



ISSN 1310-8131

ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

Списанието се индексирва 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

Анелия Томова/Aneliya Tomova

Анна-Мария Борисова/

Anna-Maria Borissova

Атанаска Еленкова/Atanaska Elenkova

Владимир Христов/Vladimir Christov

Георги Кирилов/Georgi Kirilov

Драгомир Коев/Dragomir Koev

Живка Бонева /Zhivka Boneva

Жулиета Геренова/Julietta Gerenova

Здравко Каменов/Zdravko Kamenov

Иван Цинликов/Ivan Tzinlikov

Илиана Атанасова/Iliana Atanassova

Калинка Коприварова/Kalinka Koprivarova

Катя Тодорова/Katia Todorova

Кирил Христов/Kiril Hristozov

Лидия Коева/Lidia Koeva

Малина Петкова/Malina Petkova

Митко Митков/Mitko Mitkov

Михаил Боянов/Mihail Boyanov

Нарцис Калева/Nartsis Kaleva

Пламен Попиванов/Plamen Popivanov

Радка Савова/Radka Savova

Русанка Ковачева/Roussanka Kovatcheva

Сабина Захариева/Sabina Zacharieva

Филип Куманов/Philip Kumanov

Цветалина Танкова/Tsvetalina Tankova

International Scientific Board/ Международен научен съвет

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

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

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

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

A. Isidori (Rome) / А. Изидори (Рим)

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

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

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

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

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

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

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

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

Българско дружество по ендокринология

Том XXIII / Volume XXIII

Bulgarian Society of Endocrinology

2/2018

Съдържание**Обзори**

• Стойнова, Мария А., Шинков, Александър Д., Ковачева, Русанка Д. Терапевтични възможности при пациенти с активна тиреоид-асоцирана офталмопатия	59
• Иванова, Гертана Т., Шинков, Александър Д., Ковачева, Русанка Д. Бъбречни увреждания при първичен хиперпаратиреоидизъм	70
• Лъчезар Б. Лозанов Асоциация между диабетогенния генотип и основните съдови усложнения на захарния диабет тип 2	79
• Русев, Росен А., Матрозова, Йоанна А., Еленкова, Атанаска П., Захариева, Сабина З. Първичен алдостеронизъм – съвременни концепции в диагностичния и лечебния подход	86
• Димитрова, Инна Д., Ковачева, Русанка Д., Иванова, Радина С., Шинков, Александър Д. Епидемиология и клинични особености на диференцирания тиреоиден карцином	97

Оригинални статии

• Станчев, Павел Е., Орбецова, Мария М., Колева, Даниела Ив., Терзиева, Дора Д., Давчева, Деляна М., Илиев, Димитър А., Петров, Сава В., Симитчиев, Кирил К. ДПП-4 инхибиция и серумни нива на инкретинови хормони при пациенти със захарен диабет тип 2	108
--	-----

Указания за авторите

114

Journal **ENDOCRINOLOGIA** volume XXIII, number 2, 2018**Contents****Reviews**

• Stoynova, Mariya A., Shinkov, Alexander D., Kovatcheva, Roussanka D. Therapeutic options for patients with active thyroid-associated ophthalmopathy	59
• Ivanova, Gergana T., Shinkov, Alexander D., Kovatcheva, Roussanka D. Renal complications in primary hyperparathyroidism	70
• Lozanov, Lachezar B. Association Between the Diabetogenic Genotype and the Main Vascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus	79
• Rusev, Rosen A., Matroзова, Joanna A., Elenkova, Atanaska P., Zacharieva, Sabina Z. Primary Aldosteronism – Modern Concepts in the Diagnostic and Therapeutic approach	86
• Dimitrova, Inna D., Kovatcheva, Roussanka D., Ivanova, Radina S., Shinkov, Alexander D. Epidemiology and Clinical Characteristics of Differentiated Thyroid Carcinoma	97

Original articles

• Stanchev, Pavel E., Orbetzova, Maria M., Koleva, Daniela Iv., Terzieva, Dora D., Davcheva, Delyana M., Iliev, Dimitar A., Petrov, Sava V., Simitchiev, Kiril K. DPP-4 inhibition and serum levels of incretin hormones in patients with Type 2 Diabetes Mellitus	108
--	-----

Instructions to authors

114



Терапевтични възможности при пациенти с активна тиреоид-асоцирана офталмопатия

Стойнова, Мария А., Шинков, Александър Д., Ковачева, Русанка Д.

Клиника по Тиреоидни и метаболитни костни заболявания, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“
Клиничен център по Ендокринология и Геронтология, Медицински факултет,
Медицински университет, София

Therapeutic Options for Patients with Active Thyroid-associated Ophthalmopathy

Stoynova, Mariya A., Shinkov, Alexander D., Kovatcheva, Roussanka D.

Department of Thyroid and metabolic bone diseases, University hospital of Endocrinology
„Acad. Ivan Penchev“, Clinical center of Endocrinology and Gerontology, Medical Faculty,
Medical University, Sofia

Резюме

Тиреоид-асоцираната офталмопатия (ТАО) е автоимунно заболяване на ретроорбиталните меки тъкани, етиопатогенетично свързано с тиреоидния автоимунитет.

Клиничните прояви са разнообразни, като съобразно характера и тежестта им ТАО се разделя на лека, умерено-тежка до тежка и застрашаваща зрението ТАО. Докато леките форми често имат спонтанна благоприятна еволюция, тежките нерядко се оказват терапевтично предизвикателство, изискващо мултидисциплинарен подход.

Настоящите терапевтични възможности за лечение на активна ТАО включват: контрол на рисковите фактори, локално лечение, някои антиоксиданти и неспецифична имunosупресивна терапия. Средство на първи избор сред имunosупресивните агенти са глюкокортикоидите, като високо-дозовата венозна пулс терапия е с доказана добра ефективност и оптимално съотношение полза/риск. Липсата на терапевтичен отговор в около 20-30% от случаите и рецидивите в хода и след приключване на глюкокортикоидния курс определят нуждата от използване на алтернативни методи.

Abstract

Thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) is an autoimmune disorder of the retroorbital soft tissues. In etiopathogenetic terms, it is closely related to thyroid autoimmunity. Its clinical manifestations are diverse and according to their nature and severity, TAO is subdivided into three groups: mild, moderate-to-severe and sight-threatening TAO. Whereas mild forms often have favorable spontaneous evolution, it is not rare for severe ones to be a therapeutic challenge requiring a multidisciplinary approach.

Current therapeutic modalities for active TAO include: control of risk factors, local measures, some antioxidants and non-specific immunosuppressive therapy. Glucocorticoids are the first-line immunosuppressive treatment. High-dose intravenous pulse therapy is proven to have high efficacy and an optimal benefit/risk ratio. Because of the lack of therapeutic response in about 20-30% of the patients and the relapses occurring during and after glucocorticoid treatment, some alternative methods are occasionally needed. The most commonly used therapy of second-choice is low-dose fractionated orbital radiotherapy.

Най-често прилаганата терапия от втора линия е ниско-дозовата фракционирана орбитална радиотерапия. Наскоро утвърдени терапевтични варианти са Ритуксимаб и Циклоспорин в комбинация с перорални глюкокортикоиди.

Конвенционалните лечебни схеми рядко довеждат до пълно обратно развитие на офталмопатията. При достигнатата ремисия на заболяването остатъчните очни прояви подлежат на коригиращо хирургично лечение.

Съвременните познания за патогенезата на ТАО, а именно доказването на ключова роля на някои фактори и цитокини в иницирането и поддържането на ретроорбиталното възпаление (TSH-рецепторни антитела, IGF-1-рецепторен сигнален път, IL-6, TNF-alpha, PDGF), са в основата на разработването на нови, по-специфични таргетни терапии. Последните са обещаваща перспектива за оптимизиране на лечението и подобряване на прогнозата на пациентите с ТАО.

Ключови думи:

тиреоид-асоцирана офталмопатия (ТАО), глюкокортикоиди (ГК), орбитална радиотерапия (ОР)

Увод

Тиреоид-асоцираната офталмопатия (ТАО) е аутоимунно заболяване, засягащо ретроорбиталните меки тъкани. Приема се, че етиопатогенезата на ТАО, макар и ненапълно изяснена, е във връзка с тази на аутоимунните тиреоидни заболявания. Среща се най-често в контекста на Базедова болест (80-90% от случаите на ТАО). Макар и по-рядко може да се наблюдава при първичен хипотиреоидизъм (тиреоидит на Хашимото) и при пациенти, при които липсва тиреоидна дисфункция (т.нар. еутиреоидна ТАО) (1). Заболяването е с характеристика на хронично възпаление, като естествената му еволюция минава през активна и последваща я неактивна фаза. Очните прояви могат да са разнообразни: конгестивни, очедвигателни, екзофтальмични и др. (2). В зависимост от характера и тежестта им се обособяват три групи пациенти: с лека, умерено-тежка до тежка и застрашаваща зрението офталмопатия (3). Леките форми най-често търпят обратно развитие с овладяване на тиреоидната дисфункция.

От друга страна, умерено-тежките и тежките форми представляват терапевтичен проблем и изискват мултидисциплинарен подход.

Recently approved therapeutic options are Rituximab and Cyclosporine combined with oral glucocorticoids. Rarely do the conventional therapies lead to complete resolution of TAO. Residual features of the disease might be surgically corrected once remission has been achieved.

Current insights into the pathogenesis of TAO, namely proving a key role of some factors and cytokines in initiation and sustaining of the retroorbital inflammation (TSH-receptor antibodies, IGF-1- receptor pathway, IL-6, TNF-alpha, PDGF), have provided a basis for development of new, more specific targeted therapies. The latter are a promising perspective for optimizing treatment and improving prognosis of patients with TAO.

Key words:

thyroid-associated ophthalmopathy (TAO), glucocorticoids (GC), orbital radiotherapy (OR)

При тях е налице реален риск за необратимо увреждане на зрителната функция, трайно влошаване на качеството на живот и инвалидизиране на пациента (4).

Патогенеза

Приема се, че основни играчи в патогенезата на ТАО са фибробластите от ретроорбиталните пространства. Според някои автори съществена роля в този процес имат циркулиращи фиброцити, произхождащи от костния мозък и специфично инфилтриращи ретробулбарните тъкани, където се превръщат в зрели фибробласти (5). Последните притежават характерна за ТАО фенотипна особеност - аберагантна експресия на TSH-рецептори (TSH-R) по клетъчната повърхност (6). Тя се стимулира от системно циркулиращи или произведени локално проинфламаторни цитокини, сред които интерлевкин-6 (IL-6) и тромбоцитен растежен фактор (platelet-derived growth factor, PDGF) (7,8).

Взаимодействието на TSH-рецепторните антитела (TRAb) и/или TSH с TSH-R води до активиране на съответните клетки (9). В последното съучаства и IGF-1-рецепторният сигнален път в тясно взаимодействие с TSH-R на пострецепторно ниво (10).

Популацията на ретроорбиталните фибробласти е нееднородна и включва две субпопулации - Thy+ и Thy-, в зависимост от наличието или отсъствието на повърхностно експресиран антиген CD90. Thy+ фибробластите притежават секреторна активност, като секретират възпалителни фактори и матриксни компоненти, предимно глюкозаминогликани, докато Thy- фибробластите могат да се трансформират в зрели адипоцити (11). В хода на естествената еволюция на заболяването активната възпалителна фаза постепенно преминава в неактивна, което е свързано с промяна на Т-хелперния (Th) и цитокиновия профил. Докато в активния стадий преобладава Th-1 имунният отговор с възможно съучастие на Th-2, в неактивния водещ е Th-2 имунният отговор (12,13). Съответно на това нивата на проинфламаторните цитокини (TNF-alpha, INF-gamma, IL-1a IL-6, IL-8 и др.) са повишени при активна ТАО, а нивата на антиинфламаторните (IL-4, IL-10, IL-1R alpha) – при неактивна. Според някои автори именно Th-1-Th-2 конверсията бележи прогресията на ТАО до неактивна фаза (12). В крайна сметка, взаимодействието между фибробластите и клетките, както и факторите на имунната система постепенно довежда до тъканно ремоделиране на ретробулбарните пространства – инфилтриране на меките тъкани и очевдигателните мускули от имунни клетки и глюкозаминогликани, натрупване на мастна тъкан с последващи трайни фибротични промени (14).

Настоящи терапевтични възможности за лечение на активна ТАО

Терапевтичният алгоритъм при пациенти с ТАО включва няколко стъпки. От първостепенно значение за всички пациенти с ТАО, независимо от тежестта ѝ, е контролът на рисковите фактори и локалното лечение. Второстепенно, в случаите на активна умерено-тежка и тежка ТАО, се прилага имunosупресивна терапия. Утвърдените към момента терапевтични варианти са: *терапия на първи избор* – системно глюкокортикоидно лечение; *средства на втори избор*: радиотерапия на орбити, Циклоспорин и Ритуксимаб. За лечение на активна ТАО могат да се използват още: антиоксиданти, локално глюкокортикоидно лечение, някои други имunosупресори, имуномодулатори и противовъзпалителни агенти, соматостатинови аналози. На *трети етап*, при достигане на неактивна фаза на заболяването, в съображение идва хирургичното лечение за корекция на остатъчните очни прояви (4).

Контрол на рисковите фактори

Рисковите фактори за възникване и/или влошаване на съществуваща ТАО се разделят на две групи – модифицируеми и немодифицируеми. Към немодифицируемите се отнасят генетичната предиспозиция, възрастта, полът и индивидуалните анатомични особености, а към модифицируемите – тиреоидната дисфункция, радиойодтерапията и тютюнопушенето (15).

Първостепенна мярка при всички пациенти с ТАО е контролът на модифицируемите рискови фактори. Последният благоприятства естествената еволюция на заболяването и гарантира оптимален отговор на последващата имunosупресивна терапия в случаите, показани за такава (16).

Тиреоидна дисфункция – Както хипер-, така и хипотиреоидизмът увеличават риска за де novo изява и/или влошаване на съществуваща ТАО (17). Субоптималният контрол на Базедовата болест възпрепятства постигането на имунологична ремисия с персистиране на високи нива на TRAb и поддържане на ретроорбитално възпаление (18).

Хипотиреоидизмът също влияе негативно на протичането на ТАО. Счита се, че в тези случаи патогенетична роля играят повишените нива на TSH и взаимодействието му с TSH-R на ниво орбитални фибробласти (19,20).

Радиойодтерапия – Докато тиреостатиците и тиреоидектомията сами по себе си не повлияват естествената еволюция на ТАО, радиойодтерапията е известен рисков фактор за развитие и/или влошаване на налична офталмопатия (21). Критично се оказва повишеното антигенно гразнене след деструкцията на щитовидната жлеза, както и несвоевременното компенсирание на настъпващия след процедурата хипотиреоидизъм (22). Счита се, че радиойодтерапията увеличава риска от първа изява или влошаване на съществуваща ТАО с 15-30% особено при пушачи, наскоро изявен хипертиреоидизъм и тежък хипертиреоидизъм с високи нива на тиреоидните хормони и/или TRAb (23). Този риск значително намалява при приложение на перорална глюкокортикоидна профилактика. Първоначално прилаганите схеми включват Преднизолон в начална доза 0,3-0,5 мг/кг дневно с обща продължителност на лечението 3 месеца. Впоследствие някои автори доказват сходна ефективност и на по-ниско-дозови режими – начална доза Преднизолон 0,2 мг/кг дневно за 6 седмици (24,25). В проучвания на други изследователи обаче се оказва, че ниските дози не са ефективни при всички пациенти (26). След про-

веждане на радиойодтерапия тиреоидната функция трябва да се следи стриктно и при настъпване на хипотиреоидизъм, да се включи заместително лечение.

Трите терапевтични варианта за лечение на Базедова болест – тиреостатици, радиойодтерапия и хирургично лечение, са със сравнима ефективност, като благодарение на глюкокортикоидната профилактика, прилагана при радиойодтерапия, липсва съществена разлика и по отношение на влиянието им върху офталмопатията. Следователно, наличието на ТАО не се явява индикация за предпочитане на дадена терапия пред друга (27).

Тютюнопушене – Предполаганите патогенетични механизми, по които тютюнопушенето влошава протичането на ТАО, са: тъканна хипоксия със стимулиране на фиброгенезата, промяна на съотношението проинфламаторни/антиинфламаторни цитокини в полза на първите, увеличаване на експресията на HLA-DR по повърхността на орбиталните фибробласти, намаляване на венозния отток с произтичащата от това съдова конгестия (28,29).

В множество проучвания е изследвана връзката на тютюнопушенето с ТАО и клиничните ѝ прояви. Наблюдавана е по-висока честота на тежките форми на ТАО сред пушачи. Доказва се, че тютюнопушенето допълнително увеличава риска за прогресия или де novo изява на ТАО след радиойодтерапия (30). Освен това при пушачи ефективността на имunosупресивната терапия е значимо по-ниска (31). В едно ретроспективно проучване се доказва, че при бивши пушачи прогнозата на ТАО е по-добра в сравнение с настоящи (32). Въз основа на гореизброеното преустановяването на тютюнопушенето при всички пациенти с Базедова болест се явява важна мярка за превенция на ТАО, както и за благоприятстване на еволюцията на заболяването.

Локално лечение

При пациенти с ТАО увеличената очна цепка, екзофтальмът, рядкото мигане, лагофтальмът и нарушената елевация на булба доведат до развитието на т. нар. синдром на сухоото око с произтичащия от това риск от роговични увреждания. Освен това, тъй като във възпалителния процес са въввлечени и слъзните жлези, слъзният секрет е количествено и качествено променен, което намалява защитните му свойства (33). Ето защо пациентите с ТАО следва да прилагат изкуствени слъзи неколкостранно дневно с цел протекция на очуларната повърхност и повлияване на симптомите, свързани със сухотата на очите. Допълнителното използване на

вискозни гелове и мехлеми с удължено действие вечер е от особена полза за пациенти с лагофтальм. Студени компреси и слънчеви очила също спомагат за облекчаване на симптомите (34).

Антиоксиданти

Ролята на оксидативния стрес в патогенезата на ТАО е проучвана от различни изследователи. Установена е по-висока концентрация на прооксидантите и продуктите на оксидативния стрес, докато нивата на антиоксидантите са намалени (35). В едно проучване се доказва, че в определени концентрации H_2O_2 е способен да стимулира пролиферацията и секреторната активност на култури от ретроорбитални фибробласти от пациенти с ТАО. Наблюдавано е също, че предварителното приложение на антиоксиданти неутрализира този ефект. Авторите предполагат подобна ефективност на използваните в проучването антиоксиданти (вит. С и N-ацетилцистеин) и *in vivo* (36).

Селен – микроелементът, влизащ в състава на няколко селенопротеина, е с известни антиоксидантни свойства. Ефективността му като антиоксидант е доказана и в *in vitro* проучвания върху ретроорбитални фибробласти (37). Терапевтичният потенциал на селена при лечение на активна лека ТАО е изследван в голямо, мултицентрово, рандомизирано, двойно-сляпо, плацебо-контролирано проучване. Данните категорично показват ефект от 6-месечно лечение със селен в доза 100 μ g два пъти дневно както върху очните прояви, така и върху качеството на живот (подобрене се отчита при 61% от пациентите, приемащи селен, спрямо 36% за пациентите, приемащи плацебо). Освен това при проследяване се оказва, че честотата на рецидивите и на прогресията на ТАО към по-тежка форма са по-редки в групата на пациентите, приемали селен (7% спрямо 26%). Не са докладвани странични реакции, свързани с употребата на селен (38). Трябва да се има предвид, че включените в проучването пациенти са предимно от райони със селенов дефицит. Следователно, на следващ етап е необходимо да се уточни дали ползите от селеновата суплементация зависят от селеновия статус на конкретния пациент. До момента липсват доказани ползи за приложение на селен при неактивна лека ТАО, както и при по-тежките форми.

Понастоящем е в ход клинично изпитване на нов комбиниран антиоксидантен препарат (включващ бета-каротен 6 мг, вит. С 200 мг, вит. Е 200 мг, никотинамид 20 мг, селен 200 мкг, цинков оксид 8 мг, меден оксид 1 мг, магнезиев хлорид 1,8 мг), като ефективността му ще бъде

сравнена с плацебо и с монотерапия със селен.

Имуносупресивна терапия

На следващ етап, след постигане на трайно еутиреоидно състояние и преустановяване на тютюнопушенето, пациентите с персистиращи очни прояви от умерено-тежка и тежка степен подлежат на лечение с имуносупресори. Консенсусът на ETA и EUGOGO препоръчва използването на следните терапевтични варианти: системно глюкокортикоидно лечение, радиотерапия на орбити, Циклоспорин и Ритуксимаб (27). В някои случаи като терапевтични алтернативи могат да се приложат и други медикаменти от групата на имуносупресорите, както и локално глюкокортикоидно лечение.

Глюкокортикоидите (ГК) са утвърдената понастоящем имуносупресивна терапия на първи избор при пациенти с активна умерено-тежка до тежка ТАО. В своята същност лечението е патогенетично, като се разчита на неспецифичната противовъзпалителна и имуносупресивна активност на ГК (27).

Съществуват различни начини и схеми на лечение с ГК. В множество проучвания е доказана по-голяма ефективност на лечението при венозно приложение в сравнение с перорално (приблизително 75% спрямо 50 %) (39,40). Освен това парентералният път на приложение е с по-добра поносимост и по-ниска честота на странични реакции (39 спрямо 81%) (40). Голямо, мултицентрово, рандомизирано клинично проучване, включващо 159 пациенти с активна умерено-тежка и тежка ТАО, изследва ефективността и поносимостта на три различни кумулативни дози - 7,47, 4,98 и 2,25 гр. Метилпреднизолон (МПЗ) при еднаква продължителност на ГК курс. Установява се, че краткосрочната ефективност на лечението е в позитивна корелация с приложената кумулативна доза (52%, 35% и 28% съответно за високо-, умерено- и ниско-дозовия режим). Дългосрочната ефективност при приложение на умерено-дозов и високо-дозов режим е еквивалентна, но с по-рядка изява на нежелани лекарствени реакции при умерените дози (41). Напоследък все по-широко използван за лечение на умерено-тежка до тежка ТАО е следният ГК режим: венозни инфузии с МПЗ в доза 500 мг веднъж седмично за 6 седмици, последвани от 250 мг седмично за 6 седмици с обща кумулативна доза 4,5 гр. По-високо-дозови режими са показани при най-тежките форми на заболяването (27). Макар и рядко, обективно оценената като лека ТАО може значително да влошава качеството на живот на пациента. Според препоръките на ETA и EUGOGO силно влошеното качес-

тво на живот е показание за имуносупресивно лечение дори и при пациенти с лека форма на заболяването. Схемата, продължителността и дозовият режим са същите като прилаганите при умерено-тежка до тежка ТАО (27).

Анализ на 14 проучвания (над 1000 пациенти) с фокус върху безопасността на ГК режими, прилагани при ТАО, установява, че заболяемостта и смъртността са съответно 6,5% и 0,6%. С цел минимизиране на риска за изява на странични реакции в хода на ГК курс еднократната дневна доза МПЗ следва да не надхвърля 750 мг, кумулативната доза МПЗ да е под 8 гр., както и да се избягва приложение на ГК в последователни дни. В противен случай рискът нараства двукратно, включително за тежки сърдечно-съдови, мозъчно-съдови и чернодробни увреждания (42). Контраиндикации за провеждане на ГК курсове са активен вирусен хепатит, тежко чернодробно увреждане, тежко сърдечно-съдово заболяване, неконтролирана артериална хипертония, психоза и декомпенсиран захарен диабет (43). В тази връзка се препоръчва оценка на чернодробната функция – ензими и вирусни маркери, определяне на възгледигратния толеранс и компенсирани на налични захарен диабет и артериална хипертония преди стартиране на ГК терапия. Чернодробните ензими, кръвното налягане и кръвно-захарните нива подлежат на ежемесечен контрол в рамките на ГК курс. Препоръчва се приложение на инхибитори на протонната помпа с цел превенция на развитието на гастрит и язвена болест. При пациенти с множество рискови фактори за остеопороза е възможно да се включат антиостеопоротични медикаменти (44).

Орбиталната радиотерапия (ОР), самостоятелно или в комбинация с ГК, е използвана от години за лечение на ТАО. Основание за приложението ѝ са нейният неспецифичен противовъзпалителен ефект, както и подчертаната лъчечувствителност на лимфоцитите, инфилтриращи ретроорбиталните пространства. Активността на имунните клетки се потиска под действие на ниско-дозово облъчване с промяна на съотношението Т-хелпер/Т-супресори. Освен това се счита, че ОР намалява синтетичната и секреторната активност на ретроорбиталните фибробласти (45).

Ефективността на ОР при лечение на ТАО е обект на множество проучвания, като данните от тях са твърде противоречиви. Някои автори не откриват преимущества на ОР спрямо плацебо (46). Други установяват, че терапевтичният ефект на ОР е сходен с този на пероралните ГК при по-рядка изява на странични

реакции (47). Резултатите от две малки по обем, рандомизирани, контролирани проучвания сочат, че комбинацията ОР и перорални ГК е по-ефективна отколкото всяка една от терапиите поотделно (48,49). В пилотно проспективно, двойно-сляпо, контролирано проучване екип от изследователи сравнява ефективността и безопасността на ОР в комбинация с перорални и с венозни ГК. В групата на венозни ГК терапевтичен отговор е наблюдаван в 83% спрямо 63% за групата на перорални ГК при по-добра поносимост и по-рядка изява на странични реакции при венозното приложение (50). До момента липсват доказателства за преимущество на комбинираното използване на ОР и венозни ГК пред монотерапията с венозни ГК.

Най-често прилаганите схеми за лечение на пациенти с ТАО са с обща доза 16-20 Gy, разделена на 10 сесии по 1,6-2,0 Gy (51). Напоследък някои автори предлагат протрахирано приложение на ОР с цел максимална безопасност при съхранена терапевтична ефективност (1 Gy седмично за 10 седмици) (52).

В хода на облъчването може да настъпи леко и преходно обостряне на очните прояви. За предотвратяване на последното се използва краткосрочно приложение на ниски дози ГК перорално (53). Данните относно дългосрочната безопасност на ОР сочат рядка изява на странични реакции – съществува теоретичен риск за карциногенеза при пациенти под 35 години, както и за по-ранна поява на катаракта. Абсолютни противопоказания за ОР са хипертоничната и диабетната ретинопатия. Наличието на захарен диабет е относително противопоказание (54).

Циклоспоринът е един от най-проучваните медикаменти от групата на имunosупресорите, прилагани при пациенти с ТАО. Имunosупресивният му ефект се дължи на потискане както на хуморалния, така и на клетъчно-медицирания имуноен отговор (55). Въпреки, че първите доклади за ефективността на медикамента при лечение на ТАО са обнадеждаващи, последващите не са напълно единодушни относно положителния му ефект (56,57). В едно контролирано, рандомизирано, проспективно проучване екип от изследователи сравнява ефективността на пероралния Преднизолон с тази на комбинацията перорален Преднизолон и Циклоспорин. Отчита се по-добро повлияване на очните прояви, особено на диплопията и проптозата, в групата на комбинирана терапия. Освен това в тази група наблюдаваната честота на рецидиви е значително по-ниска в сравнение с групата на монотерапия с Преднизолон. Докладваните странични реакции са редки, обратими и включват: повишаване на

чернодробните ензими, повишаване на кръвното налягане, хирзуитизъм, парестезии, подуване на венците (58).

В друго рандомизирано проучване се сравнява ефективността на пероралния Преднизолон спрямо тази на Циклоспорин, използвани като монотерапия. След 12-седмичен терапевтичен курс се отчита отговор на лечението в 61% за групата на Преднизолон и само 22% за групата на Циклоспорин. Впоследствие нон-респондерите на монотерапия преминават на комбинирано лечение с двата медикамента, като терапевтичен отговор се наблюдава в 59% от случаите (59).

В обобщение, въпреки че употребата на Циклоспорин е докладвана в няколко проучвания, контролирани и рандомизирани са само две от тях. Установява се, че Циклоспоринът е с незадоволителна ефективност, приложен като монотерапия. Комбинацията Циклоспорин и перорален Преднизолон довежда до по-добър терапевтичен отговор, отколкото всеки един от медикаментите поотделно. Ето защо, съгласно препоръките на ETA и EUGOGO, за лечение на умерено-тежка до тежка ТАО Циклоспорин следва да се прилага комбиниран с перорални ГК при пациенти, при които липсва повлияване от венозните ГК пулсове. Препоръчва се приложение на ниски дози – 5-7,5 мг/кг/ден, с цел предотвратяване на съобщаваните сериозни странични реакции – хепатотоксичност, нефротоксичност и др. (27).

Ритуксимаб е единственият до момента биологичен агент, който ETA и EUGOGO препоръчват като терапия от втора линия при пациенти с ТАО. Благоприятният му ефект се дължи на осъществяването от него имуномодулация чрез потискане на функцията на В-лимфоцитите (60).

В първите неконтролирани проучвания Ритуксимаб е прилаган в случаи на резистентност към конвенционалната ГК терапия с добър ефект върху проявите на офталмопатията (61, 62). Наскоро публикуваните резултати от две малки рандомизирани проучвания обаче са противоречиви. Едното от тях докладва по-добри резултати при използване на монотерапия с Ритуксимаб в сравнение с ГК пулс терапия (инактивиране на ТАО в 100% от случаите за групата на Ритуксимаб спрямо 69% за групата на ГК), както и по-изразено подобрене на очедвигателните нарушения и качеството на живот при лекуваните с Ритуксимаб (63). В хода на проследяването в групата на Ритуксимаб не са регистрирани случаи на обостряне на очните прояви, докато след преустановяване на ГК лечение при 1/3 от пациентите настъпва рецидив.

Друго проучване, обаче не успява да докаже преимущество на Ритуксимаб пред плацебо при лечение на ТАО (64). Причините за противоречивите резултати не са напълно уточнени. Основната разлика между терапевтичните групи в двете проучвания е по-голямата прогължителност на заболяването при плацебо-контролираното проучване. Най-честите докладвани нежелани реакции при лечение с Ритуксимаб са тези, свързани с инфузията на препарата – гагене, главоболие, фебрилитет, обриви и др. Възможни сериозни странични реакции, съобщавани при приложение на Ритуксимаб за лечение на онкохематологични и ревматологични заболявания, са повишен риск от инфекции и развитие на прогресивна мултифокална енцефалопатия (65, 66).

Локално глюкокортикоидно лечение –

Периокулярните инжекции с Триамцинолон ацетат (40 мг/мл) добре повлияват диплопията и очевдигателните нарушения, като не са докладвани сериозни локални или системни странични реакции (67). Приложението му субконюнктивално е ефективно по отношение на конгестивните прояви с единствен страничен ефект – преходно повишаване на вътреочното налягане (68).

Други имуносупресори и имуномодулатори – Използването на Азатиоприн, Хлорамбуцил, Циклофосфамид, Микофенолат, Циамексон е или слабо ефективно, или с неблагоприятно съотношение полза/риск. Метотрексат, приложен в ниски дози, е с добър ефект в някои случаи на резистентна на ГК ТАО. Липсват обаче големи проучвания, доказващи ефикасността му (69,70). Инфузията на венозни имуноглобулини е със сравнима ефективност с тази на венозните ГК, но при значително по-висока цена и риск от заразяване с трансмисивни заболявания (71). Авторите на едно малко проучване съобщават за добър и бърз ефект на плазмаферезата при пациенти с тежка ТАО (72).

Други

Соматостатинови аналози – От години е проучван потенциалът на соматостатиновите аналози за лечение на ТАО. Първоначално някои автори докладват обнадеждаващи резултати при приложението им на малки групи пациенти (73). Предварителното провеждане на октреоскен за оценка на експресията на соматостатинови рецептори на ниво орбити се оказва полезно за прогнозиране на ефективността на терапията (74). Точният механизъм, по който соматостатиновите аналози осъществяват ефекта си при ТАО, остава ненапълно изяснен.

В последните години няколко рандомизира

ни, двойно-слепи, плацебо-контролирани проучвания дават противоречиви резултати относно ефикасността на медикаментите от тази група при лечение на ТАО (75). Във всеки случай до момента не са доказани категорични терапевтични ползи, които да оправдаят високата им цена.

