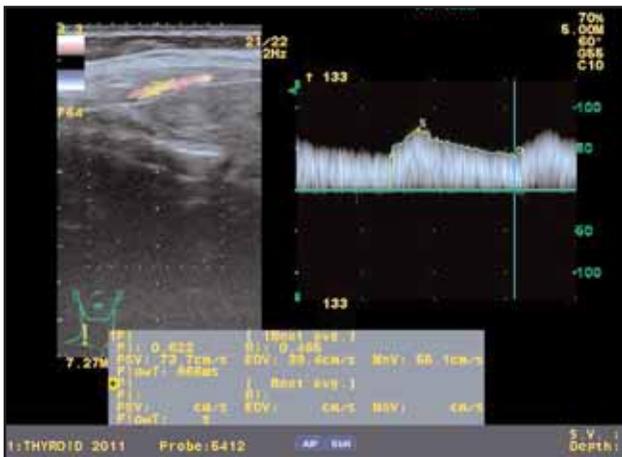
The following changes in therapy were made- propylcil 2tb/daily, propranolol 20mg b.i.d.; the glucocorticoid treatment was withdrawn. In December, 2015, antithyroid drug treatment was stopped based on the hormone levels of TSH 0,3 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L), FT<sub>4</sub> 19,1 pmol/L (10,3-24 pmol/L), FT<sub>3</sub> 4,59 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L). The patient has remained under the observation of an ambulatory endocrinologist and no relapse of the disease has been registered so far.



**Figure 1a.** Sonographic image in B-mode presenting the enlarged right lobe of the thyroid gland, diffusely inhomogeneous with hypoechoic echotexture and pseudonodules.



**Figure 1b.** Sonographic image in B-mode presenting the enlarged left lobe of the thyroid gland, diffusely inhomogeneous with hypoechoic echotexture and pseudonodules.

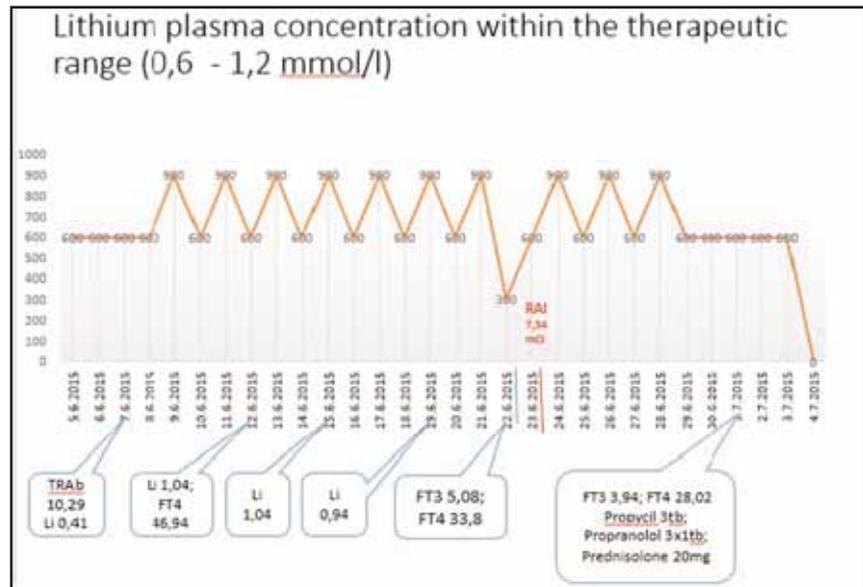


**Figure 1c.** Doppler flow imaging of the upper right thyroid artery, measuring increased blood flow with peak systolic velocity of 73,7 cm/sec

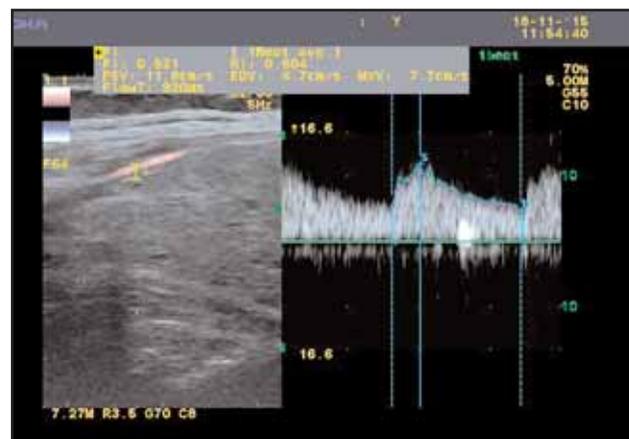


**Figure 3a.** Subsequent sonographic image in B-mode of the right thyroid lobe showing a decrease in the size, still diffusely inhomogeneous with hypoechoic echotexture and pseudonodules.

