



# ЕНДОКРИНОЛОГИЯ ENDOCRINOLOGIA

Списанието се индексира от/The journal is indexed by:

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

## Editorial Board/Редакционна колегия и съвет

**Editor-in-Chief:** Maria ORBETZOVA

**Главен 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 Христовов/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. Bulatov (Moscow)/ А. Булатов (Москва)**

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

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

**J. Fovenyi (Budapest)/Й. Фъовени (Будапеща)**

**A. Isidori (Rome)/А. Изигори (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)**

**J. H. Lazarus (Cardif)/ Дж. Лазарус (Кардиф)**

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

**S. Refetoff (Chicago)/ С. Рефетов (Чикаго)**

**M. Serrano Rios (Madrid)/ М. Серрано Риос (Мадриг)**

Том XXIII / Volume XXIII

**Съдържание**

**Обзори**

• <b>Иванова, Людмила Б.</b> Профилактика и контрол на йодния дефицит – постижения и проблеми в България	121
• <b>Геренова, Жулиета Б.</b> Реактивни кислородни видове, антиоксидантна защита и щитовидна жлеза	133
• <b>Николова, Милена К., Илиев, Андрей Б., Христова, Мария Х., Маркова, Галина Д., Иванов, Георги Н., Кръстева, Румяна П., Богов, Борис И., Любомирова, Мила Д., Андреев, Емил Т., Цочева, Таня Р., Гергинова, Невена Б., Николова, Радина Г., Тодоров, Тодор А., Крушев, Мартин П., Давидов, Калоян М., Влахов, Йордан Д., Боянов, Михаил А., Каменов, Здравко А., Робева, Ралица Н., Хаджиев, Евгений А., Цветкова, Гургана Б., Шемелекова, Лъчезара А., Василева, Цветелина Н., Минчев, Иван И., Бекирова, Емел Е.</b> Нефрокалцинозата като интердисциплинарен проблем на границата между нефрологията, ендокринологията и онкологията	141

**Оригинални статии**

• <b>Янева, Жанета А., Бояджиева, Мила Б., Христозов, Кирил К., Цалта-Младенов, Михаел Е.</b> Стресова хиперглицемия при пациенти с остър исхемичен мозъчен инсулт	151
• <b>Колева, Даниела И., Денева, Таня И., Няголова, Пресияна В., Орбецова, Мария М.</b> Нива на разтворим E-selectin при жени с поликистозен овариален синдром	161

**Указания за авторите**

172

*Journal* **Endocrinologia** volume XXIII, number 3/2018

**Contents**

**Reviews**

• <b>Ivanova, Ludmila B.</b> The Prevention and Control of Iodine Deficiency – Achievements and Problems in Bulgaria	121
• <b>Geranova, Julieta B.</b> Reactive Oxygen Species, Antioxidant Protection and Thyroid Gland	133
• <b>Nikolova, Milena K., Iliev, Andrei B., Hristova, Maria H., Markova, Galina D., Ivanov, Georgi N., Krasteva, Rumiana P., Bogov, Boris I., Liubomirova, Mila D., Andreev, Emil T., Tsocheva, Tania R., Guerguinova, Nevena B., Nikolova, Radina G., Todorov, Todor A., Krupev, Martin P., Davidov, Kaloyan M., Vlahov, Yordan D., Boyanov, Mihail A., Kamenov, Zdravko A., Robeva, Ralitsa N., Hadjiev, Evgeni A., Tsvetkova, Gergana B., Shemelekova, Lachezara A., Vasileva, Tsvetelina N., Minchev, Ivan I., Bekirova, Emel E.</b> Nephrocalcinosis as an Interdisciplinary Problem: Borderline Between Nephrology, Endocrinology and Oncology	141

**Original articles**

• <b>Yaneva, Zhaneta A., Boyadzhieva, Mila B., Hristozov Kiril K., Tsalta-Mladenov, Mihael E.</b> Stress Hyperglycemia in Patients with Acute Ischemic Stroke	156
• <b>Koleva, Daniela I., Deneva, Tanya I., Nyagolova, Presiyana V., Orbetzova, Maria M.</b> Soluble E-selectin Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome	166

**Instructions to authors**

172

ендокринология

Българско дружество по



## Профилактика и контрол на йодния дефицит – постижения и проблеми в България

Иванова, Людмила Б.

Медицински факултет, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“

## The Prevention and Control of Iodine Deficiency – Achievements and Problems in Bulgaria

Ivanova, Ludmila B.

Faculty of Medicine, Sofia University „St. Kl. Ohridski“

### Резюме

Йодният дефицит е глобален проблем на общественото здраве и най-честа предотвратима причина за нарушения в развитие на мозъка и намален интелектуален потенциал. Неговата профилактика е във фокуса на международните организации за въвеждане на най-ефективните, икономически изгодни стратегии за устойчивото му елиминиране.

В България профилактиката на йодния дефицит може да бъде разделена на два периода: 1957-1993г. и от 1994г. нататък, които се различават по превантивните стратегии, по мониторинг и по координация на програмите. Първият период започва в края на петдесетте години на миналия век когато след мащабно епидемиологично проучване за установяване на разпространението и тежестта на гуша сред населението територията на страната е разделена на ендемични и неендемични райони. Въведено е йодиране на солта и суплементиране с йодни препарати на високорискови групи само в ендемичните региони. Профилактични мерки са ефективни и водят до значителна редукция на гушата, която намалява до 12%, но след 1986г. се наблюдава нов скок поради липса на йодирана сол. Вторият период след 1993 г. обхваща цялата територия на страната, въвежда се „универсално“ йодиране на солта, приемане на нормативната база за йодиране, мониторинг и контрол на стратегията за оценка на ефекта от профилактичните мерки върху населението. Проведените до този момент четири национални проучвания върху йодния статус измерен чрез екскреция на йод с урината на рискови групи – ученици и бременни жени показват устойчиво елиминиране на дефицита на йод. Йодната екскреция при ученици се е повишила

### Abstract

Iodine deficiency is a global public health problem and the most common preventable cause of brain development disorder and reduced intellectual potential. Its prevention has been the focus of international organizations to implement the most efficient and cost-effective strategies for its sustainable elimination.

In Bulgaria, the prophylaxis of iodine deficiency can be divided into two periods: 1957-1993 and since 1994, which differ in preventive strategies, monitoring and coordination of the program. The first period began in the late fifties of the last century when, after an extensive epidemiological study to determine the prevalence and severity of goiter among the population, the territory of the country was divided into endemic and non-endemic areas. The prevention strategies – salt iodization and iodine supplementation of high-risk groups were introduced only in the endemic regions. Prophylactic measures were effective and resulted in a significant reduction of goiter, which decreased to 12%, but after 1986 there was a new rising due to lack of iodized salt and other preventive measures. The second period after 1993 covered the entire territory of the country, introduced „universal“ salt iodization, adoption of the regulatory basis for iodization, monitoring and control of the impact on the population. Four national studies on iodine status of the population, measured by iodine excretion in the urine of high-risk groups have shown a sustainable elimination of iodine deficiency. Iodine excretion in school aged children increased from 111,5 µg / L (1996) to 175,5 µg / L (2012), preg-

от 111,5 µg/L (1996) на 175,5 µg/L (2012), при бременните жени е достигнала 161,0 µg/L (2012), а достъп до адекватно йодирана сол (>15 ppm) имат 91,9% от домакинствата. За гарантиране на устойчива йодна профилактика е необходим стриктен контрол и документиране на качеството на йодирана сол, недопускане на нейодирана сол в търговската мрежа и регулярен биологичен мониторинг насочен към рисковите групи от населението и в рискове региони в съответствие с последните международни препоръки.

### **Ключови думи:**

Йоден дефицит, йодирана сол, универсално йодиране на солта, йодна профилактика в България

nant women reached 161,0 µg/ L (2012) and 91,9% of householdshave access to adequate iodized salt (> 15 ppm). In order to ensure sustainability of the prophylaxis, it is necessary to strictly control and document the quality of iodized salt, to prevent penetration of non-iodized salt in the market, and to monitor regularly the high-risk population groups (pregnant women) and risk areas in accordance with the latest international recommendations.

### **Key words:**

Iodine deficiency, iodized salt, universal salt iodization, iodine prophylaxis in Bulgaria

### **Въведение**

Йодният дефицит е глобален здравен и социален проблем и е сред най – често срещаните предотвратими причини за нарушения в развитието на мозъка и намален интелектуален потенциал. Последствията от този дефицит са социално-значими, поради изключително широкото му разпространение в световен мащаб и високата за общественото здраве цена. Недостигът на йод е особено критичен по време на бременността и в ранното детство, тъй като микроелементът е интегрална част от хормоните на щитовидната жлеза, които играя водеща роля за формиране на мозъчните структури в ранния период на интраутеринното развитие (1-3). Дори незначителен недостиг на йод по време на бременността може да предизвика лек, субклиничен когнитивен дефицит при новородените и малките деца, който се проявява с намален вербален IQ и проблеми при четене и рационализиране на информацията в ранната училищна възраст (4,5).

Дълго време биомедицинските и епидемиологичните проучвания в областта на йодния дефицит са били насочени предимно към изучаване на тиреоидните заболявания и основно към ендемичната гуша, без недостигът на йод да бъде свързван пряко с изоставане в интелектуалното развитие. Като резултат от напредъка в изучаване на последствията от йодния дефицит е въведеното от V.S. Hetzel понятие „йоддефицитни нарушения“. Това е епидемиологична концепция, която обхваща целия спектър от негативни последствия за растежа и развитието

в хода на жизнения цикъл на индивида, предизвикани от неадекватен прием на йод (6). Именно, рискът от доказаните последствията за развиващия се мозък е мотивацията за обединяване на усилията за ликвидиране на йодния дефицит в света (7).

### **Разпространение на йодния дефицит в света и прогрес в елиминирането му**

Като глобален проблем за общественото здраве, йодният дефицит е във фокуса на международните организации от началото на деветдесетте години на миналия век, когато започват координирани действия за определяне на разпространението му в световен мащаб и за прилагане на най-ефективните и икономически изгодни стратегии за предотвратяване и устойчиво елиминиране. Първите епидемиологични данни публикувани от ООН през деветдесетте години на миналия век показват, че около 2,2 милиарда лица в света в 130 сгржави обитават бедни на йод територии и са в риск от последствията на нисък йоден прием. Това представлява 38% от общото световно население, а за населението на Европа това са 32% в риск. В този период 655 милиона в света страдат от йоднедоимъчна хипертрофия на щитовидната жлеза (струма) и най-малко 20 милиона са с различни по степен мозъчни увреждания в резултат от недостиг на йод по времена интраутеринното развитие, което води ежегодно до раждане на 100 000 деца с кретенизъм (8). През деветдесетте години на миналия век приблизително 50% от лицата с йоддефицитна струма са живели в Азия, 89 милиона (13,6%) в Африка, а 97 милиона (14,8%) в Европа (9).  
Загълбочаване на проучванията върху меха-

низмите на действие на йода за развитието на главния мозък и когнитивното развитие, както и високият обхват на проблема в световен мащаб стимулира Организацията на Обединените Нации (ООН) по време на Световната Детска Асамблея през 1990 г. да приеме Декларация за елиминиране на йодния дефицит като общественозначим проблем изискващ спешно решаване. Декларацията поставя ликвидиранието му сред основните приоритети за правителствата и редица международни организации и като неразделна част от правата на детето за гарантиране на адекватно хранене и здраве (10). Според параграф 19 от Резолюцията приета през декември 1992 година на Световната конференция по хранене в Рим отново е подчертано, че йодният дефицит в света трябва да бъде ликвидиран до 2000 година (11).

С въвеждането на „универсално“ йодиране на солта в редица държави след 1990 година е постигнат значителен прогрес в елиминирането (12). Благодарение на въведеното „универсално“ йодиране на солта само за периода 2003-2011 година броят на държавите с йоден дефицит е намалял от 54 на 32, а броят на тези с адекватен прием на йод се е увеличил от 67 на 105 (13). При поредният мониторингов анализ на йодния статус на световната популация през 2012 година се установява, че въпреки огромният напредък в ликвидиранието на йодния дефицит все още приблизително 241 милиона деца в училищна възраст (29,8% от световната детска популация (95% CI = 29,4, 30,1) имат недостиг на йод, въпреки че близо 70% от домакинствата в света употребяват йодирана сол. От общо 128 държави за които има данни в едва 37 от тях домакинствата консумиращи йодирана сол са над 90%, а в 39 държави относителният дял е под 50% (14). Според последни данни на Детския фонд на ООН (УНИЦЕФ) от 2018 г. през 2017 година 86% от домакинствата в света имат достъп до йодирана сол със съдържание на йод > 15 ppm и броят на държавите с йоден дефицит е намалял на 20 (15, 16).

В Европа, въпреки съществуващият риск от йоден дефицит все още липсва хармонизирана база данни за реалния прием на йод от населението както и единен подход за корекцията му.

### **Стратегии за контрол на йодния дефицит**

Йодният дефицит по своята същност е екогенен микронутриентен хранителен дефицит и повишаване на хранителния прием на йод чрез модифициране на диетата и включване на богати на йод храни е една от най-ефективните

стратегии за корекцията му. Промяна в модела на хранене с включване на храни с естествено високо съдържание на йод, обаче, е продължителен и бавен процес, особено в държави с ограничени икономически ресурси и достъпност на тези храни. За по-бързо увеличаване приема на редица микронутриенти се използва контролирано добавяне на микронутриенти в някои храни, наречено обогатяване или фортификация. Предимства на фортификацията са бърз ефект върху цялото население, технически изпълнимо и икономически изгодно при наличие на определени условия – храната да е достъпна и масово консумирана, да има добра усвояемост на микронутриента и физиологичен контрол на консумацията, което не би създавало здравен риск от ексцесивен прием. Фортификацията на храните се предприема когато е установен дефицит на микронутриент чрез клиничко-химични и епидемиологични методи, причинно-следствена връзка между здравния/хранителния статус и приема на конкретен микронутриент и информация за модела на хранене на дадена популация/популационна група в риск (17).

Значителният успех в елиминиране на йодния дефицит в света за относително кратък период от време се дължат на въведеното „универсално“ йодиране на солта чиито предимства са значителната ефективност, икономическа целесъобразност, широка достъпност и висока устойчивост при адекватен мониторинг и контрол. „Универсално“ йодиране на солта означава, че цялата сол за хранителни цели за хора и селскостопански животни е йодирана според международно приети стандарти, отчитайки ефективността и безопасността при употреба. Според тази стратегия се йодираща не само солта за директна консумация, но и тази влагана в хранително-вкусовата промишленост. В търговската мрежа се допуска за продажба единствено йодирана в съответствие със стандарта сол (18).

Допълнително предимство на йодирането е, че количеството на йода с което се обогатява солта може да бъде гъвкаво, да се променя бързо и нивото на фортификация да се съобразява с йодния статус и йодните потребности на популацията. Пример за успешно адаптиране на нивото на фортификация на солта спрямо потребностите и модела на хранене е Швейцария, където солта се йодираща от 1922 година и нивото на йодиране за последните 90 години се е увеличило от 3,75 ppm до 20 ppm и 25 ppm през 2013 г. без това да поставя населението в траен риск от йод-индуцирани увреждания на щитовидната жлеза (19).

Ниският прием на йод в редица европейски държави от Централна и Западна Европа се дължи на нежеланието им да въведат стратегията за „универсално“ йодиране на солта. Сред тях съществуват резерви по отношение на „универсално йодиране“ свързани с опасения за създаване на риск от хипертиреозидизъм при прекомерна консумация на йод, зачестяване на аутоимунните тиреоидни нарушения, нарушаване на правото на свободен избор на потребителя, противоречие с препоръките за редукция на консумацията на сол. Счита се, че в повечето държави на европейския континент йодният дефицит е лек до умерен и е достатъчно присъствието на йодирана сол (наред с нейодираната) в търговската мрежа, влягане на йодирана сол при производството само на някои масово консумирани храни, като например хляб, и насърчаване на потреблението на някои храни с по-високо съдържание на йод за да бъдат задоволени йодните потребности на цялото население. (20, 21) Независимо от тази концепция йодният дефицит в Европа персистира и са необходими значителни усилия да се създаде единна европейска стратегия както за увеличаване на хранителния прием на йод така и за проследяване и оценка на прогреса чрез хармонизирана мониторинг система (22). Първи опит за създаване на единен подход при преоляване на йодния дефицит в Европа е проектът EUthyroid, който обедини усилията на повечето европейски държави и постави основата за решаване на този проблем на европейско ниво (23, 24).

### **Етапи в профилактиката на йодния дефицит в България**

Начало на йодна профилактика в България се поставя в средата на петдесетте години на миналия век от академик Иван Пенчев, повече от тридесет години преди Детската асамблея на ООН да обяви йодният дефицит за социално-значим проблем (25). В развитие на профилактиката в България могат да бъдат разграничени два основни периода, които се различават по стратегии, обхват, критерии за мониторинг и оценка. Първият период е от 1957 г до 1993 г, а вторият започва с въвеждане на универсално йодиране на солта в България с ПМС 96/1994 г. и продължава и до днес (26, 27).

### **Първи период на йодна профилактика – ендемични региони (1957-1993г.)**

Разпространение на йоддефицитните заболявания в България е установено при проведените първи популационни проучвания в средата на

петдесетте години на миналия век, когато на база на териториалното разпределение на установената йоддефицитна струма сред населението е изготвена карта на територията на страната с разграничени ендемични и неендемични райони. По време на тези първи проучвания през 1957 г. е установено, че над 50% от прегледаните лица (деца и възрастни) са с дифузна струма, диагностицирана палпаторно, а кретенизмът в някои планински и полупланински райони на Югозападна България достига до 3,5%. (25).

Изследваният брой лица на възраст 7-14 г. респ. 18 год. представлява изчерпателна популационна група, обхващаща всички ученици в България с общ брой 1044 359 в 4085 селища. Критерий за избор на учениците, като група за наблюдение напълно съответства дори на съвременните препоръки за репрезентативна популационна група – значителна по брой и относителен дял организирана група, особено чувствителна към струмизащи фактори, леснодостъпна за изследване, реагира на интервенция и с възможност за наблюдение и проследяване. Проведено е клинично изследване на щитовидната жлеза чрез палпация, като размерът на жлезата е класифициран по общоприетата тогава Швейцарска скала от 0 до V степен. За доказване на ендемичност на различните територии и селища е възприет критерият честотата на лица с хиперплазия на щитовидната жлеза и степента на увеличение на щитовидната жлеза на дадена територия. Честота на хиперплазия под 10% е възприета от изследователите като дискриминативен критерий за неендемичност въпреки съществуващото тогава становище да бъде 30% (24). В неендемичните селища сред децата и юношите установената хиперплазия на щитовидната жлеза е средно 5-4%, предимно нискостепенна – най-често I степен (87%) и II степен (13%). По-честа е при момчетата (6,2%) в сравнение с момчетата (3,9%). Средната честота на хиперплазия на щитовидната жлеза за всички изследвани селища е 19,2%, като при 8,2% е установена високостепенна.

В първите посветени на йодния дефицит епидемиологични изследвания от петдесетте години на миналия век, наред с клиничния преглед – физикално изследване на щитовидната жлеза са извършени анализи на съдържанието на йод в почви, води и някои храни. Установени са значителни разлики в съдържание на йод в почви по течение на Рилската река – от 970 µg/kg до 3061 µg/kg, което е значително по-ниско от тези в някои села в Софийско: Връбница – 9340 µg/kg, Малашевци – 5566 µg/kg. Наред с почвите е определяно и

съдържанието на йод в подбрани местно произведени храни. Изследваните проби пшеница, картофи, зеле, фасул и чушки в с. Пастра (в Рила) са със значително по-ниско съдържание на йод в сравнение с храни отглеждани в Софийското поле (с. Връбница). Резултатите от тези подробни проучвания за оценка на йодния дефицит показват, че територията на България е с различно ниско съдържание на йод в околната среда, което рефлектира върху тиреоидния статус на населението в отделните територии (25).

На база получените резултати от тези проучванията през 1958 година за първи път в определените ендемични райони на България е въведена масовата йодна профилактика – йодирание на готварската сол, като основна стратегия за контрол на йодния дефицит и допълнително суплементиране с йодни таблетки на всички деца и бременни жени в доза 1 mg седмично. Йодирането на солта се извършва с калиев йодид (KI) в количество 20 ppm (15 ppm I). Тъй като възприетият по това време йодиращ агент калиев йодид е относително нестабилно съединение има изискване готварската сол да бъде пакетирана в тъмни, водонепромокаеми опаковки (25). Ефективността на тези стратегии довежда до пълно ликвидиране на кретенизма и снижаване на ендемичната гушавост до 12%, а нодозните и високостепенни гуши са сведени до спорадични случаи и в значителна степен е снижен броят на преждевременните раждания и абортите вследствие на недостиг на йод на бременните жени.

Проследяването в динамика на гушавостта в периода 1986-1993 година установява двукратно нарастване на лицата с увеличена щитовидна жлеза, достигайки през 1993 година средната честота 23,3% (13%-40%) в отделните региони. (28, 29). Периодът след 1986 г. до въвеждане на универсално йодирание на солта е усложнен и от аварията в Чернобил, по време на която в България липсва йодна профилактика на популационно ниво. През този период не се откриват достъпни данни за наличие и достъп до йодирана сол за населението в ендемичните райони както и за суплементиране на високорисковите групи (бременни жени и ученици) с йодни препарати.

Основни причини за ниската ефективност и устойчивост на първата национална програма за контрол на йодния дефицит въведена в края на петдесетте години на 20<sup>ти</sup> век са:

- Разглеждане на проблемите свързани с дефицита на йод и неговата профилактика като предимно клиничко-медицински и с регионален характер (ендемичен);

- Липса на партньорство и координация между участниците в процеса на елиминиране на йодния дефицит – здравеопазване, производители, дистрибутори и търговци на йодирана сол;

- Липса на законова уредба която да осигури достатъчно количество адекватно йодирана сол за цялата територия на страната, а не само в „ендемичните територии“;

- Липса на ефективна мониторинг система, основана на достъпни за прилагане индикатори за проследяване на йодния прием и ефекта на йодната суплементация върху цялото население и особено на високорискови групи – деца, ученици и бременни жени;

Първият период на йодна профилактика в България има изключително значение за идентифициране на проблема и въвеждане на масова профилактика със специален акцент върху високорисковите групи. Въпреки това, част от населението (неендемични региони) остава без йодна профилактика. Не е регламентирана нормативната уредба за провеждане на регулярен биологичен мониторинг и на контрол върху качеството и потреблението на йодирана сол.

## **Втори период на йодна профилактика – универсално йодирание на солта (след 1993 г.)**

В подкрепа на международните усилия за елиминиране на йодния дефицит и на база на дългогодишните традиции в борбата с йоддефицитните състояния както и за постигане на приоритетните цели, заложили от редица международни организации UNICEF/WHO/ICCIDD за окончателно ликвидиране на йоддефицитните заболявания, през 1994 година в България беше разработена нова национална програма за профилактика и контрол. С международните препоръки за въвеждане на универсалното йодирание на солта като основна стратегия и след анализ на допуснатите слабости от предишната програма, у нас се преразглежда и преосмисля цялостната политика за ликвидиране на този проблем и се въвежда „универсално“ йодирание на готварската сол за цялото население на територията на България с Постановление на Министерския съвет № 96/1994 (ПМС 96/94 (27)). Основна цел на ПМС 96/94 г. е създаването на нормативна база която да гарантира наличност на адекватно йодирана сол за цялото население, контрол върху качеството на йодираната сол, създаване на лабораторен капацитет за мониторинг, основан на надеждни аналитични методи, определяне

на приема на йод чрез репрезентативни проучвания, информираност и създаване на нагласи у населението за възприемане на йодираната сол като основно профилактично средство. До постигане на оптимален йоден прием, като средносрочна стратегия се въвежда суплементиране с Антиструмин на учениците и бременните жени в ендемичните райони. Утвърден е стандарт за йодирани на солта с КЮЗ 28-55 ppm (17-33 ppm I), който е съобразен със средния обичаен прием на сол от населението в България, със степента на йодния дефицит и с физиологични потребности, необходими за поддържане на адекватен йоден резерв за нормално функциониране на щитовидната жлеза. В сравнение с първия стандарт, който регламентира съдържание на йод 15 ppm сол, в новия количеството йод в солта е увеличено и е разширен интервала на йодирани като едновременно с това е променен йодирация агент с по-трайното съединение КЮЗ, което не налага използване на тъмни опаковки. Стандартът за йодирани на солта не е променян от въвеждане на универсалното йодирани през 1994 г. Основание за това са резултатите от проведените след 1994 година епидемиологичните проучвания, които показват траен прогрес в повишаване на йодния прием от населението в последните двадесет години без това да създава риск от ексцесивно висок внос на йод (30-32). Препоръката за въвеждане на политики за редукция на солта в последно време, въпреки че не са в противоречие с тези за консумация на йодирани сол би могла да наложи преразглеждане на националния стандарт ако се установи че редукцията на солта компрометира стратегията за профилактика на йодния дефицит (33).

Създадена е функционална система, която обхваща всички елементи на процеса на йодирани на солта, разпространение и потребление на йодирани сол – сгържавни структури, производители, търговци, здравна система, образование. Забранява се продажбата на нейодирани сол в търговската мрежа на страната и при промишленото производство на храни се използва единствено йодирани сол.