Колхицин – Класически прилаган за овладяване на остри подагрозни пристъпи, противовъзпалителният агент вероятно притежава терапевтичен потенциал и за лечение на ТАО. Авторите на едно малко проучване сравняват ефективността и поносимостта на медикамента с тези на пероралните ГК, приложени за период от 3 месеца. Терапевтичният отговор и при двете групи пациенти достига 68%, като лечението с Колхицин се оказва с по-добра поносимост (76).

Недостатъци на настоящите терапии

Ефективността на прилаганите при ТАО терапевтични схеми често е субоптимална. Причините за това са:

- 1) ниската честота на заболяването, което прави трудно валидирането на нови терапевтични агенти и/или режими в големи рандомизирани клинични проучвания;
- 2) неточностите при оценка на активността и тежестта на ТАО, което повлиява избора на подходяща терапевтична стратегия;
- 3) неспецифичността на използваните понастоящем терапии;
- 4) липсата на обективни фактори за прогнозиране на ефективността на прилаганото лечение;
- 5) все още ненапълно разгаданата етиопатогенеза на заболяването и липсата на таргетни терапии (77);
- 6) склонността към рецидиви (според някои автори ТАО рецидивира в около 16% от случаите (78)) и
- 7) хроничният характер на ТАО.

В едно скорошно проучване е изследвана честотата на пълно обратно развитие на очните прояви при пациенти с ТАО. Такова е наблюдавано само в 8% от случаите на базата на обективни критерии и в 24% на базата на субективни критерии, като едва при 2% от пациентите липсват както обективни, така и субективни данни за ТАО. Оказва се, че процентите са сходни и при трите терапевтични групи, изследвани в проучването – нелекувани, медикаментозно лекувани, претърпели хирургично лечение. Резултатите показват, че понастоящем прогнозата на заболяването се определя по-скоро от хроничния му характер, отколкото от приложената терапия (79).

Бъдещи перспективи за лечение на ТАО

Субоптималният ефект на конвенционалните лечебни схеми мотивира търсенето на терапевтични алтернативи за лечение на ТАО. Достиженията в разгадаването на патогенезата на заболяването позволиха синтезиране и проучване на нови молекули, насочени срещу специфични патогенетични пътища. Понастоящем са в ход клинични проучвания, изпитващи ефикасността и безопасността на посочените агенти.

Антагонисти на TNF-alpha - Съобщаваните повишени нива на TNF-alpha в ретроорбиталните тъкани и в серума на пациенти с ТАО предполагат роля на TNF-alpha в патогенезата на заболяването (14, 80). Последното дава основание за изследване на терапевтичния потенциал на антагонистите на TNF-alpha при лечение на ТАО.

Едно малко по обем неконтролирано проучване (10 последователни пациенти) показва добър отговор при приложение на Етанерцепт (структурен хомолог на рецептора за TNF-alpha) при пациенти с лека до умерено-тежка ТАО. Най-значително са повлияни конгестивните прояви, като в краткосрочен план сериозни странични реакции не са наблюдавани (81). Инфликсимаб и Адалимуаб са моноклонални антители срещу TNF-alpha. Докладвани са няколко случая на успешно приложение на Инфликсимаб при застрашаваща зрението ТАО, резистентна на ГК (82,83). Адалимуаб, от друга страна, се оказва ефективен в случаите на ТАО с доминиращи мекотъканни прояви съгласно резултатите от едно малко ретроспективно проучване (84).

IGF-1-рецепторни антагонисти - На базата на доказаната роля на IGF-1-рецепторния сигнален път в патогенезата на ТАО (10), някои изследователи предполагат ефективност на IGF-1-рецепторните блокери (Тепротумумаб) за лечение на ТАО. Наскоро едно мултицентрово, двойно-сляпо, рандомизирано, плацебо-контролирано клинично проучване, включващо 88 пациенти с умерено-тежка до тежка ТАО, показва терапевтичен отговор в 69% от случаите при лечение с Тепротумумаб (спрямо 20% за плацебо-групата). Единственият наблюдаван страничен ефект е влошаване на гликемичния контрол при пациенти със захарен диабет (85).

Антагонисти на IL-6 - Предполагамата ключова роля на IL-6 в иницирането и поддържането на ретроорбиталното възпаление при ТАО оправдава търсенето на терапевтични агенти, насочени срещу него (8,86). Тоцилизумаб е човешко моноклонално антители, свързващо рецептора за IL-6, като по този начин предотвратява взаимодействието на IL-6 с IL-6 рецептора. Понастоящем препаратът се използва

ва успешно за лечение на ревматоиден артрит.

Добри резултати при приложение на Тоцилизумаб при пациенти с умерено-тежка до тежка ТАО, резистентни или нетолериращи продължително ГК лечение, са докладвани в едно малко неконтролирано клинично проучване (18 пациенти) и при няколко отделни клинични случая (87, 88).

TSH-рецепторни блокери - В последните години няколко изследователски колектива синтезират и проучват нова молекула с антагонистична активност по отношение на TSH-R (89,90). До момента TSH-рецепторният блокер е тестван върху клетъчни култури, включително орбитални фибробласти, както и *in vivo* - върху миши модели. Препаратът ефективно потиска TSH-R-зависимата продукция на цАМФ в клетъчни култури, а в *in vivo* модели същият неутрализира стимулиращото действие на TSH и TRAb върху тиреоцитите (91,92).

В бъдеще TSH-рецепторните блокери биха могли да се използват като специфична патогенетична терапия за лечение на Базедова болест и ТАО. Утвърждаването им в клиничната практика изисква провеждане на проучвания, доказващи тяхната ефективност и безопасност и при хора.

Анти-PDGF-агенти - Наскоро екип от изследователи доказва повишени нива на някои изоформи на PDGF в ретроорбиталните тъкани на пациенти с ТАО. Установява се, че PDGF стимулира експресията на TSH-R по повърхността на ретроорбиталните фибробласти, усилвайки пролиферативната и секреторната им активност (7). Тези открития обосновават търсенето на анти-PDGF-агенти, които да се използват като терапевтични алтернативи при лечение на ТАО.

Оказва се, че някои тирозин-киназни инхибитори могат ефективно да блокират действието на PDGF. В едно *in vitro* проучване се доказва, че препаратите от тази група - Иматиниб и Нилотиниб, силно потискат пролиферацията и секрецията на ретроорбиталните фибробласти (93). Същите медикаменти обаче, прилагани за лечение на хронична миелоидна левкемия, се свързват с относително висока честота на странични реакции, по-сериозните от които са периферни артериални оклузии и мозъчно-съдови инциденти. Рисковете при приложението им изглежда надхвърлят ползите, поради което към момента не се предвижда използването им при пациенти с ТАО. Дасатиниб, тирозин-киназен инхибитор от второ поколение, прилаган за лечение на онкохематологични заболявания, се оказва със сходна ефективност и с по-добра поносимост в сравнение с другите два медикамента (7). Нужни са допълнителни проучвания за

Заклучение

оценка на ефективността и безопасността на препаратите при лечение на ТАО.

Аналози на простагландин F2 α – Интересен страничен ефект на аналозите на простагландин F2 α , прилагани под формата на колири за лечение на глаукома, е енофтальмът. Оказва се, че простагландин F2 α силно потиска диференциацията на адипоцитите и води до намаляване на обема на ретроорбиталната мастна тъкан (94). Препаратите от тази група представляват обещаваща алтернатива за лечение на ТАО с очакван ефект върху екзофтальмичните прояви. В малко ретроспективно проучване е отчетен добър ефект (намаляване на проптозата с ≥ 2 mm) в 27% от случаите на ТАО след приложение на Ламанопрост (95). Понастоящем е в ход рандомизирано, контролирано, двойно-слепо клинично проучване, изследващо ефективността на простагландиновия аналог Биматопрост при лечение на ТАО (BIMA Study).

ТАО е сериозно хронично заболяване, чието оптимално лечение изисква мултидисциплинарен подход. Докато при леките форми често се наблюдава спонтанна благоприятна еволюция, лечението на умерено-тежките и тежките форми е предизвикателство за клинициста. Утвърдените до момента терапевтични агенти и схеми на приложение рядко успяват да доведат до пълно обратно развитие на очните прояви. В резултат на това ТАО трайно и в значителна степен влошава качеството на живот на пациентите. Необходимо е оптимизиране на терапевтичния подход, като първа стъпка в тази насока е загълбочаване на познанията относно патогенезата на заболяването. На базата на известните понастоящем патогенетични механизми вече са разработени нови медикаменти, с които текат клинични проучвания. Таргетната терапия е обещаваща перспектива за по-ефективно лечение на това потенциално инвалидизиращо заболяване.

References

1. Lazarus JH. Epidemiology of Graves' orbitopathy (GO) and relationship with thyroid disease. *Elsevier*. 2012;26(3):273–279.
2. Wiersinga WM, Smit T, van der Gaag R, Mourits M, Koornneef L. Clinical presentation of Graves' ophthalmopathy. *Ophthalmic res* 1989;21(2):73–82.
3. Wiersinga WM, Perros P, Kahaly GJ, Mourits MP, Baldeschi L, Boboridis K, et al. Clinical assessment of patients with Graves' orbitopathy: The European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) recommendations to generalists, specialists and clinical researchers. *Eur J Endocrinol* 2006;155(3):387–389.
4. Stan M, Garrity J, Bahn RS. The evaluation and treatment of Graves' ophthalmopathy. *Med Clin North Am* 2012; 96(2): 311–328.
5. Smith TJ. Potential role for bone marrow-derived fibrocytes in the orbital fibroblast heterogeneity associated with thyroid-associated ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 2010;162(1):24–31.
6. Mengistu M, Lukes Y, Nagy E, Burch H, Carr F, Lahiri S, et al. TSH receptor gene expression in retroocular fibroblasts. *J Endocrinol Invest*. 1994;17(6):437–441.
7. Virakul S, van Steensel L, Dalm V, Paridaens D, van Hagen PM, Dik WA. Platelet-derived growth factor: A key factor in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy and potential target for treatment. *Eur Thyroid J* 2014;3(4):217–226.
8. Jyonouchi SC, Valyasevi RW, Harteneck DA, Dutton CM, Bahn RS. Interleukin-6 stimulates thyrotropin receptor expression in human orbital preadipocyte fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *Thyroid*. 2001;11(10):929–934.
9. Iyer S, Bahn RS. Immunopathogenesis of Graves' ophthalmopathy: the role of the TSH receptor. *Clin Endocrinol Metab* 2015;26(3):213–223.
10. Krieger CC, Neumann S, Marcus-Samuels B, Gershengorn MC. TSHR/IGF-1R cross-talk, not IGF-1R stimulating antibodies, mediates Graves' ophthalmopathy pathogenesis. *Thyroid* 2017;27(5):746–747.
11. Smith TJ, Koumas L, Gagnon A, Bell A, Sempowski GD, Phipps RP, et al. Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(1):385–392.
12. Shen J, Li Z, Li W, Ge Y, Xie M, Lv M, et al. Th1, Th2, and Th17 cytokine involvement in thyroid associated ophthalmopathy. *Dis Markers* 2015;2015(5):39–45.
13. Wakelkamp IM, Gerding MN, Van Der Meer JWC, Prummel MF, Wiersinga WM. Both Th1- and Th2-derived cytokines in serum are elevated in Graves' ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 2000;121(3):453–457.
14. Shan SJ, Douglas RS. The pathophysiology of thyroid eye disease. *J Neuro-Ophthalmology* 2014;34(2):177–185.
15. Wilson C, Agafonov R, Hoemberger M, Kutter S, Zorba A, Halpin J, et al. Risk factors for developing thyroid-associated ophthalmopathy among individuals with Graves' disease. *JAMA Ophthalmol* 2015;133(3):290-296.
16. Stan MN, Bahn RS. Risk factors for development or deterioration of Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 2010;20(7):777–783.
17. Kim JM, LaBree L, Levin L, Feldon SE. The relation of Graves' ophthalmopathy to circulating thyroid hormone status. *Br J Ophthalmol* 2004;88(1):72–74.
18. Eckstein AK, Lax H, Losch C, Glowacka D, Plicht M, Mann K. TSH receptor antibodies: risk of recurrence and orbitopathy. *Clin Endocrinol* 2007; 67(10):607-612
19. Almqvist S, Algvere P. Hypothyroidism in progressive ophthalmopathy of Graves' disease. *Acta ophthalmol* 1972;5(2): 761–770.
20. Dutta D, Kumar M, Mukhopadhyay S, Chowdhury S. Graves' Orbitopathy precipitated by iatrogenic hypothyroidism secondary to Carbimazole for Graves' disease. *Indian J Pediatr* 2014; 81(11):1244–1245.
21. Tallstedt L, Lundell G, Turring O, Wallin G, Ljunggren JG, Blomgren H, Taube A. Occurrence of ophthalmopathy after treatment for Graves' hyperthyroidism. *N Engl J Med* 2013; 326(26):1733–1738.
22. Bartalena L, Marcocci C, Bogazzi F, Manetti L, Tanda ML, Dell'Unto E, et al. Relation between therapy for hyperthyroidism and the course of Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 1998;338(2):73–78.

23. Ponto K, Zang S, Kahaly GJ. The tale of radioiodine and Graves' orbitopathy. *Thyroid* 2010;20(7):785–793.
24. Shiber S, Stiebel-Kalish H, Shimon I, Grossman A, Robenshtok E. Glucocorticoid regimens for prevention of Graves' ophthalmopathy progression following radioiodine treatment: Systematic review and meta-analysis. *Thyroid* 2014;24(10):1515–1523.
25. Lai A, Sassi L, Compri E, Marino F, Sivelli P, Piantanida E, et al. Lower dose prednisone prevents radioiodine-associated exacerbation of initially mild or absent Graves' orbitopathy: A retrospective cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(3):1333–1337.
26. Watanabe N, Noh JY, Kozaki A, Iwaku K, Sekiya K, Kosuga Y, et al. Radioiodine-associated exacerbation of Graves' orbitopathy in the Japanese population: Randomized prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(7):2700–2708.
27. Bartalena L, Baldeschi L, Boboridis K, Eckstein A, Kahaly GJ, Marcocci C, et al. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves' orbitopathy guidelines for the management of Graves' orbitopathy. *Eur Thyroid J* 2016; 55:9–269.
28. Ludgate M, Baker G. Unlocking the immunological mechanisms of orbital inflammation in thyroid eye disease. *Clin Exp Immunol* 2002;127(2):193–198.
29. Sadeghi-Tari A, Jamshidian-Tehrani M, Nabavi A, Sharif-Kashani S, Elhami E, Hassanpour N, et al. Effect of smoking on retrobulbar blood flow in thyroid eye disease. *Eye* 2016; 30(12):1573–1578.
30. Bartalena L, Piantanida E. Cigarette smoking: number one enemy for Graves' ophthalmopathy. *Pol Arch Med Wewn* 2016;126(10):725–726.
31. Eckstein A, Quadbeck B, Mueller G, Rettenmeier AW, Hoermann R, Mann K, et al. Impact of smoking on the response to treatment of thyroid associated ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol* 2003;87(6):773–776.
32. Pfeilschifter J, Ziegler R. Smoking and endocrine ophthalmopathy: impact of smoking severity and current vs lifetime cigarette consumption. *Clin Endocrinol* 1996;45(4):477–481.
33. Novaes P, Diniz Grisolia AB, Smith TJ. Update on thyroid-associated ophthalmopathy with a special emphasis on the ocular surface. *Clin Diabetes Endocrinol* 2016;2(1):2–19.
34. Wiersinga WM, Kahaly GJ (eds). Graves' orbitopathy: A multidisciplinary approach - questions and answers. *Basel, Karger*, 2017, pp 202–206.
35. Kashkouli MB, Aghamirsalim M, Karimi N, Shahrzad S. Autoimmune hyperthyroidism and thyroid eye disease: What is the role of pro-oxidants and antioxidants? *Expert Rev Ophthalmol* 2015; 10(2):135–143.
36. Tsai C, Wu S, Kao S, Kau H, Lee F, Wei Y. The protective effect of antioxidants on orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy in response to oxidative stress. *Mol Vis* 2013;19(4):927–34.
37. Rotondo Dottore G, Leo M, Casini G, Latrofa F, Cestari L, Sellari-Franceschini S, et al. Anti-oxidant actions of selenium in orbital fibroblasts: a basis for the effects of selenium in Graves' orbitopathy. *Thyroid* 2016;27(2):271–278.
38. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M, et al. Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med* 2011;364(20):1920–1931.
39. Aktaran, Akarsu E, Erba ci, Araz M, Okumu S, Kartal M. Comparison of intravenous methylprednisolone therapy vs. oral methylprednisolone therapy in patients with Graves' ophthalmopathy. *Int J Clin Pract* 2006;61(1):45–51.
40. Kahaly GJ, Pitz S, Hommel G, Dittmar M. Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5234–5240.
41. Bartalena L, Krassas GE, Wiersinga W, Marcocci C, Salvi M, Daumerie C, et al. Efficacy and safety of three different cumulative doses of intravenous methylprednisolone for moderate to severe and active Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(12):4454–4463.
42. Zang S, Ponto KA, Kahaly GJ. Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: Efficacy and morbidity. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(2):320–332.
43. Marcocci C, Watt T, Altea MA, Rasmussen AK, Feldt-Rasmussen U, Orgiazzi J, et al. Fatal and non-fatal adverse events of glucocorticoid therapy for Graves' orbitopathy: A questionnaire survey among members of the European Thyroid Association. *Eur J Endocrinol* 2012;166(2):247–253.
44. Miskiewicz P, Kryczka A, Ambroziak U, Rutkowska B, G ywczy ska R, Opolski G, et al. Is high dose intravenous methylprednisolone puls therapy in patients with Graves' orbitopathy safe? *Endokrynol Pol.* 2013;65(4):319–327.
45. Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C. Management of Graves' ophthalmopathy : reality and perspectives. *Endocr Rev* 2007;21(2):168–199.
46. Gorman C, Garrity J, Fatourehchi V. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study of orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *Ophthalmology* 2001;108(9):1523–1534.
47. Prummel MF, Berghout A, Wiersinga WM, Mourits MP, Koornneef L, Blank L. Randomised double-blind trial of prednisone versus radiotherapy in Graves' ophthalmopathy. *Lancet*. 1993; 342(8877):949–954.
48. Bartalena L, Marcocci C, Chiovato L, Laddaga M, Lepri G. Orbital cobalt irradiation combined with systemic corticosteroids for Graves' ophthalmopathy: comparison with systemic corticosteroids alone. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56(6):1139–1144.
49. Marcocci C, Bartalena L, Bogazzi F, Bruno-Bossio G, Lepri A, Pinchera A. Orbital radiotherapy combined with high dose systemic glucocorticoids for Graves' ophthalmopathy is more effective than radiotherapy alone: results of a prospective randomized study. *J Endocrinol Invest* 1991;14(10):853–860.
50. Marcocci C, Bartalena L, Tanda ML, Manetti L, Dell'Unto E, Rocchi R, et al. Comparison of the effectiveness and tolerability of intravenous or oral glucocorticoids associated with orbital radiotherapy in the management of severe Graves' ophthalmopathy: results of a prospective, single-blind, randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;86(8):3562–3567.
51. Bartalena L, Marcocci C, Pinchera A. Orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1):13–14.
52. Johnson K, Wittig A, Loesch C, Esser J, Sauerwein W, Eckstein AK. A retrospective study on the efficacy of total absorbed orbital doses of 12, 16 and 20 Gy combined with systemic steroid treatment in patients with Graves' orbitopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248(1):103–109.
53. Tanda ML, Bartalena L. Efficacy and safety of orbital radiotherapy for Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(11):3857–3865.
54. Marcocci C, Bartalena L, Rocchi R, Marin M, Menconi F, Morabito E, et al. Long-term safety of orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88 (8):3561–3566.
55. Favre H, Miescher PA, Lemoine R. Use of cyclosporine in the treatment of autoimmune disorders. *Transplant Proc* 1994; 26(6):3194–3196.
56. Bartalena L, Marcocci C, Pinchera A. Treating severe Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol Metab* 1997; 11(3):521–536.
57. Weetman A, Ludgate M, Mills P, Mcgregor A, Beck L, Lazarus J, et al. Cyclosporin improves Graves' ophthalmopathy. *Lancet* 1983;322(8):486–489.
58. Kahaly GJ, Schrezenmeier J, Krause U, Schweikert B, Meuer S, Muller W, et al. Cyclosporin and prednisone vs. prednisone in treatment of Graves' ophthalmopathy: a controlled, randomized and prospective study. *Eur J Clin Invest* 1986; 16(5):415–422.
59. Prummel MF, Mourits MP, Berghout A, Krenning EP, van der Gaag R, Koornneef L, et al. Prednisone and cyclosporine in the treatment of severe Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 1989;321(20):1353–1359.
60. Ginter A, Migliori ME. The role of biological agents and immunomodulators in treatment strategies for thyroid eye disease: an evidence-based review. *R I Med J* 2016;99(6):26–30.
61. Fassi D El, Nielsen CH, Hasselbalch HC, Hegedьs L. Treatment-resistant severe active Graves' ophthalmopathy success

fully treated with B-lymphocyte depletion. *Thyroid* 2006; 16(7):709-710.

62. **Chong K, Khanna D, Afifiyan NF, Hwang CJ, Lee DK, Garneau HC, et al.** Rituximab treatment of patients with severe, corticosteroid-resistant thyroid-associated ophthalmopathy. *Ophthalmology* 2011;117(1):133-139.

63. **Salvi M, Vannucchi G, Currm N, Campi I, Covelli D, Dazzi D, et al.** Efficacy of B-cell targeted therapy with Rituximab in patients with active moderate to severe Graves' orbitopathy: A randomized controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(2):422-431.

64. **Stan MN, Garrity JA, Carranza Leon BG, Prabin T, Bradley EA, Bahn RS.** Randomized controlled trial of Rituximab in patients with Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(2):432-441.

65. **Descotes J.** Immunotoxicity of monoclonal antibodies. *Landes Biosci* 2009;1(2):104-111.

66. **Van Vollenhoven RF, Emery P, Bingham CO, Keystone EC, Fleischmann RM, Furst DE, et al.** Long-term safety of Rituximab in rheumatoid arthritis: 9.5-year follow-up of the global clinical trial programme with a focus on adverse events of interest in RA patients. *Ann Rheum Dis* 2013;72(9):1496-1502.

67. **Ebner R, DeVoto MH, Weil D, Bordaberry M, Mir C, Martinez H, et al.** Treatment of thyroid associated ophthalmopathy with periocular injections of triamcinolone. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(11):1380-1386.

68. **Lee SJ, Rim TH, Jang SY, Kim CY, Shin DY, Lee EJ, et al.** Treatment of upper eyelid retraction related to thyroid-associated ophthalmopathy using subconjunctival triamcinolone injections. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251(1):261-270.

69. **Krassas GE, Heufelder A.** Immunosuppressive therapy in patients with thyroid eye disease: an overview of current concepts. *Eur J Endocrinol* 2001;144(4):311-318.

70. **Bartalena L, Tanda ML, Medea A, Marcocci C, Pinchera A.** Novel approaches to the management of Graves' ophthalmopathy. *Hormones* 2002;1(2):76-90.

71. **Antonelli A, Saracino A, Alberti B, Laddaga M, Baschieri L.** High-dose immunoglobulin treatment in Graves' ophthalmopathy. *Acta Endocrinol* 1992;126(14):13-23.

72. **Bahn RS.** Graves' Ophthalmopathy. *N Engl J Med* 2010; 362(8):726-738.

73. **Krassas GE.** Somatostatin analogues in the treatment of thyroid eye disease. *Thyroid* 1998;8(5):443-445.

74. **Krassas GE, Dumas A, Pontikides N, Kaltsas T.** Somatostatin receptor scintigraphy and octreotide treatment in patients with thyroid eye disease. *Clin Endocrinol* 1995;42(6):571-580.

75. **Krassas GE, Tzotzas T, Papazisis K, Pazaitou-Panayiotou K, Boboridis K.** The efficacy of somatostatin analogues in the treatment of diabetic retinopathy and thyroid eye disease. *Clin Ophthalmol* 2007;1(3):209-215.

76. **Stamato FJ da C, Wolosker A, Manso PG, Wolosker A, Rodrigues de Paiva E, Lopes A, et al.** Colchicine in the treatment of the inflammatory phase of Graves' ophthalmopathy: a prospective and randomized trial with prednisone. *Arq Bras Oftalmol* 2006;69(6):811-816.

77. **Bartalena L.** Graves' orbitopathy: imperfect treatments for a rare disease. *Eur Thyroid J* 2013;2(4):259-269.

78. **Patel P, Khandji J, Kazim M.** Recurrent thyroid eye disease. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2015;31(6):445-448.

79. **Sabini E, Leo M, Mazzi B, Rocchi R, Latrofa F, Nardi M, et al.** Does Graves' orbitopathy ever disappear? Answers to an old question. *Eur Thyroid J* 2017;6(5):263-270.

80. **Laban-Guceva N, Bogoev M.** Serum concentrations of interleukin (IL)-1alpha, 1beta, 6 and tumor necrosis factor (TNF)-alpha in patients with thyroid eye disease (TED). *Med Arh* 2007;61(4):203-206.

81. **Paridaens D, van den Bosch WA, van der Loos TL, Krenning EP, van Hagen PM.** The effect of etanercept on Graves' ophthalmopathy: a pilot study. *Eye* 2005;19(12):1286-1289.

82. **Durrani OM, Reuser TQ, Murray PI.** Infliximab: A novel treatment for sight-threatening thyroid associated ophthalmopathy. *Orbit* 2005;24(2):117-119.

83. **Komorowski J, Jankiewicz-Wika, Siejka A, Lawnicka H, K ysik A, Go R, et al.** Monoclonal anti-TNFalpha antibody (infliximab) in the treatment of patient with thyroid associated ophthalmopathy. *Klin Ocz* 2007;109(10):457-460.

84. **Ayabe R, Rootman DB, Hwang CJ, Ben-Artzi A, Goldberg R.** Adalimumab as steroid-sparing treatment of inflammatory-stage thyroid eye disease. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2014; 30(5):415-419.

85. **Smith TJ, Kahaly GJ, Ezra DG, Fleming JC, Dailey RA, Tang RA, et al.** Teprotumumab for thyroid-associated ophthalmopathy. *N Engl J Med* 2017;376(18):1748-1761.

86. **Kumar S, Schiefer R, Coenen MJ, Bahn RS.** A stimulatory thyrotropin receptor antibody (M22) and thyrotropin increase interleukin-6 expression and secretion in Graves' orbital preadipocyte fibroblasts. *Thyroid* 2010;20(1):59-65.

87. **Púrez-Moreiras JV, Blvarez-Lypez A, Gymez EC.** Treatment of active corticosteroid-resistant Graves' orbitopathy. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2014;30(2):162-167.

88. **Russell DJ, Wagner LH, Seiff SR.** Tocilizumab as a steroid sparing agent for the treatment of Graves' orbitopathy. *Elsevier Ltd*; 2017;7(9):146-148.

89. **Neumann S, Eliseeva E, McCoy J, Napolitano G, Giuliani C, Monaco F, et al.** A new small-molecule antagonist inhibits Graves' disease antibody activation of the TSH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(2):548-554.

90. **Neumann S, Pope A, Geras-Raaka E, Raaka BM, Bahn RS, Gershengorn MC.** A drug-like antagonist inhibits thyrotropin receptor-mediated stimulation of cAMP production in Graves' orbital fibroblasts. *Thyroid* 2012;22(8):839-843.

91. **Turcu AF, Kumar S, Neumann S, Coenen M, Iyer S, Chiriboga P, et al.** A small molecule antagonist inhibits thyrotropin receptor antibody-induced orbital fibroblast functions involved in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(5):2153-2159.

92. **Neumann S, Nir EA, Eliseeva E, Huang W, Marugan J, Xiao J, et al.** A selective TSH receptor antagonist inhibits stimulation of thyroid function in female mice. *Endocrinology* 2014;155(1):310-314.

93. **van Steensel L, Paridaens D, Schrijver B, Dingjan GM, van Daele PL, van Hagen PM, et al.** Imatinib mesylate and AMN107 inhibit PDGF-signaling in orbital fibroblasts: A potential treatment for Graves' ophthalmopathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50(7):3091-3098.

94. **Draman MS, Grennan-Jones F, Zhang L, Taylor P, Tun T, McDermott J, et al.** Effects of Prostaglandin F2 on adipocyte biology relevant to Graves' orbitopathy. *Thyroid* 2013;23(12):1600-1608.

95. **Ha J, Zunz E, Sagili S.** Effect of latanoprost on thyroid orbitopathy. *Expert Rev Ophthalmol* 2017;12(6):437-441.

Address for correspondence:

Д-р Мария Стойнова,

Клиника по Диабетология, Клиничен център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ), Медицински университет, София Ул. „Здраве“ 2, София 1431, България e-mail: mariya.stoynova@abv.bg

Mariya Stoynova, MD

Department of Diabetology, Clinical Centre of Endocrinology and Gerontology, MU, Sofia Zdrave str. № 2, Sofia 1431, Bulgaria e-mail: mariya.stoynova@abv.bg

Бъбречни увреждания при първичен хиперпаратиреоидизъм

Иванова, Гергана Т., Шинков, Александър Д., Ковачева, Русанка Д.

Трета клиника по ендокринология и болести на обмяната, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, Клиничен център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ), Медицински Университет, София

Renal Complications in Primary Hyperparathyroidism

Ivanova, Gergana T., Shinkov, Alexander D., Kovatcheva, Roussanka D.

Third clinic of endocrinology and metabolic diseases, USHATE „Acad. Ivan Penchev“, Clinical Center of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

Резюме

Първичният хиперпаратиреоидизъм (ПХПТ) представлява състояние на свръхпроизводство на паратхормон в резултат на хиперплазия или формиране на аденом на една или повече паращитовидни жлези. Той е едно от най-честите ендокринни заболявания, чието диагностициране в ранен етап е особено важно за предотвратяване развитието на усложнения. ПХПТ е по-чест сред женския пол като спорадичните случаи са по-често срещани от фамилните форми. Засягането на повече от една паращитовидна жлеза изисква генетични изследвания за уточняване на наличните мутации. Основната роля на паратхормона в организма е свързана с увеличаване на калциемията чрез ускоряване на костната резорбция, стимулиране на синтеза на калцитриол в бъбрека и увеличаване на интестиналната резорбция на калций. ПХПТ предизвиква хиперкалциемия и последваща хиперкалциурия, които стават причина за калциеви отлагания в бъбреците, водещи до нефролитиаза, нефрокалциноза, ендотелно увреждане и бъбречна недостатъчност. Ранното откриване на заболяването и уточняването на формата на ПХПТ е от основно значение за прогнозата и правилното терапевтично поведение. Редица факти остават неясни в патогне-

Abstract

Primary hyperparathyroidism (PHPT) is a condition of parathyroid hormone overproduction resulting from hyperplasia or adenoma of one or more parathyroid glands. It is one of the most common endocrine disorders and early diagnosis is critical for the prevention of disease complications. Primary hyperparathyroidism affects predominantly women and the sporadic forms of the disease are more common than the familial forms. The involvement of multiple parathyroid glands needs additional genetic tests in search of possible mutations. The main function of PTH in the body is the maintenance of serum calcium levels through increase in faster bone resorption and calcium intestinal absorption as well as stimulation of calcitriol synthesis in the kidney. Primary hyperparathyroidism causes hypercalcemia and hypercalciuria with calcium deposition in the kidneys, stone formation, nephrocalcinosis, endothelial damage and chronic kidney failure. The early diagnosis of PHPT is important for prognosis and proper treatment. Multiple factors in the pathogenesis and clinical course of the disease remain elusive. The factors that lead to nephrolithiasis and kidney damage in some but not all of the patients with primary hyperparathyroidism are of much interest. The

незата и клиничното протичане на заболяването. Интерес представляват факторите, предразполагащи към развитие на конкретни и бъбречно увреждане при едни пациенти с ПХПТ, но не и при други. Допуска се участието и взаимодействието на разнообразни локални и генетични механизми, които са разгледани в настоящия обзор.

Ключови думи:

първичен хиперпаратиреоидизъм, хронично бъбречно заболяване, нефролитиаза.