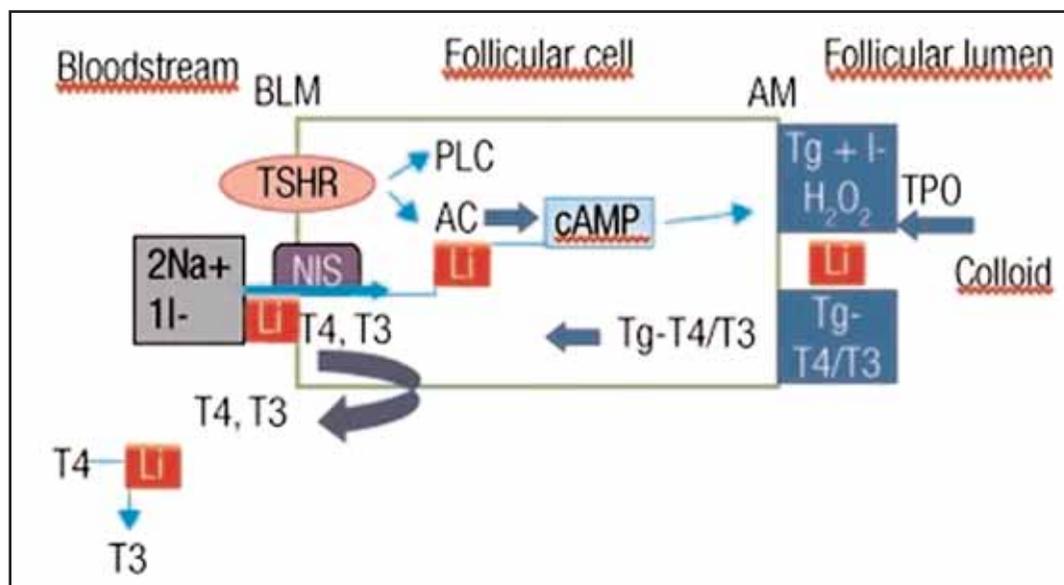
**Figure 2.** Presenting the serum lithium levels and hormonal and immunological status of the patient.



**Figure 3b.** Subsequent sonographic image in B-mode of the left thyroid lobe showing a decrease in the size, still diffusely inhomogeneous with hypoechoic echotexture and pseudonodules.



**Figure 3c.** Doppler flow imaging of the upper right thyroid artery, measuring decreased blood flow with peak systolic velocity of 11,8 cm/sec.



**Фигура 4.** (адаптирано по Williams Textbook of Endocrinology, 11th edition, 2008.)

BLM – базолатерална мембрана; AM – апикална мембрана; PLC – фосфолипаза C; AC – аденилат циклаза; cAMP – цикличен аденозин монофосфат; TPO – тиреопероксидаза; Tg – тиреоглобулин; T<sub>4</sub> – тироксин; T<sub>3</sub> – тријодотиронин; Li – литиум; Na – натриум; I – јодид; NIS – натриево-јоден симпортер; TSHR – TSH рецептор.

**Figure 4.** (adapted from Williams Textbook of Endocrinology, 11<sup>th</sup> edition, 2008.)

BLM – basolateral membrane; AM – apical membrane; PLC – phospholipase C; AC – adenylate cyclase; cAMP – cyclic adenosine monophosphate; TPO – thyroperoxidase; Tg – thyroglobulin; T<sub>4</sub> – thyroxine; T<sub>3</sub> – triiodotironine; Li – lithium; Na – sodium; I – iodide; NIS – sodium-iodide transporter; TSHR-TSH – receptor.

### Discussion

This case report summarizes the clinical course of a thyrostatic-resistant Graves' disease and the treatment applied for a 2-year period, revealing a non-traditional strategy for coping with the disease. Since after an optimal dose and duration of thyrostatic therapy no remission could be achieved (clinical, hormonal or immunological), definitive treatment was offered-radioiodine therapy, for the efficacy of which antithyroid drugs should be withheld for a week prior to therapy. In this case the thyrostatic therapy was impossible to be stopped because of the constant high levels of peripheral hormones, which is why an alternative strategy for proper RAI treatment preparation was chosen-to start with lithium carbonate and then stop the antithyroid drug. This method, although not included in the world recommendations for treatment of thyrotoxicosis, has been widely studied in the last decades, mainly in cases of allergic or toxic reactions to thyrostatic treatment (3). Used to manage patients with bipolar affective disorders and acute manic-depressive episodes, lithium carbonate is also considered to be effective in the control of thyroid hormone synthesis and secretion, which is very similar to the effects of inorganic iodine (4). A large number of studies prove hypothyroidism in lithium- treated patients (5). The lat-