### **Мониторинг на качеството на йодирани сол в търговската мрежа**

Ефективността на въведеното универсално йодирани на солта след 1994 г. се дължи на регулярния контрол върху качеството на йодирани сол в търговската мрежа и в домакинствата. През 1994 година е изградена национална система за мониториране на йодирани сол, включително

контрол на ниво пазарна мрежа, който се извършва от регионалните ХЕИ (РЗИ), под прякото ръководство на Министерство на здравеопазването (МЗ), по предварително разработен годишен план. На контрол подлежат търговските обекти, складовете на едро, производителите на храни и на йодирани сол. От началото на въвеждане на универсално йодирани на солта до 2008 г. този процес включва ежемесечен контрол на проби сол от пазарната мрежа, анализ на съдържанието на КЮЗ чрез стандартизиран метод, вънасяне на резултатите в унифицирана форма и ежеквартално (след 2004 - на полугодие) отчитане на резултатите пред МЗ и обобщаване от Дирекция „Обществено здраве“ в МЗ. До 2008 г. регионалните здравни инспекции са изпращали на всеки три месеца в МЗ резултатите от извършените проверки, лабораторни анализи и доклад за предприетите при установени нарушения мерки. В резултат на изградената система за контрол качеството на йодирани сол бързо се подобрява. Обобщените анализи от МЗ за периода 1995-2008 г. показват че стандартно йодирани сол в търговската мрежа се е увеличила съответно от 57,3% през 1995, 79,1% през 2002 година и 86,5% през 2004 и 87,7 % през 2008 г. (Фиг. 1) (34).

След 2011 година контролът на йодирани сол се извършва от Българската агенция по безопасност на храните (БАВН) и за този период липсва достъпна информация за пенетрацията на йодирани сол и състоянието в търговската мрежа в съответствие с ПМС 96/1994 г.

### **Мониторинг на качеството на йодирани сол в домакинствата**

Изследване на съдържанието на йод в солта на ниво домакинство е един от индикаторите за оценка на качеството на йодната профилактиката в случаи когато основен източник на йод за населението е йодирани сол (34). Адекватното съдържание на йод в солта в домакинството се влияе от вида на йодирация агент (ста билността), равномерното йодирани на солта, загубите на йод от производителя до крайния потребител под влияние на външните условия при транспорт и съхранението в домакинството, наличността на нейодирани сол в търговската мрежа. Изследване на наличността на адекватно йодирани сол в домакинствата корелира с приема на йод измерван чрез екскрецията на йод с урината и е валидно предимно за развиващите се страни където йодирани сол е основен източник на йод (35). В рамките на последните три

**Фигура 1.** Относителен дял (%) на стандартни проби готварска сол в търговската мрежа за периода 1995-2008 г.



национални проучвания за оценка на йодния статус на населението е изследвано и съдържанието на йод в солта ползвана от домакинствата на обхванатите ученици (30-32). В Табл. 1. са представени резултати от съдържанието на йод в солта на ниво домакинства за периода 2003-2012 г. Напоследък се преосмисля значението на индикатора „наличност на йодирана сол в домакинството“ тъй като той има различна информативна стойност в развиващите се и в индустриализираните държави където моделът на хранене е различен, консумират се повече промишлено преработени храни и по-често е застъпено хранене извън дома (35).

В последното ръководство на УНИЦЕФ за мониторинг на програмите за йодна профилактика от 2018 г. когато този индикатор се използва в индустриално-развита държава се препоръчва наред с качеството на йодираната сол за директна консумация да се установи колко от промишлено преработените храни са произведени с йодирана сол и какъв е техният относителен дял в храненето (36).

### **Мониторинг на ефекта на йодираната сол върху приема на йод – биологичен мониторинг, йодурия**

Един от биохимични индикатори, използвани за мониторинг на ефективността на програмите за елиминиране на йодния дефицит е концентрацията на йод в урината (йодурия).

Тя отразява йодния статус в момента на изследването за разлика от промените в размера на щитовидната жлеза който отразява дългосрочен адекватен йоден прием, вкл. по време на интраутеринното развитие който се определя от приема по време на бременност. Йодурията е сред най-чувствителните биомаркери за прием на йод, тъй като над 90% от елемента се екскретира чрез бъбреците в първите 24 часа (17, 18, 34). Индивидуалната йодна екскреция се характеризира със значителна интер- и интраиндивидуална вариабилност поради което определянето на йод в случайна порция урина няма диагностична стойност за оценка на йодния прием на индивида, но тази вариабилност значително намалява при определяне на йодната екскреция на дефинирана популационна група (33, 37). При популационни изследвания, включващи достатъчен брой индивиди с еднакви характеристики, медианата на йодурия отразява йодния приемна групата. При адекватен прием на йод от лица в училищна възраст и възрастни, медианата на йодурия е по-висока от 100 mcg/l, стойност прилагана като дискриминативен критерий за оценка приема на група (34).

У нас йодурията е използвана за първи път за оценка на йодния статус при националното проучване на ученици проведено през 1996г., две години след въвеждане на универсално йодиране на солта (30). За разлика от прилаганите през петдесетте години стратегии за йодна профилактика, програмата приема през 1994 г. покрива

**Таблица 1.** Качество на йодираната сол в българските домакинства в периода 2003-2012 година

Индикатори	Честота (%)		
	2003	2008*	2012**
<b>Йодиране на солта</b>			
■ Отн. дял на домакинствата, използващи адекватно йодирана сол, 28-55 ppm KIO <sub>3</sub> съгласно Българския стандарт	86,2	84,5	84,8
■ Отн. дял на домакинствата, използващи адекватно йодирана сол, над 15 ppm I, съгласно международните критерии	97,8	-	91,9
■ Отн. дял на домакинствата, използващи йодирана сол, под 28 ppm KIO <sub>3</sub> , съгласно Българския стандарт	4,2	3,8	10,9
■ Отн. дял на домакинствата, използващи йодирана сол, над 55 ppm KIO <sub>3</sub> , съгласно Българския стандарт	9,6	10,4	4,2
■ Отн. дял на домакинствата, използващи йодирана сол, под 15 ppm йод, съгласно международните критерии	2,2	-	8,1

**Източник:** \*МЗ. Разпространение на йоддефицитните заболявания в България. София, 2009.

\*\*МЗ, Национален Център по Обществено здраве и анализи. Дулева, В и кол. Контрол на въздействието на йодираната сол върху йоддефицитните заболявания и нарушения чрез изследвания сред рискови групи от населението ( деца и бременни)

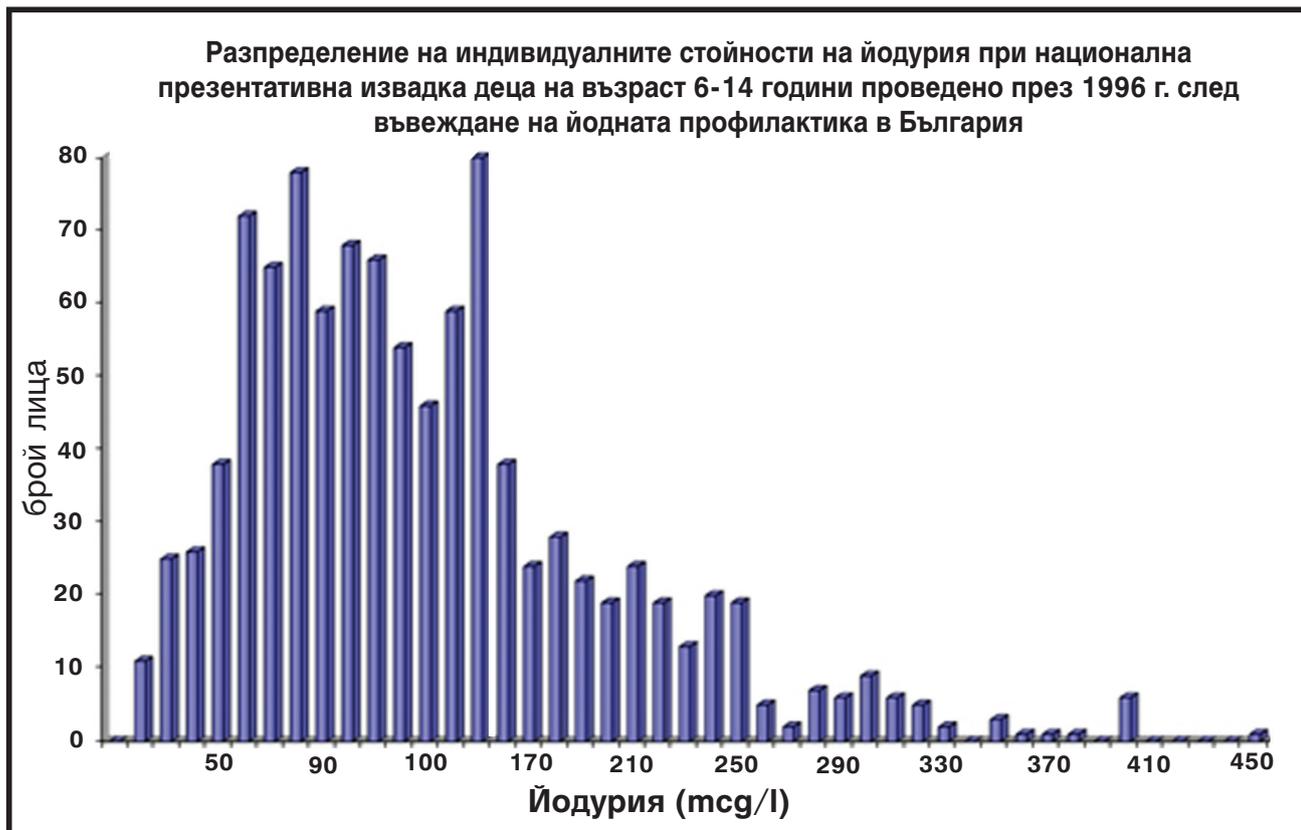
**Таблица 2.** Обобщени резултати от изследване на сол и йодурия при ученици за периода 2003-2012 г.

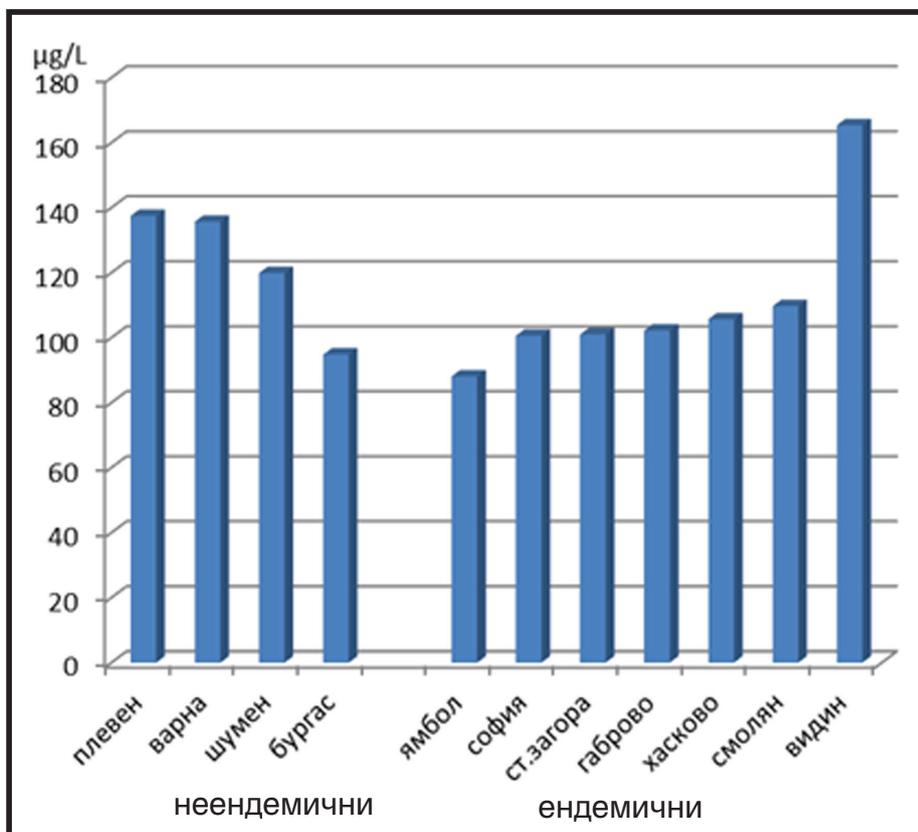
Индикатор	Честота (%)		
	2003	2008*	2012**
<b>година</b>			
<b>Йодиране на солта</b>			
Отн. дял на домакинствата, използващи адекватно йодирана сол, 28-55 ppm KIO <sub>3</sub> съгласно Българския стандарт	86,2	84,5	84,8
Отн. дял на домакинствата, използващи адекватно йодирана сол, над 15 ppm I, съгласно международните критерии	97,8	Липсват данни	91,9
Отн. дял на домакинствата, използващи йодирана сол под 28 ppm KIO <sub>3</sub> , съгласно Българския стандарт	4,2	3,8	10,9
Отн. дял на домакинствата, използващи йодирана сол над 55 ppm KIO <sub>3</sub> съгласно Българския стандарт	9,6	10,4	4,2
<b>Йод в урината</b>			
■ Медиана (µg/L)	198,0	182,0	179,5
■ Отн. дял под 100 µg/L	6,9	10,6	11,8
■ Отн. дял над 50 µg/L	0,8	2,1	2,9
<b>Ехография на щит. жлеза</b>			
Ученици с отн. дял над P97	2,1	2,6	Липсват данни

цялата територия на България с йодирана сол и допълнително като средносрочна стратегия е въведено суплементиране с йод на рискови групи в ендемичните региони. Това е причина концентрацията на йод в урината на национално ниво бързо да нарастне. Резултатите от първото изследване върху ефекта от масовата йодна профилактика чрез йодурия отразяват адекватен прием като разпределението на индивидуалните стойности макар и съвсем слабо е изместено към по-високите със значителна дисперсия на резултатите (Фиг. 2). По време на това национално проучване, независимо от постигнатия бърз прогрес в приема на йод все още се установяват области с неадекватен популяционен прием както сред ендемичните така и сред неендемичните региони, въпреки прилагането на допълнително суплементиране с йодни препарати в ендемичните региони (Фиг. 3). Това вероятно е резултат от регионални различия както в степента на дефицит, така и на качеството на йодирана сол, което показва, че цялата територия на България е с различен по степен йоден дефицит. Поради това, използването единствено на

националната медиана за оценка на йодния прием, индикатор възприет в този период, не може да бъде достатъчно показателен за идентифициране на статуса във всеки отделен регион (17, 34, 36). Тя не дава възможност за идентифициране на рискови региони и рискови популяционни групи с недостатъчен прием на йод. Именно поради тази причина новите препоръки на УНИЦЕФ за оценка на популяционния йоден статус са насочени към регионални проучвания и идентифициране на рискови точки (36). Проследяването на регионалния прием на йод в динамика е удачен подход за установяване на проблемите и насочване на усилията в определени критични точки и към рискови популяционни групи. Сравняване на йодуриите на ученици в част от регионите с изследвания при първото и второ национално проучване показват, че както в ендемичните (София, Смолян, Габрово) така и в неендемичните (Шумен, Плевен) региони през 2003 г. се постига адекватен популяционен йоден прием (медиана > 100 µg/L) във всички изследвани региони (Фиг 4). За периода от първото проучване през 1996г. до 2012 г. са проведени четири национални проучвания

**Фигура 2.** Разпределение на индивидуалните стойности на йодурия при ученици на възраст 6-14 г. от национално проучване 1996 г.



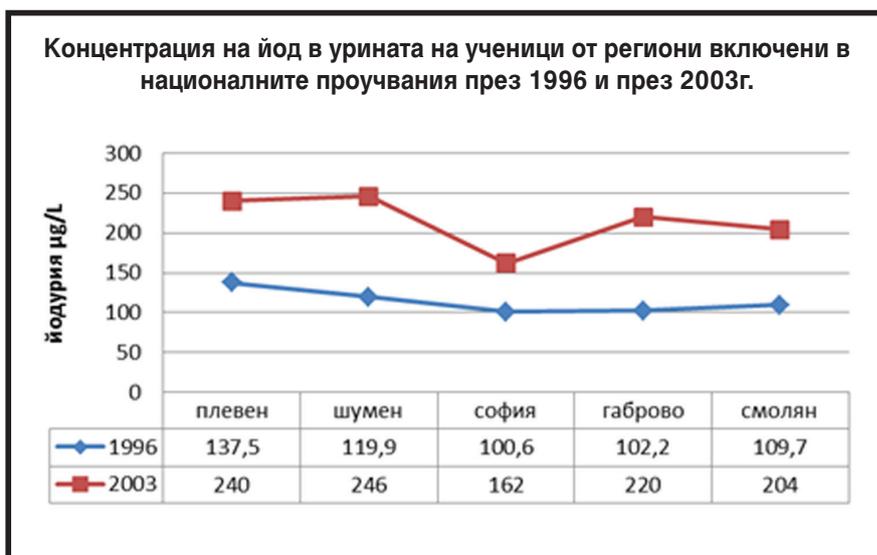


Фигура 3.

Иодурия (медиана µg/L) на ученици на възраст 6-14 г. от ендемичните и неендемични региони от национално проучване 1996 г.

Фигура 4.

Иодурия на ученици в пет региона изследвани през 1996 и 2003 г.

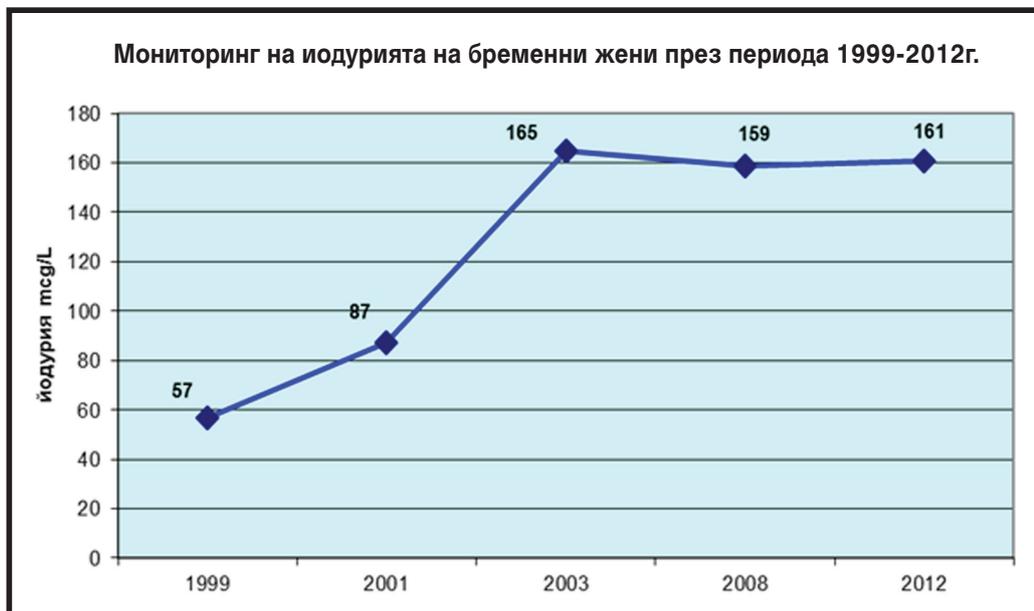


оценка на йодния прием в България което е изградена мониторинг система съобразена със стандартите за оценка на ефективността на прилаганите интервенции. В този над 20 годишен период йодурията при ученици се нормализира – 111,5 µg/L (1996), 198 µg/L (2003), 182 µg/L (2008) и 175,5 µg/L (2012) и след 2003 г. се поддържа

стабилно адекватна. Това е периодът в който относителният дял на стандартно йодирана сол в пазарната мрежа е над 80%. През 2005 г. България беше сертифицирана като тържвава постигнала високи успехи в профилактиката на йодния дефицит от представители на Мрежата за устойчиво елиминиране на йодния дефицит (39).

**Фигура 5.**

Йодурия на бременни жени в България за периода 1999 – 2012 г.



Независимо от постигнатите успехи на ниво общо население съществуват рискови групи при които дори маргинален йоден дефицит трябва да бъде своевременно идентифициран и коригиран. Тъй като бременността е състояние, което изисква повишаване на йодния прием, долната дискриминативна граница за нормална йодурия е 150 µg/L, по-висока от тази при учениците. Изследвания на йодурия на бременни жени във втори и трети триместър на бременността в периода 2003 – 2012 г. показват нормални стойности, но по-близки до долната референтна граница – 168,0 µg/L (2003), 158, 5 µg/L (2008) и 161,0 µg/L (2012) (Фиг. 5). Това предполага, че при бременните жени в България, особено в някои региони и сред някои социални групи би могло да се очаква макар и лек йоден дефицит. Рискови могат да бъдат и бременни, които ограничават консумацията на сол или консумират нейодирана сол (Хималайска, индийска и др). В случаи когато съществуват индикации за ограничаване консумацията на сол (йодирана) или увлечение към алтернативни видове е необходимо медицинските специалисти да препоръчат суплементиране с йод-съдържащи препарати по време на цялата бременност и дори преди забременяване при планирана бременност.

### **Заключение**

България е сертифицирана като държава, която успешно контролира процеса на осигуряване на адекватен йоден прием на цялото население чрез адекватно подбрани стратегии и мониториране на процесите. Проведената през 2005 г.

външна международна оценка на националната програма за профилактика на йодния дефицит е положителна (39). Използваните адекватни функционални маркери за оценка на йодния статус, особено сред високо-рискови групи са база за проследяване на процеса в динамика. В Таблица 2. са представени в обобщен вид резултатите от проведените в рамките на националната програма за профилактика на йодния дефицит три национални проучвания в периода 2003-2012 г.

Независимо от установените трайни положителни резултати при елиминиране на йодния дефицит в България съществуват известни рискове – пенетриране на значително количество сол, несъдържащи йод в търговската мрежа, липса на актуална информация за качеството и делът на йодирана сол и слаба координация при осъществяване на контрол на интервенциите. Нужно и съобразяване с последните препоръки на УНИЦЕФ – мониториране на наличността на адекватно йодирана сол не само в домакинствата, но и събиране на информация за използване на йодирана сол при промишлено производство на храни, идентифициране на рискови групи/рискови региони, съобразяване с новите референтни граници на йодурия при ученици (36). Необходимо е да се поддържа трайно нивото на информираност на населението за същността на йодния дефицит, предимствата на йодираната сол, както и да се осигури обучение на студентите по медицина и медицинските специалисти за последствията от йодния дефицит и особено върху когнитивното развитие.