Увод

Първичният хиперпаратиреоидизъм (ПХПТ) е третото най-често ендокринно заболяване след захарния диабет и заболяванията на щитовидната жлеза. В повечето случаи протича безсимптомно или олигосимптомно и остава нелекувано. Последните проучвания сочат увеличаване честота на диагностицирането му, което е свързано с подобряване на рутинния скрининг на показателите на калциево-фосфорната обмяна сред популацията. Ранното му диагностициране намалява риска от развитие на тежки, инвалидизиращи усложнения, които настъпват при неразпознато заболяване и ненавременен лекувани пациенти.

ПХПТ протича с повишени стойности на серумен калций (Са) и паратхормон (ПТХ). Засяга женския пол спрямо мъжкия в отношение 3:1, като се среща приблизително при 1:500 жени и при 1:2000 мъже и зачестява с възрастта (1). Около 80-85% от случаите се дължат на единичен паратиреоиден аденом, в около 15-20% се установява повече от една увеличена жлеза и в около 1% от случаите е налице паратиреоиден карцином. Етиологията на аденомите остава ненапълно изяснена (2).

Заболяването се среща спорадично или като част от наследствени синдроми. Фамилните форми на заболяването са: синдром на множествена ендокринна неоплазия (MEN 1 или MEN 2a), синдром на хиперпаратиреоидизъм (ХПТ) и тумори на челюстта (HPT-jaw tumor syndrome) или фамилен изолиран ХПТ. Фамилната хипокалциурична хиперкалциемия и неонаталният тежък ХПТ са по-особени форми, които принадлежат към тази група заболявания. От молекулярно-генетична гледна точка MEN 1

participation and interaction of various local and genetic mechanisms are discussed in the review.

Key words:

primary hyperparathyroidism, chronic renal failure, nephrolithiasis

се дължи на инактивираща мутация на тумор-супресорния ген MEN 1, който е локализиран на 11q13 хромозома и кодира белтък, наречен менин (3). MEN 2 се причинява от мутация на RET протоонкогена на хромозома 10. Мутацията при синдрома на ХПТ и тумори на челюстта е локализирана на 1q хромозома, докато фамилният изолиран ХПТ е хетерогенен. Свъръхекспресията на cyclin D1/PRAD1 онкогена се асоциира със спорадичните аденоми, докато мутациите в гена за MEN 1 могат да се установят както при фамилни, така и при спорадични паратиреоидни аденоми, но не и при паратиреоидния карцином (4).

Клинично значение на ПХПТ

ПХПТ е хронично заболяване, което често се развива в продължение на десетилетия преди да бъде открито. Клиничните прояви се дължат на хроничната хиперкалциемия и хипофосфатемия, на продължителната усилена костна резорбция и в част от случаите – на увеличена уринна Са-екскреция. Основен прицелен орган, върху който ПТХ оказва биологичното си действие, е бъбрекът, който е и обект на увреждане при ХПТ.

Физиологично действие на ПТХ на ниво бъбрек

В бъбрека се филтрират ежедневно около 250 mmol Са-йони. Повечето от тях се реабсорбират при преминаването през тубулите, като около 5 mmol дневно се екскретират в отделената урина. Около 60-70% от филтрирания Са се реабсорбира в проксималните тубули, 20% в бримката на Henle, 10% в дисталната бримка и 5% в събирателните тубули (5).

Хомеостаза на калция в бъбрека на ниво бъбрек

Плазмената калциева концентрация се определя от ПТХ, витамин Д, калцитонин и йонизиран Са. Бъбреците имат основна роля в регулацията на серумния Са чрез контрола върху Са-екскреция. Повече от 95% от филтрирания Са се реабсорбира в бъбречните тубули (6).

В проксималните тубули се реабсорбира около 60% от филтрирания Са посредством пасивен транспорт паралелно с натрия и водата. Основна роля играе парацелуларният Са-канал, който вероятно се формира от клаудин 2, концентриран в междуклетъчното пространство и експресиран по базолатералната мембрана на проксималните тубулни клетки.

Около 15% се реабсорбират чрез парацелуларна дифузия с помощта на клаудин 16 във възходящото рамо на бримката на Henle. Клаудин 16 (парацелин 1) е протеин, който се експресира в междуклетъчното пространство и формира магнезиев канал в тази част на тубулния апарат. Мутациите на клаудин 16 са свързани с хиперкалциурия, нефрокалциноза и хипомагнезиемия. Тези открития подкрепят факта, че клаудин 16 е не само основен магнезиев канал, но функционира и като парацелуларен Са-канал във възходящото рамо.

Регулацията на процеса се осъществява посредством взаимодействие на различните клаудини, разположени в този сегмент. Освен клаудин 16, основно участие в реабсорбцията имат също клаудин 14 и клаудин 19 (7). Тяхното взаимодействие определя размера на калциурията. Експресия на клаудин 16 се установява основно в широката част на възходящото рамо. Локализацията му съвпада с локализацията на клаудин 19. Двата протеина формират йонен канал за парацелуларен пренос на магнезиеви и Са йони. Клаудин 14 се локализира също в широката част на възходящото рамо и модулира действието на парацелуларните Са-каналы. Той е идентифициран като рисков фактор за развитието на хиперкалциурична нефролитиоза. При експерименти с животински модели, при които е приложена нискокалциева диета, се установяват ниски стойности на клаудин 14, докато при увеличаване на диетичния прием на Са нивото му нараства правопрпорционално. Едновременно експресията на клаудин 14 и клаудин 16 води до намален пермеабилитет на йонните канали, формирани от клаудин 16 и клаудин 19. Регулацията на клаудин 14 се осъществява посредством Са-рецептор.

Екстрацелуларният Са регулира експресията на двете микро-РНК miR-9 и miR-374, които контролират действието на клаудин 14 на посттранскрипционно ниво чрез РНК заглушаване на гена на клаудин 14 CLDN14 (8). При нормални условия двете микро-РНК инхибират генната експресия на клаудин 14 и предпазват клаудин 16 и 19 от неговото потискащо действие. Асоциацията на клаудин 14 с хиперкалциурична нефролитиоза може да бъде обяснена с избягването на потискащия механизъм на двете микро-РНК и намаляване на активността на парацелуларните канали, формирани от клаудин 16 и 19. Активацията на Са-рецептор увеличава експресията на клаудин 14, който намалява пропускливостта на парацелуларните йонни канали. Сигналният механизъм включва намаляване на активността на калциневрина, фосфатаза, която нормално повишава нивата на miR-9 и miR-374. Установяването на мутации в гена CLDN14 е възможно причина за развитие на нефролитиоза в популацията като цяло и в някои от случаите на ПХПТ.

Калциевият рецептор е член на G-протеин-свързаните рецептори и се намира върху тубулните и парацитовидните клетки. В бъбрека експресията на Са-рецептор е най-висока в широката част на възходящото рамо на бримката на Henle. Калциевият рецептор в базолатералната мембрана на възходящото рамо на бримката на Henle долавя промените в йонизирания Са и регулира неговата реабсорбция независимо от действието на ПТХ и витамин Д.

Фината регулация на Са-екскреция настъпва в дисталните и свързващите тубули, независимо че там се осъществява само 10-15% от реабсорбцията на филтрирания Са (9). Ключова роля в този процес имат TRPV5 и TRPV6. Те представляват йонни канали, разположени по апикалната мембрана на тубулните клетки, и осъществяват преминаването на Са от лумена към клетката. Двата транспортера пренасят Са-йони от лумена към интрацелуларното пространство срещу електрохимичен и концентрационен градиент. Регулацията на TRPV5 и TRPV6 се осъществява на ниво генна транскрипция, транспорт между цитоплазмата и плазмалемата и активирани на йонния канал. Смята се, че ПТХ увеличава броя и активността на TRPV5 рецепторите посредством посттранскрипционни механизми. Има данни, че калцитриол също участва в регулацията на двата транспортни белтъка.

Преносът на Са-йони през цитоплазмата до Na²⁺/Ca²⁺ обменник и плазмената калциева АТФ-аза се осъществява от калбиндин D28. Na²⁺/Ca²⁺ обменник се намира на базолатералната мембрана и действа като изход за Са към

интерстициалното пространство (6). Освен ПТХ и витамин Д, диуретиците и естрогените също повлияват Са-каналите. Друг елемент в регулацията на Са-метаболизъм са Klotho и FGF 23. Комплексът FGF23/klotho/FGF-R1 увеличава експресията на TRPV5 на апикалната мембрана. Има данни освен това, че Klotho се свързва с TRPV5, увеличава активността и намалява клирънса му, с резултат засилване реабсорбцията на Са. От друга страна, комплексът FGF23/klotho/FGF-R1 потиска 1-алфа-хидроксилацията на витамин Д в проксималния тубул.

Ацидозата увеличава хиперкалциурията като намалява Са-реабсорбцията в проксималните и дисталните тубули.

Хомеостаза на неорганичните фосфати в бъбрека и роля на ПТХ

ПТХ потиска фосфатната реабсорбция в бъбрека, което води до намаляване на фосфатната плазмена концентрация (10). Фосфатната реабсорбция в проксималните тубули основно се осъществява посредством два натриево-зависими фосфатни котранспортера (NaPi-IIa и NaPi-IIc), които се експресират основно върху апикалната мембрана на тубулните клетки в проксималните тубули. ПТХ се свързва със собствения си рецептор върху клетъчната мембрана, което намалява активността на NaPi-IIa и NaPi-IIc чрез елиминиране на транспортерите от мембраната посредством клатринови гранули. След ендокринозата NaPi-IIa се транспортира до лизозомите, където подлежи на деградация.

Паралелно клирънсът на фосфатните транспортери, съответно фосфатурезата, се усилва от свързването на FGF23 с klotho/FGF-R1. Интересен факт е, че при липса на ПТХ, например при хипопаратиреоидизъм, фосфатурезата спада, независимо от наличието на FGF23.

Други бъбречни ефекти на ПТХ

ПТХ е ключов регулатор на активността на 25-ОН-холекалциферол 1-алфа хидроксилазата в проксималния тубул. Той стимулира активността на ензима и конверсията на 25-ОН-холекалциферол в 1,25(ОН)₂ витамин Д (калцитриол). Калцитриолът увеличава Са реабсорбцията в гастроинтестиналния тракт (11).

Бъбречна функция при пациенти с ПХПТ

ПХПТ е смятан за рисков фактор за увреждане на бъбречната функция, въпреки че връзката с напредването на състоянието не е напълно

изяснена. Продължителното въздействие на хиперкалциемията уврежда бъбречната функция и при тежките форми на заболяването често се наблюдава намалена гломерулна филтрация (12-13). Според резултатите от някои проучвания върху пациенти с асимптоматичен ПХПТ и здрави контроли серумният креатинин при поставянето на диагнозата има предиктивна стойност по отношение на тригодишната смъртност. Също така рискът за развитие на хронично бъбречно заболяване и бъбречни конкременти се увеличава между 13,8 и 5,1 пъти (14-16).

При пациентите с ПХПТ се описват голям брой рискови фактори, които допринасят за развитие на бъбречно увреждане:

1) **Възраст:** честотата на заболяването е най-висока при пациенти от женски пол във възрастта между 50-70 години (17). Паралелно с това бъбречната функция обичайно намалява в този възрастов период и експертният панел на KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) препоръчва при гломерулна филтрация <60 ml/min да се обсъжда намалена бъбречна функция при всички лица с или без ПХПТ.

2) **Дехидратация:** вторичната дехидратация, предизвикана от високостепенна хиперкалциемия или осмотични агенти, повишава стойностите на серумния креатинин. При ПХПТ се установява нефрогенен инсипиден диабет.

3) **Бъбречни конкременти:** конкрементите се обсъждат като причина за първично бъбречно увреждане по механизма на тубулоинтерстициално хронично бъбречно заболяване. Някои проучвания демонстрират, че продължителната активация на вътрешните инфлазомози (18) е отговорна за загубата на бъбречна функция при оксалатната нефропатия, която се проявява при пациенти с ПХПТ (19).

4) **Бъбречни кисти:** множествените кисти са често срещани при пациенти с ПХПТ и се наблюдават при около една пета от случаите. Те се проявяват с по-голяма честота при пациенти с ПХПТ отколкото при здрави индивиди (20).

5) **Хронично повишени нива на ПТХ:** повишените стойности на ПТХ увеличават ендотелното увреждане и органната фиброза. Чрез повишена експресия на ПТХ-рецептор 1, установен в гломерулните ендотелни клетки и в клетките на проксималните тубули, се увеличава бъбречната фиброза (21).

6) **Инсулинова резистентност:** ПХПТ е свързан с повишена инсулинова резистентност (22).

7) **Затлъстяване:** масата на паратиреоидните тумори е по-голяма, пред и постоперативните стойности на ПТХ са по-високи и симпто-

мите са по-изразени при пациенти с високостепенно затлъстяване и ПХПТ (23).

8) **Артериална хипертония и други сърдечно-съдови заболявания:** при пациенти с ПХПТ са докладвани с по-голяма честота артериална хипертония, затлъстяване, дислипидемия, захарен диабет тип 2 и коронарна болест на сърцето в сравнение с общата популация (24).

Хроничното бъбречно заболяване се дефинира като намалена гломерулна филтрация за повече от 3 месеца или доказано бъбречно увреждане (25). Маркерите за бъбречно увреждане включват албуминурия, изменения в уринния седимент, електролитни изменения, свързани с тубулни увреждания или структурни промени, установени посредством хистология или визуализиращи методи. Серумният креатинин сам по себе си не определя бъбречната функция. Когато се измерват стойности на креатинин трябва да се преизчисли стойността на гломерулната филтрация. Гломерулна филтрация по-ниска от 60 мл/мин се определя като намалена при пациенти от всяка възраст.

При определяне на гломерулната филтрация с уравнението на Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), базирано на серумния креатинин, хронично бъбречно заболяване се определя при $eGFR_{cr} < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ и е диагностицирано при 13% до 19% от пациентите с ПХПТ между 30 и 80 години. При повечето пациенти е установен 3-ти стадий, докато при 1-2% $eGFR_{cr}$ е $< 30 \text{ mL/min/1,73m}^2$, отговарящо на 4-ти стадий. Пациентите с хронично бъбречно заболяване са в по-напреднала възраст и имат по-ниски серумни нива на калцитриол.

Цистатин С е нискомолекулярен протеин, секретирани от повечето клетки в организма, който се филтрира свободно през гломерулите и се метаболизира в проксималните тубули. Неговото измерване е предложено като по-достоверен тест за определяне на гломерулната филтрация, отколкото серумния креатинин. Измерването на цистатин С диагностицира предклинично бъбречно заболяване в около една шеста от пациентите с ПХПТ с придружаващи затлъстяване, дислипидемия, артериална хипертония и инсулинова резистентност. От такава гледна точка по-нататъшното проучване на цистатин С като потенциален показател за ранно бъбречно увреждане при болни с ПХПТ е обосновано. Освен това, ПХПТ представлява рисков фактор и за развитие на хипертония, затлъстяване и намален глюкозен толеранс, които могат да допринесат за хронично бъбречно заболяване (26).

Според някои проучвания отношението

Са/креатинин е повишено при пациенти с ПХПТ с нефролитиаза в сравнение с пациентите без нефролитиаза (27).

Бъбречни усложнения

Нефрогенен инсипиден диабет

Хипаркалциемията, подобно на хипокалиемията, предизвиква частичен безвкусен диабет (28). Допуска се, че са налице няколко различни механизма. На първо място хиперкалциемията е свързана с намаляване на интрацелуларния аквапорин 2 (AQP2) и потисната транслокация към апикалната мембрана. Нарастването на интрацелуларния Са иницира вътреклетъчна автофагоцитоза и поглъщане на аквапорин 2 и други цитоплазмени протеини. На второ място, намалява експресията на аквапорини 1 и 3 (AQP1 и AQP3) и на натриево-калиево-хлоридния котранспортер (NKCC2) в широката част на възходящото рамо на бримката на Хенле. На трето място при налична хиперкалциурия намалява експресията на AQP2 в събирателните каналчета, вероятно по пътя на активиране на Са-рецептори върху апикалната мембрана. Активирането на една Са-зависима универсална протеаза – калпаин вероятно допълнително увеличава разграждането на AQP2 (29). Освен това, хиперкалциурията при ПХПТ предизвиква промяна в структурните протеини в клетките на събирателните каналчета и развитие на концентрационен дефект.

Нефролитиаза/нефрокалциноза

Отлагането на калцификати в бъбреците под формата на конкременти (нефролитиаза) или дифузни отлагания на калциеви фосфати в паренхимата (нефрокалциноза) са сред най-често срещаните усложнения при ПХПТ и могат да доведат до намалена бъбречна функция.

Нефролитиазата при ПХПТ може да бъде двустранна в 16,4% от случаите. Бъбречни конкременти се откриват в 15% при нормокалциемичните пациенти и в 19% при хиперкалциемичните. Тяжната поява при някои пациенти с доказан ПХПТ е свързана с повишената екскреция на Са (26). Отливъчните конкременти се срещат при пациенти с хиперкалциемия, в по-голям процент при жени. Те представляват най-тежката проява на нефролитиаза. Формирането на бъбречните камъни е сложен и не напълно изяснен процес. Появата им се свързва с формиране на калциево-оксалатни (СаОх) кристали, тяхната нуклеация, агрегация и агломерация (30). Присъствието на множество органични и неорганични компоненти в урината и взаимно-

действието между разнообразни промотори и инхибитори модулира формирането на конкрементите. Задръжката на новообразуваните кристали е ключов фактор. При пациенти с ПХПТ и нефролитиаза са установени както интерстициални апатитни плаки, известни като плаки на Randall, които са често срещани при идиопатичното формиране на бъбречни конкременти, така и интратубулни кристални депозити, характерни за формирането на калциево-фосфатни конкременти. Няколко фактора улесняват преципитацията на кристали: повишена ренална Са- и фосфатна екскреция, повишено ниво на оксалати, намалена цитратна концентрация и увеличена протеинурия. Според някои автори основна роля в патогенезата на нефролитиазата се отнежда на високата урина СаОх екскреция и ниската цитратна сатурация. Количеството филтриран Са в гломерулите се повишава пропорционално на нивата на серумния Са.

ПТХ потиска бикарбонатната реабсорбция в проксималните бъбречни тубули, което води до лекостепенна метаболитна ацидоза (проксимална тубулна ацидоза) (31). Този ефект в повечето случаи се компенсира от освобождаването на алкални остатъци при повишената костна резорбция и от тубулната реабсорбция на бикарбонати, причинена от хиперкалциемията. От друга страна за реналната тубулна ацидоза в проксималните и дистални тубули допринася съпътстващата хиперхлоремия. Обратното развитие на ренална тубулна ацидоза след паратиреоидектомия предполага, че ПХПТ е основна причина за възникването ѝ. Повечето конкременти при ПХПТ са съставени от СаОх, въпреки че леко алкалната урина може да доведе до преципитацията и на калциево-фосфатни кристали.

Мъжкият пол, по-младата възраст и високите нива на витамин Д според някои проучвания също са свързани с по-висок риск от развитие на нефролитиаза. При пациентите в по-млада възраст бъбречният паренхим е със запазена виталност и маса, което предполага по-ниски нива на серумния Р. Тези фактори са от значение за по-високите нива на продуциран калцитриол, който увеличава гастроинтестиналната Са резорбция (32).

Често нефролитиазата предшества установяването на ПХПТ с 10 и повече години. Давността на заболяването е пропорционална на размера на аденома и нивата на серумния Са. В някои от случаите се касае за идиопатична хиперкалциурия, която постепенно довежда до развитие на паратиреоидна хиперплазия. Това

би обяснило развитието на нефрокалциноза години преди поставянето на диагнозата. Персистиращите хиперкалциемия и хиперкалциурия, водят до прогресивно намаляване на филтрационния капацитет и хронично бъбречно увреждане.

През последните 50 години се наблюдава определена клинична еволюция в ПХПТ – намалява честотата на тежките, клинично изяви случаи и нараства тази на случайно откритите и олиго- или безсимптомни, с което намалява и честотата на бъбречни усложнения. Докато проучванията между 1970 г. и 1980 г. сочат бъбречни конкременти при 40-60% от болните, за последните две десетилетия са отбелязани по-ниски стойности – около 10-20% (33,34). Редица проучвания изследват биохимичните различия между пациенти с ПХПТ с бъбречно засягане и тези без налично такова. В част от случаите мъжкия пол и младата възраст са описани като основни рискови фактори за развитие на бъбречни конкременти, докато при други на преден план са поставени степента на хиперкалциурия и гастроинтестинална хиперрезорбция на Са. Също така за състоянието може да допринесе дисбаланс в локалните уринни фактори, които промотират или инхибират развитието на конкременти.

Въпреки че ПТХ повишава тубулната реабсорбция на Са в нефроните, реналната Са екскреция при ПХПТ обикновено е релативно висока. Количеството филтриран Са зависи от калциемията и степента на хиперкалциурията нараства при увеличаването на плазменото Са ниво. Високостепенната хиперкалциурия е важен рисков фактор за развитие на бъбречни конкременти. Остава неясно дали в основата на хиперкалциурията стои повишено Са освобождаване от костите (резорбтивна хиперкалциурия) или повишена гастроинтестинална абсорбция (абсорбтивна хиперкалциурия). Някои проучвания показват повишени плазмени нива на калцитриол и повишен калциуричен отговор при тест с орално обременяване с Са при пациентите с ПХПТ и нефролитиаза в сравнение с тези без нефролитиаза (38). При по-млади пациенти със запазена функционална бъбречна маса синтезът на калцитриол е по-висок, отколкото при по-възрастни пациенти, което увеличава интестиналната Са-абсорбция и степента на хиперкалциурията. В допълнение, при пациентите с формирани бъбречни конкременти са установени по-ниски стойности на плазмените фосфати, което също е възможно да увеличи синтеза на калцитриол при запазен бъбречен паренхим (34).

Според някои проучвания върху пациенти с ПХПТ с и без нефролитиаза се отбелязва повишена уринна концентрация на Са-оксалат и Са-фосфат при пациентите с налични конкременти и по-ниски стойности на серумните фосфати в сравнение с пациентите без конкременти (35). Също така при прием на 1 g Са при пациентите с налична нефролитиаза се отбелязва по-значително увеличение на калциурията. Тези данни подкрепят хипотезата, че хиперкалциурията от повишена гастроинтестинална резорбция на Са е от голямо патогенетично значение при пациентите, склонни към формиране на бъбречни конкременти. Хиперкалциурията може да повиши уринната сатурация на фактори, улесняващи образуването на камъни като повишава концентрацията на Са-оксалат и Са-фосфат при пациентите с конкременти в сравнение с пациентите без конкременти (36-38).

Рискът от развитие на нефролитиаза може да бъде свързан с полиморфизъм в гена за Са рецептор (39). Той е широко разпространен в бъбрека и има важна определяща роля в модулирането на ефекта на ПТХ. Калциевият рецептор има отношение към бъбречната фосфатна хомеостаза, уринната киселинност и уринната концентрация. Пациенти с хаплотип AGQ имат 3.8 пъти по-висок риск за развитие на конкременти. При пациенти с ПХПТ полиморфизмът на Са-рецептор се отразява върху бъбречната Са-екскреция и се свързва с повишен риск от развитие на конкременти.

Бъбречни кисти

Бъбречни кисти се описват при около 5,2-15,2% от общата популация (20). Въпреки, че напредналата възраст и увреждането на бъбречната функция са фактори, които водят до тяхното развитие, ПТХ също има роля. Той стимулира клетъчната пролиферация *in vitro* като активира сигнализацията посредством митоген-активираната протеинкиназа (MAP) (40). ПТХ засилва пролиферацията на тубулни епителни клетки, притежаващи мутация в гена PKD1. PKD1 кодира белтъка полицистин 1, който участва в патогенезата на автозомно-доминантната бъбречна поликистоза. При този модел индуцираното от ПТХ повишаване на интрацелуларния цАМФ стимулира пролиферацията на епителните клетки и натрупването на флуид в кухината на кистите. Бъбречни кисти са докладвани при пациенти с наследствени форми на ПХПТ като синдрома на фон Хипел-Линдау и синдрома на ХТП и тумори на челюстта, но липсват данни при пациенти с класически форми на ПХПТ, като спорадични

агеноми и MEN 1. Corbetta и сътр. от друга страна съобщават бъбречни кисти при над 30% от пациенти с несиндромен ПХПТ и MEN 1, и при 16,2% от лицата без ПХПТ, което предполага възможна връзка на повишените нива на ПТХ с възникването им (20). Честотата на кистите при пациенти с ПХПТ в тяхното проучване е сходна при двата пола за разлика от общата популация, където мъжкия пол преобладава. Бъбречните кисти се срещат при около 30% от пациентите с ПХПТ в 4-то, 5-то и 6-то десетилетие и в 50% при пациенти над 70-годишна възраст. Пациентите с бъбречни кисти в повечето случаи имат по-висока степен на хиперкалциемия, отколкото пациентите без кисти, което предполага роля на трайно увеличеното ниво на ПТХ за формирането им. Липсата на корелация между наличието на нефролитиаза или хиперкалциурия и кистите дава основание на авторите да изключват патогенетична роля на увреждане от конкременти.

Бъбречна фиброза

Процесът на преобразуване на ендотела в мезенхим представлява важно събитие за развитие на фиброзни промени в бъбреците (21,41). Изследването на MinWu и сътр. проучва връзката на повишените нива на ПТХ с преобразуването при първични човешки ренални ендотелни клетки. Авторите установяват, че повишеният ПТХ потиска експресията на ендотелния маркер CD31 и повишава експресията на мезенхимните маркери FSP1 и α -SMA. Освен това, клетките подложени на продължително повишените нива показват структурни и морфологични изменения като превръщане на клетъчната морфология от тип паваж към вретеновидна. Индуцираната от ПТХ фенотипна промяна може да представлява част от механизма на развитие на бъбречна фиброза. Експресията на тип 1 колаген също е повишена под неговото действие. Той увеличава нивата на бета-катенин в ядрото и намалява цитоплазмената експресия на бета-катенин в първични човешки ренални ендотелни клетки. В заключение повишените нива на ПТХ индуцират превръщането на ендотелните в мезенхимни клетки като този процес се осъществява под действието на бета-катениновата транслокация.

Заклучение

Бъбречните увреждания при ПХПТ са чести и водят до нарушена бъбречна функция и влошаване качеството на живот. Развитието на нефролитиаза или нефрокалциноза може допълнително да утежни увреждането на бъбреците. Ранното установяване на заболяването и адекватното му лечение са от особено значение, за да се избегне тежко бъбречно увреждане.

References

1. Chan AK, Duh QY, Katz MH, Siperstein AE, Clark OH. Clinical manifestations of primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. A case-control study. *Ann Surg* 1995; 222 (3): 402-414.
2. Felger EA, Kandil E. Primary hyperparathyroidism. *Otolaryngol Clin North Am* 2010; 43 (2): 417-432.
3. Piecha G, Chudek J, Więcek A. Primary hyperparathyroidism in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Int J Endocrinol* 2010; 2010: 928383.
4. Kim L, Harris E, Krause M. Hyperparathyroidism. *emedicine.medscape.com/article/127351*
5. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10(7): 1257-1272.
6. Jeon US. Kidney and calcium homeostasis. *Electrolyte Blood Press* 2008; 6 (2): 68-76.
7. Hou J. New light on the role of claudins in the kidney. *Organogenesis* 2012; 8(1): 1-9.
8. Gong Y, Renigunta V, Himmerkus N, Zhang J, Renigunta A, Bleich M, et al. Claudin-14 regulates renal Ca⁺⁺ transport in response to CaSR signalling via a novel microRNA pathway. *EMBO J* 2012; 31 (8): 1999-2012.
9. van de Graaf SFJ. Regulation of TRPV5 and TRPV6 by associated proteins. *AJP Ren Physiol* 2006; 290 (6): F1295-1302.
10. Lee M, Partridge NC. Parathyroid hormone signaling in bone and kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18 (4): 298-302.
11. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and vitamin D. *Compr Physiol* 2016; 6 (2): 561-601.
12. Jones DB, Jones JH, Lloyd HJ, Lucas PA, Wilkins WE, Walker DA. Changes in blood pressure and renal function after parathyroidectomy in primary hyperparathyroidism. *Postgr Med J* 1983; 59 (692): 350-353.
13. Kristoffersson A, Backman C, Granqvist K, Jarhult J. Pre- and postoperative evaluation of renal function with five different tests in patients with primary hyperparathyroidism. *J Intern Med* 1990; 227 (5): 317-324.
14. Yu N, Leese GP, Donnan PT. What predicts adverse outcomes in untreated primary hyperparathyroidism? The Parathyroid Epidemiology and Audit Research Study (PEARS). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013; 79 (1): 27-34.
15. Yu N, Donnan PT, Flynn RW, Murphy MJ, Smith D, Rudman A, et al. Increased mortality and morbidity in mild primary hyperparathyroid patients. The Parathyroid Epidemiology and Audit Research Study (PEARS). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 73 (1): 30-34.
16. Yu N, Donnan PT, Leese GP. A record linkage study of outcomes in patients with mild primary hyperparathyroidism: The Parathyroid Epidemiology and Audit Research Study (PEARS). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011; 75 (2): 169-176.
17. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet* 2009; 374 (9684): 145-158.
18. Kurts C. A crystal-clear mechanism of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2013; 84 (5): 859-861.
19. Corbetta S, Baccarelli A, Aroldi A, Vicentini L, G F. Risk factors associated to kidney stones in primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 122-128.
20. Corbetta S, Eller-Vainicher C, Vicente L, Carnicelli S, Sardanelli F, Beck-Peccoz P, et al. High prevalence of simple kidney cysts in patients with primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest* 2009; 32 (8): 690-694.
21. Wu M, Tang RN, Liu H, Ma KL, Lv LL, Liu BC. Nuclear translocation of β -catenin mediates the parathyroid hormone-induced endothelial-to-mesenchymal transition in human renal glomerular endothelial cells. *J Cell Biochem* 2014; 115 (10): 1692-1701.
22. Cvijovic G, Micic D, Kendereski A, Milic N, Zoric S, Sumarac-Dumanovic M, et al. The effect of parathyroidectomy on insulin sensitivity in patients with primary hyperparathyroidism - a never ending story? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2015; 123 (6): 336-341.
23. Adam MA, Untch BR, Danko ME, Stinnett S, Dixit D, Koh J, et al. Severe obesity is associated with symptomatic presentation, higher parathyroid hormone levels, and increased gland weight in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95 (11): 4917-4924.
24. Han D, Trooskin S, Wang X. Prevalence of cardiovascular risk factors in male and female patients with primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest* 2012; 35 (6): 548-552.
25. Tassone F, Gianotti L, Emmolo I, Ghio M, Borretta G. Glomerular filtration rate and parathyroid hormone secretion in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94 (11): 4458-4461.
26. Verdelli C, Corbetta S. Kidney involvement in patients with primary hyperparathyroidism: An update on clinical and molecular aspects. *Eur J Endocrinol* 2017; 176 (1): R39-52.
27. Starup-Linde J, Waldhauer E, Rolighed L, Mosekilde L, Vestergaard P. Renal stones and calcifications in patients with primary hyperparathyroidism: Associations with biochemical variables. *Eur J Endocrinol* 2012; 166 (6): 1093-1100.
28. Khositseth S, Charngkaew K, Boonkrai C, Somporn P, Uwathya P, Chomanee N, et al. Hypercalcemia induces targeted autophagic degradation of aquaporin-2 at the onset of nephrogenic diabetes insipidus. *Kidney Int* 2017; 91 (5): 1070-1087.
29. Hasler U, Martin P, Fe E. Aquaporin-2 abundance in the renal collecting duct: new insights from cultured cell models. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297(1): F10-18.
30. Chung H. The role of Randall plaques on kidney stone formation. *Transl Androl Urol* 2014; 3 (3): 251-254.
31. Muthukrishnan J, Kumar KVSH, Jha R, Jha S, Modi KD. Distal renal tubular acidosis due to primary hyperparathyroidism. *Endocr Pract* 2008; 14 (9): 1133-1136.