ter blocks the release of organic iodine and thyroid hormones from the thyroid gland without affecting thyroidal radioactive iodine uptake (6-9). These effects are mediated through the potentiation of an iodide-induced block of binding and hormone release (10,11) perhaps because lithium is concentrated by the thyroid (12) and subsequently increases the intrathyroidal iodide concentration (13,14) thus enhancing efficacy of treatment with RAI. Furthermore lithium carbonate inhibits the adenylate cyclase activity and blocks the cyclic adenosinemonophosphate (cAMP)-mediated translocation of thyroid hormone. Data also exist that it may help reduce peripheral conversion of T<sub>4</sub> to T<sub>3</sub>. Impaired release of thyroxine is considered the most clinically significant, and this phenomenon has been used to enhance the effectiveness of RAI (15) (Figure 4).

It is believed that a short course of lithium therapy prior to RAI treatment could lead to a prompter control of thyrotoxicosis and prevent its transient exacerbation caused by antithyroid drug withdrawal before the intake of I<sup>131</sup> (16). Different therapeutic strategies exist regarding lithium dosage. Studies have proven that a lithium plasma concentration of between 0,6 and 1,2 mmol/l (corresponding to an approximate daily dose of 600-1000 mg lithium carbonate) is the most effective with the least number of side effects

(17). The potential lithium adverse effects include central nervous, cardiovascular and excretory system symptoms- confusion, difficulty with speech, dizziness, muscle weakness, seizures, coma, severe sinus bradycardia which may result in syncope, nephrogenic diabetes insipidus (17). No specific antidote for lithium poisoning is known. Early symptoms of toxicity can usually be treated by a reduction of the dosage or treatment cessation. In severe cases of lithium poisoning, hemodialysis is a fast and effective method for the elimination of this ion from the patient. Lithium is absolutely contraindicated in pregnancy and lactation, in children younger than 12 years of age, as well as in patients with cardiovascular and renal failure.

Thanks to the additional treatment with corticosteroid we managed to achieve a better control over hyperthyroidism while preparing for RAI therapy – a

period in which antithyroid drugs were stopped and therapeutic plasma lithium levels were awaited. Furthermore, mild to moderate ophthalmopathy with borderline activity (CAS 2/7) was diagnosed in our patient. The administration of prednisolone for 2 months after RAI therapy with gradual reduction in dosage aimed also to prevent deterioration of TAO (18).

### Conclusion:

Lithium carbonate turns out to be a good short-term alternative in cases of thyrostatic drug resistant thyrotoxicosis or occurrence of side-effects of antithyroid drugs, when a definitive treatment with RAI is chosen. This is possible thanks to its thyrostatic effect and its ability to enhance I<sup>131</sup> retention in the thyrocytes thus increasing the chance for successful ablation.