1. **Delange, F.** Iodine deficiency as a cause of brain damage. *Postgrad Med J* 2001; Apr; 77(906):217-20.
2. **De Escobar GM, Obreg n MJ, del Rey FE.** Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutr* 2007 Dec;10(12A):1554-70.
3. **Redman K, Ruffman T, Fitzgerald P, Skeaff S.** Iodine Deficiency and the Brain: Effects and Mechanisms. *Crit Rev Food Sci Nut* 2016 Dec 9;56(16):2695-713.
4. **Gastaldi R, Muraca M, Beltramo A, Poggi E.** Iodine deficiency and its consequences for cognitive and psychomotor development of children. *Tal J Pediatr* 2014; 40(Suppl 1): A15.
5. **Bath S, Steer CD, Golding J, Emmett P, Rayman MP.** Effect of inadequate iodine status in UK pregnant women on cognitive outcomes in their children: results from Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Lancet* 2013; Jul 27: 382(9889): 331-7.
6. **Hetzel BS.** Iodine Deficiency Disorders (IDD) and their eradication. *Lancet* 1983; 2(8359):1126-1129.
7. **Zimmermann MB.** Key Barriers to Global Iodine Deficiency Disorders. *A to Z –Technical Brief.* 2007; 1-9.
8. **Hetzel BS.** Global Progress in addressing iodine deficiency through universal salt iodization. *SCN News* 2007; 35:2-13.
9. **WHO.** Global Database on Iodine Deficiency. *Iodine Status Worldwide.* Geneva 2004:1-58.
10. **United Nations World Summit for Children.** New York, United Nations. *Asia Pac J Public Health* 1990; 4 (2-3):99-101.
11. **USAID.** International Conference on Nutrition. Rome, Dec 1992
12. **World Health Organization.** Guideline:fortification of food-grade salt with iodine for the prevention and control of iodine deficiencydisorders. Geneva: *World Health Organization*; 2014.
13. **Andersson, M., V. Karumbunathan, M. B. Zimmermann.** Global Iodine Status in 2011 and Trends over the Past Decade. *J Nutr* 2012;142(4): 744-750.
14. **Zimmermann, MB, Andersson M.** Update on iodine status worldwide. *Curr Opin Endocrinol Obes.* 2012; Oct 19(5): 392-7.
15. **United Nations Children’s Fund (UNICEF).** State of the World’s Children, Data Tables; United Nations Children’s Fund: New York, NY, USA, 2016; Available online: <https://data.unicef.org/topic/nutrition/iodine-deficiency/> (accessed on 8 September 2018).
16. **Iodine Global Network.** Global Scorecard of Iodine Nutrition 2017. *Zuerich: IGN*; 2017.
17. **WHO, UNICEF, ICCIDD.** Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers. (2<sup>nd</sup> ed), Geneva, Switzerland. 2001
18. **WHO/UNICEF/ICCIDD.** Indicators for Assessing Iodine Deficiency Disorders and their Control through Salt Iodization. *WHO/NUT/94.6.* Geneva, Switzerland, 1994: 66 p.
19. **Zimmermann MB, Andersson M.** Assessment of iodine nutrition in populations: past, present, and future. *Nutr Rev* 2013; 70(10): 553-70.
20. **Vitti P, Rago T., Aghini-Lombardi A, Pinchera A.** Iodine deficiency disorders in Europe. *Public Health Nutr.* 2001; Apr, Vol. 4, (2B): 529-35.
21. **Vandevijvere S.** Sodium reduction and the correction of iodine intake in Belgium: Policy options, *Archives of Public Health.* 2012; May 30, Vol. 70 (1): 10-18
22. **Voeltzke H, Caron P, De Castro JJ, Erlund I, Gaberscek S, Gunnarsdottir I, Hubaweshka A, Ittermann T, Ivanova, L et al.** Ensuring Effective Prevention of Iodine Deficiency Disorders, *Thyroid.* Feb, 26(2), 2016,189-96.
23. **EUthyroid.** H2020. <http://www.euthyroid.eu/>
24. **The EUthyroid Consortium.** The Krakow Declaration on Iodine. *European Thyroid J.* 2018; 7:201-204.
25. **Pentchev I (ed).** Endemic goiter in Bulgaria. *Medicina I Fizkultura.* 1961. 277 p. (In Bulgarian)
26. **Ivanova L.** Monitoring and Control of Iodine Deficiency in Bulgaria. *KOTI* 2016, 141 p. (In Bulg.).
27. **Ordinance 96/15 May 1994 adopted by the Council of Ministers.** *State Gazette* 43/1994.
28. **Peneva L, Lozanov B, Koev D.** Status of Iodine Nutrition in Bulgaria. In: *Iodine Deficiency in Europe*, F. Delange ed. *Plenum Press, New York* 1993: 415-419,
29. **Lozanov B.** Iodine Deficiency Disorder and Endemic Goitre In: *Medical Geograpy of Bulgaria*, part I. Naumov J ed. 2004, *Publishing House of the Union of Scientists in Bulgaria* 2004: 198-2013 (In Bulg.).
30. **Ivanova L.** Iodine status of Bulgarian schoolchildren assessed by iodine excretion during the period 1994-2003 (In Bulgarian) In: *Lozanov B. ed. IDD – prevention, control and evaluation methods, MoH, 2004:* 49-56 (In Bulgarian)
31. **Angelova K et al.** National study on iodine excretion – biomarker of iodine intake. *Bulgarian J Publ. Helath* 2009; 1(3): 66-72. (In Bulgarian)
32. **Duleva V.** MoH National Center for Public Health and Analyses. Control of the effect of iodized salt on iodine deficiency disorders through studies on risk groups of the population (children and pregnant women). *Sofia* 2012:7-11. (In Bulgarian)
33. **WHO.** Salt reduction and iodine fortification strategies in public health: report of a joint technical meeting convened by the World Health Organization and The George Institute for Global Health in collaboration with the International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders Global Network, Sydney, Australia. 2014, 36 p.
34. **WHO/UNICEF/ICCIDD.** Assessment of Iodine Deficiency Disorders and monitoring their elimination. *Third edition.* 2007, 108 p.
35. **Horton S, Miloff A.** Iodine status and availability of iodized salt: an cross-country analysis. *Food and Nutrition Bulletin* 2010; vol31, 2:214-220.
36. **UNICEF.** Guidance on the monitoring of salt iodization programs and determination of population iodine status. 2018, 26 p.
37. **Andersen S, Pedersen KM, Pedersen IB, Laurberg P.** Variations in urinary iodine excretion and thyroid function. A 1-year study in healthy men. *Eur J Endocrinol* 2001 May,144(5):461-5.
38. **Zimmermann MB, Aeberli I, Andersson M, Assey V, Yorg JA, Jooste P, Jukic T, KartonoD, Kusic Z, Pretell E, San Louis TO Jr, Untoro J, Timmer A.** Thyroglobulin is a sensitive measure of both deficient and excess iodine intakes in children and indicates no adverseeffects on thyroid function in the UIC range of 100–299 mug/L: a UNICEF/ICCIDD study group report. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(3):1271–80.
39. **Report by a team of experts on behalf of the Network for Sustained Elimination of Iodine Deficiency.** *Review of Progress towards Sustained Optimal Iodine Nutrition.* 2005; May, 28 p.

## Address for correspondence:

- Проф. Людмила Б. Иванова, гм
- Медицински факултет,
- Софийски университет
- „Св. Кл. Охридски“
- София, 1407, ул. Козяк 1, УБ „Лозенец“
- [ljudmilabi@med.uni-sofia.bg](mailto:ljudmilabi@med.uni-sofia.bg)
- Prof. Ludmila B. Ivanova, MD, PhD
- Faculty of Medicine, Sofia University
- „St. Kliment Ohridski“
- Sofia 1407, 1, Kozjak Str. Lozenetz Hospital
- [ljudmilabi@med.uni-sofia.bg](mailto:ljudmilabi@med.uni-sofia.bg)

## Реактивни кислородни видове, антиоксидантна защита и щитовидна жлеза

Геренова, Жулиета Б.

Клиника по Ендокринология, Университетска болница, Катедра „Пропедевтика на вътрешните болести“, Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора

## Reactive Oxygen Species, Antioxidant Protection and Thyroid Gland

Geranova, Julieta B.

Clinic of Endocrinology, University Hospital, Department of Propeudetics of Internal Diseases, Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagora

### Резюме

Реактивните кислородни видове (ROS) са широко изследвани при инициацията на възпалението и тъканната увреда. Натрупването на ROS води до апоптоза и ROS участват не само в началото на аутоимунния отговор, но и в неговото разгръщане. Свърхпродукцията на ROS и радикали на азотния окис ( $\text{NO}\cdot$ ) се свързва с патогенезата на редица възпалителни и имунно-медицирани нарушения, включително аутоимунни заболявания на щитовидната жлеза. От друга страна, множество ензимни и не-ензимни защитни системи, наречени антиоксиданти, предотвратяват увреждането, причинено от оксидативния стрес (ОС). Антиоксидантите са агенти, които елиминират ROS, предотвратяват образуването им или възстановяват увредите, които причиняват. Тази сложна система се състои от антиоксидантни ензими (супероксид дисмутаза (SOD), каталаза, глутатион пероксидаза) и други вещества. Чрез системата за обратна връзка се поддържа постоянни ниски нива на SOD, глутатион пероксидаза и каталаза, както и супероксид и водороден пероксид, което поддържа системата във функциониращо състояние. От термодинамична гледна точка аскорбатът ( $\text{Asc}\cdot$ ) се намира в края на серията оксидативни радикали. Това прави  $\text{Asc}\cdot$  вероятно един от най-добрите ендогенни маркери на оксидативния статус в биосистемите.

### Abstract

Reactive oxygen species (ROS) have been extensively studied in the induction of inflammation and tissue damage. ROS accumulation leads to apoptosis and ROS have been implicated not only in the initiation of the autoimmune response but also in its amplification. Overproduction of ROS and nitric oxide ( $\text{NO}\cdot$ ) radicals in recent studies have been related to the pathogenesis of several inflammatory and immune – mediated disorders, including autoimmune thyroid diseases. On the other hand, multiple enzymatic and non-enzymatic defence systems, called antioxidants prevent the damage caused by oxidative stress (OS). Antioxidants are agents that scavenge ROS, prevent their formation, or repair the damage they cause. This complex system consists of antioxidant enzymes (superoxide dismutases (SOD), catalase, glutathione peroxidase) and other substrates. Through a feedback system, steady low levels of SOD, glutathione peroxidase, and catalase, as well as superoxide and hydrogen peroxide are maintained, which keeps the entire system in a fully functioning state. From the thermodynamic point of view, ascorbate ( $\text{Asc}\cdot$ ) ranks at the end of oxidative radicals series. This properly makes  $\text{Asc}\cdot$  probably one of the best endogenous marker of the oxidative status in biosystems.

Тиреоидитът на Хашимото е най-често срещаното аутоимунно заболяване на щитовидната жлеза. Въпреки че е изяснена ролята на тиреоидна дисфункция за свръхпроизводство на свободни радикали, данните за ролята на аутоимунитета за поддържане наличието на оксидативен стрес, при нормални серумни нива на тиреоидните хормони, са оскъдни и в днешно време широко изследвани.

Директното установяване на биомаркерите на оксидативен стрес е много трудно или невъзможно поради краткия им полуживот. Електронният парамагнитен резонанс (EPR) е единственият метод за директно откриване на парамагнитни видове при ниски концентрации и се използва успешно за тази цел.

### **Ключови думи:**

щитовидна жлеза, тиреоидит на Хашимото, електронен парамагнитен резонанс, реактивни кислородни видове, антиоксиданти.

### **Оксидативен стрес и антиоксидантна защита**

Реактивните кислородни видове (ROS), известни също като свободни радикали, са описани за пръв път от Fenton през 1894 год. (1). Те са интензивно изучавани от средата на 50-те години на миналия век за тяхното участие в стареенето и свързаните с възрастта процеси (2). Молекулярният кислород поражда опасни реактивни метаболити при редуцирането го вода (3). Терминът „свободен радикал“ обхваща всеки атом или молекула, които съдържат един или повече несдвоени електрони (4). Някои от ROS са свободни радикали като супероксидния азотен оксид и хидроксилния радикал, докато водородния пероксид ( $H_2O_2$ ) е реактивен и важен за протичането на тези процеси, но не е свободен радикал. Ето защо е уместно да се говори за реактивни кислородни видове. ROS се образуват непрекъснато в митохондриалната дихателна верига чрез циклооксигеназния път и посредством клетъчни ензими като ксантиноксидазата, NADPH оксидазата и цитохром P450 оксидазата (5). Основният вътреклетъчен източник на ROS са митохондриите.

Типична особеност на реакциите на свободните радикали е, че те протичат като верижни реакции, усилващи първоначалните увреждания. ROS причиняват клетъчна деструкция

Hashimoto's thyroiditis (HT) is the most common autoimmune thyroid disorder. Although the role of the presence of thyroid dysfunction for overproduction of free radicals has been elucidated, the data about the role of autoimmunity to sustain the presence of oxidative stress, despite normal serum thyroid hormone levels, are scarce and nowadays extensively studied.

Direct detection of oxidative stress biomarkers is very difficult or impossible due to their very short half-life. Electron paramagnetic resonance (EPR) is the only method for the direct detection of paramagnetic species at low concentrations and is used for this purpose.

### **Key words:**

thyroid, Hashimoto's thyroiditis, Electron paramagnetic resonance method, reactive oxygen species, antioxidants.

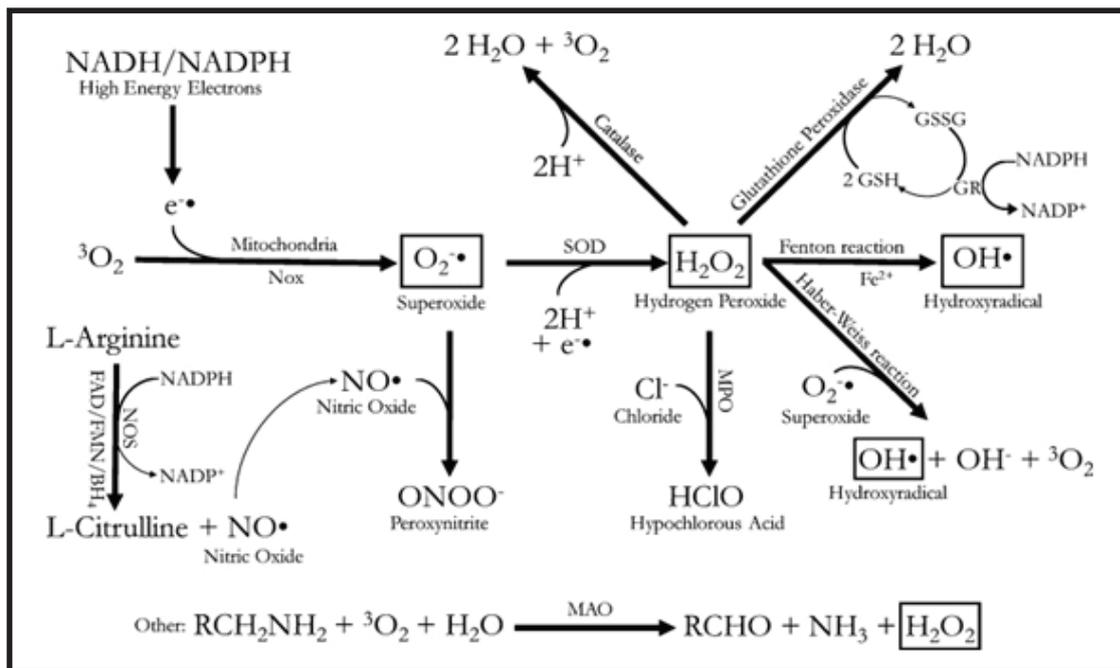
Типична особеност на реакциите на свободните радикали е, че те протичат като верижни реакции, усилващи първоначалните увреждания. ROS причиняват клетъчна деструкция чрез реагирането с протеини, липиди и ДНК (6), но те също са съществена част от нормалната клетъчна физиология. ROS и свободните радикали са от съществено значение за много метаболитни процеси. През последните години се доказва че ROS играят важна роля в редица физиологични процеси (7) (като например синтеза на тиреоидни хормони и пролиферацията на тиреоидните фоликуларни клетки (8), участват във втория етап на клетъчното сигнализиране (9), в нормалния отговор на фагоцитите към интрацелуларните патогени както и в много други патологични процеси, вариращи от аутоимунни до неопластични заболявания (10).

Кислородът се активира чрез добавяне на електрони от различни други вещества. Това предаване на електрони от вещество (редуктор) до друго (окислител) наречено редуцираща реакция, води до производството на ROS. Има три основни ROS: супероксиден анион, водороден пероксид и хидроксилен радикал (11) (Фиг. 1).

Добавянето на един електрон към молекулярния кислород води до производството на супероксиден анион ( $O_2^-$ ), предшественик на другите два вида ROS. Всъщност, супероксидният анион може

**Фигура 1.** Схематично представяне на трите основни реактивни кислородни вида (супероксид, водороден пероксид и хидроксидирадикал) и ензимните пътища, които ги произвеждат.

**Figure 1.** Schematic representation of the three major reactive oxygen species (superoxide, hydrogen peroxide, and hydroxyradical) and the enzymatic pathways that produce them.



да се обезвреди спонтанно, за да се получи водороден пероксид чрез добавяне на друг електрон и два протона, или да се преобразува ензимно от цитозолната супероксид дисмутаза 1 и митохондриалната супероксид дисмутаза 2. Водородният пероксид ( $H_2O_2$ ), стабилен ROS, след това дифузира през липидните двуслойни интрамембранозни пори (12), и вероятно представлява доминиращ ROS, участващ в редокс сигнализирането поради своята стабилност. Чрез класическата Fenton реакция  $H_2O_2$  след това се разделя на хидроксилен радикал ( $OH\cdot$ ) и хидроксиден йон. Хидроксилните радикали са силно реактивни и съществуват само за една микросекунда, което води до оксидативно увреждане, локализирано на мястото, където се произвеждат (13). Хидроксилните радикали също могат да бъдат образувани директно от супероксиден анион в присъствието на водороден пероксид чрез реакцията на Haber-Weiss.

Това клетъчно производство на ROS се компенсира от наличието на множество молекулярни и ензимни антиоксиданти. Молекулите, които действат като антиоксиданти, включват витамини С, А и Е, пикочна киселина, глутатион, и тиоредоксин (14). Антиоксидантните ензими

включват каталаза, тиоредоксин редуктаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза, глутатион S-трансфераза, аскорбат пероксидаза, аскорбат редуктаза и глюкоза-6-фосфат дехидрогеназа (15). Свободните радикали включват освен реактивните кислородни видове (ROS) и реактивни азотни видове (RNS). Азотната оксидна синтаза (NOS) превръща L-аргинина в цитрулин. Тази реакция освобождава азотен оксид ( $NO\cdot$ ), който медуира вазодилатацията и участва в много други процеси, като например имунните реакции. ROS може да увреди синтеза на азотен оксид и да индуцира по-голямо производство на ROS по механизма на обратната връзка (16).

При физиологични условия съществува баланс между производството и разграждането на ROS. Всеки вътрешен или външен патологичен фактор, обаче, може да наруши това равновесие, което води до състояние известно като оксидативен стрес. Реактивните кислородни видове –  $O_2$ ,  $OH\cdot$ ,  $H_2O_2$  и  $NO\cdot$ , когато са в излишък, причиняват оксидативно увреждане на молекулите. Всъщност, окислителният стрес играе важна роля в патогенезата на много заболявания. Известно е, че излишъкът от  $H_2O_2$  индуцира оксидативно увреждане на мембранните липиди,

протеини и ДНК, които могат да доведат до клетъчна смърт чрез некроза или апоптоза. Нивата на липидните пероксидационни продукти (малондиалдехид - MDA) в плазмата са широко използвани на практика като показател за увреждане от свободните радикали.

Супероксид дисмутазите (SOD) катализират превръщането на две супероксидни молекули във водороден пероксид и кислород, а водородният пероксид се елиминира предимно от каталаза (CAT) и глутатион пероксидаза (GPX). SOD е ендогенно произведен вътреклетъчен ензим, присъстващ по същество в всяка клетка в тялото. Клетъчната SOD всъщност се представя от група металоензими. Преобладаващият ензим е цинк-зависим (CuZn) SOD, който е стабилен димерен протеин.

Каталазата е протеинов ензим, присъстващ в повечето аеробни клетки в тъканите на живите организми, като е особено концентрирана в черния дроб и еритроцитите. Каталазата не участва пряко в елиминирането на ROS, но не позволява разгръщането на реакцията на Fenton, в която водородният пероксид се превръща в силно токсични хидроксилни радикали.

Глутатионната пероксидаза е селен-зависим ензим, който разгражда  $H_2O_2$  и различни хидро- и липидни пероксида. (17). Класическата форма на GPX е клетъчна и се диспергира в цитоплазмата, но GPX активността се открива и в митохондриите. GPX се счита за по-важна при физиологични условия (17). Селенът е от съществено значение за протеиновия синтез и ензимната активност на GPX.

SOD се счита за фундаментален ензим в процеса на елиминиране на ROS чрез намаляване (добавяне на електрон към) супероксида за образуване на  $H_2O_2$ . Каталазата и зависимата от селена глутатион пероксидаза са отговорни за редуцирането на  $H_2O_2$  до  $H_2O$ . Каталазата и глутатион-пероксидазата улавят водородния пероксид и го превръщат във вода и двуатомен кислород. Увеличаването на производството на SOD без последващо повишаване на каталазата или глутатион пероксидазата води до натрупването на водороден пероксид, който се превръща в хидроксилен радикал.

Съответните ензими, които взаимодействат със супероксида и  $H_2O_2$  подлежат на регулация чрез система за обратна връзка. Прекомерното количество супероксид инхибира глутатион пероксидазата и каталазата, за да модулира реакцията от  $H_2O_2$  до  $H_2O$ . По подобен начин, повишеният  $H_2O_2$  бавно инактивира CuZn-SOD. Междувременно каталазите и глутатион пероксидазата, чрез редуциране на  $H_2O_2$ , запазват

SOD. SOD от своя страна, чрез намаляване на супероксида, запазва каталазата и глутатион пероксидаза. Чрез тази система за обратна връзка се поддържат постоянни ниски нива на SOD, глутатион пероксидаза и каталаза, както и на супероксид и  $H_2O_2$ , което запазва цялата система в напълно функциониращо състояние (Фиг. 2). (5,18).

При биологични условия редица физиологично активни молекули могат да бъдат модифицирани чрез ROS до стабилни органични радикали (19). Аскорбиновата киселина (AscH-) е антиоксидант, който осигурява водороден атом на окислителния радикал и произвежда аскорбатен свободен радикал (Asc•). Двойката Asc• / AscH-, има нисък потенциал на редукция и практически всеки окислителен радикал, който може да възникне в биологичната система, ще доведе до окисляване на AscH-, образувайки Asc•. Аскорбатният свободен радикал, който има относително дълъг полуживот, може лесно да бъде открит в кръвта, и се приема за показател на оксидативния статус на живите организми (20-23). Viettner през 1993 г. открива, че витамин Е и витамин С си взаимодействат за защита на липидните структури срещу пероксидацията. Витамин С е способен да възстановява токофероксидовия радикал на витамин Е, като по този начин позволява витамин Е да функционира отново като антиоксидант, който прекъсва каскадата за образуване на свободни радикали (24). Промяната в нивата на аскорбатните радикали би могла да се приеме за маркер на необходимостта от добавяне на витамин С и свързания с него витамин Е в терапевтичната схема.

### **Оксидативен стрес и автоимунни заболявания**

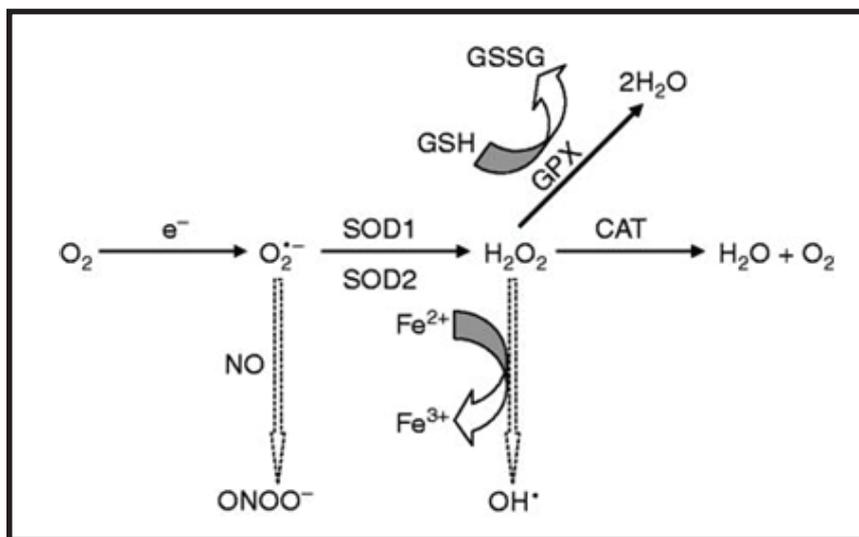
Оксидативният стрес играе важна роля при автоимунните заболявания. Както е известно, за развитието на автоимунните заболявания допринасят както генетичният фон на индивида, така и условията на външната среда. Инфекциите, ултравиолетовите лъчи, температурните промени, както и емоционалният стрес, са част от факторите, които водят до появата на автоимунни заболявания. Счита се, че оксидативният стрес въздейства директно върху имунните клетки. Инфекциите активират моноцитите и неутрофилите, които създават голямо количество свободни радикали. Последните от своя страна предизвикват нарушения в имунологичната хомеостаза. Оксидативният стрес също така активизира програмираната клетъчна смърт (апоптоза), като резултат на въздействието на ултравиолетово лъчение, тумор некротизиращ

## Фигура 2.

Схематично представяне на пътищата за производство на реактивни кислородни видове (ROS) и ключови клетъчни антиоксидантни ензимни системи, контролиращи производството на ROS.

## Figure 2.

Schematic representation of the pathways producing reactive oxygen species (ROS) and key cellular antioxidant enzymatic systems controlling ROS production.



ция фактор алфа ( $TNF-\alpha$ ) и вирусни инфекции. Освен това в резултат на оксидативния стрес структурата на ДНК молекулата може да претърпи сериозни увреждания. Поддържането на правилен редокс (редукция/оксидация) баланс на клетката е от изключително значение за нормалната ѝ работа, която обхваща клетъчната сигнализация, активиране и пролиферация. Вредните ефекти от оксидативния стрес се уравновесяват от комплексните антиоксидантни системи. Оксидативният стрес играе важна роля в патогенезата на автоимунните заболявания чрез поддържане активността на възпалителния процес, програмираната клетъчна смърт, модификация на собствените антигени и нарушаване на имунната толерантност.

Следователно, ролята на ROS при автоимунитета е сложна. Традиционната гледна точка е, че ROS натрупването е вредно за развитието на автоимунното заболяване. Оксидативен стрес се появява, когато производството на ROS надхвърля буферирания капацитет на ендогенните антиоксиданти (25). Това води до окисляване на липидите в плазмената мембрана, протеините в цитозола и ядрото, нуклеиновите киселини и като цяло – до увреждане на клетките на органа, засегнат от автоимунния процес. Оксидативният стрес може да доведе също така до генерирането на нови автоантигени и по този начин изостряне на автоимунния отговор (26).

В съответствие с тези констатации, производството на ROS се свързва директно с възпалението чрез продуцирането на  $TNF-\alpha$ . Salzano и сътр. съобщават, че макрофагите отделят оксидоредуктаза, която директно стимулира  $TNF-\alpha$  (27). Но по-скорошни проучвания разкриват регу-

латорната роля на ROS за преготвяване прогресията на хроничните възпалителни реакции (28).

Оксидативният стрес играе важна роля при автоимунните заболявания. Както е известно, за развитието на автоимунните заболявания допринасят както генетичният фон на индивида, така и условията на външната среда. Инфекциите, ултравиолетовите лъчи, температурните промени, както и емоционалният стрес, са част от факторите, които водят до появата на автоимунни заболявания. Счита се, че оксидативният стрес въздейства директно върху имунните клетки. Инфекциите активират моноцитите и неутрофилите, които създават голямо количество свободни радикали. Последните от своя страна предизвикват нарушения в имунологичната хомеостаза. Оксидативният стрес също така активизира програмираната клетъчна смърт (апоптоза), като резултат на въздействието на ултравиолетово лъчение, тумор некротизиращия фактор алфа ( $TNF-\alpha$ ) и вирусни инфекции. Освен това в резултат на оксидативния стрес структурата на ДНК молекулата може да претърпи сериозни увреждания. Поддържането на правилен редокс (редукция/оксидация) баланс на клетката е от изключително значение за нормалната ѝ работа, която обхваща клетъчната сигнализация, активиране и пролиферация. Вредните ефекти от оксидативния стрес се уравновесяват от комплексните антиоксидантни системи. Оксидативният стрес играе важна роля в патогенезата на автоимунните заболявания чрез поддържане активността на възпалителния процес, програмираната клетъчна смърт, модификация на собствените антигени и нарушаване на имунната толерантност.