32. **Lila AR, Sarathi V, Jagtap V, Bandgar T, Menon PS, Shah NS.** Renal manifestations of primary hyperparathyroidism. *Indian J Endocrinol Metab* 2012; 16 (2): 258–262.
33. **Wu B, Haigh PI, Hwang R, Ituarte PHG, Liu I-LA, Hahn TJ, et al.** Underutilization of parathyroidectomy in elderly patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(9): 4324–4330.
34. **Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L.** Nephrolithiasis and renal calcifications in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96 (8): 2377–2385.
35. **Odvin C V., Sakhae K, Heller HJ, Peterson RD, Poindexter JR, Padalino PK, et al.** Biochemical characterization of primary hyperparathyroidism with and without kidney stones. *Urol Res* 2007; 35 (3): 123–128.
36. **Delellis RA, Mazzaglia P, Mangray S.** Primary Hyperparathyroidism. *N Engl J Med* 2008; 132: 2389–2397.
37. **Broadus AE, Horst RL, Lang R.** The importance of circulating 1,25-dihydroxyvitamin D in the pathogenesis of hypercalciuria and renal-stone formation in primary hyperparathyroidism. *NEJM* 1980; 302 (8): 421–426.
38. **Patron P, Gardin JP, Paillard M.** Renal mass and reserve of vitamin D: Determinants in primary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1987; 31 (5): 1174–1180.
39. **Chou YH, Woon PY, Chen WC, Hsu YW, Chang JM, Hwang DY, et al.** A genetic polymorphism (rs17251221) in the calcium-sensing receptor gene (CASR) is associated with stone multiplicity in calcium nephrolithiasis. *PLoS One* 2011; 6 (9): 8–11.
40. **Cole JA.** Parathyroid hormone activates mitogen-activated protein kinase in opossum kidney cells. *Endocrinology* 1999; 140 (12): 5771–5779.
41. **Guo Y, Yuan W, Wang L, Shang M, Peng Y.** Parathyroid hormone-potentiated connective tissue growth factor expression in human renal proximal tubular cells through activating the MAPK and NF-kappaB signalling pathways. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26 (3): 839–847.

Address for correspondence:

Д-р Гергана Иванова,

УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, КЦЕГ
Ул. „Здраве“ № 2; София, 1431;
e-mail: gergana.tivanova@gmail.com

Dr Gergana Ivanova

USHATE „Acad. Ivan Penchev“, CCEG
Sofia 1431; 2 Zdrave Str.,
e-mail: gergana.tivanova@gmail.com

Асоциация между диабетогенния генотип и основните съдови усложнения на захарния диабет тип 2

Лъчезар Б. Лозанов

Клиника по Вътрешни болести, Отделение по Ендокринология,
Acibadem City Clinic, Токуга Болница, София

Association Between the Diabetogenic Genotype and the Main Vascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus

Lozanov, Lachezar B.

Clinic of Internal Diseases, Department of Endocrinology, Acibadem City Clinic, Tokuda Hospital, Sofia

Резюме

Захарният диабет тип 2 е многофакторно полигенно-детерминирано метаболитно заболяване. Модерните терапевтични стратегии за корекция на хипергликемията и свързаните с нея метаболитни нарушения намаляват риска от микро- и макроаскуларни усложнения, а от там - сърдечно-съдовата заболеваемост и смъртност. Въпреки това, честотата на съдовите усложнения при диабета остава относително висока. В развитието им участват редица генетични фактори, които могат да бъдат определящи, но предварителният риск при конкретните случаи би могъл да бъде прогнозиран. Разбира се, върху тяхната изява влияят и допълнителни фактори, като начинът на живот, хранителният режим, контролът на често съпътстващите захарния диабет дислипопропротеинемия и артериална хипертония. Идентифицирането на генетичните компоненти е една от най-важните области на изследванията в бъдеще. Проучването на основните механизми за изявата на захарния диабет тип 2 и определянето на генетичния риск на различните бъдещи микроаскуларни и макроаскуларни усложнения биха послужили за разработване на нови стратегии за прогнозиране и превенция, а от друга страна, може да бъде прогнозиран ефектът на лечението с определени групи антидиабетни медикаменти.

Abstract

Type 2 diabetes mellitus is a multifactorial polygen-mediated metabolic disorder. The modern therapeutic strategies for control of hyperglycaemia and related metabolic disturbances reduce the risk of micro- and macrovascular complications, cardiovascular morbidity and mortality. However, the incidence of cardiovascular complications in diabetes remains relatively high. Their manifestation involves a number of genetic factors that may be determinant and could be predicted for the preliminary risk of cardiovascular events in any practical cases. Of course, additional factors are important such as lifestyle, diet, control of diabetes, dyslipoproteinemia and arterial hypertension, frequently occurring in diabetics. Identification of the genetic components appears one of the most perspective areas of research in the future. The study of the pathogenetic mechanisms for the expression of type 2 diabetes mellitus and the identification of a genetic risk of various future microvascular and macrovascular complications would serve some new strategies for prognosis, prevention and effective management of patients taking certain groups of antidiabetic medications.

Ключови думи:

захарен диабет тип 2, микроваскуларни и макроваскуларни усложнения, генетичен анализ, геном свързани изследвания

Key words:

Type 2 diabetes mellitus, microvascular and macrovascular complications, genetic analysis, GWAS (Genome-wide association studies)

Захарният диабет тип 2 (Т2ЗД) е многофакторно полигенно-детерминирано метаболитно заболяване, характеризиращо се с наднормено тегло, инсулинова резистентност и бета-клетъчна дисфункция. Поради повишена честота и разпространение на затлъстяването, както и застаряването на населението в глобален мащаб, честотата на Т2ЗД също се увеличава и представлява голяма част от настоящите и бъдещите разходи за здравеопазване в западните общества. Хората, засегнати от Т2ЗД, имат повишен риск от сърдечно-съдови инциденти и последваща по-лоша прогноза, а недобрият контрол на Т2ЗД води до изява на макроваскуларни усложнения, като миокарден инфаркт, инсулт, периферна съдова болест и до микроваскуларни усложнения, като диабетна ретинопатия, диабетна нефропатия и диабетна невропатия.

Терапевтичните стратегии за понижаване на хипергликемията и свързаните с нея метаболитни усложнения, като дислипидемия, съдова дисфункция и високо артериално налягане (1,2) намаляват риска от микро- и макроваскуларни усложнения и доказано намаляват риска от сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност при болните с Т2ЗД (3-10). Остава, обаче, съществен остатъчен риск и въпреки съвременните терапии е налице все още значителна честота на макроваскуларните и микроваскуларните усложнения.

За да се разбере етиологията на Т2ЗД и неговите усложнения са необходими широкомащабни, добре фенотипизирани проучвания с проспективно проследяване. Подобряването на знанията ни за генетичните, биохимичните и екологичните (начина на живот) и антропометричните детерминанти на Т2ЗД и неговите съдови усложнения може да има огромен ефект за превенцията, лечението и прогнозата на Т2ЗД (4, 11, 12).

Т2ЗД е генетично заболяване. Идентифицирането на генетичните компоненти е една от най-важните области на изследванията за Т2ЗД в бъдеще. Кои са класическите доказателства за това:

1. Спектърът на разпространение на Т2ЗД в различните етнически групи. Преобладаването на Т2ЗД варира широко сред населението, от 1% в Чилийските Индианци, 2% сред европейците в Европа до 41% в Науру и 50%

при Пима индианците в Аризона (13). Част от наблюдаваната етническа вариабилност може да бъде приписана на негенетични екологични и културни фактори, а наблюдението, че разпространението на заболяването се различава съществено сред етнически групи, които споделят сходна среда, подкрепя идеята, че генетичните фактори допринасят за предрасположение към заболяването.

2. Фамилна агрегация: освен гени, семействата споделят среди, култура и навици, но фамилното агрегиране на болестта е друг източник на доказателства за генетичния характер на болестта. Доказателство за генетичната роля включва почти 4-кратно увеличаване на риска за Т2ЗД при братя и сестри със само един засегнат родител в сравнение с общата популация (λ_S от 3,5 до 4), OR от 3,4-3,5 и увеличаване в OR до 6,1, ако са засегнати и двамата родители (14).

3. Близначни изследвания: при Т2ЗД са предприети множество близначни проучвания за конкордантност. Оценките за конкордантност варират от 0,29 до 1,00 при монозиготни (MZ) близнаци, докато при дизиготни (DZ) близнаци диапазонът е 0,10-0,43 (15). Конкордантността между близнаците MZ и DZ се увеличава с продължителността на периода на проследяване (16). Високата конкордантност при MZ близнаци и 50-процентното спадане при DZ близнаци предпоставят убедителни доказателства за генетичния компонент при Т2ЗД.

4. Унаследяване на междинни фенотипове: инсулиновата чувствителност и секрецията на инсулин се влошават паралелно при повечето случаи с Т2ЗД. И двата дефекта прогнозират последващ Т2ЗД в няколко проучвания, като и двата дефекта се проявяват в генетично идентични ко-близнаци без диабет (17).

Преди „геномната епоха“ често се твърдяло, че първичният дефект при Т2ЗД е нарушено усвояване на глюкозата в скелетната мускулатура. Все пак, геномните проучвания и множеството физиологични изследвания са документирали значението на инсулиновата секреция от бета-клетъчния апарат в панкреаса, адипоци-

тите като секреторен орган, централната нервна система и черния дроб (18). Генетичните изследвания също така показват, че генетичната етиология на Т2ЗД може да се различава в различни популации, подчертавайки значението на идентифицирането на рисковите фактори за болестта. По-специално, проучванията при изолирани популации с по-малка вариабилност сред субектите могат да предоставят ценна информация, която може да се пропусне при проучвания на хетерогенни популации.

Големи консорциуми като DIAGRAM (Diabetes Genetics Replication And Meta-analysis) и MAGIC (the Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits Consortium), чрез извършени метаанализи на данни от различни проучвания на GWAS (Genome-wide association studies) са идентифицирали множество локуси, които се свързват със захарен диабет и свързаните с него нарушения, предимно при индивиди с европейски произход. В допълнение, тези консорциуми използват данни от специално създадения чип CardioMetabo (Illumina), който съдържа ~ 200 000 единични ядрени полиморфизми (SNPs), които се свързват с метаболитни нарушения (Т2ЗД, дислипопротейемия, затлъстяване или сърдечно-съдово заболяване). Данните от чипа CardioMetabo идентифицират десет нови локуса, свързани с изява на Т2ЗД в европейската популация (19).

Към днешна дата повече от 100 общи генетични варианти, свързани с Т2ЗД, са картографирани в 93 локуса (13, 20). Тези варианти са идентифицирани чрез отделни GWAS и метаанализи, като много по-вероятно е да бъдат открити още в бъдеще, тъй като размерът на извадката и разнообразието се увеличават. Гените, съобщени в тези изследвания са представени във *Фигура 1*.

Тези чести варианти обясняват само около 5-10% от общото предразположение за изявата на Т2ЗД (14, 22). Ясна е необходимостта този тип анализи да се разширят и в допълнителни популации. Добре проучена е асоциацията на 11 известни варианта на генетичен риск с Т2ЗД. Те са в TCF7L2, PPARG-P12A, KCNJ11, FTO, IGF2BP2, DUSP9, CENTD2, THADA, HHEX, CDKAL1, KCNQ1 (20, 23-28).

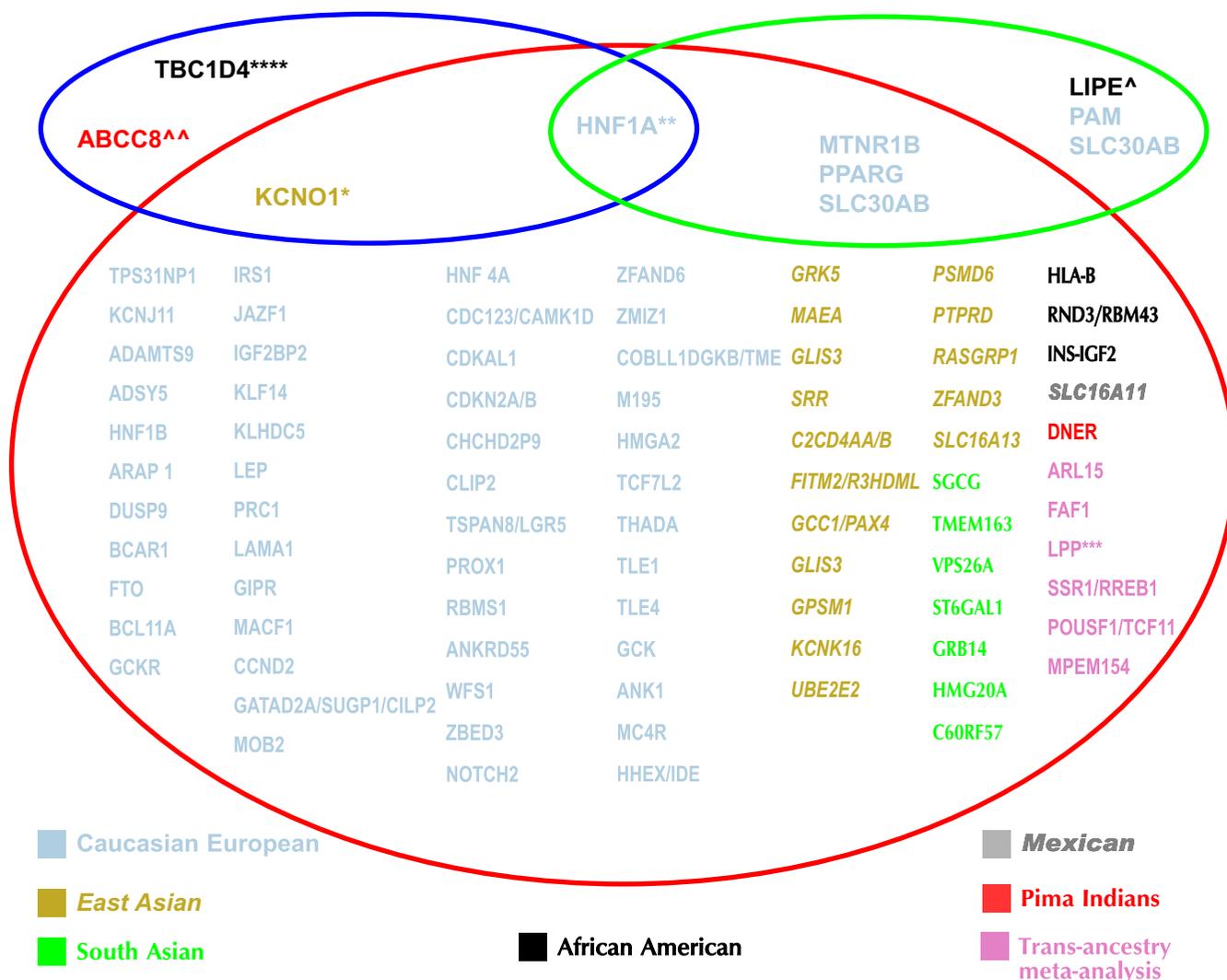
Изследването на генетичния риск за изява на различните усложнения на захарния диабет е изключително важен и интересен въпрос. Проучването на основните механизми на диабет тип 2 и определянето на генетичния риск за изява на бъдещи микроваскуларни и макроваскуларни усложнения биха послужили за разработване на нови стратегии за прогнозиране, превенция и лечение. От друга страна, може да бъде

прогнозиран и ефектът на лечението с определена група антидиабетни медикаменти. Например, клиничният отговор към СУП е широко свързан с редица генни полиморфизми, особено тези, които участват в инсулиновата секреция. Изследвани са генетичните маркери на CYP2C9, ABCC8, KCNJ11, TCF7L2 (транскрипционен фактор 7-подобен 2), IRS-1 (инсулинов рецепторен субстрат-1), CDKAL1, CDKN2A/2B, KCNQ1 и NOS1AP). Модел за лош сулфанилуреен отговор е наблюдаван в Кавказката раса, при пациенти с rs7903146 и rs1801278 полиморфизми на TCF7L2 и IRS-1 гени (29).

Нови изследвания доказват генетичната връзка между Т2ЗД и сърдечно-съдовите заболявания. Идентифицираните рискови локуси за диабет идентифицират осем генетични варианта, седем от които повишават риска, както за Т2ЗД, така и за сърдечни заболявания. Осмият е вариант на протеина за транспортиране на холестерол ApoE и е свързан с повишен риск за Т2ЗД, но намалява риска от сърдечно-съдови заболявания. Последното откритие вероятно изглежда парадоксално, но то е в съответствие с проучванията, които предполагат, че употребата на статини за понижаване на LDL може умерено да увеличи риска от диабет. По-нататъшният анализ идентифицира нов общ ген, CCDC92, който също повишава едновременно риска за Т2ЗД и сърдечни заболявания. Според тях, тези гени имат различни ефекти върху риска от сърдечно-съдови заболявания. Например, генетичните варианти, свързани с повишен риск от затлъстяване или високо кръвно налягане, показват, че повишават риска от сърдечно-съдови заболявания по-силно от вариантите, свързани с абнормни нива на глюкозата или инсулина (30).

Наскоро излязаха резултати от проучването DiaGene, Айнхховен, Холандия, което оценява разпространението и честотата на ретинопатията, нефропатията, невропатията и диабетното стъпало при пациенти с Т2ЗД. Използвайки логистични модели на регресия е анализирана асоциацията на 11 известни варианти на генетичен риск с Т2ЗД при 1886 пациенти (31). Основната цел на проучването DiaGene е било да се проучат и анализират генетичните, биохимичните и екологичните детерминанти на Т2ЗД и неговите усложнения. Подбраните полиморфни варианти са в гени, доказани като асоциирани със заболяването, като TCF7L2(rs7903146), PPARG-P12A(rs1801282), DUSP9(rs594532), CENTD2(rs1552224), THADA (rs7578597), HHEX (rs1111875), CDKAL1(rs7754840) и KCNQ1 (rs231362), които са генотипирани във връзка с репликацията на изследването DIAGRAM, както и KCN

Фигура 1. Локуси, които съдържат варианти, асоциирани с T23Д (21)



J11(rs5219), IGF2BP2(rs4402960) и FTO(rs8050136) (31). Тези рискови варианти са подбрани поради сравнително големия им ефект върху риска за развитие на T23Д от предходни изследвания.

Разбира се, освен генетичната предизпозиция върху изявата на основните усложнения влияят и допълнителни фактори. Рискът от макроваскуларно и/или микроваскуларно усложнение при T23Д може да бъде намален успешно чрез промяна на начина на живот, различни терапии за понижаване на липидите и антихипертензивно лечение. Връзката с гликемичния контрол е по-сложна. Въпреки че гликемичният контрол е епидемиологично силно свързан със сърдечно-съдовите заболявания при T23Д, интервенциите, прилагащи строг гликемичен контрол, са неуспешни (32, 33) или дори показват нежелани ефекти (34). В бъдеще е необходимо да се оценят контролът и лечението на основните рискови фактори в отделни групи пациенти.

Тъй като изявата на различните нарушения зависят допълнително от продължителността и контрола на заболяването, комплексното изследване на сърдечно-съдовия статус при пациенти с различни диабетни усложнения е от особена важност. На базата на това би било възможно прогнозиране на риска за бъдещи сърдечно-съдови събития, фатален край и определяне на глобалния сърдечно-съдов риск при болни с различни усложнения, като се отчете ролята на външните фактори в развитието на съдовите усложнения, съпоставяйки ги с честотата на техния диабетогенен генотип.

В настоящия момент в България липсват системни изследвания на диабетогенни гени, които да се свързват конкретно с различните съдови усложнения на T23Д. В научна работа на колектив от ВМА и Национална Генетична Лаборатория са включени изследвания на редица полиморфизми при пациенти с различен тип

захарен диабет в България. Разгледани са основните микроваскуларни и макроваскуларни усложнения. При някои от тях, като полиморфизмите в гена кодиращ *Leptin* и *MnSOD(SOD2)* се потвърждава ролята им като рискови фактори за развитието на захарния диабет и диабетните усложнения. При други, от изследваните маркери в гени кодиращи *Calpain*, *Leptin*, *MnSOD*, *eNOS ins/del* и *Gly/Asp 298*, *LPL Hind III* и *ACE ins/del* при български пациенти не е намерена асоциация с предразположение за развитие за диабет (35). В проучване на 113 български болни с Т2ЗД, 29 с предиабет и 28 контроли с генетични полиморфизми в *TLR4* гена е установено, че *Asp299Gly* и *Thr399Ile* полиморфизми не се асоциират с Т2ЗД и предиабет, но *Asp299Gly* може да допринесе за предразположението за диабетна ретинопатия (36).

Голям брой проучвания, включващи асоциативни изследвания на кандидат гени, анализ за скаченост, геномни асоциативни изследвания, са проведени в търсене на варианти, които са свързани с предразположение за развитие на заболяването и редица микроваскуларни усложнения при болните от диабет.

На Табл. 1 са представени големите консорциуми, изследващи усложненията при захарен диабет (37).

За диабетната ретинопатия са проведени няколко геномни асоциативни проучвания в малки и средни извадки, но не са получени възпроизводими локуси между отделните изследвания. За диабетната нефропатия, също са проведени геномни асоциативни изследвания и започват да се изясняват някои локуси, свързани с тези усложнения. Независимо от това, в ход са и други изслед-

Таблица 1. Сравнителен анализ между пациенти с новооткрит ЗД и контроли по амплитуда на изследваните компоненти на ПЕПТ

Acronym	Full name	Trait of Interest	URL
CARDIoGRAM plusC4D	Coronary ARtery Disease Genome wide Replication and Meta-analysis plus The Coronary Artery Disease Genetics consortium	Coronary artery disease	http://www.cardiogramplusc4d.org/
CARe consortium	Candidate-gene Association REsource Study	Multiple phenotypes	http://www.nhlbi.nih.gov/research/resources/genetics-genomics/care
DCCT/EDIC	The Diabetes Control and Complications Trial and the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study	Complications of diabetes	http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/control/
DIAGRAM	DIAbetes Genetics Replication And Meta-analysis consortium	Type 2 diabetes	http://diagram-consortium.org/about.html
FIND	Family Investigation of Nephropathy and Diabetes	Diabetic kidney disease	https://www.niddkrepository.org/studies/find
GENIE	GENetics of Nephropathy—an International Effort	Diabetic kidney disease	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gap/cgi-bin/study.cgi?study_id=phs000389.v1.p1
GIANT	The Genetic Investigation of Anthropometric Traits consortium	Anthropometric traits	http://www.broadinstitute.org/collaboration/giant/index.php/GIANT_consortium
GoKIND	Genetics of Kidneys in Diabetes study	Diabetic kidney disease	https://www.niddkrepository.org/studies/gokind/
JDRF-DNCRI	Diabetes Research Foundation–Diabetic Nephropathy Collaborative Research Initiative	Diabetic kidney disease	http://jdrf.org/press-releases/jdrf-forms-largest-ever-international-effort-to-research-genetics-of-diabetic-kidney-disease/
MAGIC	The Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits consortium	Glycaemic traits	http://www.magicinvestigators.org/
SUMMIT	SURrogate markers for Micro- and Macrovascular hard endpoints for Innovative diabetes Tools	Complications of diabetes	http://www.imi-summit.eu/

вания, като предстои валидирането на съществуващите и откриване на нови маркери в по-големи извадки от пациенти и контроли. Генетичните изследвания за диабетната невропатия са доста оскъдни и основните изследвания са насочени само към търсене на рискови фактори. Колаборативни изследвания, които включват различни групи и търсят по-прецизно фенотипно класифициране, са изключително обещаващи за

по-доброто разбиране на генетиката на диабетните съдови усложнения (37).

Благодарности:

Работата по тази публикация е свързана с проект вх. № 7871/23. 11. 2017 на тема: „Генетични фактори и клинични характеристики на съдовите усложнения при български пациенти със захарен диабет тип 2“, СМН, МУ, София.

References

1. **American Diabetes Association.** Standards of medical care in diabetes-2016: summary of revisions. *Diabetes Care* 2016;39 Suppl 1:S4-5.
2. **Sluiter AVWH, Arntzenius A, Bots A, Dijkhorst-Oei L, van der Does F, Palmén J, et al.** National Transmural Agreement (LTA) on type 2 diabetes mellitus. *Dutch Natl Soc Gen Pract* 2012; 55(1):S1-12.
3. **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352(9131):837-853.
4. **UK Prospective Diabetes Study Group.** Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998;317(7160):703-713.
5. **Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, et al.** Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;364(9435):685-696.
6. **Heart Protection Study Collaborative Group.** MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360(9326):7-22.
7. **Turnbull F, Neal B, Algert C, Chalmers J, Chapman N, Cutler J, et al.** Blood Pressure Lowering Treatment Trialists C: effects of different blood pressure-lowering regimens on major cardiovascular events in individuals with and without diabetes mellitus: results of prospectively designed overviews of randomized trials. *Arch Intern Med* 2005;165(12):1410-1419.
8. **Ali MK, Bullard KM, Saaddine JB, Cowie CC, Imperatore G, Gregg EW.** Achievement of goals in US diabetes care, 1999-2010. *N Engl J Med* 2013;368(17):1613-24.
9. **Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA.** 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;359(15):1577-1589.
10. **Xie X, Atkins E, Lv J, Bennett A, Neal B, Ninomiya T, et al.** Effects of intensive blood pressure lowering on cardiovascular and renal outcomes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2016;387(10017):435-443.
11. **Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haefen TW.** Type 2 diabetes: pathogenesis and treatment. *Lancet* 2008;371 (9631): 2153-2156.
12. **Kwak SH, Park KS.** Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Exp Mol Med* 2016;48:e220.
13. **Diamond J.** The double puzzle of diabetes. *Nature* 2003; 423:599-602.
14. **Meigs JB, Cupples LA, Wilson PW.** Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2000; 49:2201-2207.
15. **Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA.** Diabetes in identical twins. *A study of 200 pairs Diabetologia* 1981;20:87-93.
16. **Medici F, Hawa M, Ianari A, Pyke DA, Leslie RD.** Concordance rate for type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia* 1999;42:146-150.
17. **Vaag A, Henriksen JE, Madsbad S, Holm N, Beck-Nielsen H.** Insulin secretion, insulin action, and hepatic glucose production in identical twins discordant for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1995; 95:690-698.
18. **Das SK, Elbein SC.** The genetic basis of type 2 diabetes. *Cellscience* 2006;2(4):100-131.
19. **Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T, Segre AV, Steinthorsdottir V, et al.** Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2012;44(9):981-990.
20. **Billings LK, Florez JC.** The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Ann NY Acad Sci* 2010; 1212:59-77.
21. **Nair AK, Bair LJ.** *Rev Diabet Stud.* 2015 Fall/Winter;12(3-4): 299-319.
22. **McCarthy MI.** Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med* 2010;363(24):2339-2350.
23. **Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al.** Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet* 2010;42 (7):579-589.
24. **Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard, Mit LU, Novartis Institutes of BioMedical Research, Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al.** Genome-wide association analysis identi-

fies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007;316(5829):1331–1336.

25. **Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al.** A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; 316(5829):1341–1345.

26. **Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, Hara K, Osawa H, Furuta H, et al.** Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2008;40(9):1092–1097.

27. **Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, et al.** Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet* 2008;40(5):638–645.

28. **Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, et al.** Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* 2007;316(5829):1336–1341.

29. **Loganadan NK, Huri HZ, Vethakkan SR, Hussein Z.** Genetic markers predicting sulphonylurea treatment outcomes in type 2 diabetes patients: current evidence and challenges for clinical implementation. *Pharmacogenomics J* 2016 Jun;16(3):209–219.

30. **Wei Zhao, Rasheed A, Tikkanen E, Lee JJ, Butterworth AS, Howson JMM, et al.** Identification of new susceptibility loci for type 2 diabetes and shared etiological pathways with coronary heart disease. *Nature Genetics* Vol.49, 10: Oct 2017.

31. **van Herpt TTW, Lemmers RFH, van Hoek M, Langendonk JG, Erdtsieck RJ, Bravenboer B, et al.** Sijbrands. Introduction of the DiaGene study: clinical characteristics, pathophysiology and determinants of vascular complications of type 2 diabetes. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2017 9:47

32. **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352 (9131):837–53.

33. **Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group, Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff DC Jr, Bigger, et al.** Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl*

34. **Group AC, Patel A, MacMahon S, Chalmers J, Neal B, Billot L, et al.** Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358 (24):2560–72.

35. **Pashkunova S.** Associative studies of genetic markers for diabetes mellitus and chronic diabetic complications. PhD thesis. *Military Medical Academy Sofia, 2012 (in Bulgarian).* (Пашкунова С. Асоциативни изследвания на генетични маркери гетерминираци захарен диабет и хронични диабетни усложнения. Автореферат на дисертация. ВМА, 2012)

36. **Zaharieva ET, Kamenov ZA, Savov AS.** TLR4 polymorphisms seem not to be associated with prediabetes and type 2 diabetes but predispose to diabetic retinopathy; TLR4 polymorphisms in glucose continuum. *Endocr Regul* 2017;51(3):137–144

37. **Ahlqvist E, van Zuydam NR, Groop LC, McCarthy MI.** The genetics of diabetic complications. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11(5):277–287.

Address for correspondence:

Лъчезар Б. Иванов,

Acibadem City Clinic, Токуда Болница,
Отделение по Ендокринология,
бул. „Н. Вапцаров“ 51 Б, София 1407,
e-mail: l.lozanov@abv.bg. GSM: +359888676447

Lachezar B. Lozanov,

Acibadem City Clinic, Tokuda Hospital,
Department of Endocrinology,
51 B „N. Vaptzarov“ blvd., Sofia 1407
e-mail: l.lozanov@abv.bg. GSM: +359888676447

Първичен алдостеронизъм – съвременни концепции в диагностичния и лечебния подход

Русев, Росен А., Матрозова, Йоанна А., Еленкова, Атанаска П., Захариева, Сабина З.

Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология (КЦЕГ), МУ, София

Primary Aldosteronism – Modern Concepts in the Diagnostic and Therapeutic approach

Rusev, Rosen A., Matrozoza, Joanna A., Elenkova, Atanaska P., Zacharieva, Sabina Z.

Clinical Center of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

Резюме

Първичният алдостеронизъм (ПА) е най-често срещаната форма на ендокринна хипертония с данни за честота около 8,8% от всички хипертоници. Крос-секционни и проспективни проучвания показват честота >5% при пациенти в първичната медицинска помощ и >10% за насочени пациенти в клиничните центрове. Нелекуваният хипералдостеронизъм води до по-висок риск от сърдечно-съдови, нефрологични и метаболитни усложнения. Заболяването включва различни подтипове, всички характеризирани се с алдостеронова свръхпродукция от надбъбречните жлези. Най-често срещаните форми са двустранната надбъбречнокорва хиперплазия (ДНХ) и аденомът на Кон.

Диагнозата на ПА традиционно включва следните 3 стъпки: 1 – скрининг; 2 – потвърдителен тест; 3 – изясняване на конкретната форма на заболяването. Най-широко използваният скринингов метод е съотношението алдостерон/ренин. В момента вниманието се насочва към разработването на нови скринингови и диагностични тестове с по-добра чувствителност и специфичност. Пациентите с ПА подлежат на образна диагностика – компютърна томография (КТ) на надбъбречни жлези с контрастна материя. Все още, катетеризацията на надбъбречните вени (AVS) е златният стандарт при отграничаването на едностранната

Abstract

Primary aldosteronism (PA) is the most common form of endocrine hypertension with a prevalence estimated to be around 8.8% among hypertensive patients. Cross-sectional and prospective studies have shown a prevalence of more than 5% in patients in primary health care and higher than 10% for patients in specialized centers. Untreated PA might result in increased cardiovascular, nephrologic and metabolic complications. Aldosterone adrenal hypersecretion is the main pathologic pattern in all subtypes of PA. Bilateral adrenal hyperplasia (BAH) and aldosterone-producing adenomas (APAs) are the two most common forms of the disease. The diagnosis of PA is usually elaborated using a 3 step approach: 1 -screening; 2 – confirmatory test; 3 - differentiation of primary aldosteronism subtype. The aldosterone/renin ratio is the most widely used screening method. Recently attention has been focused on the development of new more sensitive and specific screening and confirmatory tests. Adrenal CT scanning with contrast is the initial radiologic investigation in the workup of PA. Until now adrenal venous sampling has been used as the „gold standard“ in the differential diagnosis between unilateral and bilateral aldosterone excess. The sensitivity and specificity of AVS (95 and 100% respectively) is superior to adrenal CT – 78 and 75%, respectively.