## References

1. Furszyfer J, Kurland LT, McConahey WM, Elveback LR. Graves' disease in Olmsted County, Minnesota, 1935 through 1967. *Mayo Clin Proc* 1970 45(9):636-644.
2. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43(1):55-68.
3. Bahn SR, Burch, HB, Cooper DS, Garber JR, Greenlee CM, Klein I, et al. The American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists Taskforce on Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis, *Thyroid* 2011, 21(6): 593-646. doi:10.1089/thy.2010.0417.
4. Kristensen O, Andersen HH, Pallisgaard G. Lithium carbonate in the treatment of thyrotoxicosis: a controlled trial. *Lancet* 1976; 1: 603-605.
5. Mekova R, Boyanov M. Factors predisposing to the development of thyroid autoimmunity. *Endocrinologia* 2013; 18 (1): 41-51 (in Bulgarian).
6. Temple R, Berman M, Carlson HE, Robbins J, Wolff J. The use of lithium in Graves' disease. *Mayo Clin Proc* 1972; 47: 872-878.
7. Temple R, Berman M, Robbins J, Wolff J. The use of lithium in the treatment of thyrotoxicosis. *J Clin Invest* 1972; 51: 2746-2756.
8. Robbins J. Perturbations of iodine metabolism by lithium. *Math Biosci* 1984; 72: 337-347.
9. Mori M, Tajima K, Oda Y, Matsui I, Mashita K, Tarui S. Inhibitory effect of lithium on the release of thyroid hormones from thyrotropin-stimulated mouse thyroids in a perfusion system. *Endocrinology* 1989; 124:1365-1369.
10. Shopsin B, Shenkman L, Blum M, Hollander CS. Iodine and lithium induced hypothyroidism: documentation of synergism. *Am J Med* 1973; 55: 695-699.
11. Andersen BF. Iodide perchlorate discharge test in lithium treated patients. *Acta Endocrinol* 1973; 73: 35-42.
12. Berens SC, Wolff J, Murphy DL. Lithium concentration by the thyroid. *Endocrinology* 1970; 87: 1085-1087.
13. Spaulding SW, Burrow GN, Bermudez F, Himmelhoch JM. The inhibitory effect of lithium on thyroid hormone release in both euthyroid and thyrotoxic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 35: 905-911.
14. Burman KD, Diamond RC, Earll JM. Sensitivity to lithium in treated Graves' disease: effects on serum T3, T4, and reverse T3. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 43: 606-613.
15. Bogazzi F, Bartalena L, Brogioni S, Scarcello G, Burelli A, Campomori A, et al. Comparison of radioiodine with radioiodine plus lithium in the treatment of Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 499-503.
16. Bogazzi F, Bartalena L, Campomori A, Brogioni S, Traino C, De Martino F, et al. Treatment with lithium prevents serum thyroid hormone increase after thionamide withdrawal and radioiodine therapy in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4490-4495.
17. Ng YW, Tiu SC, Choi KL, Chan FK, Choi CH, Kong PS, et al., Use of lithium in the treatment of thyrotoxicosis. *Hong Kong Medical Journal* 2006; 12(4): 254-259.
18. Bartalena L, Marcocci C., Bogazzi F, Panicucci M, Lepri A, Pinchera A. Use of Corticosteroids to Prevent Progression of Graves' Ophthalmopathy after Radioiodine Therapy for Hyperthyroidism. *N Engl J Med* 1989; 321:1349-1352.

### Address for correspondence:

Д-р Ива Валентинова Иванова,  
Клиника по Ендокринология, УМБАЛ „Св. Марина“  
Варна Бул. „Хр. Смирненски“ 1  
9010 Варна, Тел. 0035952/978361  
e-mail: valentinova\_iva@abv.bg

Iva Valentinova Ivanova, MD,  
Clinic of Endocrinology, University Hospital  
„St. Marina“ Varna, 9010 Varna,  
bul. Hr. Smirnenki 1, Tel. 0035952/978361  
e-mail: valentinova\_iva@abv.bg

## Приложение на литий като средство за овладяване на резистентна на тиреостатици Базедова болест

Иванова, Ива В.<sup>1</sup>, Сигерова, Мира В.<sup>1</sup>, Бъчварова, Мариела Б.<sup>1</sup>, Христов, Кирил Х.<sup>1</sup>, Хаджиева, Елица Г.<sup>1</sup>, Бочев, Павел Х.<sup>2</sup>, Бочева, Яна Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, <sup>2</sup>Клиника по Нуклеарна медицина и метаболитна терапия, <sup>3</sup>Централна Клинична лаборатория; Университетска болница „Св. Марина“, гр. Варна

### Резюме:

Представяме случай на 58 годишна жена с клинична, хормонална и имунологична констелация за Базедова болест: ТСХ – 0,000 mIU/L, СТ<sup>3</sup> – 12,4 pmol/L, СТ<sub>4</sub> – 52,1 pmol/L, ТСХ-рецепторни антитела – 40 IU/L, при която е започната първоначална терапия с тирозол 8 таб./дневно. Поради алергични прояви към този тиреостатик е въведено лечение с пропицил в еквивалентни дози, добавен е и пропранолол. Шест месеца по-късно се диагностицира тиреоид асоциирана офталмопатия (ТАО) с гранична активност; проведено е локално лечение – фонофореза с кортикостероид, с добро повлияване на симптоматиката.

За период от две години на непрекъснато тиреостатично лечение при пациентката не настъпи ремисия на заболяването при минимална достигната терапевтична доза пропицил 6 таб./дневно, което наложи търсене на дефинитивно лечение. След спиране на тиреостатика се извърши 18 дневна подготовка за радиоiodтерапия на щитовидната жлеза чрез въвеждане на литиев карбонат, перорален глюкокортикоид и пропранолол. Приемът на литий продължи 12 дни след приема на 7,34 mCi I<sup>131</sup> при контрол на серумните литиеви нива. При проследяването на пациентката се отчете положителен ефект от приложената терапевтична стратегия.