Следователно, ролята на ROS при автоимунитета е сложна. Традиционната гледна точка е, че ROS натрупването е вредно за развитието на автоимунното заболяване. Оксидативен стрес се появява, когато производството на ROS надхвърля буферизиращия капацитет на ендогенните антиоксиданти (25). Това води до окисляване на липидите в плазмената мембрана, протеините в цитозола и ядрото, нуклеиновите киселини и като цяло – до увреждане на клетките на органа, засегнат от автоимунния процес. Оксидативният стрес може да доведе също така до генерирането на нови автоантигени и по този начин изостряне на автоимунния отговор (26).

В съответствие с тези констатации, производството на ROS се свързва директно с възпалението чрез продуцирането на TNF- $\alpha$ . Salzano и сътр. съобщават, че макрофагите отделят оксиредуктаза, която директно стимулира TNF- $\alpha$  (27). Но по-скорошни проучвания разкриват регулаторната роля на ROS за предотвратяване прогресията на хроничните възпалителни реакции (28).

### Оксидативен стрес и щитовидна жлеза

Ускоряване на базалния енергиен метаболизъм на тъканите при бозайници представлява една от основните функции на хормоните на щитовидната жлеза (29). Голям брой изследвания предполагат, че хиперметаболизмното състояние при хипертиреозидизъм се свързва с повишаване на свободните радикали и липидните пероксидни нива (30-32). Данните за оксидативния стрес при хипометаболизмното състояние, индуцирано от хипотиреозидизъм, са противоречиви – според някои автори то се свързва с намаляване на свободните радикали (33) и продукти в резултат на липидната пероксидация (34), но според наши и на други автори изследвания – се асоциира също с повишен оксидативен стрес (35-37). Реакцията на антиоксидантните системи както при хипотиреозидизъм, така и хипертиреозидизъм не е напълно изяснена. Противоречиви са данните за ефекта на хипертиреозидизма върху чернодробните нива на глутатион пероксидаза, като е било докладвано едновременно намаляване (31) и увеличаване (38). От друга страна, редица вещества са в състояние да неутрализират различните видове свободни радикали. Сложността на взаимодействията във вътреклетъчната мрежа от различни антиоксиданти, правят трудна за разбиране ефикасността на системата на клетъчна защита.

Научни изследвания оценяват степента на пероксидните процеси в черния дроб, сърцето и скелетната мускулатура на плъхове в различни тиреоидни състояния, с помощта на тъканните нива на малондиалдехид (MDA) и хидропероксидите. Нарушените функционални състояния на щитовидната жлеза и състоянието на антиоксидантните защитни сили, водещи до податливост към оксидативни нарушения, са оценявани чрез определяне активността на глутатион пероксидаза и глутатион редуктаза, съдържанието на витамин Е, общия антиоксидант капацитет и отговора към оксидативния стрес на тъканите *in vitro* (39).

Независимо от факта, че много научни статии са написани за оксидативния стрес, за заболяванията, свързани с оксидативен стрес и т.н., все още недостатъчни и ненапълно проучени са данните за ролята на щитовидната жлеза при норма и при различни заболявания, както автоимунни, така и неолоастични в индуциране и погържане на оксидативен стрес (40).

### Оксидативен стрес и автоимунен тиреозидит

Автоимунният тиреозидит на Хашимото е най-разпространеното орган-специфично автоимунно заболяване на щитовидната жлеза. С развитието на имунологичните, образните и хистохимични методи на изследване се натрупаха категорични данни относно голямото многообразие на клинична проява на заболяването. Някои пациенти се откриват в състояние на тежък хипотиреозидизъм, други остават еутиреозидни в продължение на десетилетия. Не е напълно ясно антипероксидазните (антиТРО Abs) и антиглобулиновите (антиТg Abs) антитела, които се установяват при голяма част от пациентите, дали са маркер на автоимунния отговор или са резултат на процесите на деструкция на тиреоидния паренхим.

Данните за степента на нарушение на процесите на оксидативен стрес и антиоксидантната защита при тези болни, в различните фази на активност на заболяването, са противоречиви. Най-новите данни в тази насока показват повишени стойности на показателите за оксидативен стрес и намалена антиоксидантна защита при пациентите с тиреозидит на Хашимото, еутиреозидна фаза (41). Ates и сътр. с мултивариабилния регресионен анализ установяват нивата на fT4 и на anti-TPO антителата като независими предиктори на параметрите на оксидативен стрес (42).

## Методи за оценка на параметрите на оксидативния стрес и антиоксидантната защита

Свободните радикали са резултат от окислително-редукционните реакции, протичащи в организма. Те са парамагнитни частици, молекули, атоми или йони, които могат да приемат или отдават електрони и да създават верижна реакция, която може да предизвика значителни биологични щети. Маркери на оксидативния стрес, както бе описано, са ROS продуктите,  $\text{NO}\cdot$  радикалите, нивото на малондиалдехида (MDA), протеин карбониловото и 8-хидрокси-2-деоксигуанидиново съдържание в серума (плазмата).

В съвременната лабораторна диагностика се използват следните методики:

**1. EPR спектроскопия** – Техника за директно определяне на семихинони, нитроксиди, триптили и за индиректно определяне на видовете супероксид, хидроксил,  $\text{NO}$ , синглетен кислород чрез спин уловители. Преимущество на *in vivo* EPR спектроскопията е уникалността, прецизността и лесното получаване на информацията. Понастоящем EPR спектроскопия е единственият аналитичен метод за директно откриване на свободните радикали в биологичните системи (43-44). Интензитетът на EPR спектърта може да се използва като индикатор за оксидативен стрес *in vitro* и *in vivo*.

За доказване на „*real time*“ протичаща липидна пероксидация могат да се определят нивата на ROS продукти и също така нивото на  $\text{NO}\cdot$  ради-

кали в плазмата (серума) чрез *ex vivo* EPR спин улавяща техника. *Ex vivo* EPR методът се използва за изследване нивото на аскорбатни радикали като маркери за оксидативен стрес в серума.

**2. Спектрофотометрични методи** – Използват се за определяне на липидното пероксидиране в плазма - Малондиалдехидът (MDA) е междинно съединение и основен индикатор на процеса на липидна пероксидация. За оценка на антиоксидантната защита се извършва определяне на супероксиддисмутазна активност (SOD) в еритроцитен лизат и определяне на каталазна активност (CAT) в еритроцитен лизат.

**3. Имуноензимни методи:** Прилагат се за определяне на протеин карбонил (PC), който се използва като маркер за оксидативно увреждане на протеините и 8-хидрокси-2-деоксигуанидин (8-OHdG), който е маркер за оксидативно увреждане на ДНК.

**В заключение,** ролята на ROS при тиреоидния аутоимунитет остава комплексна. Наличието на ROS е свързано с иницирането и развитието на аутоимунните тиреоидни заболявания. Интерес за клиничната практика би представлявало прецизирането на ползата от добавянето на химични вещества, активиращи ензимите, участващи в антиоксидантната каскада (напр. селен) или на селективни ROS инхибитори (антиоксиданти), особено витамин С и витамин Е, като средство за неутрализиране на ROS и подобряване на имунния отговор.

## References

1. Fenton HJJ. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *J Chem Soc* 1894; 65: 899-910.
2. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11(3): 298-300
3. Fridovich I. Oxygen free radicals and tissue damage: chairman's introduction. *Ciba Found Symp* 1978; 65: 1-4.
4. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 14-22.
5. **Reactive oxygen species, antioxidant enzymes and human diseases.** *Bulgarian medicine* 2000; 8: (5), 21-24.
6. De Zwart LL, Meerman JH, Commendeur JN, Vermulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26 (1-2): 202-226.
7. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82(1): 47-95.
8. Poncin S, Van Eeckoudt S, Humblet K, Colin IM, Gerard AC. Oxidative stress: a required condition for thyroid cell proliferation. *Am J Pathol* 2010; 176(3): 1355-1363.
9. Wang X, Hai C. Novel insights into redox system and the mechanism of redox regulation. *Mol Biol Rep* 2016; 43(7): 607-628.
10. Panieri E, Santoro MM. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liaison in cancer cells. *Cell Death Dis* 2016; 7(6): e2253.
11. Di Dalmazi J, Hirshberg J, Lyle D, Freej JB, Caturegli P. Reactive oxygen species in organ-specific autoimmunity. *Autoimmune Highlights* 2016, 7-11.
12. Karlenius TC, Tonissen KF. Thioredoxin and cancer: a role for thioredoxin in all states of tumor oxygenation. *Cancers* 2010; 2(2): 209-232.
13. Wang X, Tao L, Hai CX. Redox-regulating role of insulin: the essence of insulin effect. *Mol Cell Endocrinol*, 2012 349(2):111-127.
14. Karlenius TC, Tonissen KF. Thioredoxin and cancer: a role for thioredoxin in all states of tumor oxygenation. *Cancers* 2010; 2(2): 209-232.
15. Wang X, Tao L, Hai CX. (Redox-regulating role of insulin: the essence of insulin effect. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 349(2): 111-127.
16. Dimmeler S, Zeiher AM. Reactive oxygen species and vascular cell apoptosis in response to angiotensin II and proatherosclerotic factors. *Regul Pept* 2000; 90(1-3): 19-25.

17. Kinnula VL, Pietarinen P, Aalto K, Virtanen I, Raivio KO. Mitochondrial superoxide dismutase induction does not protect epithelial cells during oxidant exposure in vitro. *Am J Physiol* 1995; 268, 71-77.
18. Al-Gubory K, Garrel K, Delatouche L, Heyman Y, Chavatte-Palmer P. Antioxidant adaptive responses of extraembryonic tissues from cloned and non-cloned bovine conceptuses to oxidative stress during early pregnancy. *Reproduction* 2010; 140: 175-181.
19. Takeshita K, Fujii K, Anzai K, Ozawa T. In vivo monitoring of hydroxyl radical generation caused by X-ray irradiation of rats using the spin trapping/EPR technique. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1134-1143.
20. Armstrong D. Oxidative stress biomarkers and antioxidant protocols. Totowa, NJ: Humana Press 2002:186.
21. Buettner GR, Jurkiewicz BA. Ascorbate free radical as a marker of oxidative stress: An EPR study. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 49-55.
22. Nakagawa K, Kanno H, Miura Y. Detection and analyses of ascorbyl radical in cerebrospinal fluid and serum of acute lymphoblastic leukemia. *Anal Biochem* 1997; 254: 31-35.
23. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Lee JH, Krishna MC, Shacter E, et al. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 8749-8754.
24. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys* 1993; 300(2): 535-543.
25. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82(2): 291-295.
26. Xie H, Zhou F, Liu L, Zhu G, Li Q, Li C, et al. Vitiligo: how do oxidative stress-induced autoantigens trigger autoimmunity? *J Dermatol Sci* 2016; 81(1):3-9.
27. Salzano S, Checconi P, Hanschmann EM, Lillig CH, Bowler LD, Chan P, et al. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(33): 12157-12162.
28. Holmdahl R, Sareila O, Olsson LM, Backdahl L, Wing K. Ncf1 polymorphism reveals oxidative regulation of autoimmune chronic inflammation. *Immunol Rev* 2016; 269(1): 228-247.
29. Schwartz HL, Oppenheimer JH. Physiologic and biochemical actions of thyroid hormone. *Pharmacol Therapeut* 1978; 3: 349-376.
30. Fernandez V, Llesuy S, Solari L, Kipreos K, Videla LA, Boveris A. Chemiluminescent and respiratory responses related to thyroid hormone-induced liver oxidative stress. *Free Radic Res Commun* 1988; 5: 77-84.
31. Asayama K, Dobashi K, Hayashibe H, Megata Y, Kato K. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidism. *Endocrinology* 1987; 121: 2112-2118.
32. Gerenova J, Gadjeva V. Influence of methimazole treatment on parameters of oxidative stress in patients with Graves' disease. *Comp Clin Pathol* 2006, 15: 49-54.
33. Swaroop A, Ramasarma T. Heat exposure and hypothyroid conditions decrease hydrogen peroxide generation in liver mitochondria. *Biochem J*; 1985; 226: 403-408.
34. Paller MS. Hypothyroidism protects against free radical damage in ischaemic acute renal failure. *Kidney International* 1986; 29: 1162-1166.
35. Gerenova J, Gadjeva V. Oxidative stress and antioxidant enzyme activities in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Comp Clin Pathol* 2007; 16(4): 259-264.
36. Baskol G, Atmaca H, Tanriverdi F, Baskol M, Kocer D, Bayram F. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115: 1-5.
37. Coria MJ, Pastran AI, Gimenez MS. Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. *Acta Biomed* 2009; 80(2): 135-139.
38. Morini P, Casalino E, Sblano C, Landriscina C. The response of rat liver lipid peroxidation, antioxidant defences and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol* 1997; 155: 151-157.
39. Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, De Leo T. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol* 1997; 155: 151-157.
40. Karel P, Miklos P. Stressor specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. *Endocr Rev* 2002; 2(4): 502-548.
41. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, et al. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid* 2016; 26(4), 504-511.
42. Ates I, Altay M, Yilmaz FM, Topcuoglu C, Yilmaz N, Berker D, et al. The Impact of Levothyroxine Sodium Treatment on Oxidative Stress in Hashimoto's Thyroiditis. *Eur J Endocrinol* 2016; 174(6): 727-734.
43. Mason RP, Hanna PM, Burkitt M J, Kadiiska MB. Detection of oxygen-derived radicals in biological systems using electron spin resonance. *Environ health perspect* 1994; 102(10): 33-36.
44. Luo Y, Roth GS. The roles of dopamine oxidative stress and dopamine receptor signaling in aging and age-related neurodegeneration. *Antioxid Redox Signaling* 2000; 2: 449-460.

## Address for correspondence:

● Проф. Жулиета Геренова, дм

● Клиника по Ендокринология,  
 ● Университетска болница,  
 ● Медицински факултет,  
 ● Тракийски Университет, Стара Загора  
 ● e-mail: jgerenova@abv.bg

● Prof. Julieta Gerenova, MD, PhD

● Clinic of Endocrinology, University Hospital,  
 ● Medical Faculty, Trakia University, Stara Zagora  
 ● e-mail: jgerenova@abv.bg

## Нефрокалцинозата като интердисциплинарен проблем на границата между нефрологията, ендокринологията и онкологията

Николова, Милена К.\* Илиев, Андрей Б.\* Христова, Мария Х.\* Маркова, Галина Д.\* Иванов, Георги Н.\* Кръстева, Румяна П.\* Богов, Борис И.\* Любомирова, Мила Д.\* Андреев, Емил Т.\* Цочева, Таня Р.\* Гергинова, Невена Б.\* Николова, Радина Г.\* Тодоров, Тодор А.\* Крунев, Мартин П.\* Давидов, Калоян М.#, Влахов, Йордан Д.#, Боянов, Михаил А.\* Каменов, Здравко А.\*, Робева, Ралица Н.\* Хаджиев, Евгений А.\* Цветкова, Гержана Б.\* Шемелекова, Лъчезара А.\* Василева, Цветелина Н.\* Минчев, Иван И.\* Бекирова, Емел Е.\*

\* Медицински Университет, София

# Софийски Университет, Медицински Факултет

## Nephrocalcinosis as an Interdisciplinary Problem: Borderline Between Nephrology, Endocrinology and Oncology

Nikolova, Milena K.\*, Iliev, Andrei B.\*, Hristova, Maria H.\*, Markova, Galina D.\*, Ivanov, Georgi N.\*, Krasteva, Rumiana P.\*, Bogov, Boris I.\*, Liubomirova, Mila D.\*, Andreev, Emil T.\*, Tsocheva, Tania R.\*, Guerguinoва, Nevena B.\*, Nikolova, Radina G.\*, Todorov, Todor A.\*, Krupev, Martin P.\*, Davidov, Kaloyan M.#, Vlahov, Yordan D.#, Boyanov, Mihail A.\*, Kamenov, Zdravko A.\*, Robeva, Ralitsa N.\*, Hadjiev, Evgeni A.\*, Tsvetkova, Gergana B.\*, Shemelekova, Lachezara A.\*, Vasileva, Tsvetelina N.\*, Minchev, Ivan I\*., Bekirova, Emel E.\*

\* Medical University, Sofia

# Sofia University, Medical Faculty

### Резюме

Нефрокалцинозата представлява отлагане на калциеви соли в бъбречния паренхим – тубулни епителни клетки и лумена и интерстициум. Според размера на отлаганията се подразделя на химична (молекулярна), микро- и макроскопска, а според тяхната локализация – на кортикална, медуларна и смесена. Наблюдава се при редица заболявания, протичащи с хиперкалциурия и хиперкалциемия (хиперпаратиреоидизъм, саркоидоза, малигнени кръвни и солидни неоплазми и др.), само с хиперкалциурия (дистална тубулна ацидоза, хронични интерстициални нефрити, хронични интоксикации) или с исхемия или травма на бъбречната тъкан (след литотрипсия, тъпа или отворена бъбречна травма и др.).

Представяме серия от 88 последователни

### Abstract

Nephrocalcinosis is defined as the deposition of calcium salts within the renal parenchyma – tubular epithelial cells, tubular lumina and interstitium. Depending on the size of the depositions, nephrocalcinosis can be chemical (molecular), micro- and macroscopic. It develops in a number of diseases that present with hypercalcemia with hypercalciuria (hyperparathyroidism, sarcoidosis, malignant hematological and solid neoplasms, etc.), hypercalciuria without hypercalcemia (distal renal tubular acidosis, chronic interstitial nephritis, intoxications, etc.), traumatic and ischemic renal lesions (after lithotripsy, renal trauma, etc.).

We present a series of 88 consecutive patients with nephrocalcinosis (28 male and 60 fe-

пациенти (28 мъже и 60 жени) на средна възраст  $51,8 \pm 15,9$  г. Нефрокалцинозата е доказана при ехографски и други образни изследвания, за период от 14 г. – между 2004 и 2018 г, като е разгледана етиологията и патогенезата на заболяването.

### **Ключови думи:**

нефрокалциноза, хиперпаратиреоидизъм, лимфоми, солидни неоплазми, саркоидоза, подагра, хроничен интерстициален нефрит, диагноза.

male), mean age  $51,8 \pm 15,9$  years, consulted and treated in a Nephrology Clinic for a period of 14 years between 2004 and 2018. The major etiological factors and pathogenic mechanisms in the development of nephrocalcinosis are discussed.

### **Key words:**

nephrocalcinosis, hyperparathyroidism, lymphoma, solid neoplasms, sarcoidosis, gout, chronic interstitial nephritis, diagnosis.

### **Въведение**

Нефрокалцинозата представлява отлагане на калциеви соли в бъбречния паренхим – в тубулните епителни клетки и лумени и в интерстициалните структури (1-5). Може да се съчетава с нефролитиаза и с калцификати и в други органи и тъкани. Честотата ѝ в популацията е неизвестна. Известно е, че при първичен хиперпаратиреоидизъм се наблюдава много често – при около 13% от пациентите, с или без придружаваща нефролитиаза, корелира с тежестта на хиперкалциемията и нивата на паратхормона, но не и с бъбречната функция (6). В зависимост от размера на отлаганията се подразделя на три типа (Табл. 1): химична (молекулярна), микро- и макроскопска, представляващи вероятно стадии в прогресията на състоянието (10,13). В зависимост от локализацията на отлаганията се подразделя на кортикална, медуларна и смесена (Табл. 2) (1,2,5,10,14). На *Фигура 1* са представени характерни ехографски образи при кортикална, медуларна и при смесена нефрокалциноза.

### **Етиология**

Нефрокалцинозата е резултат от отлагане на калциеви соли в паренхимните структури в резултат от хиперкалциурия с или без хиперкалциемия (1-4,10,13). Освен това, калциеви соли се отлагат в бъбречния паренхим при всички възпалителни и травматични увреждания (1-4,10,13). Така, основните заболявания, свързани с появата на нефрокалциноза, протичат с хиперкалциурия с или без хиперкалциемия или при увреждания на паренхима (травматични или възпалителни) (1-4,8,10,13):

- *Хиперкалциурия с хиперкалциемия:* първичен хиперпаратиреоидизъм, саркоидоза, имобилизация, високи дози витамин Д, млечно-алкален синдром, неоплазми с повишена костна

резорбция (хематологични или солидни);

- *Хиперкалциурия без хиперкалциемия:* тубулопатии – вродени и придобити, медуларен гъбест бъбрек;

- *Исхемични, токсични и възпалителни бъбречни увреждания,* свързани с паренхимна деструкция (инфекции, вкл. туберкулоза, папиларна некроза, хемолитико-уремичен синдром, кортикална некроза, токсикоза на бременността, отхвърляне на трансплантат, хронични гломерулонефрити и тубуло-интерстициални нефрити, екстракорпорална литотрипсия, оксалоза, автозомно-рецесивна бъбречна поликистоза, грануломатози и др.), неонатална нефрокалциноза (при недоносени), хиперфосфатурия и хипероксалурия, бета-таласемия.

Така, състоянията на хиперкалциурия (с или без хиперкалциемия) по-често водят до развитие на медуларна, а тези на тъканна деструкция – на кортикална нефрокалциноза, макар че се наблюдава и обратното и обикновено нефрокалцинозата е смесена с преобладаване на кортикалното или на медуларното ангажиране, с или без съпътстваща нефролитиаза.

Данните от някои по-нови проучвания показват, че вероятно съществува генетично предрасположение за развитие на нефрокалциноза, свързано с генетични и епигенетични промени във факторите, регулиращи калциурията, като генетичен полиморфизъм в калций-сензитизиращите рецептори и в рецепторите за витамин D (8), генетични мутации при пациентите с медуларен гъбест бъбрек с поява на тубулен дефект (7,9), дефект в кристализацията с повишена екскреция на литогенни субстанции (12) и др. Редица тубулопатии и вродени дефекти в тубулния йонен транспорт благоприятстват развитието на нефрокалциноза (13).

**Таблица 1.** Типове нефрокалциноза в зависимост от размера на калциевите отлагания в бъбречната тъкан.

Тип	Особености
<b>Химична</b> (молекулярна)	Измеримо покачване на вътреклетъчното ниво на калция, което обаче не се визуализира с помощта на микроскопско, ехографско или рентгеново изследване.
<b>Микроскопска</b>	Микроскопски доказуемо отлагане на калциеви соли в тубулните епителни клетки, лумени или в интерстициума. Не се изобразява при рентгенови изследвания, но може да се обективизира ехографски като повишена бъбречна паренхимна ехогенност.
<b>Макроскопска</b>	Калцификати в бъбречния паренхим, които могат да се изобразят при ехографско и при рентгеново изследване.

**Table 1.** Types of nephrocalcinosis depending on the size of the calcium depositions within the renal tissue.

Type	Characteristics
<b>Chemical (molecular)</b>	Measurable increase of the intercellular calcium content that cannot be visualized using microscopic, ultrasound or X-ray investigation.
<b>Microscopic</b>	Microscopically detectable deposition of calcium salts within the tubular epithelial cells, lumini or interstitium. It cannot be visualized using X-ray investigations, but is clearly detectable with ultrasound examination as increased parenchymal echogenicity.
<b>Macroscopic</b>	Calcifications within the renal parenchyma that can be visualized using ultrasound and X-ray methods.

### Механизми на отлагане на калциеви соли в бъбречната тъкан

Отлагането на калциеви соли в бъбречната тъкан е резултат от увеличена екскреция на калций, фосфати и/или оксалати с урината и последващото им преципитиране, подобно на нефролитиазата. Увеличената урикозурия, високото рН на урината, хроничното възпаление и екстравази-рането на кръвни елементи в тубуло-интерстициалните структури също благоприятстват отлагането на калциеви соли. При надхвърляне на прага на кристализация се наблюдава кристализация на калциев оксалат и калциев фосфат в тубулните структури и последващо развитие на нефрокалциноза. Отлаганията обикновено се локализиращат в медуларния интерстициум в областта на тънкото рамо на бримката на Хенле, оформяйки характерни полициклични подобни на гирлянди фигури при ултразвуково изследване (Фиг. 1Б и 1В). Разположените в областта на кортекса калцификати (Фиг. 1А, 1Г и 1Д) по-често са резултат от възпалителни, исхемични и некротични промени там и/или хиперкалциурия, могат да се съчетават с медуларни калцификати (Фиг. 1Г) или нефролитиаза (Фиг. 1Д).

При медуларния гъбест бъбрек калцификатите отново са в медуларния интерстициум, обикновено са по-големи по размери и ясно се изобразяват както при ехографско, така и при рентгеново изследване (Фиг. 1Е). Така се развиват микроскопската и макроскопската нефрокалциноза. Когато отлаганията нарастат значително, те могат да доведат до разкъсване на тубуло-интерстициалните структури, отлагане на кристали в калиците и пиелона с последващо образуване на конкременти (нефрокалциноза + нефролитиаза).

Химичната нефрокалциноза се развива при хиперкалциурия с или без хиперкалциемия и отлагане на калций и неговите соли вътреклетъчно в тубулните структури.