от двустранната алдостеронова хиперпродукция. Чувствителността и специфичността на AVS (95 и 100%, респективно) превъзхожда тази при КТ (78 и 75%, респективно). В последните препоръки за действие има тенденция за ограничаване на този инвазивен метод, когато са налице безспорни клинични, хормонални и КТ данни за аденом на Кон. Пациентите с тази форма на заболяването се насочват за оперативно лечение, докато при тези с двустранна надбъбречна хиперплазия се препоръчва медикаментозно лечение с минералкортикоиден рецепторен антагонист, който ефективно блокира проявата на тъканните токсични ефекти на алдостерона.

Ключови думи:

алдостерон; ренин; хипералдостеронизъм; АПА; двустранна надбъбречна хиперплазия

According to the latest guideline on PA management the extensive use of the invasive AVS method should be limited when there are conclusive clinical, hormonal and CT data evidence for Conn's adenoma. Treatment of APAs is usually operative – adrenalectomy, while BAH is treated with medication. All patients treated pharmacologically should receive a mineralocorticoid receptor antagonist, that has been shown to block the deleterious effects of aldosterone.

Key words:

aldosterone; renin; hyperaldosteronism; APAs; bilateral adrenal hyperplasia.

Увод

Първичният алдостеронизъм (ПА) се счита за най-често срещаната ендокринна хипертония. Същевременно, заболяването остава до голяма степен недиагностицирано, от една страна поради неоптимален скрининг от страна на медицинските специалисти (търсене на заболяването само при пациенти с проява на хипокалиемия), от друга страна поради разнопосочните критерии за потвърждение на диагнозата. Целта на този обзор е да обобщи последните новости в диагностиката и лечението на ПА, като не се пропусне и същността на самото заболяване.

История

През 1849 г. Томас Адисон публикува неговото описание на летален клиничен синдром, гължащ се на деструкцията на надбъбречните жлези (1). Това води до бъдещ засилен интерес към физиологията на надбъбречните жлези. До края на 30-те години на ХХ в. глюкокортикоидите са вече открити, докато минералкортикоидите остават в сянка – дори в научните среди се спори за тяхната биологична значимост. Всичко се променя през 1953 г., когато алдостеронът (тогава наречен електрокортин) е изолиран от британските ендокринолози Джеймс и Силвия Тейт (2). Само две години по-късно, 9-р

Джеръм Кон дава първото описание на ПА. През 1954 г. той за пръв път докладва новия синдром, включващ хипертония, хипокалиемия, бъбречна загуба на калий и метаболитна алкалоза (3). През следващите години се посвещава на заболяването, като по-късно една от формите му е наименувана на неговото име. Той изказва предположение, че честотата на ПА е около 10% – подобно на съвременните виждания от последните години. Освен това, Кон посочва нивата на ренин и алдостерон като по-чувствителен критерий за поставянето на диагнозата в сравнение с калиемията, предсказвайки по този начин широката употреба на съотношението алдостерон/ренин днес (4).

Характеристика на първичния алдостеронизъм

Според последните препоръки от 2016 г. първичният алдостеронизъм представлява група от нарушения, при които алдостеронова продукция е несъответно висока, относително автономна по отношение на ренин-ангиотензиновата система (РАС) и непотискаща се от натриево натопарване (5,6). Основните причини за появата му са надбъбречен аденом (аденом на Кон) или двустранна надбъбречнокорова хиперплазия (ДНХ). В по-редки случаи се откриват надбъбречен карцином, едностранна надбъбречнокорова хиперплазия или наследствени

генетични нарушения, обособени като фамилни форми на ПА (6).

Повишената продукция на алдостерон при ПА трябва да се отграничи от редица други патологични състояния на хипералдостеронизъм. При тях най-често настъпва стимулиране на РАС, провокирано от хипонатриемия и/или хиповолемия. Тези състояния се означават с термина „вторичен хипералдостеронизъм“ (5).

В миналото заболяването се е свързвало със задължителна хипокалиемия и високо-резистентна хипертония (7). Преди широкото използване на съотношението алдостерон/ ренин като скринингов тест, процентът на хипокалемичните пациенти се е движел между 80-90%. С течение на времето и въвеждането на скрининга, най-честата клинична проява на ПА се оказва нормокалемичната хипертония. Хипокалемичните форми на ПА се движат по данни на различни автори от 9% до 37% (6,8,9). В най-голямото единично проучване до днес, половината от пациентите с аденом на Кон и 17% от тези с идиопатичен хипералдостеронизъм са имали концентрация на серумен калий <3,5 ммол/л (8). Днес се приема, че хипокалемията е по-често срещана при по-тежко протичащите форми на ПА като аденом на Кон (в 48% от случаите), а при рядко срещания алдостерон-продуциращ надбъбречнокоров карцином достига почти 100% (8, 10). Все повече данни показват, че наличието на хипокалемия е нискокчувствителен критерий за диагнозата на ПА. Това означава, че ако скринингът се ограничи само за хипертоници със спонтанна или лесно провокираща се хипокалемия, съществува вероятност голяма част от нормокалемичните болни с ПА да бъдат пропуснати и заболяването да бъде диагностицирано късно, често пъти по повод на усложнения (сърдечна недостатъчност, мозъчен инсулт, бъбречна недостатъчност).

Алдостероновата свръхпродукция е директно свързана с развитието на хипертония чрез бъбречна натриево и водна задръжка. Допълнително, алдостеронът води до тъканно възпаление и увеличен симпатиков тонус. Последниците са фиброза и ремоделиране във важни органи и системи като бъбреци, сърце и съдове (8,11). Хипертонията е доминиращата находка при ПА, но има случаи и с нормотензивен ПА (11-13). Възможен е и малигнен ход на хипертонията.

Нормокалемичните форми на заболяването в голямата си част протичат напълно безсимптомно. Най-често наблюдаваната допълнителна симптоматика при ПА се изразява в лесна умора, отпадналост, безсъние, никтурия. При изразена

хипокалиемия с метаболитна алкалоза се добавят полидипсия, полиурия, нарушен глюкозен толеранс, парастезии, вяла мускулна парализа, положителни симптоми на Хвостек и Трусо до изразена тетания. Задълбочаването на хипокалиемията може да доведе до ритъмни нарушения на сърдечната дейност (5).

Честота на първичния алдостеронизъм

Честотата на ПА сред хипертониците варира в голям диапазон поради различните критерии за поставяне на диагнозата и селекцията на пациентите в клиничните проучвания. Честотата на заболяването сред хипертониците варира между 1,4% и 32%, средно 8,8% (14). Крос-секционни и проспективни проучвания показват честота >5% при пациенти в първичната медицинска помощ и >10% за насочени пациенти в клиничните центрове (15). През 2010 г. се публикува проучване сред българска популация от 472 души с хипертония, като се установява честота на ПА от 8,05%, което корелира с горепосочените цифри. (16). С покачване тежестта на артериалната хипертония се покачва и честотата на ПА сред пациентите. Ако се базираме на общоприетото стадиране на артериалната хипертония (17): Стагий 1 = САН 140-159 mm Hg, ДАН 90-99 mm Hg; Стагий 2 = САН 160-179 mm Hg, ДАН 100-109 mm Hg; Стагий 3 = САН >180 mm Hg, ДАН >110 mm Hg, то честотата на ПА в представителните извадки е съответно: стагий 1 – 2%, стагий 2 – 8% и стагий 3 – 13% (18,19). При пациенти с резистентна хипертония честотата на ПА варира от 17 до 23% (20,21). Заболяването трябва да бъде активно търсено при пациенти с умерена/тежка артериална хипертония, поради възможността за предотвратяване на усложненията на заболяването при навременна терапевтична намеса.

Скрининг и диагноза

Диагнозата на ПА традиционно включва следните 3 стъпки:

- 1 – скрининг;
- 2 – потвърдителен тест;
- 3 – изясняване на конкретната форма на заболяването (6,22).

Съществува дебат относно праговете граници на съотношението алдостерон/ренин при скрининга, нуждата и избора на потвърдителен тест, както и най-добрия начин за диференцирането на различните форми на заболяването.

1. Скрининг

Според последните препоръки от 2016 г., таргетната група хора, подходящи за скрининг са: 1. Пациенти с артериално налягане (АН) над 150/100 mm Hg, измерено в поне три различни дни; 2. Пациенти с резистентна хипертония (АН >140/90 mm Hg, при лечение с три конвенционални антихипертензивни медикамента, включително диуретик) или контролирана хипертония (<140/90 mm Hg) с четири или повече антихипертензивни медикамента; 3. Хипертоници със спонтанна или провокирана от диуретик хипокалемия; 4. Хипертония и надбъбречен инциденталом; 5. Хипертония и сънна апнея; 6. Хипертония и фамилен анамнез за ранно настъпила хипертонична болест или мозъчно-съдов инцидент в млада възраст (<40 г.); 7. Всички хипертонични пациенти, които имат първородствени близки с ПА (6).

Методът, използван за скриниране на пациентите през последните две десетилетия, е *съотношението алдостерон/ренин*, което се базира на характерната дисоциация за ПА – високо ниво на плазмения алдостерон при ниско ниво на ренина. Въведен е през 1981 г. от Hiramatsu и сътр. с идеята да се открият болни с ПА не само между хипокалемичните, но и между нормокалемичните пациенти с артериална хипертония (23).

Във времето са се наложили различни прагови стойности на съотношението алдостерон/ренин (САР) при скрининга на ПА, вариращи от 7,2 до 100,1 ng/dl/ng/ml-h (200–2774 pmol/liter/ μ g/liter-h) (24). Една от главните причини за тази голяма вариабилност е зависимостта на съотношението в по-голяма степен от плазмената ренинова активност (ПРА) и възможността много ниски нива на ПРА (под 0,2 ng/mL/h) грешно да повишат съотношението, даже при ниски серумни концентрации на алдостерона. (6, 25). С нарастване на съотношението алдостерон/ренин се понижава чувствителността и се повишава специфичността на скрининга. Много дебати към момента се водят в насока откриването на „златната среда“, която ще балансира между свръхдиагностициране и пропускане на пациенти с ПА. Все пак, първостепенно значение намира намаляването на риска от „изпускане“ на случай с ПА, свързан с невъзможността за дефинитивно излекуване чрез оперативен или медикаментозен подход.

Повечето автори препоръчват прагови стойности на САР между 20-40 ng/dl/ng/ml-h (550-1100 pmol/liter/ μ g/liter-h) (6). Поради възможността за повишено САР над праговете стойности при много ниска плазмена концентрация на алдостерон (която не корелира със заболява-

нето), някои автори препоръчват *минимална концентрация на алдостерона* от >15 ng/dL (>410 pmol/L) (11). Не малко проучвания, обаче, доказват наличието на висока честота на ПА при пациенти със серумен алдостерон под 410 pmol/L – от порядъка на 36% при 74 пациента с ПА (26) и 43% при 37 алдостероници (18). И при двете проучвания диагнозата е приета чрез извършването на потвърдителен флуорокортизонов тест. Някои автори прилагат *минимална базална плазмена алдостеронова концентрация (ПАК)* от 6 ng/dL (170 pmol/L), под която дори повишено САР не е с диагностична тежест (27). В Таблица 1 са представени най-често използваните прагови стойности на САР, над които се преминава към потвърдителни тестове.

Измерването на САР е с най-голяма чувствителност в сутрешните часове, след като пациентът е бил в движение поне от 2 часа, след което в сигнала положение поне от 15 мин. При изчисляване на съотношението трябва да се имат предвид много физиологични състояния, които могат да доведат до ниски плазмени концентрации на ренин – например с възрастта, поради намаляващата бъбречна функция, намалява и производството на ренин (28). Увеличеният натриев прием и хроничната бъбречна недостатъчност също водят до потискане на производството на ренин, както и някои нискоренинови хипертонии (5). Други състояния водят до физиологично покачване на серумните концентрации на алдостерон – хиперкалиемия, редуциран орален прием на сол, бременност, физическо натоварване и др. (5,29).

При практическото изследване на САР трябва да се има предвид влиянието на различни медикаменти върху концентрациите на алдостерон и ренин в кръвта. Според някои проучвания няма достатъчно доказателства, че е необходимо прекъсване на антихипертензивната медикаментозна терапия (30), но до голяма степен е постигнат консенсус относно влиянието на лекарствата и опасността от „замъгляването“ на диагнозата (риск от фалшиво положителни и фалшиво отрицателни резултати) при провеждане на САР и потвърдителните тестове. В идеалния случай приемът на лекарства, влияещи върху САР, трябва да се прекрати 2 седмици преди изследване на САР, а за алдостероновите антагонисти като спиронолактон и еплеренон, периодът е много по-дълъг – 6 седмици (5,6). В Таблица 2 е даден списък на медикаментите, влияещи на кръвните нива на алдостерон и ренин, както и тенденцията, към която се изменя САР.

Често пълното прекратяване на антихи-

Таблица 1. Прагови стойности на съотношението алдостерон/ренин.

	ПРА (ng/mL/h)	ПРА (pmol/L/min)
ПАК (ng/dL)	20	1,6
	30	2,5
	40	3,1
ПАК (pmol/L)	750	60
	1000	80

ПАК – плазмена алдостеронова концентрация

ПРА – плазмена ренинова активност

Таблица 2. Медикаменти, водещи до фалшиво-позитивно и фалшиво-негативно САР.

Медикамент	Ефект върху ПАК	Ефект върху ПРА	Ефект върху САР
β-адренергични блокери	↓	↓↓	↑(ФП)
Централни агонисти	↓	↓↓	↑(ФП)
НСПВС	↓	↓↓	↑(ФП)
К ⁺ - зубещи диуретици	→↑	↑↑	↓(ФН)
К ⁺ - съхраняващи диуретици	↑	↑↑	↓(ФН)
АСЕ инхибитори	↓	↑↑	↓(ФН)
Сартани	↓	↑↑	↓(ФН)
Са ²⁺ блокери	→↓	↑	↓(ФН)
Ренинови инхибитори	↓	↓	↓(ФП/ФН)

ПАК – плазмена алдостеронова концентрация ФП – фалшиво-позитивно

ПРА – плазмена ренинова активност

ФН – фалшиво-негативно

САР – съотношение алдостерон/ренин

пертензивната терапия не е възможно, поради висок риск от неконтролирана хипертония и усложненията, свързани с изявата ѝ. В такъв случай се прилагат медикаменти, минимално влияещи върху САР – това са недихидропиридинови калциеви антагонисти (напр. верапамил), вазодилататори (напр. хидралазин) и алфа-адренергични блокери (напр. доксазозин) (5, 6, 31).

2. Потвърдителни тестове

Преди да пристъпим към потвърдителните тестове е удачно да споменем, че приложението им е спорно, поради липсата на златен стандарт и противоречивите данни за тяхната чувствителност и специфичност (35). По последните препоръки от 2016 г. при наличие на спонтанна хипокалиемия, потиснатата ПРА и ПАК >20 ng/dL (550 pmol/L), диагнозата първичен алдостеронизъм е сигурна и не е нужно преминаването към потвърдителен тест (6). Други

автори описват прагови стойности на САР >67 ng/dl/ng/mL/h (>1850 pmol/l/ng/mL/h) като достатъчни за поставяне на диагнозата ПА, без значение от калиемичния статус (25). Във всички групи случаи на САР над общоприетите прагови нива (>30 ng/dl/ng/mL/h, >750 pmol/l/ng/mL/h) се препоръчва извършването на поне един потвърдителен тест (6).

В Препоръките за диагноза и лечение на първичния алдостеронизъм от 2016 г. са препоръчани 4 основни потвърдителни теста, без да се дава препоръка за приоритетното прилагане на някой от тях (6,33):

- Обременяване с натрий *per os* – повишен прием на NaCl над 6 г/дн. за период от 3 дни. Диагнозата ПА е много вероятна при уринен алдостерон >12 μg/24 h (33 pmol/d);

- Инфузионно обременяване с натрий – вливане на 2 литра 0,9% NaCl в продължение на

4 часа при пациент в лежащо положение. Диагнозът ПА е много вероятен при нива на плазмения алдостерон >10 ng/dL (280 pmol/L);

- Супресионен тест с флудрокортизон – приложение на 0,1 mg флудрокортизон per os на 6 часа за 4 дни. Диагнозът ПА е много вероятен при плазмен сутрешен алдостерон на 4-ия ден от теста >6 ng/dL (170 pmol/L);

- Каптоприлов тест – приложение на 25-50 mg каптоприл след поне 1 час в сегащо/изправено положение. Нормално, плазменият алдостерон се понижава с >30% след приложението на каптоприл, в противен случай диагнозът ПА е вероятен.

В научната литература са описани различни данни относно чувствителността и специфичността на тестовете. При избора на тест трябва да се предвиди и рискът за пациента от влошаване на хипертензивния контрол, което е особено изразено най-вече при тестовете със солето обременяване. Макар и да надделява схващането, че флудрокортизонният тест е най-надежден (34), то той изисква няколкодневна хоспитализация, има възможност за неточности при изпълнението му, като същевременно е и финансово неизгоден за болничните заведения. В систематичен обзор от 2017 г. се потвърждава взаимозаменяемостта между потвърдителните тестове. Когато праговите стойности на ПАК при инфузионното обременяване с натрий и флудрокортизонният тест са заложили на 8 ng/dl (220 pmol/l), а тези след каптоприловия тест – на 11 ng/dl (300 pmol/l), то чувствителността е била съответно 87,9%, 93,2%, 92,4%, а специфичността – 93,3%, 90,4%, 90,4% (35).

Съществуват нови потвърдителни тестове, които са разработени на принципите на утвърдените.

- ДКВТ (Дексаметазон-каптоприл-валсартан тест) – в полунощ се приемат 2 mg дексаметазон, 50 mg каптоприл и 320 mg валсартан, а на сутринта отново 50 mg каптоприл. Взема се сутрешна кръв, като са поставени прагови стойности на ПАК от 3 ng/dl (85 pmol/l) и CAP 0,3 ng/dL/ μ U/mL (68 pmol/liter/ μ g/liter-h) – отбелязва се чувствителност 98% и специфичност 100%, ако се вземат и двата критерия под внимание. Цели се пълно фармакологично блокиране на РААС, което при здрави лица води до потискане на алдостеронова продукция и повишаване на рениновата – механизъм нарушен при първичния алдостеронизъм. Това е един бърз, надежден и лесен за изпълнение тест, който може да се използва едновременно като скринингов и диагностичен метод за откриването на ПА сред хипертоници (36).

- Инфузионно обременяване с натрий в сегащо положение – протоколът на изпълнението му е като при стандартния тест с разликата, че пациентът е в сегащо положение. При прагова стойност на ПАК от 6 ng/dl (>165 pmol/L) се отбелязва много по-голяма чувствителност (98%) от общоприетия вариант на провеждане на теста в легнало положение на тялото (37).

3. Диференциална диагноза

Етиологията на алдостероновата хиперсекреция се уточнява чрез два основни способа – образни методи и катетеризация на надбъбречните вени (AVS). Отграничаването на едностранната хиперпродукция на алдостерон (най-често агеном на Кон, рядко едностранна надбъбречно-корова хиперплазия или надбъбречен карцином) от двустранната (ДНХ, алдостерон продуциращи микро- макроагеноми) е от първостепенно значение за успешното лечение на заболяването. Едностранните форми се лекуват оперативно, а двустранните – медикаментозно. Необходимо е всички пациенти с ПА да извършат компютърна томография (КТ) на надбъбречните жлези като първа стъпка в диференциалната диагноза на заболяването и изключване на наличието на големи формации, които могат да представляват надбъбречни карциноми (6). КТ е с предимство пред магнитно-резонансната томография (МРТ) поради по-ниската си цена и по-високата разделителна способност. Обичайните находки в тези случаи са: нормален образ, едностранни или двустранни агеноми, минимално едностранно задебеляване на адренално краче или билатерални макро- или микроагеноми. Агеномът на Кон обичайно се визуализира като малък хиподенсен нодул (обикновено <2 cm в диаметър). При ДНХ надбъбречните жлези при КТ могат да се визуализират с нормални размери или хиперплазирани/с нодуларни изменения. Алдостерон-продуциращите надбъбречни карциноми са почти винаги >4 cm в диаметър, но понякога и по-малки. Като повечето адренокортикални карциноми имат суспектен фенотип при КТ образ (6).

Възможно е агеном на Кон да бъде интерпретиран като ДНХ, особено ако формацията е с много малки размери (6). Възможен и е напълно противоположният вариант – ДНХ да се интерпретира като агеном на Кон. Това често се случва при комбинация от ДНХ с инциденталом в някоя от надбъбречните жлези. В този случай при КТ се регистрира само наличието на инциденталом, което би довело до ненужна адреналектомия. Още повече, че честотата на пациентите с надбъбречен инциденталом достига до 8% от общото население (38). В систематичен

обзор Kempers и сътр. (39) посочват, че 37,8% от пациентите, които са били с данни за латерализация от КТ/МРТ имат несъответстващи данни при провеждане на AVS. В едно проучване с 203 пациенти с доказан ПА, при извършването последователно на КТ и AVS в 47% от случаите КТ образът е бил погрешно интерпретиран (38). На базата на КТ 42-ма (22%) от пациентите биха били погрешно изключени като кандидати за адrenaлектomia, а 48 (25%) биха преминали към ненужна оперативна намеса (38). Към момента AVS е златният стандарт при отграничаването на унилатерална от билатерална алдостеронова хиперпродукция. Чувствителността и специфичността на AVS (95 и 100%, респективно) превъзхожда тази при КТ (78 и 75%, респективно) (6,40). При катетеризацията на надбъбречните вени се измерва съотношението алдостерон/кортизол. При стойности 2-4 пъти по-високи унилатерално се предполага наличие на аденom или хиперплазия от същата страна, тъй като повишените нива на алдостерона определят повишено съотношение алдостерон/кортизол при еднаква секреция на кортизол в двете надбъбречни жлези. За реализирането на този метод е необходим екип от опитни специалисти (5). Според последните препоръки, при някои пациенти с диагностициран ПА може да се премине директно към едностранна адrenaлектomia, без да е нужно извършването на AVS. Това са млади пациенти (< 35 г.) със спонтанна хипокалиемия, висока алдостеронова секреция и едностранна надбъбречна формация с характеристика на надбъбречен аденom. При тях се предполага с най-голяма вероятност наличието на аденom на Кон (6).

Все още не добре разработени остават алтернативите на AVS за диагностиката на латерализация в алдостероновата хиперпродукция. Етомигат е краткoдействащ анестетик, но същевременно и блокер на стероидо генезата, по-точно на 11 β -хидроксилазата. Използването му като (11)C-metomidate радиоизотоп при ПЕТ/КТ е обективизирано при 25 пациента с аденom на Кон. Данните са за чувствителност 76% и специфичност 87% на метода (41). В бъдеще този тип неинвазивно изследване може да се наложи като нискорискова алтернатива на AVS.

Генетика на първичния алдостеронизъм

1. Фамилен хипералдостеронизъм тип I

Фамилният хипералдостеронизъм (ФХА) тип I е известен още като хипералдостеронизъм, зависим от дексаметазон. Първите случаи на този подтип ПА са докладвани още през 1966 г. (42).

Представлява автозомно-доминантно заболяване, което се характеризира с алдостеронова свръхпродукция, повишени нива на прекурсори (18-хидроксикортизол и 18-оксокортизол), и супресия на алдостероновата продукция при прием на глюкокортикоиди. Това се дължи на хибриден ген – дупликация между гените CYP11B1 (11 бета-хидроксилаза) и CYP11B2 (алдостерон синтаза). Хибридният ген е в много по-голяма степен под контрола на AKTX спрямо PAAC (43). Следователно, алдостероновата секреция следва генонощния ритъм на AKTX и значително намалява с течение на деня. Локализацията на хибридният ген в *zona fasciculata* на надбъбречните жлези води до потискане на PAAC и минералкортикоидната синтеза от *zona glomerulosa* (5). Експресията на CYP11B1 се регулира от AKTX, а хибридният ген кодира ензим с активност, подобна на алдостерон синтазата. Въпреки хипералдостеронизма, хипокалиемията е рядко срещана (44). Налице е най-често билатерална адrenaлна хиперплазия или по-рядко – аденom. ФХА тип I е с честота около 1% от всички пациенти с ПА (45). Заболяването се характеризира с ранна изява, обикновено в детска възраст. Пациенти с изява на резистентна хипертония под 20 г. възраст, придружена с хипокалиемия, фамилен анамнез за хипертония и мозъчно-съдов инцидент, са подходящи за извършването на генетично типизиране (22). Според последните препоръки желателно е генетично тестване на всички пациенти с ПА и изява на заболяването преди 20 г. възраст, както и на тези с фамилен анамнез за ПА или мозъчно-съдов инцидент преди 40 г. възраст (6).

Методът на първи избор при генетичното тестване е Southern blot или PCR, които са много по-чувствителни и специфични техники (100% чувствителност и специфичност) спрямо индиректните тестове, като уринни нива на 18-хидроксикортизол и 18-оксокортизол или супресионен тест с дексаметазон (6).

2. Фамилен хипералдостеронизъм тип II

Фамилният хипералдостеронизъм (ФХА) тип II е независим от приложението на глюкокортикоиди за разлика от тип I. За пръв път заболяването се описва като отделна патологична единица от екип австралийски учени начело с Р. Д. Гордън през 1991 г. Пациентите са с фамилен история за ПА с етиология ДНХ или аденom на Кон. Всеки случай на ФХА тип II е клинично, биохимично и морфологично неразличим от спорадичните форми на ПА. При повечето описани фамилии се отбелязва вертикално унаследяване, което предполага заболяването да е автозомно-доминантно. Диагнозата на ФХА тип II се поставя при установяване на повишено CAP и позитивен потвърдителен тест, както и

изключването на хибриден ген свързан с ФХА тип I чрез PCR методика (44). Смята се, че честотата на ФХА тип II е по-голяма спрямо тип I, като голямо проспективно проучване с 300 пациента с ПА показва честота 6% (46).

Резултатите, обаче, са спорни, поради факта, че единственият критерий за отграничаване на ФХА тип II от спорадичните форми на ПА при пациенти е наличието на близкородствени роднини с ПА. Молекулярната база на ФХА тип II остава неизяснена, като към момента много проучвания, чрез анализ за скаченост (linkage analysis), картират хромозомния регион 7p22 като отговорен за генетичните дефекти при тази форма на ПА. Заболяването най-вероятно е генетично хетерогенно (6). До момента единственият ген, който се открива като мутация при семейства с ФХА тип II, е генът за калиеви-те канали KCNJ5, но той се намира с още по-голяма честота при спорадичния ПА, така че не може да се свърже пряко с тази фамилна форма (6). Търсенето на кандигат-гени продължава.

3. Фамилен хипералдостеронизъм тип III

През 2008 г. Geller и сътр. описват много тежко протичаща форма на ПА (47) при баща и две дъщери с начало в детска възраст, високо-степенна хипертония и хипокалемия. Изключен е ФХА тип I (липса на хибриден ген), а състоянието не се подобрява при прием на минералкортикоиден антагонист или дексаметазон. Оформя се нова фамилна форма на ПА – фамилен хипералдостеронизъм (ФХА) тип III. ФХА тип III се причинява от мутации в гена KCNJ5, кодиращ калиевите канали Kir3.4. Тези мутации изменят селективния филтър на канала и водят до повишен натриев поток, повишен интрацелуларен калций и клетъчна деполяризация, които водят до абнормно висока алдостеронова продукция. До момента има данни за 11 различни фамилии, носещи 6 различни мутации в гена KCNJ5. Въпреки различните клинични прояви, почти всички пациенти извяват тежко протичащ хипералдостеронизъм в ранна възраст, асоцииран с хипокалемия и клиника на инсипиден диабет (48). Освен липсата на медикаментозно повлияване на състоянието, друга характерна черта са много високите стойности на 18-хидрокортизол и 18-оксикортизол. Двата стероида са абнормно високи и при ФХА тип I, но докато при първия тип фамилна форма на ПА са около 10 пъти над нормата, при ФХА тип III достигат до 100-1000 пъти над нормалните нива (44). Отбелязва се и парадоксално повишаване на серумния алдостерон и липса на потискане на кортизоловата продукция след прием на дексаметазон (44). Морфологично най-честата наход-

ка е значителна двустранна надбъбречна хиперплазия. Поради резистентността към фармакологичната терапия, често за контрол на състоянието се предприема билатерална адреналектомия (47).

4. Спорадичен първичен алдостеронизъм

В последните години се откриха няколко гена, чиито мутации са свързани с наличието на алдостерон-продуциращи аеноми. Някои от мутациите се асоциират с отличителни фенотипни и биохимични характеристики.

Пробив в молекулярната патогенеза на ПА бе извършен от Чої и сътр. (49) през 2011 г. чрез идентифицирането на цялата геномна секвенция, свързваща се с мутации в гена, кодиращ калиевите канали Kir3.4 (KCNJ5) при пациенти с алдостерон-продуциращи аеноми.

Допълнително, мутации в още три други гена се свързват с патологично променени мембранни протеини – Na/K-АТРаза (ATP1A1), Ca АТРаза (ATP2B3) и Ca_v1,3 (CACNAID). Промените са свързани с калциев инфлукс и/или повишен калциев поток, водещ до хиперпродукция на алдостерон от гена CYP11B2 и в някои случаи клетъчна хиперплазия на zona glomerulosa и формация на аеном (50). Допълнително, наличието на KCNJ5 мутации е ключово за поставянето на диагнозата ФХА тип III (6,47). Допълнителни проучвания при голям брой пациенти с алдостерон-продуциращи аеноми показват, че генетични мутации се откриват в повече от половината от тях. Честотата им в гените KCNJ5, ATP1A1, ATP2B3 и CACNAID е респективно ~40, 6, 1 и 8%. В контраст с алдостерон-продуциращите аеноми, досега не са открити генетични мутации, свързани с ДНХ (50).

Ефекти на алдостерона върху органи и системи

Минералкортикоидният рецептор (MR) е експресиран в сърдечносъдовата система – ендотелиум, гладки мускулни клетки, фибробласти, и е регулатор на ендотелната функция, тонуса на гладките мускули, съдовото ремоделиране, фиброзата и артериалното налягане. Множество проучвания показват ролята на активацията на MR като причина за патологични съдови ефекти – оксигативен стрес, хронично възпаление, пролиферация, миграция, вазоконстрикция, ремоделиране и фиброза (51). Алдостеронът притежава директни нежелани сърдечни ефекти, независими от ефекта му върху кръвното налягане. Пациенти с ПА са с по-голяма вероятност за левокамерна хипертрофия и мозъчно-съдов инцидент спрямо пациенти с есенциална хипертония с подобна тежест на АХ. Още повече, пациенти с тежка сърдечна

недостатъчност имат 30% редуция на смъртността след включване на лечение със минералкортикоиден антагонист (спиронолактон) към конвенционалната терапия от ACE инхибитор, дигоксин и диуретик (52). Натрупват се все повече доказателства за връзката между алдостерона и метаболитния синдром. Чрез геномни и негеномни пътища, при състояние на хипералдостеронизъм, се провокират множество патологични ефекти: панкреатична фиброза, нарушена функция на бета-клетките, намалена инсулинова чувствителност в скелетната мускулатура и мастната тъкан. Клинични и експериментални проучвания доказват, че блокадата на МР води до редуция на възпалителните тъканни промени, подобрява съдовата вазорелаксация и подобрява инсулиновата секреция от панкреаса и инсулин-зависимата глюкозна утилизация (53). Тези ефекти разширяват терапевтичните ползи на МР антагонистите при лечението на сърдечносъдовите и бъбречните заболявания.

Лечение и изход от лечението

Лечението на ПА се провежда с основна цел да предотврати смъртността и заболяемостта, асоциирани с хипертонията, хипокалиемията и директните органични ефекти на алдостерона. Поведението при лечението се определя след изясняване на първопричината на заболяването. Адrenalектомията е единствената алтернатива при болни с документирана унilaterална секреция на алдостерон (агеном на Кон, едностранна надбъбречно-корова хиперплазия), докато при билатералната алдостеронова хиперсекреция (ДНХ, ФХА тип 1) лечението е медикаментозно (32).