**Ключови думи:** резистентна тиреотоксикоза, Базедова болест, литий, радиоiodаблация

### Въведение:

Базедовата болест е най-честата причина за тиреотоксикоза – тежко хиперметаболично състояние, съпроводено с появата на гуша и съпътстващи аутоимунни феномени – офталмопатия, дерматопатия и др.

Базедовата болест е най-честата причина за хипертиреозидизъм в Европа и САЩ. Проучване проведено в областта Омстед, щата Минесота, сочи средна честота от 30 на 100,000 души годишно (1). Проучването Wiskhat във Великобритания заключава, че средната честота на хипертиреозидизъм при жени е 0,8/1000 годишно (2).

Съгласно актуалния консенсус на Американската тиреоидна асоциация (ATA) и Американската асоциация на клиничните ендокринолози (AAACE) за поведение при хипертиреозидизъм, съществуват три метода на лечение при пациентите с Базедова болест: радиоiodтерапия с I<sup>131</sup>, приложение на тиреостатици или тиреоидектомия. Всяка една от тези терапевтични опции трябва да бъде обсъдена с пациента, да се преценят ползите, очакваната продължителност на лечение и възстановяване, евентуалните странични негативни ефекти, както и себестойността на лечението. Тъй като някои пациенти представляват терапевтично предизвикателство, индивидуализираният подход при тях би могъл да включва някои алтернативни лечебни възможности (3).

### Клиничен случай:

През февруари 2013г., при 58 годишна пациентка е установена Базедова болест по повод на оплаквания от редуция на телло, обилно изпотяване, сърцебиене, чести дефекации. Проведено е изследване на тиреостимулиращ хормон (ТСХ) – 0,000 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L), свободен Т<sub>3</sub> (СТ<sub>3</sub>) 12,4 pmol/L (2,25-6,0 pmol/L), свободен Т<sub>4</sub> (СТ<sub>4</sub>) 52,1 pmol/L (9,15-23,86 pmol/L), титър на ТСХ-рецепторни антитела (TRAb) – 40U/ml (до 1-отрицателен, 1,1-1,9 – граничен; над 2,0 – положителен) и е започната терапия с тирозол 8 табле-

ти/дневно, но поради поява на алергичен обрив последният е заменен с пропицил в еквивалентна доза, към който е добавен пропранолол 2x20 мг/дн. с цел овладяване на тахикардията. Пациентката има съпътстваща артериална хипертония, контролирана с квинаприл 20мг/сутрин и амлодипин 5мг/вечер. Тиреостатичната терапия продължава две години без прекъсване, като достигнатата възможно най-ниска доза е 6 таблетки/дневно, без постигане на хормонална, клинична и имунологична ремисия. Пациентката ка-

тегорично отказва оперативно лечение, а и клиничните и хормонални показатели до момента не са позволявали провеждането на таква. Шест месеца след диагностицирането на Базедовата болест се установява и тиреоидна офталмопатия (ТАО) при данни за персистиращи оплаквания от съзрване, изпъкване на очите, болка и поява на двоен образ при втрещване. Съществен е консулт с офталмолог и активността на офталмопатията е преценена като гранична (CAS 2-3/7точка). Проведено е локално лечение – курс фонофореза с глюкокортикоиди, с подобрение на субективните оплаквания.

Първата хоспитализация на пациентката в нашата клиника бе през май 2015 г. От клиничния преглед правиха впечатление хиперпигментация и оток на клепачите, зачервяване на конюнктивите (CAS 2/7точка), по-изразен екзопталм за ляво око, симптомите на Грефе, Мьобус, Далримпъл, Щелваг - положителни вляво. Палпаторно се установи увеличена щитовидна жлеза, II ст по СЗО, с плътна консистенция, без трил. От сърдечно-съдовия статус – данни за диастолна хипертония, АН 140/100 mmHg, пулс 65 уд./мин. Ехографията на шийна област бе с характерен за заболяването образ – щитовидна жлеза с увеличени размери (десен дял 30,3/31,4 мм; ляв дял 25,4/24,4 мм; истмус 6,4 мм), дифузна нехомогенност на паренхима със средноогнищна хипоехогенност и увеличен доплеров кръвоток, двустранно наличие на псевдо възлести промени (Фигура 1-а,б,в). Оцени се хормоналния статус, на фона на 8 таблетки Пропицил: ТСХ <0,004 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L); СТ<sub>3</sub> 7,83 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L); СТ<sub>4</sub> 27,5 pmol/L (10,3-24 pmol/L). По отношение на ТАО след преглед от офталмолог се прецени, че няма активност на заболяването: CAS 2/7; NOSPECS 1, 2В, 4А. След внимателно клинично обсъждане се реши, че поради неповлияването на тиреотоксикозата от тиреостатичното лечение, пациентката е подходяща за дефинитивна радиоiodотерапия на щитовидната жлеза, след подготовка с литиев карбонат и добавяне на перорален глюкокортикоид. Пациентката беше изписана от клиниката със следната терапия за дома: 8 таблетки Пропицил, Пропранолол 3x20 мг и Преднизолон 20 мг дневно.