### Основни фактори, регулиращи кристализацията на калциеви соли в бъбречния паренхим

Основните фактори, провокиращи кристализация на калциеви соли в бъбречната тъкан, са: ниво на калциемията/калциурията, фосфатурия/оксалатурия, оксидативен стрес, хормони и витамини, микро-РНК и матриксни везикули (10,13,14).

**Таблица 2.** Типове нефрокалциноза в зависимост от локализацията на отлаганията в бъбречния паренхим.

Тип	Особености
<b>Кортикална</b>	Отлагане на калциеви соли в бъбречния кортекс. Обичайно асиметрична. Дължи се на отлагане на калций в бъбречната тъкан след тъканно увреждане/разпад (остра кортикална некроза, сепсис, токсикоза на бременността, отравяне с арсен, ухапване от змии), хронични гломерулонефрити, отхвърляне на трансплантата, хроничен пиелонефрит, автозомно-рецесивна бъбречна поликистоза, преживяна екстракорпорална литотрипсия, бенигна нодуларна кортикална нефрокалциноза) или при хиперкалциемия и хиперкалциурия (саркоидоза и други грануломатози). Три ехографски образа: тънка периферна хиперехогенна ивица (ленга), често се засягат и септите на Бертини; две тънки успоредни калцифицирани дири (тип „трамвайна линия“, tram-line); точковидни калцификати в кортекса (най-рядката форма, тип „звездно небе“).
<b>Медуларна</b>	Отлагане на калциеви соли в медулата, подобно на гирлянди, около пирамидите. Обикновено симетрична. Дължи се на хиперкалциурия с или без хиперкалциемия: хиперпаратиреоидизъм, онкологични заболявания, саркоидоза, тубулна ацидоза и други тубулопатии и тубуло-интерстициални нефрити (литиева и хипокалиемична нефропатия, хипероксалурия, злоупотреба с диуретици и анорексия, медуларен гъбест бъбрек, млечно-алкален синдром, бета-таласемия и др.).
<b>Смесена</b>	Наличие както на кортикални, така и на медуларни отлагания. Обикновено е резултат от бъбречна травма/геструкция (литотрипсия и др.), тубуло-интерстициални нефрити и тубулопатии, медуларен гъбест бъбрек и др.

**Table 2.** Types of nephrocalcinosis depending on the localization of calcium depositions within the renal parenchyma.

Type	Characteristics
<b>Cortical</b>	Calcium depositions within the renal cortex. Usually asymmetrical. Deposition of calcium post tissue damage/destruction (acute cortical necrosis, sepsis, graft toxicosis of pregnancy, arsenic poisoning, snake bite), chronic glomerulonephritis, rejection, chronic pyelonephritis, autosomal-recessive renal polycystosis, after extracorporeal sound wave lithotripsy, benign nodular cortical nephrosclerosis) or as a result of hypercalcemia and hypercalciuria (sarcoidosis and other granulomatous diseases). Three ultrasound images: thin peripheral hyperechogenic band (line), usually affecting Bertin's septas; two parallel calcium-containing lines („tram-line“ type); spotted cortical calcifications (resembling the stars in the sky).
<b>Medullary</b>	Medullar depositions of calium salts, around the pyramids, resembling garlands. Usually symmetrical. As a result of hypercaliuria with or without hypercalcemia: hyperparathyroidism, neoplastic diseases, sarcoidosis, tubular acidosis and other tubulopathies and tubule-interstitial nephritis (lithium and hypokaliemic nephropathy, hyperoxaluria, diuretic abuse, anorexia, medullary sponge kidney, milk-alkali syndrome, beta-thalassemia, etc.).
<b>Mixed</b>	Cortical and medullar calcifications. Usually a result of renal parenchymal trauma/destruction (lithotripsy, etc.), tubuulo-interstitial nephritis and tubulopathies, medullary sponge kidney, etc.

**Фигура 1.** Ехографски образи при кортикална, медуларна и при смесена нефрокалциноза. Добре личат хиперехогенни зони в бъбречния паренхим.

**Figure 1.** Ultrasound images in cortical, medullary and mixed nephrocalcinosis. Note the clearly visible hyperechogenic zones within the renal parenchyma.



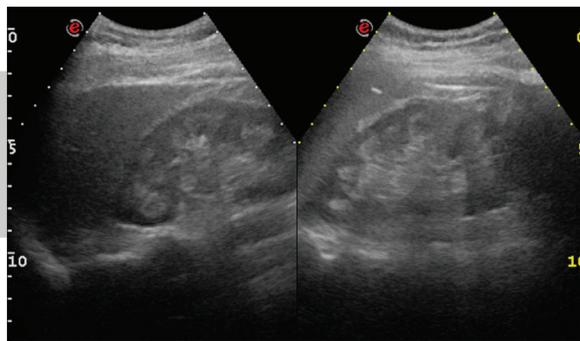
**A**

**Кортикална нефрокалциноза** – пациент с първичен хиперпаратиреоидизъм.

**Cortical nephrocalcinosis** in a male patient with primary hyperparathyroidism.

**Б** Медуларна нефрокалциноза – пациентка с хроничен тубуло-интерстициален нефрит (хипокалиемична нефропатия).

**B** **Medullary nephrocalcinosis** in a female patient with chronic tubule-interstitial nephritis (hypokalemic nephropathy).



**Б** Медуларна нефрокалциноза – пациентка с първичен хиперпаратиреоидизъм.

**С** **Medullary nephrocalcinosis** in a female patient with primary hyperparathyroidism.



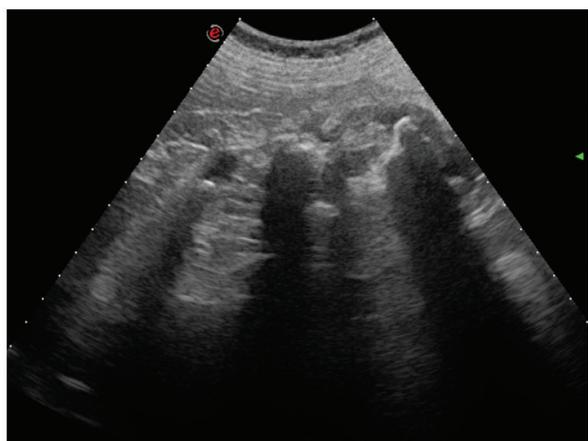
**Г** Смесена нефрокалциноза – пациентка с първичен хиперпаратиреоидизъм.

**Д** **Mixed nephrocalcinosis** in a female patient with primary hyperparathyroidism.





- A** Смесена нефрокалциноза с нефролитиаза – пациент с първичен хиперпаратиреоидизъм.
- E** Mixed nephrocalcinosis plus nephrolithiasis in a male patient with primary hyperparathyroidism.



- E** Медуларен гъбест бъбрек – ехографска и рентгенологична находка при пациентка с болестта на Качи-Ричи.
- F** Medullary sponge kidney – ultrasound and radiological findings in a female patient with Cacci-Ricchi disease.

При пациентите с хиперкалциемия и хиперкалциурия често се наблюдава нефрокалциноза, свързана с кристализиране на калциевите соли в преситения разтвор на първичната урина. Калцификатите обичайно са в медулата и постепенно оформят характерния образ на медуларната нефрокалциноза – подобни на гирлянди хиперехогенни зони в медулата, в центъра на които се разполагат контрастиращите хипоехогенни пирамиди (Фиг. 1Б и 1В). По-рядко са само в кортекса (последича некротично-възпалителни изменения) (Фиг. 1А). Както беше споменато, могат да се наблюдават смесени форми (Фиг. 1Г) и съчетание с нефролитиаза (Фиг. 1Д).

Хиперфосфатурията, хипероксалурията, повишената екскреция на пикочна киселина, хипоцитратурията и хипомагнезиурията, както и отделянето на макромолекули с урината (плазмени протеини, моноклонални леки вериги и др.) увеличават кристализацията на калциеви соли в тубулния лумен и в тубулните клетки и формирането на предимно медуларни калцификати.

Повишените нива на фосфатите в първичната урина са свързани със стимулиране на диференциацията на съдовите гладкомускулни клетки към

остеогенни клетки (13). Това е механизмът на оформяне на калцификати при хронична бъбречна недостатъчност и отчасти при хиперпаратиреоидизъм. От друга страна, хиперфосфатемията (характерна за напредналата хронична бъбречна недостатъчност) стимулира отделянето на фибробластен растежен фактор (FGF-23), който от своя страна благоприятства появата на съдови калцификати. В тези случаи се оформят предимно съдови калцификати кортикални и медуларни). Формирането им се благоприятства и от оксидативния стрес, някои хормонални фактори и обменни нарушения.

Оксидативният стрес благоприятства образуването на съдови калцификати посредством стимулиране на диференциацията на съдовите гладкомускулни клетки в остеоид-формиращи клетки. Това допълнително се потенцира от оксидираните липопротеини (при хиперлипидемия) и от уремичните токсини при съпътстваща хронична бъбречна недостатъчност. Предполага се, че калциевите отлагания допълнително стимулират инфламаторните клетки, генериращи свободни радикали, и така се затваря порочен кръг на самоподдържане на възпалителните промени

**Таблица 3.** Подлежащи заболявания и състояния при 88 пациенти с нефрокалциноза.

**Table 3.** Underlying diseases and conditions in 88 patients with nephrocalcinosis.

Заболяване/състояние <i>Disease / condition</i>	М <i>M</i>	Ж <i>F</i>	р
Хроничен пиелонефрит <i>Chronic pyelonephritis</i>	3	10	n.s.
Бъбречна туберкулоза <i>Renal tuberculosis</i>	0	2	n.s.
Погагра /Gout	11	1	p<0,00001
Хипокалиемична нефропатия <i>Hypokaliemic nephropathy</i>	0	11	p<0,05
Първичен хиперпаратиреоидизъм <i>Primary hyperparathyroidism</i>	7	11	n.s.
Саркоидоза /Sarcoidosis	0	1	n.s.
Онкологично заболяване <i>Neoplasia</i>	2	9	n.s.
Медуларен гъбест бъбрек <i>Medullary sponge kidney</i>	1	2	n.s.
Друг ХТИН /Other CTIN	1	5	n.s.
Хронични гломерулонефрити <i>Chronic glomerulonephritis</i>	1	6	n.s.
Нефролитиаза/ Nephrolithiasis	14	27	n.s.
ЕКЛТ/ESWL	2	3	n.s.
Хиперкалциемия/ Hypercalciemia	8	15	n.s.
Бъбречна недостатъчност <i>Renal failure</i>	17	23	p=0,049

М=мъже; Ж=жени;  
ЕКЛТ = екстракорпорална литотрипсия;  
ХТИН = хроничен тубуло-интерстициален нефрит. Сборът от бройките пациенти е по-голям от 88, т.к. при някои пациенти са налице повече от едно заболяване/състояние.

M=male; F=female;  
ESWL = extracorporeal sound wave lithotripsy;  
CTIN = chronic tubule-interstitial nephritis. The sum of conditions/diseases is more than 88 because some patients had more than one condition/disease.

и депонирането на калций в бъбречния интерстициум и тубулите (13).

Редица хормони и хормоно-подобни вещества стимулират както отделянето на калций в бъбречната тъкан, така и диференцирането на съдовите клетки в остеоид-формиращи (13). Такива ефекти имат лептинът, паратхормонът и паратхормон-свързаният белтък, витамин Д (посредством неговите ефекти върху фосфатемията и върху гладкомускулните клетки), глюкокортикоидите (посредством повишаване на остеобластната диференциация на гладкомускулните клетки и стимулиране на ектопичните калцификати).

Микро-РНК представляват малки РНК молекули, съдържащи около 222 нуклеотида, които участват в регулацията на генната експресия и пост-транскрипционните модификации. Смята се, че те играят ключова роля в процесите на клетъчна диференциация. Известно е, че микро-РНК стимулират остеобластната диференциация и натрупването на калций в бъбречния интерстициум (13).

Матриксните везикули представляват освободени от остеобласт-подобни клетки (вкл., диференцирани в остеобластно направление съдови гладно-мускулни клетки) везикули, съдържащи хидроксиапатит  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , матриксни ензими и белтъци. Тези везикули служат като ядра на кристализация в бъбречната тъкан, около които се формират калцификатите при нефрокалциноза и конкрементите при нефролитиаза (13).

### Клинична картина

Клиничната картина при нефрокалциноза е бедна и неспецифична. Обикновено калциевите отлагания в бъбречния паренхим се доказват случайно при ехографско или рентгеново изследване по друг повод или във връзка с неясна бъбречна недостатъчност, хиперкалциемия или нефролитиаза.

При пациентите със съпътстваща нефролитиаза и/или папиларна некроза може да се наблюдават бъбречни колики и уроинфекции.

Симптомите обикновено са неспецифични: лесна уморяемост, полидипсия, никтурия (при пациентите с тубуло-интерстициални нефрити и разгърнатата бъбречна недостатъчност). При пациентите с хиперкалциемия и хиперкалциурия също се наблюдава полидипсо-полиуричен синдром, астено-агинамия, гагене и повръщане, ренален инсипиден диабет и други прояви на тубулна дисфункция.

**Диагнозата** се поставя с образни методи – абдоминална ехография, рентгенография и компютърна томография на абдомена. Необходимо е изследване на серумните нива на калция, фосфатите, калий, натрий, магнезий, общ белтък, албумин, алкална фосфатаза и паратхормон, урина и др., с оглед уточняване на етиологията на нефрокалцинозата. Освен това, могат да бъдат направени насочени изследвания за търсене на подлежаща неоплазма, тубуло-интерстициален нефрит, вродена тубулопатия (вкл. алкално-киселинно състояние), саркоидоза и др.

Не съществува специфично **лечение** на нефрокалцинозата. Терапията е насочена към повлияване на подлежащото заболяване (ако това е възможно), корекция на нарушенията във водно-електролитното и алкално-киселинното равновесие при тубулопатии и настъпила бъбречна недостатъчност, лечение на бъбречните колики и уроинфекциите при съпътстваща нефролитиаза и контрол на рисковите фактори за прогресия на бъбречната недостатъчност (анемия, бъбречна костна болест, вметнати инфекции и тласъци на основното заболяване, артериална хипертония, дислипидемия, хиперурикемия, и др.).

**Прогнозата** quo ad vitam и quo ad remitt забави от основното заболяване, довело до развитието на нефрокалциноза и от контрола на рисковите фактори за прогресия на хроничната бъбречна недостатъчност, ако е настъпила такава.

## Собствени данни

### Материали и методи

За период от 14 г. (от 01.01.2004 г. до 01.01.2018 г.) в Клиниката по Нефрология към УМ-БАЛ „Александровска“, МУ, София бяха консултирани и/или лекувани общо 88 пациенти с нефрокалциноза, (28 мъже и 60 жени) на средна възраст  $51,8 \pm 15,9$  г. При всички пациенти нефрокалцинозата беше доказана ехографски от поне двама изследователи като калцификати в бъбречната кора и/или медула, при 15 имаше рентгенологични данни за нефрокалциноза, а при 1 пациентка беше проведена пункционна бъбречна биопсия, доказваща отлагане на калциеви соли в бъбречния паренхим. Абдоминалната ехография беше извършена с ехографски апарат My Lab 60

(с трансдюсер 2,5 MHz), при необходимост бяха извършвани и допълнителни образни изследвания (вкл., ехографско изследване на шията, рентгенография на гръдния кош и абдомена, компютърна томография в зоните на интерес, SPECT/CT). При пациентите с доказан първичен хиперпаратиреоидизъм беше извършвана и тънкоиглена аспирационна биопсия с цитологично изследване и изследване на нивата на паратхормона в аспириата от зоните на интерес на шията. При всички пациенти бяха изследвани серумен креатинин, пикочна киселина, калций, фосфати, общ белтък, албумин, при необходимост – паратхормон, насочени изследвания за търсене на подлежащо заболяване (вкл. саркоидоза, неоплазми, вродена или придобита тубулопатия и др.).

Статистическата обработка на данните (дескриптивен анализ, хи-квадрат и Т-тест на Student, корелационен анализ, вариационен анализ) беше извършена със стандартен статистически пакет SPSS 17.0 за Windows. За статистически значими бяха приети стойности на  $p < 0,05$ .

### Резултати

При всички пациенти имаше подлежащи заболявания и състояния (отбелязани в Таблица 3). При 13 пациенти имаше хроничен пиелонефрит; при 41 (46,6%) – нефролитиаза (рентген-позитивна при 35), като при 5 беше извършвана екстракорпорална литотрипсия; общо при 29 (32,9%) имаше хроничен тубуло-интерстициален нефрит (подагрозна нефропатия при 12, хипокалиемична нефропатия при злоупотреба с лаксативи, диуретици или анорексия – при 11, друг тубуло-интерстициален нефрит – при 6); при 1 (1,1%) – саркоидоза; при 7 (7,9%) – хроничен гломерулонефрит; бъбречна туберкулоза имаше при 2 (2,3%); подлежащо онкологично заболяване – при 11 (12,5%) (при 7 – хематологична неоплазма, при 4 – солиден тумор); при 18 (20,5%) – първичен хиперпаратиреоидизъм; при 3 (3,4%) – медуларен гъбест бъбрек.

Хиперкалциемия доказахме при общо 23 пациенти (26,1%) – 8/28 мъже и при 15/60 жени ( $p = n.s.$ ), бъбречна недостатъчност – при 40 пациенти (40,5%) 17/28 мъже и при 23/60 жени ( $\chi^2 = 3,857$ ,  $p = 0,049$ ). На хемодиализно лечение преминаха общо 3 (3,4%) пациенти (1 жена с първичен хиперпаратиреоидизъм, 1 жена и 1 мъж с миеломна болест); 1 жена (1,1%) с първичен хиперпаратиреоидизъм почина с уросепсис.

Медуларна нефрокалциноза доказахме при 38 пациенти (43,2%), кортикална – при 10 (11,4%), смесена – при 40 (45,5%). При 41 (46,6%) имаше и съпътстваща нефролитиаза (рентген-позитивна при 35, при останалите 6 конкрементите не

се изобразяваха на рентген, вероятно поради по-малките им размери и/или имаше данни за уратна литиаза), при 5 беше извършвана екстракорпорална литотрипсия.

Сравнителният анализ между мъжете и жените не показва значими разлики в средната възраст и средните нива на серумния креатинин, калция и фосфатите. При мъжете по-често наблюдавахме подагра и хронична бъбречна недостатъчност, а при жените – по-често имаше хипокалиемична нефропатия (на фона на злоупотреба с диуретици и/или лаксативи и анорексия с хипокалиемия). Най-честите причини за развитие на нефрокалциноза при изследваните пациенти са: първичен хиперпаратиреоидизъм и за двата пола, подагрозна нефропатия при мъжете, хипокалиемична нефропатия при жените (при злоупотреба с диуретици, лаксативи и анорексия), хроничен пиелонефрит. При голям процент от пациентите е налице и съпътстваща нефролитиаза.

### Обсъждане

Нефрокалцинозата е отлагане на калциеви соли в бъбречните тубулни епителни клетки, тубулните лумени или интерстициума. Според OW Moe и O Woppy (11) нефрокалцинозата представлява „патологична кристализация на калциеви соли на неправилно място и в неправилно време“. Обикновено се доказва случайно или при ехографско изследване по друг повод. Основна причина за появата ѝ е хиперкалциурията с или без хиперкалиемия и некротично-деструктивните и възпалителните промени в бъбречния паренхим. Сред изследваните от нас пациенти преобладава женският пол (в съотношение жени:мъже приблизително 2:1). Бъбречна недостатъчност е налице при близо половината при доказването на нефрокалцинозата, а хиперкалиемия – при една четвърт от пациентите. По отношение на типа нефрокалциноза, най-честият тип в нашата серия е смесеният (медуларни и кортикални калцификати), следван от медуларната, а кортикалният тип е най-рядка. Значими разлики между двата пола доказахме по отношение на честотата на подагрозната нефропатия – по-често при мъже, на хипокалиемичната нефропатия – по-често при жени, и хроничната бъбречна недостатъчност – по-често при мъже.

По литературни данни, най-честите причини за развитие на кортикална нефрокалциноза са исхемично-некротичните промени в бъбречния паренхим, а за медуларна – състоянията на хиперкалциурия с хиперкалиемия (първичен хиперпаратиреоидизъм, саркоидоза, тумор-индуцирана хиперкалциемия) или без хиперкалиемия (вродени и придобити тубулопатии и интерстициални нефрити (вродена тубулна ацидоза, хипокалиемична нефропатия, токсични интерстициални нефрити и др.). При изследваните от нас болни, най-честата причина за нефрокалциноза са интерстициалните нефрити (подагрозен, хипокалиемична нефропатия, хроничен пиелонефрит) и свързаните с хиперкалиемия състояния (първичен хиперпаратиреоидизъм, тумор-асоцирана хиперкалиемия и саркоидоза). Кортикалната нефрокалциноза беше наблюдавана най-рядко, обикновено на фона на хроничен пиелонефрит, след екстракорпорална литотрипсия и при хронични гломерулонефрити. Значително по-често бяха смесените и медуларните форми, свързани с хиперкалиемични състояния и интерстициални нефрити. Прави впечатление разликата в половото разпределение в етиологията на нефрокалцинозата – при мъжете преобладава подагрозната нефропатия, а при жените – хипокалиемичната нефропатия. Типът и тежестта на калциевите отлагания не показаха връзка с тежестта на съпътстващата бъбречна недостатъчност.

Данните от нашето проучване показват, че нефрокалцинозата може да бъде усложнение както на хиперкалиемични състояния, така и тубуло-интерстициални и гломерулни възпалителни изменения. Появата, типът и тежестта ѝ не са предиктор за развитие на бъбречна недостатъчност или за тежестта на последната което е в унисон с данните в литературата (6). Високата честота на хипокалиемичните нефропатии като причина за поява на нефрокалциноза налага активно търсене на тези състояния (вкл., злоупотреба с диуретици и лаксативи и анорексия) при доказване на нефрокалциноза, особено при жени. Нефрокалцинозата представлява интердисциплинарен проблем, стоящ на границата между ендокринологията, нефрологията и онкологията. Ключова роля има екипният подход е диагностиката и лечението на тези пациенти.

1. **Krasteva R.** Nephrocalcinosis. *Diagnostic and therapeutic ultrasound* 2013; (1):13-18 (in Bulgarian)(**Кръстева Р.** Нефрокалциноза. *Диагностичен и терапевтичен ултразвук* 2013; (1):13-18).
2. **Chakarski V.** Nephrocalcinosis. In: *Atlas of ultrasound diagnostics*. 2008:307-309. (in Bulgarian) (**Чакърски В.** Нефрокалциноза. В: *Атлас по ултразвукова диагностика*. 2008:307-309).
3. **Al Jayyousi R.** Nephrocalcinosis. In: *Oxford Desk Reference: Nephrology*. Ed. J. Barratt, K. Harris, P. Topham. *Oxford University Press*, 2009:278-280.
4. **Alon US.** Nephrocalcinosis. *Curr Opin Pediatr* 1997; 9:160-165.
5. **Cheidde L, Ajzen SA, Tamer Langen CH, Christophalo D, Heilberg IP.** A critical appraisal of the radiological evaluation of nephrocalcinosis. *Nephron Clin Pract* 2007; 106: 119-124.
6. **Ejlsmask-Svensson H, Bislev LS, Rolighed L, Sikjaer T, Rejnmark L.** Predictors of renal function and calcifications in primary hyperparathyroidism: a nested case-control study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018; 103(9): 3574–3583.
7. **Fabris A, Lupo A, Ferraro P, Anglani F, Pei Y, Danza FM, et al.** Familial clustering of medullary sponge kidney is autosomal dominant with reduced penetrance and variable expressivity. *Kidney Int* 2013; 83 (2):272–277.
8. **Gambaro G, Trinchieri A.** Recent advances in managing and understanding nephrolithiasis/ nephrocalcinosis F1000 Research 2016, 5( F1000 Faculty Rev):695.
9. **Goldfarb DS.** Evidence for inheritance of medullary sponge kidney. *Kidney Int* 2013; 83(2):193–196.
10. **Kobrin SM.** Nephrocalcinosis. *UpTo Date* online. [http://www.uptodate.com/contents/nephrocalcinosis?source=search\\_result&selectedTitle=1~70#H19](http://www.uptodate.com/contents/nephrocalcinosis?source=search_result&selectedTitle=1~70#H19).
11. **Moє OW, Bonny O.** Genetic hypercalciuria. *J Amer Society Nephrol* 2005; 16:729-745.
12. **Pajarinen J, Gallo J, Takagi M, Goodman SB, Mjoberg B.** (2017-11-16). Particle disease really does exist. *Acta Orthopaedica* 2017; 89(1): 1–4.
13. **Priante G, Ceol M, Terrin L, Giancesello L, Quaggio F, Del Prete D, Anglani F.** Chapter 1: Understanding the Pathophysiology of Nephrocalcinosis. In: *Updates and Advances in Nephrolithiasis*. Ed.: Long L. *Intech* 2017. pp.3-51.
14. **Wrong O.** Nephrocalcinosis. In: *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, Davison AM, Cameron JS, Grunfeld J, et al (Eds), *Oxford University Press, Oxford* 2005. pp.1375-1394.