Лапароскопската адrenalектомия е отгавна наложилният се оперативен метод, поради бързото възстановяване на пациента и намаленият риск от усложнения (5). Средно 50% от пациентите, претърпели адrenalектомия, постигат пълно излекуване на артериалната хипертония (дефинирано като АН <140/90 mm Hg, без прием на антихипертензивно лекарство) (6,54). Кръвното налягане обикновено се нормализира в рамките на 6 месеца, но може периодът да се удължи до една година (22). От друга страна почти 100% от пациентите постигат биохимично излекуване, изразяващо се в нормализиране на ПАК и серумния калий (45). Към момента, най-добрият метод за предвиждане на терапевтичния изход от адrenalектомията са разработените точкови системи, най-популярна от които е ARS (aldosterone resolution score) (56). Предиктори за добро терапевтично повлияване

са БМИ $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ женски пол, продължителност на преоперативната хипертония ≤ 6 г. и прием на ≤ 2 антихипертензивни медикамента преоперативно (56). Като най-тежко постоперативно усложнение може да се посочи персистираният хипоалдостеронизъм, изискващ субституиращо лечение с флудрокортизон, който може да се появи в до 5% от пациентите (6).

При болните с ДНХ или при противопоказаната за оперативно лечение се провежда медикаментозно лечение с рецепторен антагонист на алдостерона – най-често спиронолактон. При повечето пациенти, подложени на такова лечение, се получава напълно задоволителен контрол на кръвното налягане. Антиандрогенните му странични ефекти като гинекомастия и дисменорея се дължат на антагонизъм на молекулата спрямо рецепторите на половите хормони. Ефектите са дозо-зависими (5). Еплеренон е поновият и селективен антагонист на МР, без изява на антиандрогенен ефект и прогестероново агонизъм. Потентността му е 50% от тази на спиронолактона и обикновено се прилага два пъти дневно (5,57).

Лечението на ФХА тип 1 се осъществява чрез комбинация от минимално ефективната кортикостероидна доза, бедна на сол диета и антагонист на МР (45). При ФХА тип 3, поради тежката изява на заболяването, лечението е двустранна адrenalектомия (6).

Заклучение

Първичният алдостеронизъм е най-често срещаната ендокринна хипертония. Хиперпродукцията на алдостерон се свързва не само с хипокалиемия и хипертония, но и със системни нарушения в сърдечносъдовата, бъбречната и други системи. Ранната му диагноза би предотвратила много от късните усложнения на хипертонията. Необходимо е насочване на вниманието на ендокринолози, общопрактикуващи лекари, кардиолози и нефролози за активно търсене на това заболяване. По този начин е възможно една значителна част от пациентите с хипертония да получат адекватно и каузално лечение.

1. **Addison T.** On the constitutional and local effects of disease of the suprarenal capsule. In: A Collection of the Published Writings of the late Thomas Addison MD. London: New Sydenham Society, 1868.
2. **Simpson SA, Tait JF, Wettstein A, Neher R, von Euw J, Reichstein T.** Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennerien mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel. *Experientia* 1953; 9: 333–335.
3. **Conn JW.** Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. *J Lab Clin Med* 1955; 45: 6–17.
4. **Conn JW.** Plasma renin activity in primary aldosteronism. Importance in differential diagnosis and in research of essential hypertension. *JAMA* 1964; 150: 222–225.
5. **Zacharieva S.** Primary aldosteronism. Diseases of the adrenal glands. 1st ed. *Paradigma Sofia* 2012. p. 392–429 (In Bulgarian). (**Захариева С.** Първичен алдостеронизъм. Заболявания на надбъбречните жлези. Първо издание. *Парадигма София* 2012. стр. 392–429).
6. **Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, Shibata H, et al.** The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(5): 1889–1916.
7. **Kaplan NM.** Clinical hypertension. 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins 1994; 389–408.
8. **Rossi GP, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C, et al.** A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 2293–2300.
9. **Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, et al.** Increased Diagnosis of Primary Aldosteronism, Including Surgically Correctable Forms, in Centers from Five Continents. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(3): 1045–1450.
10. **Seccia TM, Fassina A, Nussdorfer GG, Pessina AC, Rossi GP.** Aldosterone-producing adrenocortical carcinoma: an unusual cause of Conn's syndrome with an ominous clinical course. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(1): 149–159.
11. **Young WF.** Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clinical Endocrinology*. 2007; 66 (5): 607–618.
12. **Müdeau V, Moreau F, Trinquart L, Clemessy M, Wümeau JL, Vantyghem MC, et al.** Clinical and biochemical characteristics of normotensive patients with primary aldosteronism: a comparison with hypertensive cases. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 69 (1): 20–28.
13. **Kanoun F, Mabrouki T, Mekaouer A, Slimane H.** Normotensive Primary Aldosteronism: A Case Report. *The Internet Journal of Endocrinology* 2009; 5 (1).
14. **Rossi GP.** Primary aldosteronism: a needle in a haystack or a yellow cab on Fifth Avenue? *Curr Hypertens Rep* 2004; 6 (1): 1–4.
15. **Hannemann A, Wallaschofski H.** Prevalence of primary aldosteronism in patient's cohorts and in population-based studies—a review of the current literature. *Horm Metab Res* 2012; 44: 157–162.
16. **Matrozkova J, Zacharieva S, Kirilov G, Boyanov M.** Prevalence of primary aldosteronism among bulgarian hypertensive patients. *Centr Europ J Med* 2010; 5: 399–405
17. **No authors listed.** The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med* 1997; 157: 2413–2446.
18. **Mosso L, Carvajal C, González A, Barraza A, Avila F, Montero J, et al.** Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension* 2003; 42: 161–165.
19. **Strauch B, Zelinka T, Hampf M, Bernhardt R, Widimsky J Jr.** Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *J Hum Hypertens* 2003; 17: 349–352.
20. **Calhoun DA.** Is there an unrecognized epidemic of primary aldosteronism? *Pro. Hypertension* 2007; 50: 447–453.
21. **Calhoun DA, Nishizaka MK, Zaman MA, Thakkar RB, Weismann P.** Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension. *Hypertension* 2002; 40: 892–896.
22. **Thomas RM, Ruel E, Shantavasinkul PC, Corsino L.** Endocrine hypertension: An overview on the current etiopathogenesis and management options. *World J Hypertens* 2015; 5 (2): 14–27.
23. **Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y, Komiya I, Ichikawa K, Ishihara M, et al.** A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity. *Arch Intern Med* 1981; 141: 1589–1593.
24. **Montori VM, Young Jr WF.** Use of plasma aldosterone concentration-to-plasma renin activity ratio as a screening test for primary aldosteronism. A systematic review of the literature. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2002; 31: 619–632.
25. **Tiu SC, Choi CH, Shek CC, Ng YW, Chan FK, Ng CM, et al.** The Use of Aldosterone-Renin Ratio as a Diagnostic Test for Primary Hyperaldosteronism and Its Test Characteristics under Different Conditions of Blood Sampling. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 72–78.
26. **Stowasser M, Gordon RD.** Primary aldosteronism—careful investigation is essential and rewarding. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 217: 33–39.
27. **Gordon RD, Stowasser M, Klemm SA, Tunny TJ.** Primary aldosteronism and other forms of mineralocorticoid hypertension. In: Swales JD, ed. *Textbook of Hypertension* London, UK: Blackwell Scientific; 1994: 865–892.
28. **Crane MG, JJ Haris.** Effect of aging on renin activity and aldosterone excretion. *J Lab Clin Med* 1976; 87: 947–959.
29. **Luger A, Deuster PA, Kyle SB, Gallucci WT, Montgomery LC, Gold PW, et al.** Acute hypothalamic–pituitary–adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training. *N Eng J Med* 1987; 316: 1309–1315.
30. **Gallay BJ, Ahmad S, Xu L, Toivola B, Davidson RC.** Screening for primary aldosteronism without discontinuing hypertensive medications: plasma aldosterone-renin ratio. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 699–705.
31. **Stowasser M, Gordon R.** The Aldosterone-Renin Ratio in Screening for Primary Aldosteronism. *The Endocrinologist* 2004; 14: 267–276.
32. **Aronova A, Fahey T, Zarnegar R.** Management of hypertension in primary aldosteronism *World J Cardiol* 2014; 6 (5): 227–233.
33. **Mulatero P, Monticone S, Bertello C, Mengozzi G, Tizzani D, Iannaccone A, et al.** Confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism. *Horm Metab Res* 2010; 42 (6): 406–410.
34. **Stowasser M, Gordon RD.** Primary aldosteronism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17: 591–605.
35. **Li Q, Song Y, Yang S, Zhang A.** Diagnostic accuracy of three confirmatory tests for primary aldosteronism: a prospective study and systematic review. *Endocrine Abstracts* 2017; 49: OC1.5
36. **Tsiavos V, Markou A, Papanastasiou L, Kounadi T, Androulakis II, Voulgaris N, et al.** A new highly sensitive and specific overnight combined screening and diagnostic test for primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol* 2016; 175 (1): 21–28.
37. **Ahmed AH, Cowley D, Wolley M, Gordon RD, Xu S, Taylor PJ, et al.** Seated Saline Suppression Testing For The Diagnosis Of Primary Aldosteronism: A Preliminary Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99 (8): 2745–2753.
38. **Kapoor A, Morris T, Rebello R.** Guidelines for the management of the incidentally discovered adrenal mass. *Can Urol Assoc J* 2011; 5 (4): 241–247.

39. **Kempers MJ, Lenders JW, van Outheusden L, van der Wilt GJ, Schultze Kool LJ, Hermus AR, et al.** Systematic review: diagnostic procedures to differentiate unilateral from bilateral adrenal abnormality in primary aldosteronism. *Ann Intern Med* 2009; 151 (5): 329-337.
40. **Young WF, Stanson AW, Thompson GB, Grant CS, Farley DR, van Heerden JA.** Role for adrenal venous sampling in primary aldosteronism. *Surgery* 2004; 136: 1227-1235.
41. **Burton TJ, Mackenzie IS, Balan K, Koo B, Bird N, Soloviev DV, et al.** Evaluation of the sensitivity and specificity of (11)C-metomidate positron emission tomography (PET)-CT for later-alizing aldosterone secretion by Conn's adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 100-109.
42. **Sutherland DJA, Ruse JC, Laidlaw JC.** Hypertension increased aldosterone secretion and low plasma renin activity relieved by dexamethasone. *J Canad Med Assoc* 1966; 95: 1109-1119.
43. **Beuschlein F.** Regulation of aldosterone secretion: from physiology to disease. *Europ J Endocrinol* 2013; 168: 85-93.
44. **Mulatero P.** A New Form of Hereditary Primary Aldosteronism: Familial Hyperaldosteronism Type III. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (8): 2972-2974.
45. **Dluhy R, Lifton R.** Glucocorticoid-Remediable Aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84 (12): 4341-4344.
46. **Mulatero P, Tizzani D, Viola A, Bertello C, Monticone S, Mengozzi G, et al.** Prevalence and characteristics of familial hyperaldosteronism: the PATOGEN study (Primary Aldosteronism in Torino-GENetic forms). *Hypertension* 2011; 58: 797-803.
47. **Geller DS, Zhang J, Wisgerhof MV.** A novel form of human mendelian hypertension featuring nonglucocorticoid-remediable aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (8): 3117-3123.
48. **Monticone S, Tetti M, Burrello J, Buffolo F, De Giovanni R, Veglio F, et al.** Familial hyperaldosteronism type III. *J Hum Hypert* 2017; 31: 776-781.
49. **Choi M, Scholl UI, Yue P, Björklund P, Zhao B, Nelson-Williams C, et al.** K⁺ channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension. *Science* 2011; 331: 768-772.
50. **Piaditis G, Markou A, Papanastasiou L, Androulakis II, Kaltsas G.** Progress in aldosteronism: A review of the prevalence of primary aldosteronism in pre-hypertension and hypertension. *Eur J Endocrinol* 2015; 172: 191-203.
51. **Belden Z, Deiuliis J. A, Dobre M., Rajagopalan S.** The Role of the Mineralocorticoid Receptor in Inflammation: Focus on Kidney and Vasculature. *Am J Nephrol* 2017; 46: 298-314.
52. **White PC.** Aldosterone: Direct Effects on and Production by the Heart. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (6): 2376-2383.
53. **Ronconi V, Turchi F, Appolloni G, di Tizio V, Boscaro M, Giacchetti G.** Aldosterone, mineralocorticoid receptor and the metabolic syndrome: role of the mineralocorticoid receptor antagonists. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10 (2): 238-246.
54. **Zhou Y, Zhang M, Ke S, Liu L.** Hypertension outcomes of adrenalectomy in patients with primary aldosteronism: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord* 2017; 17 (1): 61.
55. **Quillo AR, Grant CS, Thompson GB, Farley DR, Richards ML, Young WF.** Primary aldosteronism: results of adrenalectomy for nonsingle adenoma. *J Am Coll Surg* 2011; 213: 106-112.
56. **Zarnegar R, Young WF Jr, Lee J, Sweet MP, Kebebew E, Farley DR, et al.** The aldosteronoma resolution score: predicting complete resolution of hypertension after adrenalectomy for aldosteronoma. *Ann Surg* 2008; 247 (3): 511-518.
57. **Burgess ED, Lacourciure Y, Ruilope-Urioste LM, Oparil S, Kleiman JH, Krause S, et al.** Long-term safety and efficacy of the selective aldosterone blocker eplerenone in patients with essential hypertension. *Clin Ther* 2003; 25: 2388-2404.

Address for correspondence:

g-p Росен Русев,

гр. София 1431, ул. „Здраве“ №2
УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, КЦЕГ
e-mail: ros_rusev@abv.bg

Dr Rosen Rusev,

Sofia 1431, 2, Zdrave Str.
USHATE „Acad. Ivan Pentchev“, CCEG
e-mail: ros_rusev@abv.bg

Епидемиология и клинични особености на диференцирания тиреоиден карцином

Димитрова, Инна Д., Ковачева, Русанка Д., Иванова, Рагина С., Шинков, Александър Д.

Клиника по тиреоидни и метаболитни костни заболявания, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“
Клиничен център по ендокринология и геронтология, Медицински университет, София

Epidemiology and Clinical Characteristics of Differentiated Thyroid Carcinoma

Dimitrova, Inna D., Kovatcheva, Roussanka D., Ivanova, Radina S., Shinkov, Alexander D.

Department of Thyroid and Metabolic Bone Diseases, University Hospital of Endocrinology „Acad. Ivan Penchev“
Clinical center of Endocrinology and Gerontology, Medical University, Sofia

Резюме

Понятието диференциран тиреоиден карцином (ДТК) включва папиларния и фоликуларния карцином (ФТК).

Тиреоидният карцином се открива в около 5% от възлите на щитовидната жлеза и най-честият вид е папиларният (ПТК) – над 90%. Честотата на ФТК е много по-ниска и намалява. В контраст заболяемостта от ПТК расте в световен мащаб. Увеличава се дялът на папиларния микрокарцином. Важна роля за промяната в епидемиологията на ДТК има рутинното използване на ехографията и биопсията. С цел да се унифицира ехографското описание и да се подобри възпроизводимостта на резултатите от ехографското изследване се въвежда European Thyroid Imaging and Reporting Data System (EU-TIRADS). Тънкоиглената биопсия е най-ефективният и минимално инвазивен метод за диагностика на ДТК. Ехографията от своя страна осигурява прецизен подбор на тиреоидните възли, показани за биопсия. Прогнозата на ДТК е добра, като дългосрочната преживяемост надвишава 90%. Клиничното протичане се определя от множество фактори, като броят на известните такива расте с нарастващото знание за туморогенезата. Проучвания сочат, че хистологичните и молекулярно-генетичните особености на ДТК определят биологичното му поведение. Капсули-

Abstract

Differentiated thyroid carcinoma (DTC) includes papillary and follicular carcinoma (FTC). Thyroid cancer is found in approximately 5% of thyroid nodules and the most common is papillary thyroid cancer (PTC) - over 90%. The prevalence of FTC is much lower and decreases. By contrast, the incidence of PTC increases worldwide. The number of cases with papillary microcarcinoma increases. The routine use of ultrasound and fine needle biopsy (FNB) has an important role in changing DTC epidemiology. To unify ultrasound reporting and increase the reproducibility of ultrasound investigation the European Thyroid Imaging and Reporting Data System (EU-TIRADS) has been established. FNB is the most effective and minimally invasive diagnostic method of DTC. Ultrasound ensures precise selection of thyroid nodules for biopsy. The prognosis of patients with DTC is good and long-term survival exceeds 90%. The clinical outcomes are determined by many factors whose number is rising due to the increasing knowledge of the tumorigenesis. Studies demonstrate that the histologic and molecular genetics characteristics of DTC determine its biological behaviour. The encapsulated follicular variant of PTC (FVPTC) frequently harbours RAS mutations and has an indolent nature. The infiltrative FVPTC is characterized by a higher risk of metastasis and recurrence. Most often it

раният фоликуларен вариант на ПТК е чест носител на RAS-мутацията и има благоприятно протичане. Инвазивният от своя страна се отличава с по-висок метастатичен потенциал и риск за рецидив. При него най-честа е BRAFV600E мутацията. Други фактори, определящи биологичното поведение на ДТК, са размерът на тумора, наличието и характеристиката на лимфните метастази, наличието на галечни метастази и възрастта на пациента. Анализирането на всички тези фактори от мултидисциплинарен екип позволява по-прецизно определяне на риска за рецидив, карцином-свързана смъртност, както и оптималното поведение при пациентите с ДТК.

Ключови думи:

диференциран тиреоиден карцином, епидемиология, EU-TIRADS-система, хистологични варианти, клинично протичане

harbours BRAFV600E mutation. Other factors influencing biological behaviour of DTC are tumour diameter, presence and characteristics of lymph node metastases, presence of distant metastases and patient's age. The analysis of all these factors by a multidisciplinary team allows the risk of recurrence and cancer-related death to be more precisely assessed, and the best treatment of the subjects with DTC to be determined.

Key words:

differentiated thyroid carcinoma, epidemiology, EU-TIRADS system, histologic variants, clinical behavior

Епидемиология

Като диференциран тиреоиден карцином (ДТК) се определят папиларният (ПТК) и фоликуларният карцином (ФТК). Те водят началото си от фоликуларния епител на щитовидната жлеза. Преобладаващата част от ДТК е спорадичен като едва 5% от случаите са фамилни (1). Епидемиологични проучвания сочат, че тиреоидният карцином се открива в 5% от възлите на щитовидната жлеза (2) и най-честият вид е папиларният. Той представлява над 90% от туморите на щитовидната жлеза и е най-честото злокачествено ендокринно заболяване. Честотата на ФТК е много по-ниска от тази на ПТК и прогресивно намалява, като в момента се оценява на 5-15% от всички тиреоидни карциноми (3,4). За разлика от ФТК, честотата на ПТК нараства в световен мащаб. ПТК е от 3 до 4 пъти по-чест при жените в сравнение с мъжете. Може да се развие във всяка възраст, но най-често се диагностицира при лица между 30-60 г. и рядко в детска възраст. В Канада това е ракът с най-бързо увеличаваща се честота – с 6,8% годишно при мъже и с 8,8% – при жени (5). Подобна е тенденцията и в САЩ. Годишната заболеваемост там почти се е утроила за последните 34 г. – от 4,9 на 100,000 през 1975 г. на 14,3 на 100,000 през 2009 г. Aschebrook-Kilfoy и съпр. считат, че ПТК ще бъде третото по

честота злокачествено заболяване при жените през 2019 г. в САЩ, като разходите за лечение се предвижда да достигнат 19-21 млрд. щатски долара годишно (6,7). Увеличава се дялът на папиларния микрокарцином (мПТК), който е с размери ≤ 1 см. За периода 1988-1989 г. в САЩ 25% от новодиагностицираните случаи на ПТК са били микрокарциноми, като процентът за 2008-2009г. е 39% (8).

Данни на Клиничния център по ендокринология и геронтология (КЦЕГ) сочат, че дялът на мПТК се е увеличил с 18% при сравнение между два 10-годишни периода (41% за 1996-2005 г. и 59% 2006-2015 г.) (9). В България през 2011 г. ПТК заема първо място сред всички злокачествени заболявания при жените на възраст между 15-29 г., 4-то място – при тези на възраст 30-44 г. и 7-мо място – при тези на възраст 45-59 г. (9). Счита се, че важна роля за промяната в епидемиологията на ПТК има рутинното използване на ехографията на щитовидната жлеза в клиничната практика и въвеждането на тънкоиглената биопсия под ехографски контрол (ТПБ) с цитологично изследване. Тази констатация се подкрепя и от епидемиологични проучвания, които докладват честота на палпаторно установените възли на щитовидната жлеза от 4% до 7% в общата популация (10), а на ехографски диагностицираните – 20%-75% (2,11). В Южна Корея заболеваемостта от рак на щитовидна-

та жлеза през 2011 г. е 15-пъти по-висока от тази през 1993 г. без да има промяна в карцином-свързаната смъртност. Счита се, че важна роля за нарасналата заболяемост има програмата на южнокорейското правителство за ранна диагноза на рака, която осигурява профилактично ехографско изследване на шията. Статистическите данни показват, че тази променена заболяемост е за сметка на ПТК. Поставят се въпроси за свърхдиагностата на ДТК и свързаните с това разходи върху здравните системи (12). Изразходваните средства за лечение на пациенти с тиреоиден карцином за 2013 г. в САЩ са 1,6 млрд. (6).

Френско проучване оценява влиянието на промените в клиничната ендокринологична практика върху епидемиологията на ДТК за 20-годишен период (1980-2000 г.). Докладва се, че броят на пациентите, които се обръщат към лекар по повод на палпируем възел или тиреоидна дисфункция, остава стабилен във времето. В контраст на това е изводът, че значително се увеличава броят на пациентите със случайно установени възли на щитовидната жлеза. Техническият напредък в ехографията като образен метод осигурява възможността за диагностика на непалпируеми възли, ехографски суспектни за малигнени и изискващи ТПБ (13). Наред с това проучване и редица други докладват нарастване на дела на пациентите, оперирани от ДТК, като част от общия брой на пациенти, оперирани от тиреоидни заболявания.

Диагноза на ДТК

Ехографското изследване е основен метод за диагностика на възлите на щитовидната жлеза и за подбор на тези, показани за биопсия. Въз основа на натрупания опит в областта на диференциалната диагноза на тиреоидните възли през последните 10 г. се предлагат различни системи за класификацията им. През 2017 г. Европейската тиреоидна асоциация (ETA) предложи използването на European Thyroid Imaging and Reporting Data System (EU-TIRADS) с цел да се унифицира описанието на ехографската находка и да се подобри възпроизводимостта на резултатите от ехографското изследване. EU-TIRADS разделя възлите в категории според наличието на определени ехографски характеристики. За всяка категория е изчислен релативен риск за малигненост и е дадена препоръка за терапевтично поведение (14).

EU-TIRADS 5 – риск за малигненост 26-87%. Възлите, които попадат в тази категория, имат **поне един** от следните суспектни за малигненост ехографски белези:

1) изразена хипоехогенност (възелът е хипоехогенен от претиреоидните мускули);

2) неправилна форма (по-висок отколкото широк);

3) неравни граници (микролобулирани, наличие на спикъли);

4) микрокалцификати. Възлите с размер >1 см в тази категория се биопсират. Тези <1 см са показани за биопсия при съпътстваща суспектна шийна лимфаденопатия.

EU-TIRADS 4 – риск за малигненост 6-17%. Възлите без суспектни ехохарактеристики, но с лека хипоехогенност (по-хипоехогенни от околния тиреоиден паренхим) попадат в тази категория. Биопсират се тези >1,5 см.

EU-TIRADS 3 – риск за малигненост 2-4%. Обхваща изоехогенните и хиперехогенните възли без суспектни ехохарактеристики. Биопсират се само възли >2 см.

EU-TIRADS 2 – риск, доближаващ се до 0%. В тази категория попадат анехогенните и спонгиозните възли. Биопсия не се препоръчва.

EU-TIRADS 1 – нормална щитовидна жлеза.

Тънкоиглената пункционна биопсия (ТПБ) под ехографски контрол с последващо цитологично изследване е най-ефективният и минимално инвазивен метод за диагностика на ПТК. Рутинното извършване и нарасналият опит на цитопатолозите в областта на тиреоидната цитология доведе до увеличаване на диагностичната точност на метода и намаляване на броя на диагностичните тиреоидектомии. Позитивната предиктивна стойност (ППС) при ТПБ на възли на щитовидната жлеза е 89-98%, а негативната предиктивна стойност (НПС) е 94-99%. Чувствителността и специфичността на метода са високи, като според различни проучвания варират съответно от 83-92% и от 75-97% (9).

В практиката се използват различни системи за отговор на тиреоидната цитопатология. Bethesda системата е една от тях и е създадена през 2007 г. от мултидисциплинарен екип след подробен анализ на публикуваната литература в областта и ревизирана през 2017г. Тази система осигурява възпроизводимост и сравнимост на резултатите от цитологичните изследвания, проведени в различни центрове. Системата се състои от 6 категории, като всяка е свързана с определен риск за малигненост и съответен алгоритъм за терапевтично поведение (Табл. 1). За категории III (B3) и IV (B4) по Bethesda са посочени двойка синонимни понятия, съответно атипия с неясно значение и фоликуларна лезия с неясно значение, фоликуларна неоплазма и суспекция за фоликуларна неоплазма. Всяка цитопатологична лаборатория избира кое от

понятията да използва в дадената категория.

Петнадесет до тридесет процента от биопсираниите възли имат недетерминирана цитология – категории III (B3), IV (B4) и V (B5). В редица проучвания към недетерминираната цитология се отнасят само B3 и B4, т.к. процентът на малигненост в категория B5 е висок. Сериозен диагностичен проблем са пациентите с недетерминирана цитология – B3 и B4. Те често се насочват за извършване на диагностична оперативна интервенция, като 70-80% от оперираните възли са доброкачествени на трайната хистология (15).

Има редица изследвания за използването на молекулярни тестове за подобряване на диагностичната стойност на ТПБ и избягване на ненужни диагностични лобектомии. В основата на тези тестове стои изследването на чести мутации с доказана роля в патогенезата на ДТК като BRAFV600E мутацията, точковите мутации в RAS-гените, PAX8/PPAR гамта пренареждането и други. При използването на молекулярни тестове е важно познаването на техните характеристики. Някои тестове изследват ДНК и откриват мутации (7-генния молекулярен панел; ThyroSeq V2). Други характеризират генния експресионен профил на транскрипционно ниво (информационна РНК). Част от молекулярните тестове са от полза за предсказване на доброкачествения характер на възела (изключващи). Пример за такъв е Afirma Gene Expression Classifier. Той изследва експресията на 142 гена на транскрипционно ниво чрез микрочипов анализ. Не се препоръчва за използване при възли категория B5, защото е изключващ тест. ThyroSeq V2 е наскоро разработен търговски панел, чрез който се изследва наличието на повече от 400 точкови мутации и 42 генни пренареждания. Този тест има висока ППС и НПС, съответно 83% и 96%, т.е. тестът изтънява критериите за включващ и изключващ тест (16,17). Ограниченията на тези молекулярни тестове са цената и търговското им разпространение само на територията на САЩ. На този етап няма молекулярен тест, който самостоятелно да може да потвърди или изключи малигненост в трудните за диагноза случаи. Необходими са допълнителни изследвания на нови потенциални диагностични маркери за ПТК. Алтернативен подход към изучаването на туморния генен профил е изследването на продуктите на генната експресия (протеини) в серума, като до момента разработките в областта са много малко.

Морфологични особености и хистологични варианти

Клетките на ПТК имат отличителни ядрени белези, на които се основава хистологичната диагноза (светли, тип матово стъкло ядра, туморните ядра са по-големи от тези на нормалните фоликуларни клетки, съдържат еозинофилни вътреядрени включвания и лонгитудинални възвания на ядрената мембрана). Различават се няколко хистологични варианта на ПТК:

1. Микрокарцином;
2. Класически вариант;
3. Фоликуларен вариант;
4. Tall cell вариант;
5. Дифузен склерозиращ вариант;
6. Солиден вариант;
7. Цилиндричноклетъчен вариант;
8. Warthin-like вариант;
8. Онкоцитен вариант;
9. Светлоклетъчен вариант;
10. Крибриформен с морули;
11. Нобнаил вариант;
12. ПТК с фасциит-подобна строма.

Класическият ПТК се отличава с наличие на папиларни по структура пролиферации (18).

Папиларният микрокарцином включва всички ПТК с размер ≤ 1 cm, независимо от техните морфологични особености. Открива се често в аутопсионни серии (6-36%) (19). Прогнозата при този вид е много добра. Мета-анализ на проучвания върху мПТК сочи, че в 28% има метастази в лимфни възли при диагностицирането, но карцином-свързаната смъртност е едва 0,3%. Далечните метастази са редки и има едва няколко проучвания, анализиращи вероятни рискови фактори (20,21). Установено е, че далечните метастази при пациенти с мПТК са по-чести при по-голям размер на тумора (>8 mm), наличие на лимфни метастази и напреднала възраст (22). Горепосоченият мета-анализ докладва честота на фоликуларния вариант на ПТК в групата на мПТК от 9,7-31%, на tall cell варианта – 0,8%, а на дифузния склерозиращ вариант на ПТК – 5-11,7%. При мПТК заболяемостта е по-голяма при женския пол, като съотношението е 4,85:1 (20). Интересен е фактът, че проучвания върху аутопсионни серии установяват значително по-малки полови различия (23).

Фоликуларният вариант на ПТК е относително чест – около 30% от всички ПТК. Различават се два основни вида – капсулиран (неинвазивен) и инвазивен. И двата вида имат фоликуларен строеж, но при капсулирания има фиброзна капсула, докато при инвазивния се наблюдава инфилтративен растеж (24). При фоликуларния вариант на ПТК няма папиларни по структура пролиферации. Хистологичната диагноза е на базата на ядрените характеристики на туморните клетки. В миналото е преоблада-

Таблица 1. Категории по Bethesda системата за отговор тиреоидната цитопатология

	Категория по Bethesda	Цитологична характеристика	Риск за малигненост	Терапевтично победение
I	Недиагностична	1. Кистично съдържимо 2. Липса или недостатъчен брой клетки в препаратите 3. Други (неадекватна фиксация, оцветяване)	5-10%	Повторна биопсия
II	Доброкачествена	1. Доброкачествен фоликуларен възел (колоиден, аденоматозен) 2. Тиреоидит на Хашимото 3. Субакутен тиреоидит 4. Други	0-3%	Проследяване
III	Атипия с неясно значение или Фоликуларна лезия с неясно значение	Наличие на микрофоликули или онкоцити в аспират с малък целуларитет; наличие на единични фоликуларни клетки с атипични цитоплазмени/ядрени белези	6-18%	Повторна биопсия, молекулярно-генетично изследване, лобектомия
IV	Фоликуларна неоплазма или Суспекция за фоликуларна неоплазма	Изразен целуларитет, оскъдно колоид, предоминиране на микрофоликули, структури тип розетки	10-40%	Молекулярно-генетично изследване, лобектомия
V	Суспекция за малигненост	1. Суспекция за папиларен тиреоиден карцином 2. Суспекция за медуларен тиреоиден карцином 3. Суспекция за метастатичен карцином 4. Суспекция за лимфом 5. Друг	45-60%	Тиреоидектомия или лобектомия
VI	Малигнена	1. Папиларен тиреоиден карцином 2. Нискодиференциран карцином 3. Медуларен тиреоиден карцином 4. Анапластичен тиреоиден карцином 5. Плоскоклетъчен карцином 6. Метастатичен карцином 7. Неходжкинов лимфом 8. Друг	94-96%	Тиреоидектомия или лобектомия

давал инвазивния, като в момента половината до две трети от случаите са на капсулиран фоликуларен вариант на ПТК (25). Двата вида се различават по отношение на биологичното си поведение и на молекулярно-генетичния си профил. Капсулираният фоликуларен вариант на ПТК е чест носител на RAS-мутация, докато инвазивният – на BRAF^{V600E} мутацията (26,27). Докато капсулираният има благоприятно протичане, то инвазивният се отличава с по-висок метастатичен потенциал и риск за рецидив, но въпреки това сходен с този на класическия ПТК. Обобщение на шест проучвания посочва, че при 107 случая на капсулиран фоликуларен вариант на ПТК 25% са с лимфни метастази и 1% с далечни метастази. От 107-те пациенти един умира

от заболяването, двама са живи при персистиране на заболяването, докато при останалите 104-има липсват клинични, структурни и биохимични данни за заболяване (25). При проучване на 61 пациенти с капсулиран фоликуларен вариант на ПТК честотата на лимфните метастази е 5%, като в серията няма случай на далечни метастази (28). Поради категоричните данни за благоприятно протичане и много нисък риск за рецидив е предложено капсулираният фоликуларен вариант на ПТК да се преименува на noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) (29).