На 05. 06. 2015 г. пациентката преустанови приема на Пропицил и започна въвеждане на ли-

тиев карбонат при мониториране на литиевите нива в серума. Литиевият карбонат бе започнат в първоначална доза 600 мг/дн. за четири дни, след което – в алтерниращ режим 600 мг/дн. на четна и 900 мг/дн. на нечетна дата. На Фигура 2 по-долу могат да бъдат проследени контролните нива на литий в серума и хормоналния статус на пациентката. На 23. 06. 2015 г. бе приложена доза 7,34 mCi I<sup>131</sup>. Приемът на литиев карбонат продължи още дванадесет дни след радиоiodлечението, с постепенна редукция на дозата. Направена бе оценка на нивата на СТ<sub>3</sub> и СТ<sub>4</sub>, след което отново бе въведена ниска доза тиреостатик в периода на изчакване на терапевтичния ефект на I<sup>131</sup>. Приемът на пропранолол 3x20 мг и кортикостероид в постепенно понижаваща се доза от 20 до 5 мг/дн. продължи за още 2 месеца.

През месец юли 2015 г. е извършен контрол на СТ<sub>4</sub> – 24,26 pmol/L (9,15-23,86 pmol/L) и СТ<sub>3</sub> 3,88 pmol/L (2,25-6,0 pmol/L) на фона на Пропицил 3x1т., Пропранолол 3x20 мг и Преднизолон 5мг дневно.

Следва контролна хоспитализация през месец септември 2015 г., при която пациентката съобщи за сънливост, лесна умора, напрежение и болка в очите, болки и скованост в областта на гръбначния стълб. На фона на терапия от Пропицил 3x1т., Пропранолол 3x20 мг; Преднизолон 5мг се установява следната хормонална констелация: ТСХ 0,005 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L); СТ<sub>3</sub> 4,73 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L); СТ<sub>4</sub> 17,4 pmol/L (10,3-24 pmol/L). От останалите биохимични изследвания нямаше данни за интоксикационен синдром. Контролната ехография на щитовидната жлеза показва съществена динамика: намаление в размерите на жлезата (десен лоб 23,6/32,5мм; ляв лоб 21,3/19,8мм; истмус 5,2мм), с нееднородна хипоехогенна структура и нормализиран доплеров кръвоток (Фигура 3-а,б,в). Редуцирахме дозата на Пропицил до 2 т./дн., Пропранолол 2x20мг и премахнахме глюкокортикоида. През месец декември 2015 г. тиреостатичното лечение се спря при ТСХ 0,3 mIU/L (0,4-4,0 mIU/L); СТ<sub>4</sub> 19,1 pmol/L (10,3-24 pmol/L), СТ<sub>3</sub> 4,59 pmol/L (2,8-6,5 pmol/L). Пациентката остана под наблюдение на амбулаторния ендокринолог и до момента не е регистрирано рецидив на хипертиреоидната симптоматика.

### Обсъждане:

Описаниеят клиничен случай проследява хода на Базедова болест и приложеното лечение за двугодишен период, като предлага един по-необичаен метод за облавяване на резистентна тиреотоксикоза. След оптимално дълъг период на тиреостатично лечение с пропицил в субмаксимални и максимални дози, без достигане на клинична, хормонална и имунологична ремисия, се прецени, че пациентката е показана за дефинитивно лечение – радиоiodотерапия. Последната изисква спиране на тиреостатика за седем дни, което не бе невъзможно в нашия случай, поради задържане на високи стойности на периферни-

те хормони при висока доза пропицил. Възприехме алтернативен подход за подготовка за РИЛ – с помощта на литиев карбонат при спрян тиреостатик. Макар, че все още не е залегнал в световните препоръки за поведение при тиреотоксикоза, този метод се разработва и изучава широко през последните десетилетия, основно в случаи на алергични и токсични прояви към тиреостатици (3). Използван като медикамент за лечение на биполярни афективни разстройства и остри маниакално депресивни епизоди, съществуват и редица хипотези и доказателства за ефектите на лития по отношение на тирео-

игната хормонална синтеза и секреция, много сходни с тези на неорганичния йод (4). Многобройни са съобщенията за хипотиреоидизъм след лечение с литий (5).