## Address for correspondence:

- **г-р Милена Николова**
- Клиника по Нефрология,
- УМБАЛ „Александровска“, МУ, София
- E-mail: milena\_i\_dani@abv.bg
- **Dr. Milena Nikolova, MD, PhD**
- Clinic of Nephrology,
- Alexandrovska University Hospital
- Medical University, Sofia
- E-mail: milena\_i\_dani@abv.bg

## Стрессова хипергликемия при пациенти с остър исхемичен мозъчен инсулт

Янева, Жанета А.<sup>1</sup>, Бояджиева, Мила Б.<sup>1</sup>, Христов, Кирил К.<sup>1</sup>,  
Цалта-Младенов, Михаел Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиника по Ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Марина“, Варна,

<sup>2</sup>Клиника по Неврология, УМБАЛ „Св. Марина“, Варна

### Адрес за кореспонденция:

д-р Жанета Янева

Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Марина“, Варна

Варна 9000, ул. „Христо Смирненски“ 1

e-mail: janeta\_atanasova@abv.bg

### Резюме

Хипергликемията при хоспитализация по повод критични заболявания (стрессова хипергликемия, СХ) се дефинира най-често като кръвна глюкоза (КГ)  $\geq 7,8$  mmol/l при пациенти без известен захарен диабет (ЗД). СХ е често срещана при остър исхемичен мозъчен инсулт (ИМИ) и варира между 8-35%. Повечето проучвания показват по-голяма честота на заболяемост и смъртност при СХ, отколкото при нормална КГ.

**Цел:** Да се изследва ретроспективно разпространението на фатален изход при пациенти с остър ИМИ съобразно КГ при приемане, както и да се потърсят възможни асоциирани фактори.

**Материали и методи:** За периода м. май 2016 г. – м.април 2017 г. изследвахме всички хоспитализирани пациенти с остър ИМИ в интензивно неврологично отделение. Кохортата от 555 пациенти беше разделена на три групи – със СХ, с тип 2 захарен диабет (Т2ЗД) и с нормогликемия (НГ).

**Резултати:** Със СХ бяха 20,9% от изследваните. Фатален изход се установи при 143 пациенти – 32,76%, 33,80% и 19,05%, съответно в групите със СХ, Т2ЗД и НГ. Интересно, пациентите със СХ показаха най-висок левкоцитен брой, както и положителна асоциация между нивото на левкоцитите с тежестта на нефатален ИМИ. Очаквано, преживелите във всички групи бяха на по-млада възраст от починалите, но показаха по-високо ниво на общ и LDL-холестерол. Установихме значимо по-високо ниво на СХ при умерения по тежест нефатален инсулт спрямо лекия, но не намерихме допълнително покачване на СХ със задълбочаване тежестта на инсулта.

**Заключение:** Сходният дял починали пациенти в групите със СХ и Т2ЗД, значимо по-голям от този при НГ, предполага асоциация на хипергликемията с повишен риск от фатален изход.

**Ключови думи:** стрессова хипергликемия, остър исхемичен мозъчен инсулт, смъртност

### Въведение

Хипергликемията при хоспитализация (стрессова хипергликемия, СХ) е известна още като хипергликемия, индуцирана от критични (остри) заболявания. Поради това, че някои изследователи причисляват към тази група всички пациенти с хипергликемия, независимо от изходния им диабе-

тен статус, се създават затруднения при използването на този термин. Допълнително липсва консенсус относно праговата стойност на кръвна глюкоза (КГ), която да се приема за патологична хипергликемия при критично болни пациенти. (1)

Повечето изследователи дефинират СХ като ниво на КГ  $\geq 7,8$  mmol/l при пациенти без известен до момента захарен диабет (ЗД) или

установен  $HbA_{1c} > 6,5\%$ . Често, обаче, към тях се причисляват и редица лица с предходно недиагностициран ЗД, поради това, че не е практика да се изследва  $HbA_{1c}$  в хода на хоспитализация при спешни състояния. Някои автори използват понятието СХ и при пациенти с известен ЗД, което създава допълнителни затруднения. При тези пациенти е твърде дискутабилна праговата стойност за СХ, като най-често за такава се приема  $KG > 10-12 \text{ mmol/l}$ . (1)

СХ е често наблюдавана – при хоспитализация поради травми, хирургични интервенции, критични или остри заболявания. Точното ѝ разпространение е трудно да се определи, поради различния глюкозен праг, който се приема за СХ, вида на изследваната популация, както и вида на критичното заболяване. Най-общо СХ се наблюдава при 32-38% от хоспитализираните пациенти (1). Тя е често срещана при остър исхемичен мозъчен инсулт (ИМИ) (2,3). Според различни публикации между 8-35% от пациентите с остър ИМИ и без ЗД извяват СХ и се счита, че тя е по-честа при лицата с по-тежък инсулт (2).

Повечето проучвания в тази област свързват СХ с по-голяма честота на заболяемост и смъртност сред критично болни (1-4), независимо от причината за хоспитализацията, и показват, че вредното влияние на СХ е особено подчертано при пациенти без предходно диагностициран ЗД (1, 4). Освен това не е ясно дали СХ е директен причинител на неблагоприятните последици или е просто маркер, отразяващ по-голямата степен на тежест на острото заболяване (2).

**Целта** на настоящото проучване беше да изследваме честотата на СХ при хоспитализирани пациенти с остър ИМИ. Допълнително съпоставихме разпространението на фатален изход съобразно  $KG$  при хоспитализация и потърсихме асоциация с различни фактори.

### Материали и методи

Проведохме ретроспективно проучване при хоспитализирани пациенти за остър ИМИ в интензивно неврологично отделение за периода м. май 2016 г. – м.април 2017 г. Кохортата от 555 лица разделихме в три групи – със СХ, която дефинирахме като  $KG$  при приемането  $\geq 7,8 \text{ mmol/l}$ , с известен тип 2 захарен диабет (Т2ЗД) и с нормогликемия (НГ). Изследвахме разпространението на смъртността в трите групи, както и някои лабораторни параметри. Оценихме тежестта на ИМИ при приемането чрез скалата за оценка на Националния Институт по Здравето (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) (Табл. 1).

Цялата информация бе извлечена от елек-

тронната система за регистриране на пациенти на УМБАЛ „Св. Марина“. Анализите на данните бяха извършени с GraphPad Prism 7,03. За статистическа значимост приехме  $p < 0,05$ .

### Резултати

Със СХ бяха 20,9 % от изследваните (Фиг. 1). Характеристиките на пациентите в групите със СХ, с Т2ЗД и с НГ са представени на Таблица 2. Интересно, тези със СХ показаха значимо по-високо ниво на левкоцити спрямо другите две групи (СХ,  $10,17 \pm 0,529$ ; Т2ЗД,  $9,902 \pm 0,323$ ; НГ,  $8,59 \pm 0,195 \cdot 10^9/L$ ;  $p = 0,0003$ ; СХ/НГ,  $p = 0,0046$ ; СХ/Т2ЗД, ns; Т2ЗД/НГ,  $p = 0,0003$ ). Сигнификантна разлика се установи и по отношение стойностите на креатинина (СХ,  $97,91 \pm 3,896$ ; Т2ЗД,  $103,8 \pm 5,257$ ; НГ,  $90,97 \pm 2,755 \text{ mcmol/l}$ ;  $p = 0,0031$ ; СХ/НГ, ns; СХ/Т2ЗД, ns; Т2ЗД/НГ,  $p = 0,0035$ ).

Летален изход регистрирахме при 143 от изследваните пациенти – 32,76 %, 33,80 % и 19,05 %, съответно в групите със СХ, Т2ЗД и НГ. Наблюдавахме значима разлика в честотата на фатален край между групите със СХ и НГ ( $p = 0,003$ ), както и Т2ЗД и НГ ( $p = 0,0007$ ), но не и между групите със СХ и Т2ЗД (Фиг.2). Сравнените характеристиките на пациентите с фатален и благоприятен изход в трите групи са представени на Таблица 3. Очаквано, преживелите пациенти и в трите групи бяха на по-млада възраст от починалите (СХ,  $71,74 \pm 1,3$  срещу  $77,58 \pm 1,42$ ,  $p = 0,0064$ ; Т2ЗД,  $71,04 \pm 1,03$  срещу  $76,29 \pm 1,02$ ,  $p = 0,0035$ ; НГ,  $71,69 \pm 0,76$  срещу  $79,77 \pm 1,2$  години,  $p < 0,0001$ ). Освен това, преживелите пациенти в сравнение с починалите показаха по-високо ниво на общ холестерол (СХ,  $5,07 \pm 0,15$  срещу  $4,12 \pm 0,29$ ,  $p = 0,0026$ ; Т2ЗД,  $4,95 \pm 0,153$  срещу  $4,72 \pm 0,208$ , ns; НГ,  $4,91 \pm 0,074$  срещу  $4,41 \pm 0,176 \text{ mmol/l}$ ,  $p = 0,0085$ ) и LDL-холестерол (СХ,  $3,07 \pm 0,13$  срещу  $2,4 \pm 0,19$ ,  $p = 0,0046$ ; Т2ЗД,  $2,98 \pm 0,131$  срещу  $2,71 \pm 0,163$ , ns; НГ,  $2,99 \pm 0,065$  срещу  $2,7 \pm 0,139 \text{ mmol/l}$ , ns), което се наблюдаваше и в трите групи.

Установихме значимо по-високо ниво на СХ при умерен по тежест нефатален инсулт спрямо лекия ( $10,94 \pm 0,6$  срещу  $9,31 \pm 0,39 \text{ mmol/l}$ ,  $p = 0,033$ ), но не намерихме допълнително покачване на СХ със задълбочаване тежестта на инсулта (Фиг. 3), както и корелация между нивото на  $KG$  и тежестта на нефатален ИМИ. Интересно, наблюдавахме наличие на права връзка между тежестта на ИМИ и възрастта при преживелите пациенти със СХ ( $r = 0,22$ ;  $p = 0,0494$ ) и с НГ ( $r = 0,18$ ;  $p = 0,0048$ ), докато не установихме такава при тези с Т2ЗД. Допълнително, положителна асоциация се регистрира между тежестта на нефатален ИМИ и левкоцитния брой в групата със СХ ( $r = 0,38$ ;  $p = 0,0008$ ).

## Обсъждане и заключение:

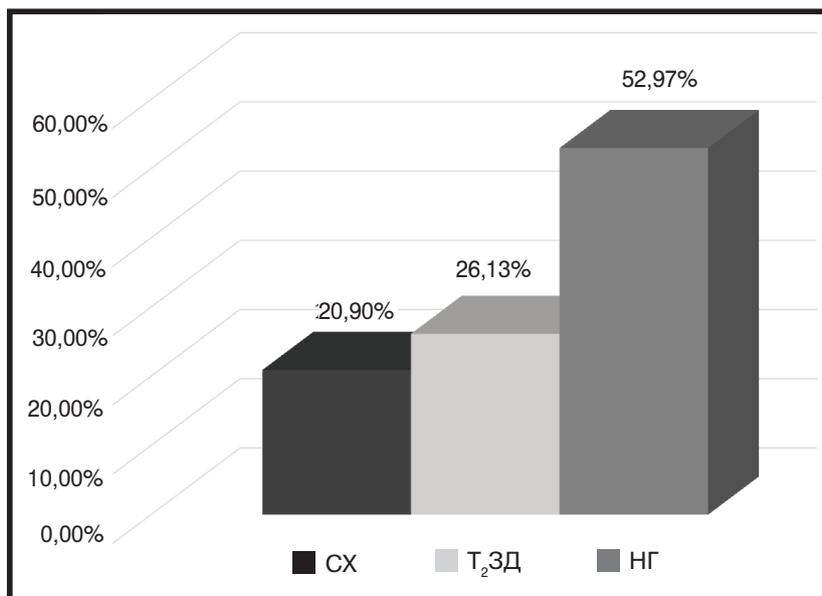
Исхемичният мозъчен инсулт в световен мащаб е водеща причина за смъртност и дългосрочна нетрудоспособност (2), а СХ често го съпътства. В този смисъл, концепцията за СХ е актуален проблем в ежедневната клинична практика, включително и нейната прогностичната значимост при лица с остър ИМИ.

В нашето проучване, установихме сходно разпространение на СХ при остър ИМИ с цитираните данни в световната литература. Наблюдавахме съпоставим дял пациенти с фатален край между групите със СХ и Т23Д и значимо по-малък такъв в групата с НГ, което ни дава основание да предположим, че хипергликемията се асоциира с повишен риск от неблагоприятен изход.

Корелационният анализ не показва връзка между нивото на КГ и тежестта на нефатален ИМИ, оценена при постъпването, което не изключва възможността за такава при фатален ИМИ. Установената асоциация между тежестта на ИМИ и възрастта на преживелите пациенти със СХ и НГ, и липсата на такава при лицата с Т23Д, би могло да се тълкува като възможност за

**Таблица 1.** Скала за оценка тежестта на ИМИ на NIHSS.

Сбор от точки	Тежест на ИМИ
0	Липса на симптоми на ИМИ
1-4	Лек ИМИ
5-15	Умерен ИМИ
16-20	Умерен към тежък ИМИ
21-42	Тежък ИМИ



**Фигура 1.** Разпределение на пациентите според нивото на КГ

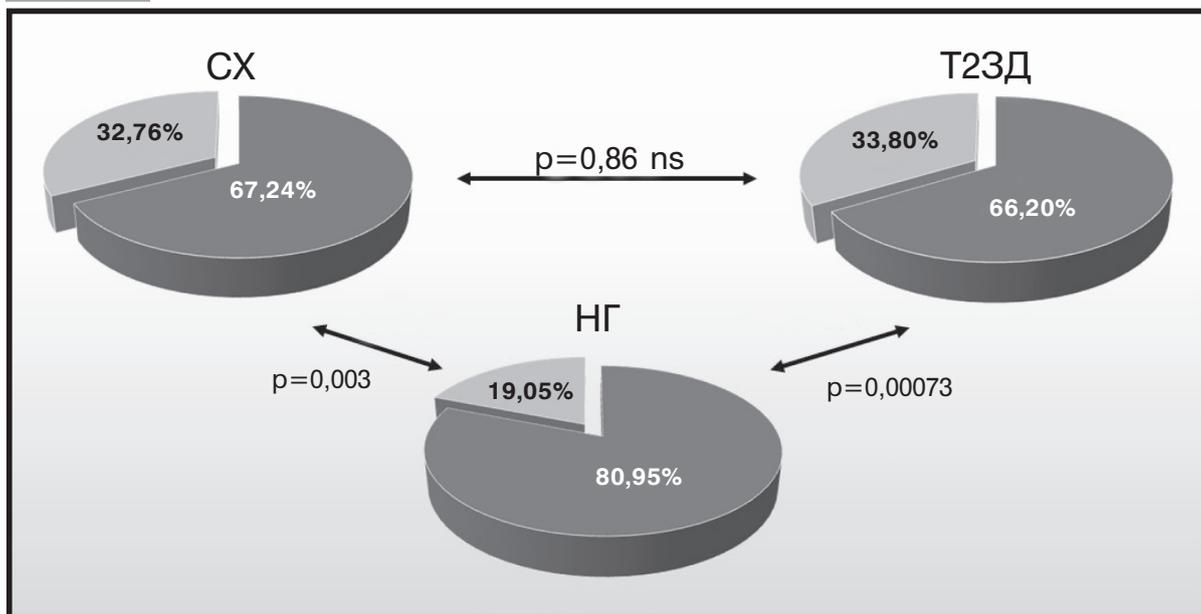
**Таблица 2.** Характеристика на пациентите със СХ, с Т23Д и с НГ.

	Пациенти със СХ (n=116)	Пациенти с Т23Д (n=145)	Пациенти с НГ (n=294)	p value
Възраст (години)	73,47 ± 1,027	72,81 ± 0,788	73,3 ± 0,681	NS
Мъже (%)	49,138	47,586	48,639	NS
КГ (mmol/l)	9,85 ± 0,247	11,66 ± 0,436	6,26 ± 0,05	<0,0001
Hct (L/L)	0,396 ± 0,006	0,393 ± 0,005	0,397 ± 0,003	NS
Chl (mmol/l)	4,83 ± 0,138	4,88 ± 0,124	4,84 ± 0,069	NS
LDL-C (mmol/l)	2,87 ± 0,11	2,89 ± 0,103	2,93 ± 0,059	NS
HDL-C (mmol/l)	1,25 ± 0,043	1,19 ± 0,037	1,25 ± 0,022	NS
Leu (10 <sup>9</sup> /L)	10,17 ± 0,529	9,902 ± 0,323	8,59 ± 0,195	0,0003
Creat (mcmmol/l)	97,91 ± 3,896	103,8 ± 5,257	90,97 ± 2,755	0,0031

**Таблица 3.** Характеристика на пациентите с фатален и благоприятен изход в групите със СХ, с Т2ЗД и с НГ.

	Преживели (n=78)	Починали (n=38)	p value	Преживели (n=96)	Починали (n=49)	p value	Преживели (n=238)	Починали (n=56)	p value
Възраст	71,74 ± 1,3	77,58 ± 1,42	0,0064	71,04 ± 1,03	76,29 ± 1,02	0,0035	71,69 ± 0,76	79,77 ± 1,2	<0,0001
Мъже (%)	51,948	42,105	NS	47,92	46,94	NS	54,95	39,28	0,0363
КГ (mmol/l)	10,16 ± 0,35	9,22 ± 0,203	NS	11,7 ± 0,59	11,58 ± 0,578	NS	6,236 ± 0,056	6,352 ± 0,128	NS
Нст (L/L)	0,398 ± 0,007	0,392 ± 0,011	NS	0,399 ± 0,005	0,399 ± 0,01	NS	0,392 ± 0,004	0,384 ± 0,008	NS
Chl (mmol/l)	5,07 ± 0,15	4,12 ± 0,29	0,0026	4,95 ± 0,153	4,72 ± 0,208	NS	4,91 ± 0,074	4,41 ± 0,176	0,0085
LDL-C (mmol/l)	3,07 ± 0,13	2,4 ± 0,19	0,0046	2,98 ± 0,131	2,71 ± 0,163	NS	2,99 ± 0,065	2,7 ± 0,139	NS
HDL-C (mmol/l)	1,28 ± 0,043	1,17 ± 0,11	NS	1,16 ± 0,037	1,25 ± 0,083	NS	1,26 ± 0,024	1,22 ± 0,045	NS
Leu (10 <sup>9</sup> /L)	9,67 ± 0,41	12,38 ± 2,19	NS	9,62 ± 0,339	10,61 ± 0,749	NS	8,49 ± 0,201	9,41 ± 0,686	NS
Creat (mcmol/l)	98,62 ± 5,07	96,46 ± 5,84	NS	94,79 ± 3,502	121,4 ± 13,71	NS	88,73 ± 2,928	100,5 ± 7,304	NS

**Фигура 2.** Честота на фатален изход в групите със СХ, с Т2ЗД и с НГ



■ преживели ■ починали

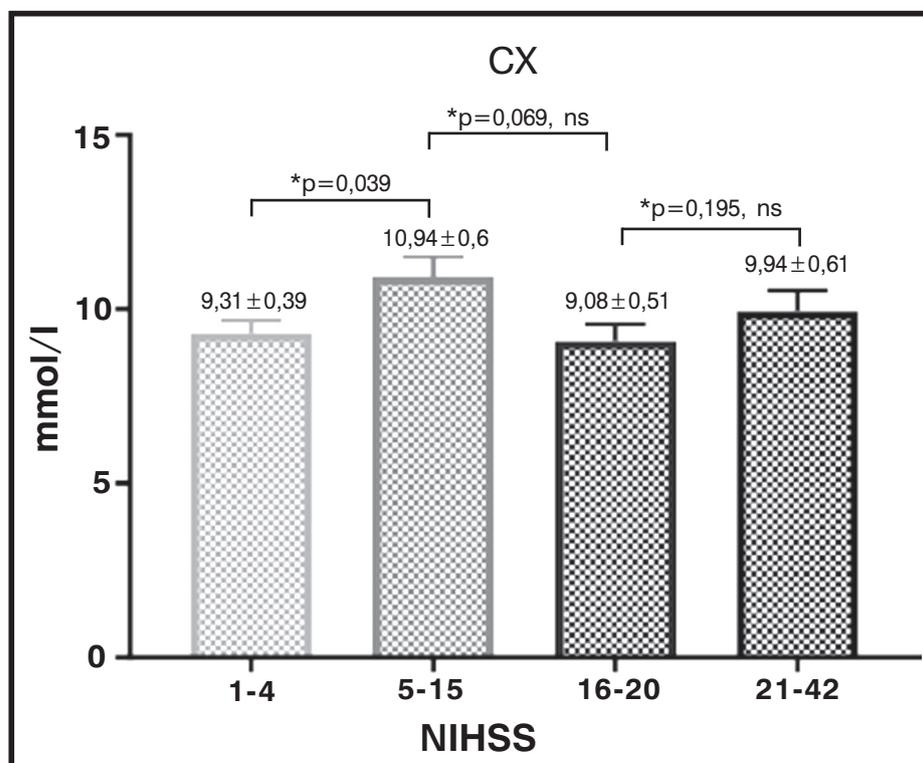
еднакво тежко протичане на ИМИ при диабетици независимо от възрастта им.

В ретроспективно проучване върху голяма извадка пациенти, китайски колектив установява, че както хипергликемията, така и левкоцитният брой и други възпалителни маркери се асоциират с лоши клинични резултати при пациенти с остър

ИМИ, които те дефинират като наличие на неврологичен дефицит при изписване на пациента или летален изход. Нещо повече, едновременното наличие на хипергликемия и повишени възпалителни маркери, крие по-голям риск от неблагоприятен изход (5). Подобно, нашите резултати показва пряка зависимост между левкоцитния брой и те-

### Фигура 3.

СХ според тежестта на ИМИ



жестта на нефатален ИМИ, при това само в групата със СХ. Допълнително, въпреки че не достига статистическа значимост, нивото на левкоцитите и в трите групи (СХ, ТЗД и НГ) е по-високо при пациентите с летален край.

**В заключение**, предимството на работата ни е големият брой обхванати пациенти, а недостатък – ретроспективният дизайн на проучването, създаващ ограничения в наличната информация и

невъзможност за проследяване на проучването, създаващ ограничения в наличната информация и невъзможност за проследяване на извадката. Независимо от това, считаме, че данните биха били полезни за едно бъдещо проспективно проучване, което да даде отговор на въпроса дали повишената КГ е директен причинител на неблагоприятните последици или е просто маркер, отразяващ по-голямата степен на тежест на остро заболяване.

# Stress Hyperglycemia in Patients with Acute Ischemic Stroke

Yaneva, Zhaneta A.<sup>1</sup>, Boyadzhieva, Mila B.<sup>1</sup>, Hristozov Kiril K.<sup>1</sup>,  
Tsalta-Mladenov, Mihael E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, University Hospital „St. Marina“, Varna,

<sup>2</sup>Clinic of Neurology, University Hospital „St. Marina“, Varna

---

## Address for correspondence:

Zhaneta Yaneva, MD

Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, University Hospital „St. Marina“, Varna

Varna 9000, „Hristo Smirnenski“1 str.

e-mail: janeta\_atanasova@abv.bg

## Abstract

Hyperglycemia at hospitalization for critical illness (stress hyperglycemia, SH) is most commonly defined as blood glucose (BG)  $\geq 7,8$  mmol/l in patients without a history of diabetes mellitus (DM). SH is commonly found in acute ischemic stroke (AIS) and ranges between 8-35%. Most studies have shown higher incidence of morbidity and mortality in SH relative to normal BG level.

**Aim:** To examine retrospectively the prevalence of fatal outcome according to the BG at admission and to look for possible contributing factors.

**Materials and methods:** We studied consecutive patients hospitalized for AIS in a neurological intensive care unit from May 2016 to April 2017. The cohort of 555 patients was divided into three groups – with SH, with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and with normoglycemia (NG).

**Results:** In the total study population 20,9% had SH. Fatal endpoint was found in 143 patients – 32,76%, 33,80% and 19,05% in the SH, T2DM and NG group respectively. Interestingly, patients with SH showed the highest white blood cell count, as well as a positive correlation between the level of white blood cells and the severity of nonfatal AIS. As expected, survivors in all groups were younger than non-survivors, but had higher total cholesterol and LDL-cholesterol level. We established a significantly higher SH level in moderate non-fatal AIS compared to mild AIS, but found no further increase in SH with the severity of stroke.

**Conclusion:** The similar mortality prevalence in the groups with SH and T2DM, significantly higher than that in the NG group, suggests an association of hyperglycemia with an increased risk of fatal outcome.

---

**Key words:** stress hyperglycemia, acute ischemic stroke, mortality

## Background

Hyperglycemia at admission (stress hyperglycemia, SH) is also known as hyperglycemia induced by critical (acute) illnesses. Since some researchers add to this group all patients with hyperglycemia, regardless of their initial diabetic status, there are difficulties in using this term. Additionally, there is no consensus on the cut-off value of blood glucose (BG) which is considered pathological hyperglycemia in critically ill patients. (1)

SH is defined by the majority of researchers as BG level  $\geq 7,8$  mmol/l in patients without a history of diabetes mellitus (DM) or established  $HbA_{1c} > 6,5\%$ .

However, this group often includes a number of patients with previously undiagnosed DM, because it is not a practice to test  $HbA_{1c}$  in acute admission. Some authors use the term SH in patients with known DM, which creates additional difficulties. In these patients, the cut-off value for SH is very discountable, with BG  $> 10-12$  mmol/l being the most commonly used. (1)

SH is frequently observed – during hospitalization due to injury, surgical interventions, critical or acute illnesses. Its exact distribution is difficult to determine due to the different glucose threshold assumed for SH, the type of population studied, and the type of critical illness. Generally, SH is observed in 32-38% of hospitalized patients. (1) It is common in acute ischemic stroke (AIS). (2, 3) According to various reports, 8-35% of patients with AIS and without DM manifest SH and it is considered more common in those with more severe stroke. (2)

Most studies in this regard associate SH with higher incidence of morbidity and mortality among critically ill patients (1-4), regardless of the reason for hospitalization, and showed that the deleterious effect of SH is particularly marked in patients without previously diagnosed DM. (1,4) Furthermore, it is unclear whether SH is directly associated with adverse outcome or it only reflects stroke severity. (2)

**The aim** of this study was to examine the incidence of SH in hospitalized patients for AIS. Additionally, we compared the prevalence of fatal outcome according to the BG level at admission and looked for possible contributing factors.