Капсулираният фоликуларен вариант на ПТК може погрешно да се диагностицира като фоликуларен аденом или карцином. Определящи

за диагнозата на фоликуларния вариант на ПТК са ядрените белези, характерни за ПТК. Прилагането на имунохистохимични и молекулярни маркери също има важна роля. Липсата на капсулна и/или съдова инвазия и наличие на фокуси от клетки с ядрени белези, характерни за ПТК, са част от причините за трудности при диагнозата (9).

Tall cell вариантът се характеризира с клетки, чиято височина надвишава поне 3 пъти ширината им. Честотата на този вид ПТК варира от 3,2-19% по литературни данни (30). Широкият интервал може да се дължи на различията в критериите за диагноза. Според Американската тиреоидна асоциация (АТА) повече от 50% от туморните клетки трябва да имат характеристиките на tall cell, за да се постави тази диагноза (31). Tall cell вариантът е с по-агресивно биологично поведение в сравнение с класическия ПТК – среща се с по-голяма честота при по-възрастни пациенти, по-чести са шийните лимфни метастази, рецидивите, както и тумор-свързаната смъртност. BRAF мутацията се установява приблизително в 80% от случаите на tall cell вариант на ПТК (22).

Дифузият склерозиращ вариант на ПТК е рядък хистологичен вариант с честота около 3% (0,7-6,6%) (3,32). Той е по-чест при по-млади пациенти и е в асоциация с лимфоцитарен тиреоидит. Прогнозата при пациенти с дифузен склерозиращ вариант на ПТК е сходна с тази на класическия ПТК, но се съобщава по-висока честота на локало-регионалните и далечни метастази (32,33).

Някои хистологични варианти на ПТК са свързани с фамилни туморни синдроми. *Крибриформеният с морули вариант* е рядък (0,5% от ПТК), но той в 40% се среща в съчетание с фамилна аденоматозна полипоза (ФАП). Наличието на β -катенин положителна имунохистохимия има важно диагностично значение при този рядък вид ПТК. Няма хистологичен белег, който да разграничи спорадичния крибриформен с морули вариант на ПТК от този, асоцииран с ФАП, но е важно да се отбележи, че мултифокалността се среща по-често при пациенти с ФАП. В около 40% диагнозата на тиреоидния карцином предхожда диагнозата на ФАП, затова е уместно при пациенти с крибриформен с морули ПТК да се извърши гастроентерологична и генетична консултация (38).

Други редки варианти на ПТК са *солидният вариант* (3%), *цилиндричноклетъчният* (0,2%), *онкоцитният* (1-11%), *Warthin-like вариант*, *светлоклетъчният вариант* (<1%), *hobnail вариант* (<2%) и ПТК с фасциит подобна строма (3). Познаването на хистологичните варианти на ПТК е важно не само за патолозите, но и за кли-

ницистите ендокринолози, т.к. някои хистологични варианти се свързват с по-неблагоприятна прогноза. Според литературните данни такива са tall cell вариантът, дифузно склерозиращият вариант, цилиндричноклетъчният и hobnail вариантът на ПТК (9).

Въпреки че ПТК и ФТК се обединяват в групата на ДТК, ФТК показва специфики в биологичното си поведение. През последните години честотата му намалява. Счита се, че причини за това са стриктните критерии за диагностика (капсулна и съдова инвазия), нарастващата честота на ПТК и свръхдиагнозата на фоликуларния вариант на ПТК. ФТК метастазира основно по хематологичен път в резултат на афинитета си към съдова инвазия. Лимфните метастази са редки и се оценяват на около 10% (35). Хистологично се различават *два варианта на ФТК – капсулиран и обширно инвазивен* (3). ФТК се диагностицира след установяване на съдова или капсулна инвазия, за което е необходимо хистологично изследване.

Цитологичното изследване е скринингов, а не диагностичен тест за възлите с фоликуларен строеж. Счита се, че ФТК има по-агресивно поведение в сравнение с ПТК (36). Преживяемостта без структурни и биохимични белези на заболяване (disease-free survival) при пациенти, лекувани от ФТК и проследени за период от 40 месеца, варира от 46%-97% в зависимост от възрастта, наличието на далечни метастази при диагностицирането, съдовата инвазия, размера на тумора (37,38).

Онкоцитният (Hurthle-клетъчен) карцином от скоро се разглежда като самостоятелен вид ДТК. Изграден е от клетки с гранулирана еозинофилна цитоплазма. Микроскопският изглед на цитоплазмата се дължи на множеството митохондри в нея. За Hurthle-клетъчния тумор е характерно метастазиране в шийни лимфни възли, както и по-чести рецидиви в сравнение с класическия фоликуларен карцином. Онкоцитният карцином е с по-лоша прогноза по отношение на преживяемостта от ФТК (39,40). Важно от клинична гледна точка е по-ниската му чувствителност към радиоактивен йод (41).

Оценка на риска

Оценката на риска за рецидив и карцином-свързаната смъртност при пациенти с ДТК е важна и определя терапевтичното поведение. Тя започва още постоперативно с хистопатологичното pTNM стадияне на American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC). Прегимствата на тази система са следните:

- 1) дава информация за очакваната прежи-

вземост на пациента, базирайки се на данни за средната преживяемост на пациентите в тази група;

2) улеснява комуникацията между лекарите, участващи в терапевтичния екип;

3) подпомага вземането на решения относно лечението и проследяването на пациентите с ДТК. Тази стадираща система оценява добре риска за смъртност, но не и риска за рецидив (42). В литературата се описват и други системи, показващи добри статистически резултати в оценката на риска за рецидив и карцином-свързаната смъртност – количествената класификация (QTNM), създадена от Onitilo и сътр., и класификацията на клиниката Mayo (MACIS). QTNM класификацията оценява хистологичния вид на тумора, големината на тумора, наличието на лимфни и далечни метастази и възрастта на пациента, като се дават съответни точки (43). Тази класификация е създадена, за да прогнозира риска за рецидив, но показва добри резултати и по отношение на карцином-свързаната смъртност (44). По литературни данни наред с AJCC/UICC TNM – класификацията, MACIS класификацията дава най-добри резултати в предвиждането на преживяемостта. Заг абривиатурата MACIS стои метастаза (metastasis); възраст (age); радикалност на оперативната интервенция (completeness of resection); инвазия на тиреоидната капсула (invasion); размер на тумора (size) (45).

Шийните лимфни метастази са чести при ПТК. Те са важен фактор при стадирането на заболяването. Терминът „клинично значима“ лимфна метастаза се използва, когато метастатичният лимфен възел е палпируем, видим на ехографско изследване или се установява при оперативната интервенция. Лимфната дисекция, извършена по повод на „клинично значима“ лимфна метастаза, се означава като терапевтична. Процентът на „клинично значимите“ шийни лимфни метастази при пациенти с ПТК е около 35% (46). Проучвания при пациенти с ПТК и обширна шийна лимфна дисекция с много внимателно хистологично изследване на отстранените лимфни възли установяват наличие на лимфни метастази в 12-81% от случаите (22, 46–49). Въз основа на тези резултати е въведен терминът „субклинични“ лимфни метастази. Той означава тези лимфни метастази, които са неустановими палпаторно, ехографски и при интраоперативна инспекция. При проучвания на пациенти с мПТК честотата на „субклиничните“ лимфни метастази в централния шийен компартимент варира от 37-64% (46,50–52). Както при мПТК, така и при ПТК „субклиничните метастази“ рядко стават „клинично значими“, дори и

нелекувани. Важен клиничен въпрос е връзката между шийните лимфни метастази и преживяемостта при пациенти с ДТК. Ретроспективно проучване, използващо данни на SEER (Surveillance, Epidemiology and End Result Program) и National Cancer Data Base посочва, че наличието на лимфни метастази увеличава карцином-свързаната смъртност при млади и при по-възрастни пациенти. Въпреки това за млади пациенти (под 55 години) тази корелация е с малко клинично значение (42,53). Изследване на Ito и сътр. доказва, че наличието на шийни метастази над 1,5 cm се свързва с по-висок риск от рецидив в сравнение с N0 или с наличие на шийни метастази под този размер (54). Проучването на Yamashita и сътр. докладва, че екстранодалната инвазия на метастатични шийни лимфни възли независимо от размера им се свързва с по-малка преживяемост при пациентите с ДТК (55).

Карцином-свързаната смъртност при пациентите с ДТК нараства с възрастта. Проучване върху 3664 пациенти в Memorial Sloan Kettering Cancer Center установява влошаване на преживяемостта с нарастване на възрастта без да се откроява определена възрастова граница. В 7-мото издание на AJCC/UICC TNM – класификацията за възрастова граница се приема 45 г., а в 8-мото – 55 г. Всички пациенти от 45-54 г. без далечни метастази се класифицират като първи стадий на заболяването според 8-мото издание. Авторите на едно наскоро приключило международно проучване върху 9484 пациенти с ДТК (с медиана на проследяване от 5-години) съобщават, че 12% от пациентите са рестадирани от втори в първи стадий в съответствие с новата възрастова граница в 8-мото издание на AJCC/UICC TNM – класификацията. Съобщената 10-годишна преживяемост в групата на рестадираните е 98% (56).

Напредъкът в изясняването на молекулярно-генетичните механизми на туморогенезата на ДТК доведе до установяването на допълнителни фактори, имащи отношение към преживяемостта и честотата на рецидивите. Пример за това е BRAF^{V600E} мутацията. Тя се свързва с биологично по-агресивни хистологични варианти на ДТК. В литературен обзор, включващ 14 проучвания, BRAF^{V600E} мутацията се асоциира със значимо по-висок риск за рецидив (57). Тъй като мутацията се среща по-често при агресивните фенотипи на ДТК, при които е по-често и наличието на регионални метастази и екстратиреоидна инвазия, е трудно да се прецени каква част от изчисления риск за рецидив и персистиране на заболяването е в резултат на BRAF^{V600E} мутацията. Според някои автори мутацията е независим предиктор на риска за

рецидив (58,59). Едно проучване върху 2099 пациента сочи, че BRAFV600E мутацията е свързана с повишен риск за рецидив при класическия и при фоликуларния ПТК. Счита се, че BRAF статусът, добавен към установените вече клинично-патологични фактори, ще подобри първоначалното определяне на риска за рецидив при пациентите, оперирани от ДТК (60).

Ретроспективно обсервационно проучване на 400 ДТК докладва, че мутациите на теломеразния промотор (TERT) са по-чести при биологично агресивните ДТК. Посочва се, че TERT мутациите са независим предиктор на карцином-свързаната смъртност (61). Скорошни изследвания докладват ниска честота на случаите на ДТК с едновременно наличие на няколко мутации – асоциация на BRAF^{V600E} с мутации в TERT, PIK3CA (мутации във фосфатидилинозитол 3-киназния път), TP53 (мутации в p53 протеина) и AKT1 (мутации в серин-треонин протеин киназния рецептор). Налице е, обаче, силна корелация между асоцииране на няколко мутации с агресивно биологично поведение на ДТК (62–64).

Терапевтично поведение

АТА препоръчва тоталната тиреоидектомия при пациенти с ДТК и размер на тумора над 4 cm, при тумори с по-малки размери, но с екстратиреоидна инвазия, при наличие на „клинично значими“ лимфни метастази и при далечни. Благодарение на техническия напредък в ехографията и високочувствителните методи за изследване на тиреоглобулин (Тг) в динамика днес рутинно не се препоръчва извършване на тотална тиреоидектомия, последвана от радиоiodоаблация, с цел улесняване на дългосрочното проследяване на пациенти. Според препоръките на АТА при тумори между 1-4 cm би могло да се извърши както лобектомия, така и двустранна интервенция (тотална или субтотална тиреоидектомия). Смъртността за пациенти с ДТК и диаметър на тумора под 4 cm без екстратиреоидна инвазия е под 1% за 10-годишен период на наблюдение независимо от обема на операцията – лобектомия или тиреоидектомия. Влияние върху карцином-свързаната смъртност при тези пациенти има възрастта и мъжкия пол (65). Затова преценката за обема на операцията при пациенти с ДТК се определя от множество фактори като: възраст на пациента (>45 г.), нодозна трансформация на другия дял, пол, анамнеза за облъчване в областта на главата и шията, фамилна анамнеза за рак на щитовидната жлеза. ЕТА препоръчва тиреоидектомия при всички ДТК над 1 cm. Според АТА и ЕТА при мПТК без локо-регионални и далечни

метастази лобектомията е препоръчителната хирургична интервенция.

Значението на терапевтичната лимфна дисекция при „клинично значими“ метастатични шийни лимфни възли е ясна, но тази на профилактичната лимфна дисекция остава повод за дебат. Според препоръките на АТА профилактичната централна шийна лимфна дисекция е оправдана при пациенти, при които са налице фактори за повишен риск от метастази и рецидив на заболяването – напреднала възраст, голям туморен размер (>4 cm), екстратиреоидна инвазия, клинични данни за метастази в латералния компартимент (66,67). Проучванията върху корелацията между BRAFV600E мутацията при ДТК и наличието на лимфни метастази са с противоречиви резултати (68–70). Въз основа на това АТА не препоръчва BRAFV600E – мутационният статус да се взема предвид при решението за профилактична централна шийна лимфна дисекция.

След първоначалната терапия пациентите с ДТК се проследяват от лекарски екип, включващ ендокринолози и лечебни терапевти. Нагрупува се допълнителна клинична информация, която дава възможност за преоценка на риска за рецидив (71). Отговорът на пациентите към първоначалната терапия (тиреоидектомия и радиоiodоаблация) според АТА може да бъде както следва:

Отличен отговор към първоначалната терапия: Без клинични, биохимични и структурни данни за заболяване. Няколко ретроспективни проучвания сочат, че при пациентите с отличен отговор към първоначалната терапия рискът за рецидив е 1-4%.

Биохимично непълен отговор към първоначалната терапия: Тг извън нормата или покачващи се антитиреоглобулинови антители (ТАТ) без структурни данни за персистиране на заболяването. Биохимично непълен отговор към първоначалната терапия се дефинира при следните стойности на Тг: нестимулиран на шестия месец след радиоiodоаблацията >5 ng/ml, нестимулиран 1 година след радиоiodоаблацията >1 ng/ml и стимулиран тиреоглобулин 1 година след аблацията >10 ng/ml (72–74). Нивото на Тг зависи от тиреостимулиращия хормон (ТСХ), от обема на остатъчен нормален тиреоиден паренхим, от обема на остатъчния тумор, от това дали е проведена радиоiodоаблация и от периода, изминал след провеждането ѝ. Обикновено Тг и ТАТ намаляват с времето, изминало от първоначалната терапия (75,76). При малък процент от пациентите с биохимично непълен отговор се наблюдава нарастване на нестимулирания Тг с времето. Стойността на Тг, определяща биохимично непълен отговор при пациенти с лобек-

томия или тиреоидектомия без радиоiodоаблация, е неясна.

Структурно непълен отговор към първоначалната терапия: Данни за персистиращи или новодиагностицирани локо-регионални или далечни метастази. Пациентите със структурно непълен отговор имат най-висока карцином-свързана смъртност (77).

Недетерминиран отговор: Биохимичните и структурните данни не могат категорично да определят отговора на пациента към лечението. В тази група попадат пациенти с некръвоснабдени възли <1 см в ложето на жлезата, атипични шийни лимфни възли, които не са биопсирани. Включват се още пациенти с установим нестимулиран T_g <1 ng/ml, стимулиран T_g между 1-10 ng/ml, пациенти със стабилни или намаляващи нива на ТАТ без убедителни структурни данни за заболяването. При около 15-20% от пациентите с недетерминиран отговор се установява персистиране или рецидив на заболяването за 10-годишен период на наблюдение. В останалите случаи пациентите остават в групата на недетерминиран отговор и се проследяват.

Прогнозата на ДТК е добра, като дългосрочната преживяемост надвишава 90% (78). Въпреки ниската смъртност при това заболяване в около 30% настъпва рецидив на тумора (79). Най-често рецидивите са локални – в тиреоидното ложе и в шийните лимфни възли (80).

Редица проучвания доказват, че хистологичните и молекулярно-генетичните особености на ДТК, размерът на тумора, наличието на регионални лимфни метастази, броят им, наличието на екстраногална туморна инвазия, на екстра-тиреоидна инвазия, на далечни метастази, както и възрастта на пациента определят клиничното развитие на заболяването, съответно и прогнозата.

Заклучение

ДТК е заболяване с нарастваща честота и социално значение в световен мащаб. Широкото използване на ехографията и тънкоиглената биопсия направиха възможно диагностицирането на микрокарцинома, но и поставиха въпроси за свръхдиагностата и лечението. Напредъкът в изясняването на молекулярно-генетичните механизми на туморогенезата на ДТК доведе до по-добро прогнозиране на биологичното поведение на различните хистологични варианти. Това позволява по-прецизно определяне на риска за рецидив и карцином-свързана смъртност, както и оптимално терапевтично поведение. Лечението на ДТК се определя от множество фактори и техният брой нараства с продължаващите проучвания и открития в областта. Основа за нови изследвания са молекулярно-генетичните механизми на туморогенезата и връзката им с биологичното поведение на различните варианти ДТК.

References

1. Hemminki K, Eng C, Chen B. Familial risks for non-medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(10): 5747–5753.
2. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JWA, Wiersinga W. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 2006;154(6):787–803.
3. DeLellis A, Lloyd R, Heitz PU. Tumours of the thyroid gland. In: Lloyd R V., R. Y. Osamura, editors. World Health Organization Classification of Tumours of Endocrine Glands. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2004. p. 65–100.
4. Alevizaki M, Papageorgiou G, Rentziou G, Saltiki K, Marafelia P, Loukari E, et al. Increasing prevalence of papillary thyroid carcinoma in recent years in Greece: the majority are incidental. *Thyroid* 2009;19(7):749–754.
5. Makki FM, Taylor SM, Shahnavaz A, Leslie A, Gallant J, Douglas S, et al. Serum biomarkers of papillary thyroid cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;42:1–16.
6. Aschebrook-Kilfoy B, Schechter RB, Shih Y-CT, Kaplan EL, Chiu BC-H, Angelos P, et al. The clinical and economic burden of a sustained increase in thyroid cancer incidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(7):1252–1259.
7. Brito JP, Al Nofal A, Montori VM, Hay ID, Morris JC. The impact of subclinical disease and mechanism of detection on the rise in thyroid cancer incidence: a population-based study in Olmsted County, Minnesota during 1935 through 2012. *Thyroid* 2015;25(9):999–1007.
8. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Man-

- del SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016;26(1):1–133.
9. Ivanova RS. Disertacionen trud na tema: Savremenni aspekti v histologichnata i tsitologichnata diagnostika na zlokachestvenite tireoidni noduli pri balgarski pacienti v spetsializiran klinichen tsentar. 2017. 12-23 (in Bulgarian) (Иванова Р. Дисертационен труд на тема: Съвременни характеристики и хистологичната и цитологичната диагностика на злокачествените тиреоидни нодули при български пациенти в специализиран клиничен център. 2017; 12-23)
10. Bomeli SR, LeBeau SO, Ferris RL. Evaluation of a thyroid nodule. *Otolaryngol Clin North Am* 2011;43(2):229–238.
11. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol* 2013;2013:25–34.
12. Hyeong SA, Hyun JK. Korea's thyroid cancer „epidemic“ - screening and overdiagnosis. *N Engl J Med* 2014;371(19): 1766–1767.
13. Leenhardt L, Bernier MO, Boin-Pineau MH, Conte Devolx B, Maréchaud R, Niccoli-Sire P, et al. Advances in diagnostic practices affect thyroid cancer incidence in France. *Eur J Endocrinol* 2004;150(2):133–139.
14. Russ G, Bonnema SJ, Erdogan MF, Durante C, Ngu R, Leenhardt L. European thyroid association guidelines for ultrasound malignancy risk stratification of thyroid nodules in adults: The EU-TIRADS. *Eur Thyroid J* 2017;225–237.

15. **Cibas ES, Ali SZ.** The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *J Am Soc Cytopathol* 2017;6(6):217–222.
16. **Ferris RL, Baloch Z, Bernet V, Chen A, Iii TJF, Ganly I, et al.** American thyroid association statement on surgical application of molecular profiling for thyroid nodules: current impact on perioperative decision making. *Thyroid* 2015;25(7):760–768.
17. **Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, Durso MB, Nikiforov YE.** ThyroSeq for detection of mutations. *Thyroid* 2013;98(November):1852–1860.
18. **Livolsi VA.** Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod Pathol* 2011;24(S2):1–9.
19. **Lee YS, Lim H, Chang HS, Park CS.** Papillary thyroid microcarcinomas are different from latent papillary thyroid carcinomas at autopsy. *J Korean Med Sci* 2014;29(5):676–679.
20. **Roti E, Degli Uberti EC, Bondanelli M, Braverman LE.** Thyroid papillary microcarcinoma: a descriptive and meta-analysis study. *Eur J Endocrinol* 2008;159(6):659–673.
21. **Lin K, Lin J.** Clinical presentations and predictive variables of thyroid microcarcinoma with distant metastasis. *Int Surg* 1997;82(4):378–381.
22. **Roti E, Rossi R, Trasforini G, Bertelli F, Ambrosio MR, Busutti L, et al.** Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: results of a retrospective study in 243 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(6):2171–2178.
23. **Harach HR, Day ES, Zusman SB.** Occult papillary microcarcinoma of the thyroid - a potential pitfall of fine needle aspiration cytology. *J Clin Pathol* 1991;44(3):205–207.
24. **Thompson LDR.** Update on follicular variant of papillary thyroid carcinoma with an emphasis on new terminology: noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features. *Diagnostic Histopathol* 2016;22(5):171–178.
25. **Proietti A, Giannini R, Ugolini C, Miccoli M, Fontanini G, Di Coscio G, et al.** BRAF status of follicular variant of papillary thyroid carcinoma and its relationship to its clinical and cytological features. *Thyroid* 2010;20(11):1263–1270.
26. **Rivera M, Ricarte-Filho J, Knauf J, Shaha A, Tuttle M, Fagin JA, et al.** Molecular genotyping of papillary thyroid carcinoma follicular variant according to its histological subtypes (encapsulated vs infiltrative) reveals distinct BRAF and RAS mutation patterns. *Mod Pathol* 2010;23(9):1191–1200.
27. **Howitt BE, Jia Y, Sholl LM, Barletta J.** Molecular alterations in partially-encapsulated/well-circumscribed follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2013;0(0):1–31.
28. **Liu J, Singh B, Tallini G, Carlson DL, Katabi N, Shaha A, et al.** Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic study of a problematic entity. *Cancer* 2006; 107(6):1255–1264.
29. **Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, Baloch ZW, Basolo F, Thompson LDR, et al.** Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors. *JAMA Oncol* 2016;2(8):1023–1029.
30. **Michels JJ, Jacques M, Henry-Amar M, Bardet S.** Prevalence and prognostic significance of tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Hum Pathol* 2007;38(2):212–219.
31. **Ghossein R, Livolsi VA.** Papillary thyroid carcinoma tall cell variant. *Thyroid* 2008;18(11):1179–1181.
32. **Pillai S, Gopalan V, Smith RA, Lam AKY.** Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma-an update of its clinicopathological features and molecular biology. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015;94(1):64–73.
33. **Akaishi J, Sugino K, Kameyama K, Masaki C, Matsuzaki S, Suzuki A, et al.** Clinicopathologic features and outcomes in patients with diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. *World J Surg* 2015;39(7):1728–1735.
34. **Ito Y, Miyauchi A, Ishikawa H, Hirokawa M, Kudo T, Tomoda C, et al.** Our experience of treatment of cribriform morular variant of papillary thyroid carcinoma; difference in clinicopathological features of FAP-associated and sporadic patients. *Endocr J* 2011; 58(8):685–689.
35. **Thompson L, Wieneke J, Paal E.** A clinicopathologic study of minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid gland with a review of the English literature. *Cancer* 2001;91(3):505–524.
36. **Huang C, Hsueh C, Liu F-H.** Diagnostic and therapeutic strategies for minimally and widely invasive follicular thyroid carcinomas. *Surg Oncol* 2011;20:1–6.
37. **O'Neill CJ, Vaughan L, Learoyd DL, Sidhu SB, Delbridge LW, Sywak MS.** Management of follicular thyroid carcinoma should be individualised based on degree of capsular and vascular invasion. *Eur J Surg Oncol* 2011;37(2):181–185.
38. **De Crea C, Raffaelli M, Sessa L, Ronti S, Fadda G, Belantone C, et al.** Actual incidence and clinical behaviour of follicular thyroid carcinoma: an institutional experience. *Sci World J* 2014; 2014:1–7.
39. **Haigh PI, Urbach DR, Singh B, Kebebew E, Chabot JA, Saxe A.** The treatment and prognosis of Hurthle cell follicular thyroid carcinoma compared with its non-Hurthle cell counterpart. *Surgery* 2005;138(6):1152–1158.
40. **Shahaa R, Loree TR, Shah JP.** Prognostic factors and risk group analysis in follicular carcinoma of the thyroid. *Surgery* 1995; 118(6):1131–1138.
41. **DeGroot L, Kaplan E, Shukla M, Straus F.** Morbidity and mortality in follicular thyroid cancer. *Endocrinol Metab* 1995;80 (November):2946–2953.
42. **Tuttle RM, Haugen B, Perrier ND.** Updated American joint committee on cancer/tumor-node-metastasis staging system for differentiated and anaplastic thyroid cancer (eighth edition): What Changed and Why? *Thyroid* 2017;27(6):751–756.
43. **Doi SAR, Onitilo AA, Engel JM, Lundgren CI, Hall P, Thalib L.** Simplifying the TNM system for clinical use in differentiated thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(11):1872–1878.
44. **Mankarios D, Baade P, Youl P, Mortimer RH, Onitilo AA, Russell A, et al.** Validation of the QTNM staging system for cancer-specific survival in patients with differentiated thyroid cancer. *Endocrine* 2014;46(2):300–308.
45. **Powers P, Dinauer C, Tuttle R, Francis G.** The MACIS score predicts the clinical course of papillary thyroid carcinoma in children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004;17(3) :339–343.
46. **Randolph GW, Duh Q-Y, Heller KS, LiVolsi VA, Mandel SJ, Steward DL, et al.** The prognostic significance of nodal metastases from papillary thyroid carcinoma can be stratified based on the size and number of metastatic lymph nodes, as well as the presence of extranodal extension. *Thyroid* 2012;22(11):1144–1152.
47. **Mazzaferri EL.** Management of low-risk differentiated thyroid cancer. *Endocr Pract* 2007;13(5):498–512.
48. **Hay ID, Hutchinson ME, Gonzalez-Losada T, McIver B, Reinalda ME, Grant CS, et al.** Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 900 cases observed in a 60-year period. *Surgery* 2008;144 (6):980–988.
49. **Ito Y, Miyauchi A.** A therapeutic strategy for incidentally detected papillary microcarcinoma of the thyroid. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007;3(3):240–248.
50. **Ito Y, Tomoda C, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, et al.** Clinical significance of metastasis to the central compartment from papillary microcarcinoma of the thyroid. *World J Surg* 2006;30(1):91–99.
51. **So YK, Son YI, Hong SD, Seo MY, Baek CH, Jeong HS, et al.** Subclinical lymph node metastasis in papillary thyroid microcarcinoma: a study of 551 resections. *Surgery* 2010;148 (3): 526–531.
52. **Roh JL, Kim JM, Park C II.** Central cervical nodal metastasis from papillary thyroid microcarcinoma: pattern and factors predictive of nodal metastasis. *Ann Surg Oncol* 2008;15(9):2482–2486.
53. **Adam MA, Pura J, Goffredo P, Dinan MA, Reed SD, Scheri RP, et al.** Presence and number of lymph node metastases are associated with compromised survival for patients younger than age 45 years with papillary thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(21):2370–2375.
54. **Ito Y, Higashiyama T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzaki F, et al.** Risk factors for recurrence to the lymph node in papillary thyroid carcinoma patients without preoperatively detectable lateral node metastasis: validity of prophylactic modified radical neck dissection. *World J Surg* 2007;31(11):2085–2091.
55. **Yamashita H, Noquchi S, Murakami N.** Extracapsular invasion of lymph node metastasis. A good indicator of disease

recurrence and poor prognosis in patients with thyroid microcarcinoma. *Cancer* 1999;85(2):842-849.

56. **Nixon IJ, Wang LY, Migliacci JC, Eskander A, Campbell MJ, Aniss A, et al.** An international multi-institutional validation of age 55 years as a cut-off for risk stratification in the AJCC/UICC staging system for well differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016;26:373-380.

57. **Tufano RP, Teixeira G V., Bishop J, Carson KA, Xing M.** BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment. *Medicine (Baltimore)* 2012;91(5):274-286.

58. **Elisei R, Viola D, Torregrossa L, Giannini R, Romei C, Ugolini C, et al.** The BRAF V600E mutation is an independent, poor prognostic factor for the outcome of patients with low-risk intrathyroid papillary thyroid carcinoma: single-institution results from a large cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(12):4390-4398.

59. **Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al.** BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(12):6373-6379.

60. **Prescott JD, Sadow PM, Hodin RA, Le LP, Gaz RD, Randolph GW, et al.** BRAF V600E status adds incremental value to current risk classification systems in predicting papillary thyroid carcinoma recurrence. *Surg (United States)* 2012;152(6):984-990.

61. **Melo M, Da Rocha AG, Vinagre J, Batista R, Peixoto J, Tavares C, et al.** TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(5):754-765.

62. **Henderson YC, Shellenberger TD, Williams MD, El-Naggar AK, Fredrick MJ, Cieply KM, et al.** High rate of BRAF and RET/PTC dual mutations associated with recurrent papillary thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15(2):485-491.

63. **Ricarte-Filho JC, Ryder M, Chitale DA, Rivera M, Heguy A, Ladanyi M, et al.** Mutational profile of advanced primary and metastatic radioactive iodine-refractory thyroid cancers reveals distinct pathogenetic roles for BRAF, PIK3CA, and AKT1. *Cancer Res* 2009;69(11):4885-4893.

64. **Xing M, Liu R, Liu X, Murugan AK, Zhu G, Zeiger MA, et al.** BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol* 2014;32(25):2718-2726.

65. **Nixon IJ, Ganly I, Patel SG, Palmer FL, Whitcher MM, Tuttle RM, et al.** Thyroid lobectomy for treatment of well differentiated intrathyroid malignancy. *Surgery* 2012;151(4):571-579.

66. **Sywak M, Cornford L, Roach P, Stalberg P, Sidhu S, Delbridge L.** Routine ipsilateral level VI lymphadenectomy reduces postoperative thyroglobulin levels in papillary thyroid cancer. *Surgery* 2006;140(6):1000-1007.

67. **Sancho JJ, Lennard TWJ, Paunovic I, Triponez F, Sitzes-Serra A.** Prophylactic central neck dissection in papillary thyroid cancer: a consensus report of the European society of endocrine surgeons (ESES). *Langenbeck's Arch Surg* 2014;399(2):155-163.

68. **Howell GM, Nikiforova MN, Carty SE, Armstrong MJ, Hodak SP, Stang MT, et al.** BRAF V600E mutation independently predicts central compartment lymph node metastasis in patients with papillary thyroid cancer. *Ann Surg Oncol* 2013;20(1):47-52.

69. **Carson KA, Viola D, Mian C, Vianello F, Tuttle RM, Fagin JA, et al.** Association between BRAFV 600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. *JAMA* 2013;309(14):1493-1501.

70. **Ito Y, Yoshida H, Kihara M, Kobayashi K, Miya A, Miyauchi A.** BRAF V600E mutation analysis in papillary thyroid carcinoma: is it useful for all patients? *World J Surg* 2014;38(3):679-687.

71. **Tuttle RM.** Risk-adapted management of thyroid cancer. *Endocr Pract* 2008;14(6):764-774.