Последният блокира освобождаването на органичен йод и тиреоидни хормони от щитовидната жлеза, без да засяга поглъщането на радио-йод в щитовидната жлеза (6-9). Тези ефекти са опосредствани чрез потенциирането на йод-индуциран блок в свързването и хормоналното освобождаване (10,11), вероятно заради селективното натрупване на лития в щитовидната жлеза (12) и последващото повишаване на интра-тиреоидната йодна концентрация (13,14). Това осигурява по-голяма експозиция на жлезата на лечебния ефект на I<sup>131</sup>. Освен това литият инхибира аденилат-циклазната активност и блокира

цАМФ-медираната транслокация на тиреоидни хормони. Съществуват и данни за блокиране на периферната конверсия на T<sub>4</sub> в T<sub>3</sub>. Като клинично най-значим ефект се смята нарушеното освобождаване на тироксин и това именно се използва за повишаване на потенциалността на радио-йод-лечението (15) (Фигура 4, стр.170).

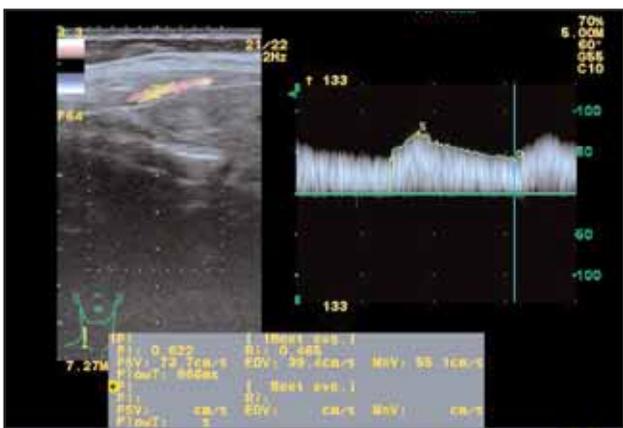
Смята се, че кратък курс на приложение на литиев карбонат преди дефинитивната радио-йодаблация спомага за по-бързото овладяване на тиреотоксикозата и избягване на нейното преходно обостряне поради спорането на тиреостатика непосредствено преди приема на I<sup>131</sup>(16). Съществуват различни терапевтични стратегии при дозирането на лития. Проучвания са доказали, че поддържането на плазмена концентрация на лития между 0,6 и 1,2 ммол/л



**Фигура 1а.** Ехографски образ в В-mode на десния тиреоиден дял - увеличени размери, дифузна нехомогенност на паренхима със средноогнищна хипоехогенност и псевдовъзлести промени.



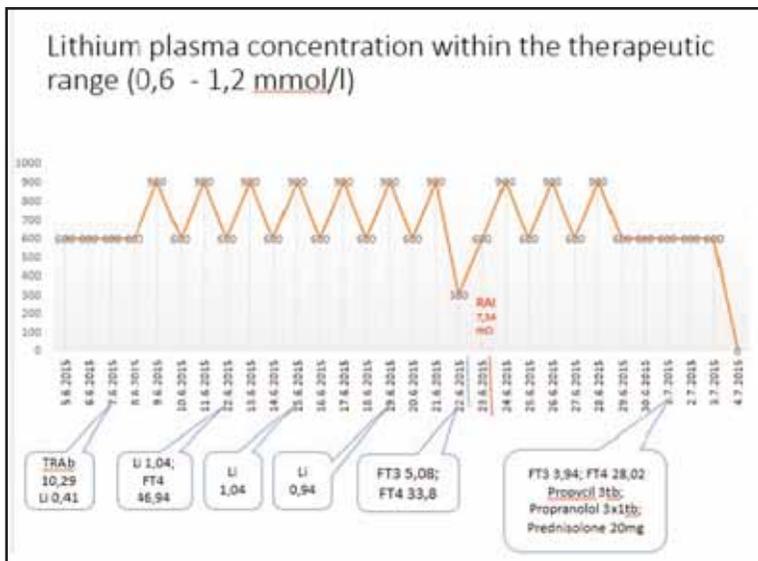
**Фигура 1б.** Ехографски образ в В-mode на левия тиреоиден дял - увеличени размери, дифузна нехомогенност на паренхима със средноогнищна хипоехогенност и псевдовъзлести промени



**Фигура 1в.** Доплерографско изследване с пулсов Доплер – пикова систолна скорост в горна дясна тиреоидна артерия 73,7 см/сек



**Фигура 3а.** Контролен ехографски образ в В-mode на десния тиреоиден дял – отчита се намаление на размерите, персистира дифузната нехомогенност на паренхима със средноогнищна хипоехогенност и псевдовъзлести промени.