### Materials and methods:

We conducted a retrospective study including consecutive patients hospitalized for AIS in a neurological intensive care unit from May 2016 to April 2017. The cohort of 555 patients was divided into three groups – with SH, which we defined as BG at admission  $\geq 7,8$  mmol/l, with previously diagnosed type 2 diabetes mellitus (T2DM) and with normoglycemia (NG). We studied the mortality prevalence in the three groups, as well as some laboratory parameters. We evaluated the severity of AIS at admission through the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS (Table 1). All information was extracted from the electronic patient record system of University Hospital „St. Marina“, Varna. Data analyses were performed with GraphPad Prism 7.03. Significance was accepted if  $p < 0,05$ .

### Results:

In the total study population 20,9% had SH (Figure 1). The characteristics of patients with SH, T2DM and NG are shown in Table 2. Interestingly, those with SH demonstrated a significantly higher white blood cell (WBC) count than the other two groups (SH,  $10,17 \pm 0,529$ ; T2DM,  $9,902 \pm 0,323$ ; NG,  $8,59 \pm 0,195$   $10^9/L$ ;  $p=0,0003$ ; SH/NG,  $p=0,0046$ ; SH/T2DM, ns; T2DM/NG,  $p=0,0003$ ). A significant difference was also observed with regard to creatinine level (SH,  $97,91 \pm$

$3,896$ ; T2DM,  $103,8 \pm 5,257$ ; NG,  $90,97 \pm 2,755$  mcmol/l;  $p=0,0031$ ; SH/NG, ns; SH/T2DM, ns; T2DM/NG,  $p=0,0035$ ).

Fatal endpoint was found in 143 patients – 32,76%, 33,80% and 19,05% in the group of SH, T2DM and NG respectively. We observed a significant difference in the prevalence of fatal outcome between SH and NG groups ( $p=0,003$ ), as well as T2DM and NG groups ( $p=0,0007$ ), but not between SH and T2DM groups (Figure 2). The compared characteristics of patients with adverse and favorable outcome in the three groups are presented in Table 3. As expected, survivors in the three groups were younger than non-survivors (SH,  $71,74 \pm 1,3$  vs  $77,58 \pm 1,42$ ,  $p=0,0064$ ; T2DM,  $71,04 \pm 1,03$  vs  $76,29 \pm 1,02$ ,  $p=0,0035$ ; NG,  $71,69 \pm 0,76$  vs  $79,77 \pm 1,2$  years,  $p < 0,0001$ ). Furthermore, survivors compared to non-survivors demonstrated higher total cholesterol (SH,  $5,07 \pm 0,151$  vs  $4,12 \pm 0,29$ ,  $p=0,0026$ ; T2DM,  $4,95 \pm 0,153$  vs  $4,72 \pm 0,208$ , ns; NG,  $4,91 \pm 0,074$  vs  $4,41 \pm 0,176$  mmol/l,  $p=0,0085$ ) and LDL-cholesterol level (SH,  $3,07 \pm 0,13$  vs  $2,4 \pm 0,19$ ,  $p=0,0046$ ; T2DM,  $2,98 \pm 0,131$  vs  $2,71 \pm 0,163$ , ns; NG,  $2,99 \pm 0,065$  vs  $2,7 \pm 0,139$  mmol/l, ns), which was observed in all three groups.

We established a significantly higher level of SH in moderate non-fatal AIS compared to mild AIS ( $10,94 \pm 0,6$  vs  $9,31 \pm 0,39$ ,  $p=0,033$ ), but found neither further increase in SH with the severity of stroke (Figure 3), nor correlation between BG level and non-fatal AIS severity. Interestingly, we observed a direct correlation between AIS severity and age in survivors with SH ( $r=0,22$ ;  $p=0,0494$ ) and NG ( $r=0,18$ ;  $p=0,0048$ ), but not in those with T2DM. Additionally, a positive association was recorded between the severity of non-fatal AIS and WBC count in SH group ( $r=0,38$ ,  $p=0,0008$ ).

### Discussion and conclusion:

Acute ischemic stroke is a leading cause of mortality and long-term disability worldwide (2), and SH often accompanies it. In this sense, the concept of SH is a current problem in everyday clinical practice, including its prognostic significance in patients with AIS.

In our study, we found similar distribution of SH in AIS, which is in accordance to the published data. We observed a comparable mortality prevalence in the groups with SH and T2DM, significantly higher than that in the NG group, which allows us to speculate that hyperglycemia is associated with an increased risk of adverse outcome.

The correlation analysis showed no association between BG level and severity of non-fatal AIS, assessed at admission, which does not exclude that possibility in

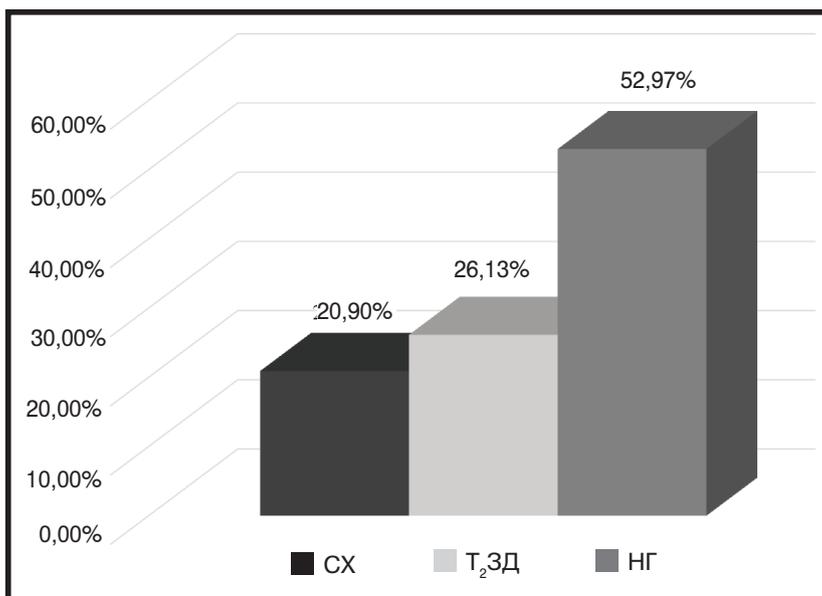
fatal AIS. The established association between AIS severity and age of survivors with SH and NG, but not in those with T2DM, could be interpreted as a possibility of equally severe course of AIS in diabetic patients regardless of their age.

In a retrospective study on a large sample of patients, a Chinese team found that hyperglycemia as well as WBC count and other inflammatory biomarkers are associated with poor clinical outcomes in patients with AIS, which they define as neurologic deficiency at discharge or death during hospitalization. Moreover, the simultaneous presence of hyperglycemia and increased inflammatory markers determines greater risk of poor outcome. (5) Similarly, our results showed a positive relationship between WBC count and severity of non-fatal AIS, which was only observed in the group with SH. Additionally, although not reaching statistical significance, the level of WBC in all three groups (SH, T2DM and NG) was higher in patients with fatal outcome.

**In conclusion,** the advantage of our work is the large number of involved patients and disadvantage – the retrospective study design, creating

**Table 1.** National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS

Score	Stroke Severity
0	No Stroke Symptoms
1-4	Minor Stroke
5-15	Moderate Stroke
16-20	Moderate to Severe Stroke
21-42	Severe Stroke



**Figure 1.** Distribution of patients according to the BG level

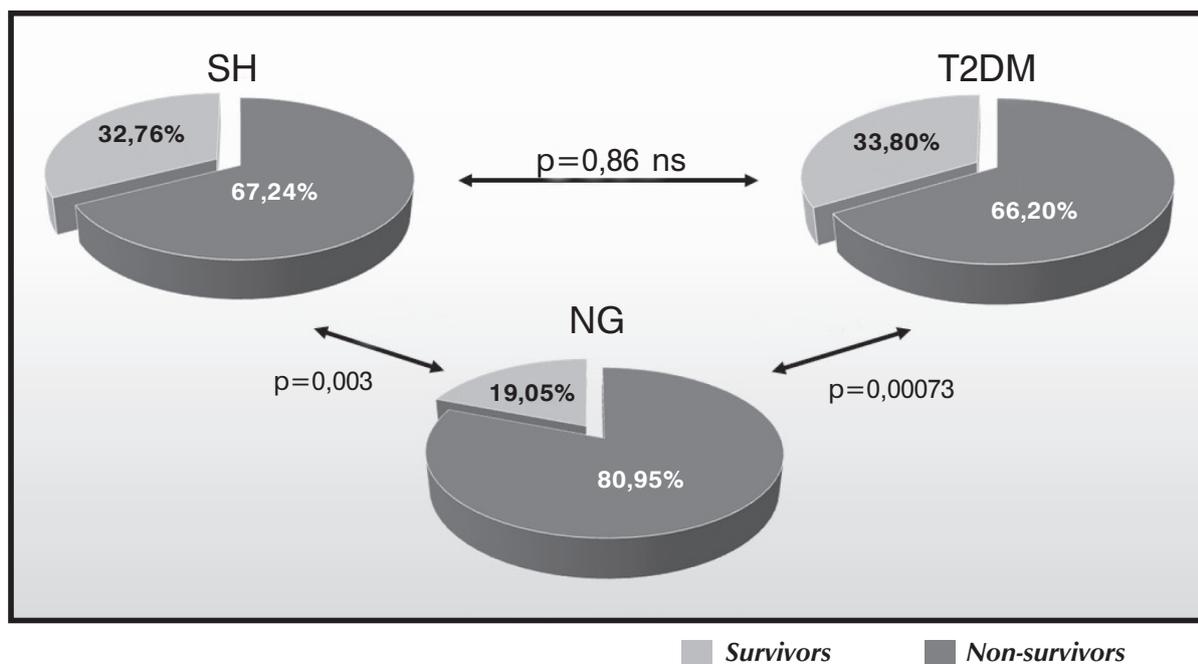
**Table 2.** Characteristics of patients with SH, T2DM and NG

	Patients with SH (n=116)	Patients with T2DM (n=145)	Patients with NG (n=294)	p value
Age (years)	73,47 ± 1,027	72,81 ± 0,788	73,3 ± 0,681	NS
Males (%)	49,138	47,586	48,639	NS
BG (mmol/l)	9,85 ± 0,247	11,66 ± 0,436	6,26 ± 0,05	<0,0001
Hct (L/L)	0,396 ± 0,006	0,393 ± 0,005	0,397 ± 0,003	NS
Chl (mmol/l)	4,83 ± 0,138	4,88 ± 0,124	4,84 ± 0,069	NS
LDL-C (mmol/l)	2,87 ± 0,11	2,89 ± 0,103	2,93 ± 0,059	NS
HDL-C (mmol/l)	1,25 ± 0,043	1,19 ± 0,037	1,25 ± 0,022	NS
Leu (10 <sup>9</sup> /L)	10,17 ± 0,529	9,902 ± 0,323	8,59 ± 0,195	0,0003
Creat (mcmol/l)	97,91 ± 3,896	103,8 ± 5,257	90,97 ± 2,755	0,0031

**Table 3.** Characteristics of patients with adverse and favorable outcome in the groups with SH, T2DM and NG

	SN			T2DM			NG		
	Survivors (n=78)	Non-survivors (n=38)	p value	Survivors (n=96)	Non-survivors (n=49)	p value	Survivors (n=238)	Non-survivors (n=56)	p value
Age (years)	71,74 ± 1,3	77,58 ± 1,42	0,0064	71,04 ± 1,03	76,29 ± 1,02	0,0035	71,69 ± 0,76	79,77 ± 1,2	<0,0001
Males (%)	51,948	42,105	NS	47,92	46,94	NS	54,95	39,28	0,0363
BG (mmol/l)	10,16 ± 0,35	9,22 ± 0,203	NS	11,7 ± 0,59	11,58 ± 0,578	NS	6,236 ± 0,056	6,352 ± 0,128	NS
Hct (L/L)	0,398 ± 0,007	0,392 ± 0,011	NS	0,399 ± 0,005	0,399 ± 0,01	NS	0,392 ± 0,004	0,384 ± 0,008	NS
Chl (mmol/l)	5,07 ± 0,15	4,12 ± 0,29	0,0026	4,95 ± 0,153	4,72 ± 0,208	NS	4,91 ± 0,074	4,41 ± 0,176	0,0085
LDL-C (mmol/l)	3,07 ± 0,13	2,4 ± 0,19	0,0046	2,98 ± 0,131	2,71 ± 0,163	NS	2,99 ± 0,065	2,7 ± 0,139	NS
HDL-C (mmol/l)	1,28 ± 0,043	1,17 ± 0,11	NS	1,16 ± 0,037	1,25 ± 0,083	NS	1,26 ± 0,024	1,22 ± 0,045	NS
Leu (10 <sup>9</sup> /L)	9,67 ± 0,41	12,38 ± 2,19	NS	9,62 ± 0,339	10,61 ± 0,749	NS	8,49 ± 0,201	9,41 ± 0,686	NS
Creat (mcmol/l)	98,62 ± 5,07	96,46 ± 5,84	NS	94,79 ± 3,502	121,4 ± 13,71	NS	88,73 ± 2,928	100,5 ± 7,304	NS

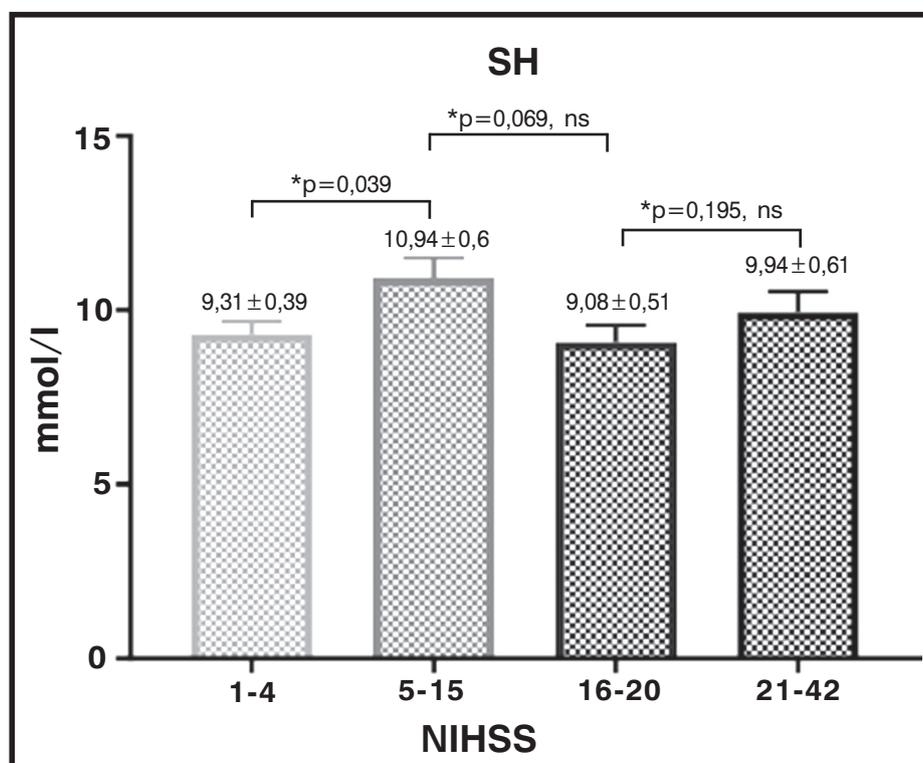
**Figure 2.** Prevalence of fatal outcome in the groups with SH, T2DM and NG



limitations in available information and inability to track the sample. Nevertheless, we believe that the data would be useful for a future prospective study to answer the question whether increased BG is a direct cause of adverse effects or is simply a marker reflecting the greater severity of acute illness.

**Figure 3.**

SH according to the severity of AIS



## References

1. **Boyadzhieva M.** Glycemic control in critically ill patients. 2017, Varna, MU-Varna (In Bulgarian) (**Бояджиева М.** Гликемичен контрол при критично болни. Варна, МУ-Варна, 2017. 139 с.); ISBN: 978-619-221-062-5.
2. **Tziomalos K, Dimitriou P, Bouziana S, Spanou M, Kostaki S, Angelopoulou S, et al.** Stress hyperglycemia and acute ischemic stroke in-hospital outcome. *Metabolism* 2017; 67: 99-105.
3. **Mi D, Wang P, Yang B, Pu Y, Yang Z, Liu L.** Correlation of hyperglycemia with mortality after acute ischemic stroke. *Therapeut*

*Adv Neurol Disord* 2018; 11: 1-5.

4. **Nardi K, Milia P, Eusebi P, Paciaroni M, Caso V, Agnelli G.** Predictive value of admission blood glucose level on short-term mortality in acute cerebral ischemia, *J Diabetes Complications* 2012; 26 (2): 70-76.

5. **Zhou J, Wu J, Zhang J, Xu T, Zhang H, Zhang Y, et al.** Association of stroke clinical outcomes with coexistence of hyperglycemia and biomarkers of inflammation. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2015; 24 (6): 1250-1255.

## Нива на разтворим E-selectin при жени с поликистозен овариален синдром

Колева, Даниела И.,<sup>1</sup> Денева, Тая И., Няголова, Пресияна В.<sup>1</sup>, Орбецова, Мария М.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Георги“, Факултет по Фармакология, МУ, Пловдив, България

### Адрес за кореспонденция:

д-р Даниела Колева, гм

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

Пловдив 4000, бул. Васил Априлов 15А

e-mail: nelka\_medicine@abv.bg

### Резюме

sE-selectin представлява разтворимата форма на васкуларната ендотелно-клетъчна адхезионна молекула E-selectin. В светлината на съвременните данни определянето на нивата на sE-selectin е обект на огромен научно-изследователски интерес в насока изясняване на патофизиологичните механизми при възникване на атеросклеротичния процес.

**Цел на проучването:** Да се сравнят серумните нива на sE-selectin между жени със синдром на поликистозни яйчници (PCOS) и нормално телесно тегло, жени с PCOS и наднормено телесно тегло и такива с PCOS и I-ва степен на затлъстяване, както и да се оцени връзката им с изследваните клинични и метаболитни показатели.

**Материали и методи:** Проучването обхваща 76 жени с доказан PCOS, разделени съгласно изчисления индекс на телесна маса (ИТМ) на PCOS с нормално телесно тегло (ИТМ=18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>), PCOS с наднормено телесно тегло (ИТМ=25,0-29,9 кг/м<sup>2</sup>) и PCOS с I-ва степен на затлъстяване (ИТМ=30,0-34,9 кг/м<sup>2</sup>). Извършени са следните измервания и лабораторни изследвания: телесно тегло, ръст, обиколка на талия и ханш, базални серумни нива на кръвна захар (КЗО') и имунореактивен инсулин (ИРИО'), серумни концентрации на общ холестерол (ОХ), ХДЛ-холестерол (ХДЛ-Х), триглицериди (ТГ) и sE-selectin; систолно (САН) и диастолно артериално налягане (ДАН).

**Изчислени са:** ИТМ, съотношение талия/ханш (Т/Х) и индекс на инсулинова резистентност (НОМА-IR).

**Резултати:** Установяват се сигнификантно по-високи серумни нива на sE-selectin при жените с PCOS и I-ва степен на затлъстяване в сравнение с тези с нормално телесно тегло. sE-selectin показва положителна взаимовръзка с възраст, тегло, ИТМ, обиколка на талията, ИРИ О', НОМА-IR и отрицателна такава с ХДЛ-Х. С помощта на линеен регресионен анализ се открива, че стойностите на НОМА-IR са предиктивни по отношение нивата на sE-selectin при жените с PCOS.

**Изводи:** По-високите серумни нива на sE-selectin при обезните инсулинорезистентни жени с PCOS предполагат развитие на ендотелна дисфункция при тях. Изглежда, че инсулиновата резистентност (определена чрез НОМА-IR), която е по-изразена при затлъстяване, се явява предиктор за нивата на sE-selectin при жени с PCOS и обезитет.

**Ключови думи:** sE-selectin - инсулинова резистентност - ендотелна дисфункция - PCOS

## Въведение

Поликистозният овариален синдром (PCOS) е често срещана ендокринопатия сред жените в репродуктивна възраст, изявяваща се с типичните за метаболитен синдром обменно-атерогенни нарушения (1). Счита се, жените с доказан PCOS имат неблагоприятен сърдечно-съдов профил и често метаболитният им статус се характеризира с наличие на инсулинова резистентност (ИР), затлъстяване, дислипидемия и артериална хипертония (АХ). При тях е висок рискът от развитие на захарен диабет тип 2 (ЗД 2), хронично нискостепенно възпаление, ендотелна дисфункция (ЕД) и нарушения в процесите на коагулация и/или фибринолиза (2).

sE-selectin представлява разтворимата форма на васкуларната ендотелно-клетъчна адхезионна молекула E-selectin. В светлината на съвременните данни определянето на нивата на sE-selectin е обект на огромен научно-изследователски интерес в насока изясняване на патофизиологичните механизми при възникване на атеросклеротичния процес.

Редица проучвания доказват повишени нива на sE-selectin при процеси, свързани с цитокиново активиране, ензимно „изронване“ от васкуларно експресирани молекули на E-selectin, нарушение на целостта на ендотелната мембрана, некроза или апоптоза (3, 4). Повишени серумни нива на sE-selectin се установяват при пациенти с налични рискови фактори за възникване на сърдечно-съдови заболявания (ССЗ) – артериална хипертония (АХ), захарен диабет (ЗД), хиперлипидемия, тютюнопушене (5). При пациенти със ЗД тип 2 и non-Q форма на миокарден инфаркт (МИ) се откриват сигнификантно по-високи нива на sE-selectin в сравнение с тези при лица с МИ, но без ЗД, предполагайки роля на нарушения възлехидратен метаболизъм в излъчването на sE-selectin (6).

Целта на нашето проучване е да се сравнят серумните нива на sE-selectin между жени с PCOS и нормално телесно тегло, жени с PCOS и наднормено телесно тегло и такива с PCOS и I-ва степен на затлъстяване, както и да се оцени връзката им с изследваните клинични и метаболитни показатели.

## Материали и методи

Настоящото проучване е проведено в Клиника по Ендокринология и болести на обмяната при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив. В него са включени 76 жени с доказан PCOS, разделени съгласно изчисления индекс на телесна маса (ИТМ) на PCOS според нормално телесно тегло (ИТМ= 18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>), PCOS с наднормено телесно тегло (ИТМ=25,0-29,9 кг/м<sup>2</sup>)

и PCOS с I<sup>ва</sup> степен на затлъстяване (ИТМ=30,0-34,9 кг/м<sup>2</sup>). Извършени са следните измервания и лабораторни изследвания: телесно тегло, ръст, обиколка на талия и ханши, базални серумни нива на кръвна захар (КЗ 0') и имунореактивен инсулин (ИРИ 0'), серумни концентрации на общ холестерол (ОХ), ХДЛ-холестерол (ХДЛ-Х), триглицериди (ТГ) и sE-selectin; систолно (САН) и диастолно артериално налягане (ДАН). Изчислени са: (ИТМ)= тегло(кг)/ръст(м)<sup>2</sup>, съотношение талия/ханши (Т/Х) и хомеостазен модел на инсулинова резистентност (НОМА-IR)=(КЗ 0' x ИРИ 0')/22,5).

Диагнозата PCOS е поставяна съгласно Ротердамските критерии (Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 2003), според които трябва да са налице 2 от следните 3 характеристики: олиго- и/или ановулация; клинична и/или биохимична хиперандрогения; установени чрез УЗД поликистозни яйчници (наличие на ≥12 фоликули с диаметър 2–9 mm и/или обем >10 cm<sup>3</sup>).

Изследвани са редица хормони – лутеинизиращ хормон (ЛХ), фоликулостимулиращ хормон (ФСХ), естрадиол (Е2), общ тестостерон (Т), андростендион, дехидроепиандростерон- сулфат (ДХЕА-С), пролактин (ПРА), ТСХ, св.Т4, серумен кортизол в 8ч и 22ч с цел диагностично уточняване, както и с цел изключване на бременност и налична друга ендокринна патология: синдром на Cushing, ВНКХ, пролактином, хипопитуитаризъм, хипо-/хипертиреоидизъм, хипогонадизъм и др.

Венозната кръв за лабораторните изследвания е вземана при стандартни условия – сутрин рано, след 12-часов период на нощно гладуване, във фоликуларна фаза на менструалния цикъл (2-ри–5-ти ден след спонтанно получен МЦ) или до 7-ми ден след индуцирано с гестаген отпадно кървене. Венозните проби за определяне на КЗ 0', ИРИ 0', липидните показатели, стандартните хормонални параметри и sE-selectin са изпращани в Централна Клинична Лаборатория към УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив.

Обиколката на талията е определяна в хоризонталната равнина по средата между долния ръб на 12-то ребро и горната част на илиачните гребени. Обиколката на ханша е измервана на мястото на най-широката част на бедрата по равнина, успоредна на пода.