72. **Castagna MG, Maino F, Cipri C, Belardini V, Theodoropoulou A, Cevenini G, et al.** Delayed risk stratification, to include the response to initial treatment (surgery and radioiodine ablation), has better outcome predictivity in differentiated thyroid cancer patients. *Eur J Endocrinol* 2011;165(3):441-446.

73. **Tuttle RM, Tala H, Shah J, Leboeuf R, Ghossein R, Gonen M, et al.** Estimating risk of recurrence in differentiated thyroid cancer after total thyroidectomy and radioactive iodine remnant ablation: using response to therapy variables to modify the initial risk estimates predicted by the new American thyroid association statement. *Thyroid* 2010;20(12):1341-1349.

74. **Vaisman F, Momesso D, Bulzico DA, Pessoa CHCN, Dias F, Corbo R, et al.** Spontaneous remission in thyroid cancer patients after biochemical incomplete response to initial therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77(1):132-138.

75. **Rosario PW, Mourzo GF.** Is 1311 ablation necessary for patients with low-risk papillary thyroid carcinoma and slightly elevated stimulated thyroglobulin after thyroidectomy? *Arch Endocrinol Metab* 2016;60(1):5-8.

76. **Baudin E, Cao C Do, Cailleux AF, Lebouleux S, Travagli JP, Schlumberger M.** Positive predictive value of serum thyroglobulin levels, measured during the first year of follow-up after thyroid hormone withdrawal, in thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(3):1107-1111.

77. **Vaisman F, Tala H, Grewal R, Tuttle RM.** In differentiated thyroid cancer, an incomplete structural response to therapy is associated with significantly worse clinical outcomes than only an incomplete thyroglobulin response. *Thyroid* 2011;21(12):1317-1322.

78. **Ito Y, Kudo T, Kihara M, Takamura Y, Kobayashi K, Miya A, et al.** Prognosis of low-risk papillary thyroid carcinoma patients: its relationship with the size of primary tumors. *Endocr J* 2012;59(2):119-125.

79. **Omry-Orbach G.** Risk stratification in differentiated thyroid cancer: an ongoing process. *Rambam Maimonides Med J* 2016;7(1):1-9.

80. **Bilimoria KY, Bentrem DJ, Ko CY, Stewart AK, Winchester DP, Talamonti MS, et al.** Extent of surgery affects survival for papillary thyroid cancer. *Ann Surg* 2007;246(3):375-381.

Address for correspondence:

Д-р Инна Димитрова,

Клиника по тиреоидни и метаболитни костни заболявания, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“ Клиничен център по ендокринология и геронтология, МУ, София ул. „Здраве“ №2, София 1431, България, e-mail: innadimitrova90@gmail.com

Inna Dimitrova, MD

Department of Thyroid and Metabolic Bone Diseases, University Hospital of Endocrinology „Acad. Ivan Penchev“, Clinical Center of Endocrinology and Gerontology, MU, Sofia 2 Zdrave Str., Sofia 1431, Bulgaria, e-mail: innadimitrova90@gmail.com

ДПП-4 инхибиция и серумни нива на инкретинови хормони при пациенти със захарен диабет тип 2

Станчев, Павел Е.¹, Орбецова, Мария М.¹, Колева, Даниела Ив.¹, Терзиева, Дора Д.², Давчева, Деляна М.², Илиев, Димитър А.¹, Петров, Сава В.¹, Симитчиев, Кирил К.³

¹Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, Медицински университет, Пловдив

²Централна клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Георги“, Медицински университет, Пловдив

³Катедра аналитична химия и компютърна химия, Химически Факултет, Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“, Пловдив

Адрес за кореспонденция:

Д-р Павел Станчев

Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ – „Свети Георги“, Пловдив, МУ, Пловдив Пловдив 4000, бул. Васил Априлов 15А

e-mail: dr.p.stanchev@abv.bg

Резюме

Глюкагоно-подобният пептид-1 (GLP-1) и глюкозозависимият инсулинотропен пептид (GIP) представляват естествени инкретинови хормони, които се секретират от L- и K- клетките на интестиналната лигавица в отговор на физиологичната стомашно-чревна глюкозна абсорбция. Ендогенно синтезираните и отделени в циркулацията GLP-1 и GIP се характеризират със сравнително кратък полуживот (около 2-5 мин.) поради бързото им разграждане от специфичния ензим дипептидил-пептидаза – 4 (ДПП-4). Инхибирането на ДПП-4 се използва като потенциален антихипергликемичен механизъм, залагащ в основата на инкретиновата терапия.

Цел на проучването: Сравняване на базалните серумни нива на инкретиновите хормони GLP-1 и GIP при пациенти със захарен диабет тип 2 (ЗД 2) на монотерапия с метформинов препарат и на комбинирана терапия с метформинов препарат и ДПП-4 инхибитор.

Материали и методи: Пилотното проучване обхваща 27 пациента (13 жени и 14 мъже) с установен ЗД 2, разпределени в 2 групи съгласно провежданата антидиабетна терапия - Група 1 (n=16) - монотерапия с метформинов препарат; Група 2 (n=11) - комбинирана терапия с метформинов препарат и ДПП-4 инхибитор. При всички пациенти са извършени следните клинично-химични изследвания – ръст, тегло, биоимпедансен анализ на телесен състав, кръвна захар на гладно (КЗ 0), постпрандиална кръвна захар (ППКЗ), гликиран хемоглобин (HbA1c), общ холестерол (ОХ), ХДЛ-холестерол (ХДЛ-хол), триглицериди (ТГ), трансминази (АСАТ и АЛАТ), базални серумни нива на GLP-1 и GIP. Изчислени са индекс на телесна маса (ИТМ) = тегло (кг)/(ръст (м)²) и ЛДЛ-хол (формула на Friedewald) = ОХ – (ХДЛ-хол + ТГ/2,2).

Резултати: При пациентите, приемащи ДПП-4 инхибитор в комбинация с метформинов препарат серумните нива на GIP се регистрират сигнификантно по-високи (P<0,001), в сравнение с тези при пациентите на монотерапия с метформин, но за разлика от това серумните нива на GLP-1 не се различават сигнификантно между двете групи (P<0,05).

Заключение: Приемът на ДПП-4 инхибитори значимо повишава базалните нива на GIP, но не повлиява сигнификантно тези на GLP-1. Получените данни от пилотното проучване обуславят необходимост от по-задълбочени клинични изследвания по отношение патогенетичната роля и на гвата инкретинови хормона.

Ключови думи: глюкагоно-подобен пептид-1 – глюкозозависим инсулинотропен пептид – ДПП-4 инхибитори – захарен диабет тип 2

Abstract

Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) and Glucose-dependent Insulinotropic Peptide (GIP) are incretin hormones, secreted by L- and K-cells of intestinal mucosa as a result of the physiological process of gastrointestinal glucose uptake. Endogenously, synthesized and secreted in the circulation, GLP-1 and GIP are characterized by a relatively short half-life (about 2-5 min) due to their rapid degradation by a specific dipeptidyl peptidase-4 enzyme (DPP-4). Nowadays, inhibition of DPP-4 is used as a potential antihyperglycaemic mechanism underlying the incretin therapy.

Aim of the study: To compare basal serum levels of incretin hormones GLP-1 and GIP between type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients on metformin monotherapy and T2DM patients on combined metformin and DPP-4 inhibitor therapy.

Materials and methods: The present pilot study included 27 patients (13 women and 14 men) with established T2DM, divided into 2 groups according to the antidiabetic therapy – Group 1 (n=16) – on metformin monotherapy; Group 2 (n=11) – on combined metformin and DPP-4 inhibitor therapy. In all the patients the following clinical measurements and biochemical tests were performed – height, weight, bioimpedance analysis of body composition, fasting glucose (GLU 0'), postprandial glucose (PPG), glycated haemoglobin (HbA_{1c}), total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), transaminases (AST and ALT), basal serum levels of GLP-1 and GIP. Body mass index (BMI)=weight (kg)/height (m)² and LDL-cholesterol (LDL-C), using the Friedewald formula: LDL-cholesterol=TC – (HDL-cholesterol + TG/2,2) were calculated.

Results: Serum GIP levels were found to be significantly higher (P<0,001) in the patients treated with DPP-4 inhibitor in combination with metformin than those in the group of patients on metformin monotherapy. In contrast, the serum levels of GLP-1 did not differ significantly between the two groups (P>0,05).

Conclusion: The use of DPP-4 inhibitors significantly increased the basal GIP levels but did not significantly affect GLP-1 concentrations. The data from our pilot study point to the need for more precise clinical research concerning the pathogenetic role of both incretin hormones – GLP-1 and GIP.

Key words: Glucagon-like Peptide-1 – Glucose-dependent Insulinotropic Peptide – DPP-4 inhibitors – type 2 diabetes mellitus

Въведение

Глюкагоно-подобният пептид-1 (GLP-1) и глюкозозависимият инсулинотропен пептид (GIP) представляват естествени инкретинови хормони, които се секретират от L- и K- клетките на интестиналната лигавица в отговор на физиологичната стомашно-чревна глюкозна абсорбция. Ендогенно синтезираните и отделени в циркуляцията GLP-1 и GIP се характеризират със сравнително кратък полуживот (около 2-5 мин.) поради бързото им разграждане от специфичния ензим дипептидил-пептидаза-4 (ДПП-4). През 1998 г. J. Holst и сътр. (1, 2) за първи път достигат до извода, че инхибирането на ензима ДПП-4 представлява потенциален антихипергликемичен механизъм. Разкритият ефект има за резултат разработване в последващите години на нов клас медикаменти - т. нар. инкретин-базирана терапия с глюкагоно-подобен пептид-1 (GLP-1) аналози, устойчиви на действието на ДПП-4, и ДПП-4 инхибитори, която успешно се налага при пациенти със захарен диабет тип 2 (ЗД 2). Основното действие на ензима ДПП-4 се свързва с разграждането на редица биологично активни вещества, играещи ключова роля във въглехидратната обмяна. Освен известния GLP-

1, съществуват и други медиатори, допринасящи за ефекта на ДПП-4. Такива са GIP и някои невропептиди като хипофизарен активиращ агенилат циклазата пептид (PACAP) (3), невропептид Y (NPY1-36) (4).

Използваните в съвременната клиничната практика ДПП-4 инхибитори се характеризират с висока селективност по отношение на ензима ДПП-4 и свеждат до минимум риска от изява на странични ефекти поради инхибиране на ензими, принадлежащи към същото семейство (ДПП-8 и ДПП-9) (5).

Целта на проучването е да се сравнят базалните серумни нива на инкретиновите хормони GLP-1 и GIP при пациенти със захарен диабет тип 2 (ЗД 2) на монотерапия с метформинов препарат и на комбинирана терапия с метформинов препарат и ДПП-4 инхибитор.

Материали и методи

Проучването е проведено в Клиника по Ендокринология и болести на обмяната при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив и е част от проект №Р-2287 – „Инкретинов ефект при захарен диабет“, финансиран от Медицински Университет – Пловдив, Научен конкурс „Старт на док-

торски програми“. Проучването е одобрено от Етична комисия при МУ, Пловдив и пациентите са включвани след подписване на информирано съгласие.

Представеното пилотно проучване обхваща 27 пациента (13 жени и 14 мъже) с установен ЗД 2, разпределени в 2 групи съгласно провежданата антидиабетна терапия: *Група 1* (n=16) – монотерапия с метформинов препарат в доза 1700-3000 мг и *Група 2* (n=11) – комбинирана терапия с метформинов препарат в доза 1700-3000мг и ДПП-4 инхибитор (линаглиптин в доза 5 мг).

При всички пациенти са извършвани следните клинично-химични измервания – ръст, тегло, биоимпедансен анализ на телесен състав, кръвна захар на гладно (КЗ 0), постпрандиална кръвна захар (ППКЗ), гликиран хемоглобин (HbA_{1c}), общ холестерол (ОХ), ХДЛ-холестерол (ХДЛ-хол), трилицериди (ТГ), трансминази (АСАТ и АЛАТ), базални серумни нива на GLP-1 и GIP. Изчислени са Индекс на Телесна Маса (ИТМ) = тегло (кг)/(ръст (м)² и ЛДЛ-хол (формула на Friedewald) = ОХ - (ХДЛ-хол + ТГ/2,2).

Венозната кръв за лабораторните изследвания е вземана при стандартни условия – 7,00-8,00 ч. сутрин след 12-часов период на нощно гладуване. Венозните проби за определяне на изброените лабораторни показатели са насочвани към Централна Клинична Лаборатория, УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив. Серумните нива на кръвната захар са измервани с помощта на стандартен GOD-POD метод. Концентрациите на ОХ са определяни чрез ChOD, PAP; на ТГ – чрез GPO, PAP, на ХДЛ-хол - чрез MgSO₄-гекстран SO₄ преципитация (Schneiders Analysers; Netherlands test; Delta Kone Autoanalyser). Серумните нива на GIP и GLP-1 са измервани с помощта на Human GIP Elisa (Active form Assay Kit – IBL) и Human GLP-1 Elisa (Inactive form Assay Kit – IBL). Трансминазите са изследвани с химичен анализатор Konelab 60i, Thermo Electron Corporation (Финландия). Гликиран хемоглобин е измерван с имуно-инхибиторен тест за количествено определяне.

Биоимпедансният анализ (БИА) на телесен състав е осъществен с помощта на биоанализатор модел Tanita BC-420 с определяне на следните показатели: общи мазнини в тялото (%), телесна маса без мазнини (кг), мускулна маса (кг), костна маса (кг), базов метаболизъм (основна обмяна), приблизително количество вътрешни мазнини, метаболитна възраст. Използвани са референтни стойности за % телесни мазнини, препоръчани от лицензирания софтуерен продукт за апарати Tanita – Health Monitor, version 2.7.0.

Статистическият анализ на резултатите е извършен със софтуерния продукт IBM SPSS,

версия 21.0, за Windows. За откриване на статистическа разлика между стойностите на даден параметър в двете групи, подложени на различно медикаментозно лечение, е използван непараметричният тест на Mann-Whitney. Резултатите от клиничните, антропометричните и биоимпедансните изследвания са представени като средна аритметична ± стандартно отклонение. За графична визуализация на разпределението на стойностите на GIP и GLP-1 са използвани „boxplot“ диаграми (приложен е критерият 1,5 гължини на „boxplot“ за идентифициране на „бегълци“). За всички сравнения е избрано ниво на значимост P<0,05.

Резултати

Клиничните, антропометричните и биоимпедансните показатели при изследваните групи пациенти са представени в Таблица 1. При двете групи се отчитат съпоставими стойности на ръст, телесно тегло, ИТМ, % мазнини, количество вътрешни мазнини, телесна маса без мазнини, костна маса, основна обмяна. Пациентите на монотерапия с метформин са с по-висока календарна и метаболитна възраст в сравнение с тези на комбинирана терапия с метформин и ДПП-4 инхибитор, а при последните количеството мускулна маса е значимо по-високо.

Пациентите от двете групи не се различават сигнификантно по нивата на HbA_{1c}, КЗ 0, ППКЗ, ОХ, ХДЛ-хол, ЛДЛ-хол, ТГ, АСАТ и АЛАТ (Табл. 2).

Що касае двата измервани инкретинови хормона, между групите не се открива сигнификантна разлика в нивата на GLP-1 – 12,8±5,9 pmol/l при лечение с метформин и 9,2±5,0 pmol/l при лечение с метформин и ДПП-4 инхибитор (P<0,05), докато нивата на GIP са сигнификантно по-високи при пациентите на комбинирана терапия с метформин и ДПП-4 инхибитор в сравнение с тези на монотерапия с метформин (75,8±41,4 pg/ml, респ. 22,1±19,5 pg/ml, P<0,001) (Фиг. 1).

Обсъждане

Доказано е, че приложението на ДПП-4 инхибитори води до забавяне на ендогенното разграждане на инкретините GLP-1 и GIP. Установено е, че след прием на храна концентрациите на активен GLP-1 значимо се увеличават (свукратно) при изследвани пациенти със ЗД 2, приемачи ДПП-4 инхибитори, в сравнение с тези при лица с прием на плацебо. Крайният резултат е подобряване на гликемичния контрол (6). Все още не е напълно известно, обаче, дали ефектите на тези перорални антидиабетни средства се

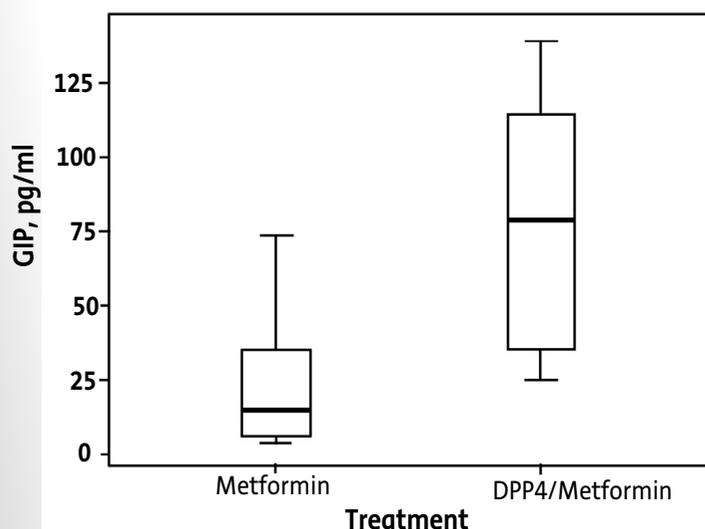
Таблица 1. Клинични и антропометрични показатели при изследваните групи пациенти

Параметри	Групи	метформин (n=16)	метформин +ДПП-4 инхибитор (n=11)
Възраст (год.)		60,00 ± 9,00	51,00 ± 6,00*
Ръст (м)		1,66 ± 0,13	1,71 ± 0,10
Тегло (кг)		95,00 ± 17,00	103,00 ± 25,00
ИТМ (кг/м ²)		34,20 ± 4,90	34,80 ± 6,30
Мазнини %		39,80 ± 8,40	33,80 ± 7,20
Вътрешни мазнини		14,80 ± 4,80	14,90 ± 6,20
Телесна маса без мазнини (кг)		56,00 ± 16,00	67,00 ± 18,00
Мускулна маса (кг)		55,00 ± 6,00	63,00 ± 7,00*
Костна маса (кг)		2,80 ± 0,77	3,33 ± 0,82
Метаболитна възраст (год.)		70,00 ± 14,00	59,00 ± 6,00*
Основна обмяна (kcal)		1703,00 ± 467,00	2036,00 ± 556,00

* - P<0,05

Таблица 2. Показатели на въглехидратна, липидна обмяна и трансаминази при изследваните групи пациенти.

Параметри	Групи	метформин (n=16)	метформин +ДПП-4 инхибитор (n=11)
HVA _{1c} %		6,3 ± 1,3	7,2 ± 1,4
КЗ 0' (ммол/л)		7,0 ± 1,6	8,1 ± 1,8
ППКЗ (ммол/л)		7,5 ± 3,5	7,6 ± 2,1
ОХ (ммол/л)		5,1 ± 1,1	5,3 ± 1,4
ХДЛ-ХОЛ (ммол/л)		1,31 ± 0,31	1,28 ± 0,43
ЛДЛ-ХОЛ (ммол/л)		2,89 ± 0,83	2,93 ± 1,09
ТГ (ммол/л)		2,01 ± 0,93	2,36 ± 1,28
АСАТ (IU/L)		39,7 ± 8,4	22,3 ± 3,8
АЛАТ (IU/L)		31,3 ± 7,1	24,7 ± 7,3



Фигура 1. Нива на GIP при изследваните групи пациенти.

дължат единствено и изцяло на удължения полуживот на горепосочените пептиди (7).

Метформиновият препарат – като монотерапия или в комбинация с други антихипергликемизиращи медикаменти се препоръчва от всички съществувателни консенсуси за лечение на ЗД 2. Поради факта, че притежава множество плейотропни ефекти, метформинът отдавна се утвърди като средство на първи избор за лечение на пациентите със ЗД 2 (8, 9).

Приложението както на ДПП-4 инхибитори, така и на метформин води до понижаване нивата на плазмената глюкоза по различни, но допълващи се механизми. При непостигнат оптимален гликемичен контрол добър терапевтичен подход представлява комбинацията на бигванид с ДПП-4 инхибитор, която изтъква на преден план в настоящите алгоритми (10).

Съществуват редица проучвания, които доказват необходимостта от ранно започване на комбинирано лечение с ДПП-4 инхибитор и метформин. Така, данните от изследване на Williams-Herman и сътр. показват по-голяма вероятност за бързо постигане на оптимален гликемичен контрол с комбинирана терапия ситаглитин и метформин при пациенти със ЗД 2, които до момента не са получавали антидиабетни медикаменти (11). Несъмнено комбинацията от ДПП-4 инхибитор и бигванид притежава адитивен антихипергликемизиращ ефект, дължащ се най-вероятно на повлияването на GLP-1 нивата (12). Метформинът сам по себе си повишава концентрациите на GLP-1 с около 1,5–2 пъти в хода на ОГТТ при пациенти със затлъстяване без изъвен ЗД 2, като се счита, че този ефект не се дължи на инхибирането на ензима ДПП-4 (13).

Данните от нашето проучване показват отчетливо по-високи серумни нива на GIP при пациентите със ЗД 2 на комбинирана терапия с DPP-4 инхибитор и бигванид в сравнение с тези при ЗД 2 пациентите на монотерапия с метформин (P<0,001), докато серумните нива на GLP-1 не се различават сигнификантно (P>0,05), дори изненадващо показват тенденция към по-ниски стойности при комбинираната терапия. Това може да се обясни от ограниченията на тази извадка – относително малък брой пациенти и голямо стандартно отклонение на показателите. Все пак, явно GIP се оказва по-чувствителният от двата инкретина като индикатор на ефекта на DPP-4 инхибитора. Обикновено проучванията са на база повлияването на GLP-1 и данните по отношение на GIP са оскъдни. Освен това, в нашето пилотно проучване са изследвани само базални нива на двата хормона в 2 групи пациенти, които имат съпоставими гликемичен и липиден контрол и чернодробна функция. Може би и влиянието на метформин по отношение повишаване на GLP-1 преобладава и в двете групи.

В тази насока Vardarli и сътр. (14) извършват проучване, целящо изследване влиянието на метформин (2000 мг/ден), ситаглиптин (100 мг/ден) и комбинацията от двата медикамента върху инкретиновия отговор (нива на GLP-1 и GIP) при 20 пациента със ЗД 2, провели перорално натоварване с глюкоза (75 г) и интравенозна изогликемична глюкозна инфузия. Изследователите установяват повишаване на базалните нива на GLP-1 при лечение с метформин (P=0,0001) и липса на промяна при прием на ситаглиптин (P=0,62). Лечението с метформин повишава тоталния GLP-1 отговор сигнификантно след орална (P=0,0026) или след „изогликемична“ венозна глюкоза (P=0,0014) на гладно и след глюкозно натоварване. За разлика от това, лечението със ситаглиптин – самостоятелно или в комбинация с метформин, намалява сигнификантно тоталния GLP-1 отговор (P=0,0001). В допълнение, това проучване не доказва значим ефект на метформин върху общия и интактния GIP, но показва, че ситаглиптинът води до нарастване на базалния интактен GIP (P<0,0001), както и на отговорите му преди и след орално глюкозно натоварване (14).

В проучване на Rauch и сътр. (15) се установява значимо и дълготрайно повишаване на нивата на интактните GLP-1 и GIP при пациенти със ЗД 2 на лечение с линаглиптин с краен резултат – статистически значимо подобрение на гликемичния контрол в сравнение с този, регистриран при изследваната плацебо група (15).

Важно значение имат и методите на измерване на инкретините. Разработени са ELISA китове, предназначени за специфично измерване на активните форми на GIP и GLP-1, но не е ясно дали те успяват да уловят всички налични биоактивни форми на пептидите. В тази насока Yanagimachi и сътр. (16) решават да извършат проучване, целящо сравнение на 2 метода на изследване на плазмените нива на инкретините GIP и GLP-1 при здрави индивиди преди и след приложение на DPP-4 инхибитори, а именно: нов рецептор-медиран биоаналитичен метод и анализ чрез наличните конвенционални ELISA китове. По време на oГТТ нивата на общия GIP, изследвани чрез ELISA, нарастват до 15-та минута с достигане на пикови стойности от $59,2 \pm 8,3$ pmol/l на 120-та минута. Нивата на активния GIP, изследвани чрез биоаналитичния метод, достигат своя пик на 15-та минута от oГТТ, съответно $43,4 \pm 6,4$ pmol/l, след което прогресивно се понижават. На 15-та минута от oГТТ след прием на DPP-4 инхибитор нивата на активния GIP, регистрирани чрез биоаналитичния метод, достигат нива приблизително 20 пъти по-високи от изходните докато тези на тоталния и активен GIP, измерени чрез ELISA, се увеличават само 1,5-2,1 пъти. При липса на DPP-4 инхибиция концентрациите на общия GLP-1, измерени чрез ELISA, постепенно нарастват до 90-та минута, достигайки до $23,5 \pm 2,4$ pmol/l, като тези на активния GLP-1, установени чрез биоанализ, не достигат явни пикови стойности. Последващият прием на DPP-4 инхибитор води до забележим пик в нивата на активния GLP-1, регистрирани чрез биоанализа, като стават 1,4 пъти по-високи от нивата, установени без DPP-4 инхибитор. Обратно, нивата на тоталния GLP-1, установени чрез ELISA, се понижат след лечение с DPP-4 инхибитор. В заключение – активните плазмени нива на GIP и GLP-1 се установяват значимо увеличени чрез биоаналитичния метод при лица, лекувани с DPP-4 инхибитори, промени, които могат да останат недоловими чрез конвенционалните ELISA тестове (16), които сме използвали в нашето проучване.

Анализирането и на постпрандиалните нива на GLP-1 и GIP, освен на базалните, при пациенти със ЗД 2 на терапия с DPP-4 инхибитори би могло да предостави допълнителна информация за съществуващите специфични механизми, опосредстващи хипогликемизиращия им ефект. Наличието на данни за по-значимо повлияване на базалните нива на GIP при приложение на DPP-4 инхибитори от настоящото проучване предполага необходимост от позадълбочена оценка на ролята и на този инкретин в патогенезата и контрола на ЗД.

Заклучение

Лечението с ДПП-4 инхибитори в комбинация с метформин значително повишава базалните нива на GIP в сравнение с монотерапията с метформин при съпоставим гликемичен и липиден контрол. За разлика от това, нивата на GLP-1 не

се повлияват значително от ДПП-4 инхибицията, дори показват неочаквана тенденция към пониски стойности. Тези данни обуславят необходимостта от по-задълбочени клинични изследвания в насока промяната и на двата инкретина в базални и постпрандиални условия.

References

1. **Holst JJ, Toft-Nielsen MB, Orskov C, Nauck M, Willms B.** On the effects of glucagon-like peptide-1 on blood glucose regulation in normal and diabetic subjects. *Ann NY Acad Sci* 1996; 805: 729-736.
2. **Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ.** Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Molec Endocrinol* 1999; 140 (11) 11: 5356-5363.
3. **Akesson I, Ahren B, Manganiello VC, Holst LS, Edgen G, Degerman E.** Dual effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and isoproterenol on lipid metabolism and signaling in primary rat adipocytes. *Endocrinology* 2003; 144: 5293-5299.
4. **Kos K, Baker AR, Jernas M, Harte AL, Clapham JC, O'Hare JP, et al.** DPP-IV inhibition enhances the antilipolytic action of NPY in human adipose tissue. *Diabetes, Obes, Metab* 2009; 11:285-292.
5. **Lankas GR, Leiting B, Roy RS, Eiermann GJ, Beconi MG, Biftu T, et al.** Dipeptidyl peptidase IV inhibition for the treatment of type 2 diabetes: potential importance of selectivity over dipeptidyl peptidases 8 and 9. *Diabetes* 2005; 54(10): 2988-2994.
6. **Ahren B, Gomis R, Standl E, Mills D, Schweizer A.** Twelve- and 52-week efficacy of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor LAF237 in metformin treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:2874-2880.
7. **Ahren B.** What mediates the benefits associated with dipeptidyl peptidase-IV inhibition? *Diabetologia* 2005; 48:605-607.
8. **Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R, et al.** Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1963-1972.
9. **American Diabetes Association.** Standards of medical care in diabetes - 2018. *Diabetes Care*. 2018;41 (Suppl. 1): S1-S2. <https://doi.org/10.2337/dc18-Sint01>
10. **Koliaki C, Doupis J.** Incretin-based therapy: a powerful and promising weapon in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Ther*. 2011;2(2):101-121.
11. **Williams-Herman D, Goldsrein BJ, Feinglos MN, Luncford J, Johnson J.** Initial combination therapy with sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, and metformin provides substantial glycemic improvement and HbA_{1c} goal attainment in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) (abstract P880). *Diabetic Med* 2006; 23 (Suppl.4): 319.
12. **Nauck MA, Meininger G, Sheng D, Terranella L, Stein. Sitagliptin Study 024 Group.** Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin, compared with the sulfonylurea, glipizide in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin alone: a randomized, double-blind, non-inferiority trial. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9 (2): 194-205.
13. **Mannucci E, Ognibene A, Cremasco F, Bardini G, Mencucci A, Pierazzuoli E, et al.** Effect of metformin on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and leptin levels in obese nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2001; 24:489-494.
14. **Vardarli I, Arndt E, Deacon CF, Holst JJ, Nauck MA.** Effects of sitagliptin and metformin treatment on incretin hormone and insulin secretory responses to oral and „isoglycemic“ intravenous glucose. *Diabetes* 2014; 63(2): 663-674.
15. **Rauch T, Graefe-Mody U, Deacon C, Ring A, Holst J, Woerle HJ, et al.** Linagliptin Increases Incretin Levels, Lowers Glucagon, and Improves Glycemic Control in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Ther* 2012; 3(1): 10.
16. **Yanagimachi T, Fujita Y, Takeda Y, Honjo J, Sakagami H, Kitsunai H, et al.** Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor treatment induces a greater increase in plasma levels of bioactive GIP than GLP-1 in non-diabetic subjects. *Mol Metab* 2017; 6(2): 226-231.

Address for correspondence:

Dr Pavel Stanchev,

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

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. (032) 602486;
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) 32602486;
Mobile (+359) 887771322,
E-mail: morbetzova@abv.bg

Списание „Ендокринология“, издание на Българското дружество по ендокринология, излиза в 4 книжки годишно. В него се отпечатват оригинални научни статии, описания на клинични случаи, обзори, рецензии, информация за проведени и предстоящи научни събития и други материали в сферата на клиничната ендокринология. Обзорните материали от български автори излизат на български език с резюме на български и английски език. Оригиналните 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 or 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 информацията относно научни прояви и научни дискусии, 1 страница за рецензии на монографии, учебници и пр. В посочения обем не се включват титулната страница и резюмето.

Структурата на статиите трябва да отговаря на следните изисквания:

Титулна страница

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

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

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

Резюме

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

Основен текст

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

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

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

Title page

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

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

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

Abstract

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

Main text

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

Tables and figures

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

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

Таблицы и илюстрации

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

Книгопис

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

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

References

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

Examples

Reference to a journal article:

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

If the original cited paper is in Bulgarian:

2. **Christov V, 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 метаболически синдром. *Наука Ендокринология* 2010; 2: 53-70).

Глава (раздел) от книга:

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

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

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

References to a book chapter:

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

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

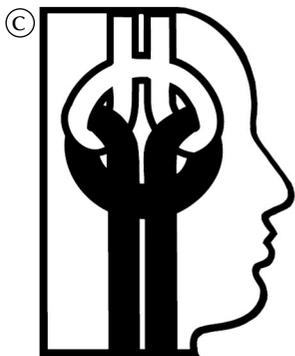
Address for sending the manuscripts and other editorial correspondence

Editorial Board Address for Correspondence:

Clinical Center of Endocrinology,
„Acad. Iv. Penchev“, University Hospital, 2
Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Prof. Maria Orbetzova, *Editor in Chief*
Tel (+359) 32 60 24 86;
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. (032) 602486;
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

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;
Мобилен: 0887771322 (проф. Орбецова), email: morbetzova@abv.bg,

Editorial Board: Clinical Center of Endocrinology „Acad. Iv. Penchev“ University
Hospital 2, Zdrave Str., 1431 Sofia, Bulgaria;
Mobile (+359) 887771322 (Prof. Maria Orbetzova); email: morbetzova@abv.bg,