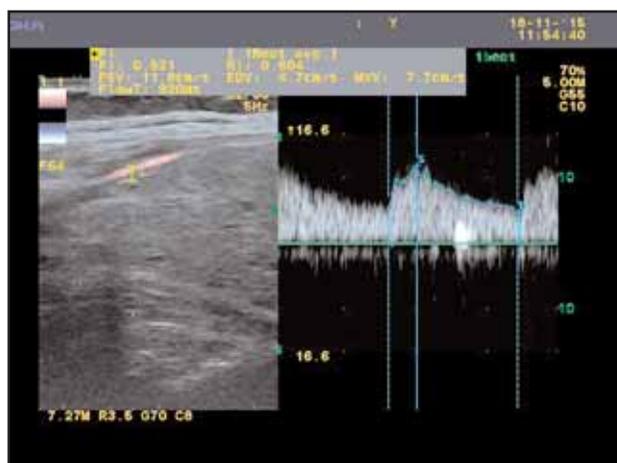


**Фигура 2.** Проследяване на серумните нива на литий, хормоналния и имунологичния статус.

Абсолютни контраиндикации за приложението на литиев карбонат са: бременност, кърмене и възраст до 12 г.; сърдечно-съдова и бъбречна недостатъчност. Включването на кортикостероид в терапевтичната схема позволи по-добър хормонален контрол в периода на подготовка за радиоодлечението, по време на която се изискваше спиране на тиреостатика и изчакване на насищане с литий. Освен това, при нашата пациентка бе установена лека към умерена, гранична по активност офталмопатия (2/7m.), която би могла да се влоши след РИЛ. Включеният преднизолон в



**Фигура 3б.** Контролен ехографски образ в B-mode на левия тиреоиден дял -отчита се намаление на размерите, персистира дифузната нехомогенност на паренхимата със средноогнищна хипоехогенност и псевдовъзлестни промени.



**Фигура 3в.** Контролно доплерографско изследване с пулсов Доплер - пикова систолна скорост в горна дясна тиреоидна артерия 11,8 cm/sec

(отговаряща приблизително на дневна доза между 600 и 1000 мг литиев карбонат) осигурява най-добра ефективност в овладяването на тиреотоксикозата при минимум странични ефекти (17). Описаните нежелани лекарствени реакции към литий включват симптоми от страна на централната нервна система, сърдечно-съдовата система и отделителната система. Такива са объркване, затруднен говор, световъртеж, мускулна слабост, гърчове, кома, тежка синусова брадикардия до синкоп, нефрогенен инсипиден диабет (17). Не съществува специфичен антидот за литиевата интоксикация. Ранните симптоми се отстраняват с редуциране на дозата или спиране на лечението. При по-тежки прояви на предозиране хемодиализата е бърз и ефективен метод за извеждане на литиевия йон.

постепенно понижаващи се дози и продължителност до 2 месеца след РИЛ изигра ролята и на т.нар. „кортикостероиден чадър“, с цел предотвратяване влошаването на ТАО (18).

### Заклучение:

В случаите на изчерпани терапевтични резерви на тиреостатичното лечение при тиреотоксикоза, странични действия от тяхното приложение, и избор на дефинитивно лечение с радиоiod, литият представлява добра краткосрочна алтернатива, както поради тиреостатичните си качества, така и благодарение на свойството си да „загържа“ <sup>131</sup>I за по-продължителен период в тиреоцитите, спомагайки за по-ефективна аблация.

# 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 групи материали в сферата на клиничната ендокринология. Обзорните материали от български автори излизат на български език с резюме на български и английски език. Оригиналите 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 предоставя 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 информация 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. Подредянето 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: Braveman 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: Braveman 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.***

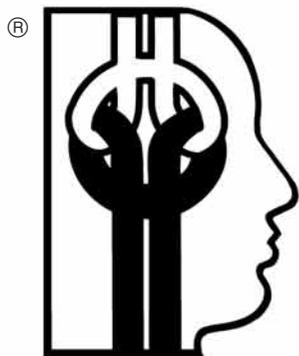
### Address for sending the manuscripts and other editorial correspondence

#### 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

**Technical 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 (мобилен 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