Серумните нива на кръвната захар са измервани с помощта на стандартен ензимно-колориметричен (GOD-POD) метод с характеристики: линейност (dilution recovery) – до 20 ммол/л; inter assay variation, CV от 2,40 до 2,94%, intra assay variation, CV%<1,2. Инсулинът е изследван чрез комерсиален кит за количествено определяне на имунореактивен инсулин на базата на микрочастичен имуноензимен анализ (MEIA) с помощта на AxSYM system (ABBOTT, USA) със следните характеристики: sensitivity ≤ 0,8 μIU/ml; inter assay variation, CV% < 2,9;

intra assay variation, CV% < 5,3. Серумното ниво на общия холестерол се определяно чрез ChOD, PAP, на триглицеридите – чрез GPO, PAP, на HDL-холестерола – чрез MgSO<sub>4</sub>-dextran SO<sub>4</sub> преципитация (Schneiders Analysers; Netherlands test; Delta Kone Autoanalyser). Анализът на серумните концентрации на sE-selectin е осъществяван чрез Human ELISA метод (Bender MedSystems, Germany) с посочените характеристики: intra assay variation, CV < 8,0%, inter-assay variation, CV < 10,0%; accuracy, d% < 5,0%; and recovery, 92,0-106,0%. Хормоналните тестове са извършвани с комерсиални китове AxSYM™ System (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA).

Статистическият анализ на резултатите е проведен с помощта на SPSS, версия 21.0, за Windows. Извършен е сравнителен анализ на клиничните, антропометричните и биохимичните показатели при изследваните групи жени. Резултатите се представят като средна аритметична ± стандартно отклонение (SD). За всички сравнения е избрано ниво на значимост P<0,05. Сравнителният анализ между стойностите на САН и ДАН е осъществен с помощта на теста на Mann-Whitney поради тяхното неправилно разпределение, установено чрез теста на Kolmogorov-Smirnov. Използван е коефициент на Pearson (r) с цел оценка за наличие на сигнификантни корелации между изследваните показатели.

## Резултати

В Таблица 1 са представени клиничните и антропометричните характеристики на изследваните групи пациентки, съответно: 40 жени с PCOS и нормално телесно тегло, 12 PCOS жени с наднормено телесно тегло и 24 PCOS жени с I-ва степен на затлъстяване. Жените с PCOS и нормално телесно тегло са значимо по-млади в сравнение с тези с I<sup>ва</sup> степен на затлъстяване. Очаквано се регистрират сигнификантно по-високи стойности на обиколката на талията при обезните пациентки с PCOS, сравнени с тези при останалите две групи жени (Табл. 1). Отчитат се по-високи стойности на КЗ 0', ИРИ 0', НОМА-IR, ТГ и САН при PCOS носителките с I-ва степен на затлъстяване в сравнение с тези при пациентките с нормално телесно тегло (Табл. 2). Освен това се регистрира статистически значима разлика в ИРИ 0' и НОМА-IR между обезните PCOS и тези с наднормено телесно тегло – по-високи стойности се установяват при жените със затлъстяване (Табл. 2). Серумните нива на ХДЛ-Х се намират най-ниски в групата на жените с PCOS и I<sup>ва</sup> степен на затлъстяване (Табл. 2).

Установяват се сигнификантно по-високи серумни нива на sE-selectin при жените с PCOS и I<sup>ва</sup> степен на затлъстяване в сравнение с тези при

PCOS жените с нормално телесно тегло (Табл. 2). sE-selectin показва положителна взаимовръзка с възраст, тегло, ИТМ, обиколка на талията, ИРИ 0', НОМА-IR и отрицателна такава с ХДЛ-Х. С помощта на линеен регресионен анализ се открива, че стойностите на НОМА-IR са предиктивни по отношение нивата на sE-selectin при жените с PCOS (R=0,517, R<sup>2</sup>=0,268, P<0,01, F=10,59) (Табл. 3).

## Обсъждане

В нашето проучване се регистрират значимо по-високи серумни нива на sE-selectin при обезните инсулинорезистентни PCOS жени в сравнение с тези при PCOS с нормално телесно тегло. Съпоставими остават стойностите на sE-selectin при извършване на сравнителен анализ, обхващащ останалите групи изследвани жени.

Счита се, че sE-selectin осъществява патогенетичната връзка на затлъстяването с неговите най-чести усложнения (7). Освен това, редица автори предполагат, че този цитокин се явява независим предиктор за развитие на ЗД 2 (8).

Adamska и сътр. (9) извършват проучване с основна цел – оценка на зависимостта между серумните нива на sE-selectin и показателите инсулинова чувствителност и „метаболитна флексибилност“ (гъвкавост). Всъщност терминът „метаболитна гъвкавост“ отразява способността на организма да адаптира/пренасочва процесите на окисление към различни тъкани и органи съгласно вида и количеството на внесените хранителни вещества като източник на енергия. Неспособността да се модифицира окислението в отговор на промени, касаещи енергийния внос, води до развитие на периферна липидна и инсулинова резистентност (10). С цел изпълнение на своите задачи гореспоменатите изследователи използват методите хиперинсулинемична еугликемична кламп-техника и индиректна калориметрия. За да оценят „метаболитната гъвкавост“, Adamska и сътр. изследват респираторния обмен в отговор на инсулин. Резултатите показват по-ниска инсулинова чувствителност (P<0,01) и по-високи плазмени нива на sE-selectin (P=0,007) при жените със затлъстяване. Оказва се, че изчисленият тотален Z-score за метаболически синдром (MS Z-score) корелира положително с нивата на sE-selectin. MS Z-score представлява сборен показател, който отразява тежестта на MS и може да се изчисли посредством наличните стандартни индивидуални компоненти като обиколка на талия, артериално налягане, липиден профил, стойности на КЗ и степен на физическа активност. Колкото по-нисък е MS Z-score, толкова по-добър е метаболическият профил на изследвания

**Таблица 1.** Клинични и антропометрични характеристики на изследваните групи жени

ПОКАЗАТЕЛИ	Групи жени с PCOS		
	ИТМ 18,5 – 24,9 n=40	ИТМ 25,0 – 29,9 n=12	ИТМ 30,0 – 34,9 n=24
Възраст (години)	23,55±4,36	24,67±6,39	26,25±5,16 a
Тегло (кг)	58,89±8,81	79,57±5,91 <sup>aaa</sup>	91,11±6,79 <sup>aaa/bbb</sup>
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	21,31±2,24	27,92±1,43 <sup>aaa</sup>	33,12±2,20 <sup>aaa/bbb</sup>
Обиколка на талия (см)	71,05±7,38	89,83±8,31 <sup>aaa</sup>	101,17±5,88 <sup>aaa/bbb</sup>
Т/Х	0,75±0,07	0,84±0,09 <sup>aaa</sup>	0,88±0,06 <sup>aaa</sup>

<sup>a</sup> – значима разлика спрямо група с ИТМ 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup> – a P<0,05, <sup>aaa</sup> P<0,001;

<sup>b</sup> – значима разлика между група с ИТМ 25,0–29,9 кг/м<sup>2</sup> и група с ИТМ ≥30,0 кг/м<sup>2</sup> – <sup>bbb</sup> P<0,001.

**Таблица 2.** Метаболитни показатели, серумни нива на sE-selectin и стойности на САН и ДАН при изследваните групи жени

ПОКАЗАТЕЛИ	Групи жени с PCOS		
	ИТМ 18,5 – 24,9 n=40	ИТМ 25,0 – 29,9 n=12	ИТМ 30,0 – 34,9 n=24
КЗ 0' (ммол/л)	4,68±0,47	4,84±0,70	5,20±0,70 <sup>aa</sup>
ИРИ 0' (μIU/ml)	6,56±2,98	9,49±3,93 <sup>#</sup>	13,40±6,94 <sup>aaa/b</sup>
НОМА-IR	1,39±0,74	2,09±0,98	3,21±1,98 <sup>aaa/b</sup>
ОХ (ммол/л)	4,36±0,97	4,49±0,86	4,63±0,79
ХДЛ-Х (ммол/л)	1,45±0,49	1,12±0,20 <sup>a</sup>	1,19±0,27 <sup>a</sup>
ТГ (ммол/л)	0,78±0,35	1,02±0,44	1,29±0,57 <sup>aaa</sup>
sE-selectin (нг/мл)	44,70±21,67	68,50±22,25	71,50±25,28 <sup>aa</sup>
САН (mmHg)	110,63±11,99	116,36±6,74	119,79±12,20 <sup>aa</sup> Δ
ДАН (mmHg)	71,13±8,59	73,64±5,52	75,63±12,20 <sup>##</sup> Δ

Δ – Mann-Whitney U-test

<sup>a</sup> – значима разлика спрямо група с ИТМ 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup> – <sup>a</sup>P<0,05, <sup>aa</sup>P<0,01, <sup>aaa</sup> P<0,001;

<sup>b</sup> – значима разлика между група с ИТМ 25,0–29,9 кг/м<sup>2</sup> и група с ИТМ ≥30,0 кг/м<sup>2</sup> – <sup>b</sup> P<0,05

<sup>#</sup> – гранична разлика спрямо група с ИТМ 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup>, P=0,06

<sup>##</sup> – гранична разлика спрямо група с ИТМ 18,5–24,9 кг/м<sup>2</sup>, P=0,07

индивид (11). Adamska и сътр. описват резултати твърде подобни на тези от нашето проучване, а именно – инсулиновата чувствителност се намира в отрицателна корелация с нивата на sE-selectin (P=0,04). Освен това се установява обратно-пропорционална зависимост между sE-selectin и показателя „метаболитна флексибилност“ (P=0,003), като с помощта на множествен регресионен анализ се доказва, че тази връзка е независима от другите фактори (P=0,004). Посочените данни показват, че ендотелната дисфункция (оценена посредством плазмените нива на sE-selectin) би могла да се

свърже с показателя „метаболитна гъвкавост“ – обратно-пропорционално и независимо от другите фактори. В заключение, повишените концентрации на sE-selectin при пациентите със затлъстяване най-вероятно играят важна роля в развитието на характерните нарушения във въглехидратната и липидна обмяна при тези лица.

Несъмнено, процесът на хронично нискостепенно възпаление и оксидативният стрес са тясно свързани с патогенезата на PCOS (12, 13). В подкрепа на това са: повишеното освобождаване на свободни радикали (ROS) от периферните левкоци-

**Таблица 3.**

Корелации (r – коефициент на Pearson) между серумните нива на sE-selectin и изследваните клинични и метаболитни параметри

Параметри	sE-selectin r
Възраст	0,268 P=0,048
Тегло	0,422 P=0,001
ИТМ	0,467 P<0,001
Талия	0,463 P<0,001
Т/Х	0,318 P=0,018
ИРИ 0'	0,566 P<0,001
НОМА-IR	0,543 P<0,001
ХДЛ-Х	-0,312 P=0,020

ми (14, 15); стимулирана адхезия на левкоцитите към ендотела (16); активирането на гена за производство на нуклеарен фактор  $\kappa\beta$  (NF- $\beta$ ), както и повишеният синтез на проинфламаторни цитокини, биоактивни атерогенни фактори и С-реактивни протеини (17), (18). Оксидативният стрес опосредства развитието на инсулинова резистентност (ИР) в левкоцитите при пациентки с PCOS, като увеличаването на левкоцитния брой се счита за категоричен маркер на хронично нискостепенно възпаление и повишен сърдечно-съдов риск при тези лица (19).

Diamanti-Kandarakis и сътр. провеждат проспективно тип случай-контрола проучване, целящо определяне на нивата на редица разтворими инфламаторни маркери – разтворима интраклетъчна адхезионна молекула-1 (sICAM-1), разтворима васкуларно-клетъчна адхезионна молекула-1 (sVCAM-1), sE-selectin and С-реактивен протеин (CRP), както и оценяване на ефекта от приложението на метформин върху тези субстанции. Плазмените нива на CRP (mg/l), sICAM-1 (ng/ml) и sE-selectin (ng/ml) се намират по-високи при жените с PCOS, сравнени с тези при клинично здравите жени (P<0,05). Доказва се значима редукция в нивата на CRP и sVCAM-1 след проведено 6-месечно метформиново лечение. Тези данни категорично показват наличие на хроничен инфламаторен процес при жените с PCOS (17).

В проучване на Victor и сътр., вземат участие 101 лица с установен PCOS и 105 клинично здрави жени (контроли). Съгласно стойностите на изчисления НОМА-IR пациентките с PCOS се разделят на неинсулинорезистентни (НОМА-IR<2,5) и на инсулинорезистентни (НОМА-IR>2,5). Изследователите извършват оценка на редица метаболитни и антропометрични параметри, количество на тотални и митохондриални свободни радикали (ROS), нива на миелопероксидаза (МРО), адхезионни

молекули (sE-selectin, sICAM-1 и sVCAM-1) и проинфламаторни цитокини (IL-6 и TNF- $\alpha$ ). Резултатите показват наличие на оксидативен стрес с увеличаване на общите и митохондриални свободни радикали при носителките на PCOS. В допълнение се регистрират повишени нива на IL-6, TNF- $\alpha$  и адхезионни молекули (sE-selectin, sICAM-1 и sVCAM-1) с по-изразено увеличаване на стойностите при инсулинорезистентните жени с PCOS. Подобно на нашите резултати, авторите описват съществуваща положителна корелация между степента на ИР и нивата на sE-selectin (p<0,01). Достига се до извода, че хроничното възпаление при PCOS води до повишение на IL-6, TNF- $\alpha$ , sE-selectin, sICAM-1 и sVCAM-1. Инфламаторният процес може да се влоши от присъствието на ИР (20).

Нашите резултати са в съответствие с тези на Taniguchi и сътр., които обследват корелациите между степента на ИР и нивата на sE-selectin, лептин, стойностите на ИТМ и серумните липиди при 97 необезни пациенти със ЗД 2 от Япония. Извършена е оценка на ИР с помощта на НОМА-IR, като спрямо стойностите му индивидите се разделят в 2 групи. Стойности над 2,5 отразяват наличие на ИР, респ. стойности под 2,5 показват липса на такава. В групата с инсулинорезистентни пациенти се регистрират сигнификантно по-високи нива на sE-selectin, лептин, ТГ, ОХ, ЛДЛ-Х и ДАН в сравнение с тези от групата на неинсулинорезистентните лица. Не се отчита значима разлика във възрастта, пола, давността на диабета, ИТМ, САН и ХДЛ-Х при двете изследвани групи. Намира се, че ИР корелира положително с sE-selectin (P=0,003), ИТМ (P=0,006), лептин (P=0,004), ТГ (P<0,001), ОХ (P=0,019), ЛДЛ-Х (P=0,013), САН (P=0,024) и ДАН (P=0,006). Множественият регресионен анализ доказва, че ИР се повлиява независимо от следните показатели: серумен sE-selectin (F=18,4), серумен лептин (F=14,0) и серумни ТГ (F=20,0). Това обяснява 45 % от вариабилитета на ИР. Достига се до извода, че sE-selectin, заедно с ТГ и лептинът, представлява важен независим фактор за появата на ИР при необезните пациенти със ЗД 2 от Япония (21).

### Заклучение

По-високите нива на sE-selectin при нашите обезни инсулинорезистентни жени с PCOS предполагат развитие на процес на атеросклероза при тези пациенти. Въпреки че sE-selectin показва положителна корелация с множество клинични и метаболитни параметри, изглежда, че инсулиновата резистентност (определена чрез НОМА-IR), която нормално е по-изразена при затлъстяване, се явява предиктор за нивата на sE-selectin при жените с PCOS и обезитет.

## Soluble E-selectin Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome

<sup>1</sup> Koleva, Daniela I., Deneva, Tanya I. <sup>2</sup>, Nyagolova, Presiyana V.,<sup>1</sup> Orbetzova, Maria M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Clinical Laboratory, „Sv. Georgy“ University Hospital, Medical University of Plovdiv, Bulgaria

---

### Address for correspondence:

Daniela Ivanova Koleva,  
Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, „Sv. Georgy“ University Hospital,  
Medical University, Plovdiv  
15A Vassil Aprilov Blvd, Plovdiv, Bulgaria  
e-mail: nelka\_medicine@abv.bg

### Abstract

sE-selectin is known as a soluble form of the vascular endothelial cell adhesion molecule E-selectin. Determining the levels of sE-selectin has recently been the subject of great scientific interest in order to better understand the pathophysiological mechanisms of atherosclerosis.

**Aim of the study:** to compare the serum levels of soluble E-selectin between women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and normal weight, overweight PCOS women and PCOS women with I-st degree of obesity, as well as to assess its relationship with clinical and metabolic parameters.

**Materials and methods:** The study included 76 PCOS women divided according to their body mass index (BMI) into PCOS with normal weight (BMI 18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup>), overweight PCOS women (BMI 25,0-29,9 kg/m<sup>2</sup>) and PCOS women with I-st degree of obesity (BMI 30,0-34,9 kg/m<sup>2</sup>). The following measurements and laboratory tests were conducted: weight, height, waist and hip circumferences, basal glucose (GLU0') and insulin (IRI0') levels, serum concentrations of total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG) and sE-selectin; systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP). BMI, waist-to-hip ratio (WHR) and homeostasis model assessment insulin resistance index (HOMA-IR) were calculated.

**Results:** We established significantly higher serum levels of sE-selectin in the PCOS women with I-st degree of obesity compared to those in the PCOS women with normal weight. sE-selectin showed a positive correlation with age, weight, BMI, waist circumference, IRI0', HOMA-IR and a reverse one with HDL-C. Using linear regression analysis, we found that HOMA-IR was predictive of sE-selectin levels in the PCOS women.

**Conclusions:** The higher sE-selectin levels in the obese insulin resistant women with PCOS suggested a presence of endothelial dysfunction. It seems that insulin resistance (determined by HOMA-IR), which is more prominent in obesity, might be a predictor of sE-selectin levels in the obese PCOS women.

---

**Key words:** sE-selectin - insulin resistance - endothelial dysfunction - polycystic ovary syndrome

## Introduction

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common endocrinopathy in women at reproductive age and it is characterized by metabolic and atherogenic disorders typical for metabolic syndrome (MS) [1]. Women with PCOS are considered to have an unfavorable cardiovascular profile as their metabolic status often includes obesity, insulin resistance (IR), dyslipidaemia and arterial hypertension (AH). It has been proven that PCOS women are at higher risk of developing type 2 diabetes mellitus (T2DM), chronic low-grade inflammation, endothelial dysfunction (ED) and coagulation and/or fibrinolysis disturbances [2].

sE-selectin is known as a soluble form of the vascular endothelial cell adhesion molecule E-selectin. Evaluation of sE-selectin levels has recently been the subject of great scientific interest in order to better understand the pathophysiological mechanisms of atherosclerosis. A number of studies have demonstrated elevated levels of sE-selectin in processes associated with cytokine activation, enzyme induced „shedding“ of E-selectin vascular expression molecules as well as in different disorders in endothelial membrane integrity, in necrosis or apoptosis [3, 4]. Elevated serum levels of sE-selectin have been found in patients with existing risk factors for cardiovascular diseases (CVD) – obesity, hypertension, T2DM, hyperlipidaemia and smoking [5]. Significantly higher concentrations of sE-selectin were detected in the patients with T2DM and the non-Q form of myocardial infarction (MI) than in the subjects with MI, but without T2DM, suggesting a role of insulin resistance and impaired glucose tolerance in the emission of sE-selectin [6].

The aim of the present study was to compare the serum levels of sE-selectin between women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and normal weight, overweight PCOS women and PCOS women with I-st degree of obesity, as well as to assess its relationship with clinical and metabolic parameters.

## Materials and methods:

The present study was conducted in the Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases at the „Sv. Georgy“ University Hospital of Plovdiv. It comprised of 76 PCOS women divided according to their body mass index (BMI) into PCOS with normal weight (BMI=18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup>), overweight PCOS women (BMI=25,0-29,9 kg/m<sup>2</sup>) and PCOS women with I-st degree of obesity (BMI=30,0-34,9 kg/m<sup>2</sup>). The following measurements and laboratory tests were conducted: weight, height, waist and hip circumferences, basal glucose (GLU0') and insulin (IRI0') levels, serum concentrations of total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG) and sE-selectin; values of systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP). Body mass index (BMI) = weight (kg)/height (m)<sup>2</sup>, waist-to-hip ratio (WHR) and

the homeostasis model of insulin resistance index (HOMA-IR) =  $GLU0'(mmol/l) \times IRI0'(\mu U/ml)/22,5$  were calculated.

The diagnosis of PCOS was made according to the Rotterdam criteria (Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 2003), when two of the following three features were present: oligo- and/or anovulation, clinical and/or biochemical signs of hyperandrogenism, and polycystic ovaries on ultrasound examination (the presence of  $\geq 12$  follicles measuring 2–9 mm in diameter and/or ovarian volume  $>10$  cm<sup>3</sup>).

A comprehensive set of hormonal tests was done in all the participants – luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), total testosterone (T), androstenedione, dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S), prolactin (PRL), TSH, free T4, serum cortisol at 8 h and 22 h for diagnostic purposes and in order to exclude pregnancy and/or other endocrine pathology: Cushing's syndrome, inherited adrenal hyperplasia, prolactinoma, hypo-/hyperthyroidism, hypopituitarism, hypogonadism etc.

Venous blood for laboratory tests was taken under standard conditions – early in the morning, after an overnight 12-hour fast period, during the follicular phase of the menstrual cycle (2<sup>nd</sup> to 5<sup>th</sup> day after a spontaneously obtained menstrual cycle) or 7 days after gestagen-induced bleeding. Venous blood samples for determination of GLU0' and IRI0', lipid parameters, standard hormonal parameters and sE-selectin were taken to the Central Clinic Laboratory, „Sv. Georgy“ University Hospital of Plovdiv.

Waist circumference was defined in the horizontal plane midway between the lower edge of the 12<sup>th</sup> rib and the top of the iliac crests. Hip circumference was measured around the widest portion of the buttocks, with the tape parallel to the floor.

Serum glucose levels were determined by a standard enzymatic colorimetric (GOD-POD) method with the following characteristics: dilution recovery –  $\leq 20$  mmol/L; inter assay variation, CV from 2,40 to 2,94%, intra assay variation – CV%  $< 1,2$ . Insulin was tested using a commercial kit for quantitative determination of immunoreactive insulin on the basis of microparticulate immunoenzyme analysis (MEIA) by means of AxSYM system (ABBOTT, USA) with the following characteristics: sensitivity  $\leq 0,8$  mIU/ml; inter assay variation, CV%  $< 2,9$ ; intra assay variation, CV%  $< 5,3$ . Total cholesterol was determined by ChOD, PAP; triglycerides by GPO, PAP, and HDL-cholesterol by MgSO<sub>4</sub>-dextran SO<sub>4</sub> precipitation, Schneiders Analysers; Netherlands test; Delta Kone Autoanalyser. Serum concentrations of sE-selectin were analysed by the Human ELISA method (Bender MedSystems, Germany) with the following characteristics: intra assay variation – CV  $< 8,0\%$ , inter-assay variation – CV  $< 10,0\%$ ; accuracy – d%  $< 5,0\%$ ; and recovery – 92,0-106,0%. The hormonal tests were performed on an Ax-SYMTM System (Abbott Diagnostics, Abbott Park, USA) using commercial kits.

**Table 1.** Clinical and anthropometric characteristics in the studied groups of women.

Parameters	Groups of women with PCOS		
	BMI 18,5 – 24,9 n=40	BMI 25,0 – 29,9 n=12	BMI 30,0 – 34,9 n=24
Age (years)	23,55±4,36	24,67±6,39	26,25±5,16 a
Weight (kg)	58,89±8,81	79,57±5,91 <sup>aaa</sup>	91,11±6,79 <sup>aaa/bbb</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,31±2,24	27,92±1,43 <sup>aaa</sup>	33,12±2,20 <sup>aaa/bbb</sup>
Waist circumference (cm)	71,05±7,38	89,83±8,31 <sup>aaa</sup>	101,17±5,88 <sup>aaa/bbb</sup>
WHR	0,75±0,07	0,84±0,09 <sup>aaa</sup>	0,88±0,06 <sup>aaa</sup>

<sup>a</sup> – a significant difference versus the group with BMI 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup> – <sup>a</sup>P<0,05, <sup>aaa</sup>P<0,001;

<sup>b</sup> – a significant difference between the groups with BMI 25,0–29,9 kg/m<sup>2</sup> and BMI ≥30,0 kg/m<sup>2</sup> – <sup>bbb</sup>P<0,001.

**Table 2.** Metabolic parameters, serum levels of sE-selectin and values of SBP and DBP in the studied groups of women.

Parameters	Groups of women with PCOS		
	BMI 18,5 – 24,9 n=40	BMI 25,0 – 29,9 n=12	BMI 30,0 – 34,9 n=24
GLU 0' (mmol/l)	4,68±0,47	4,84±0,70	5,20±0,70 <sup>aa</sup>
IRI 0' (μIU/ml)	6,56±2,98	9,49±3,93 <sup>#</sup>	13,40±6,94 <sup>aaa/b</sup>
HOMA-IR	1,39±0,74	2,09±0,98	3,21±1,98 <sup>aaa/b</sup>
TC (mmol/l)	4,36±0,97	4,49±0,86	4,63±0,79
HDL-C (mmol/l)	1,45±0,49	1,12±0,20 <sup>a</sup>	1,19±0,27 <sup>a</sup>
TG (mmol/l)	0,78±0,35	1,02±0,44	1,29±0,57 <sup>aaa</sup>
sE-selectin (ng/ml)	44,70±21,67	68,50±22,25	71,50±25,28 <sup>aa</sup>
SBP (mmHg)	110,63±11,99	116,36±6,74	119,79±12,20 <sup>aa</sup> △
DBP (mmHg)	71,13±8,59	73,64±5,52	75,63±12,20 <sup>##</sup> △

△ – Mann-Whitney U-test

<sup>a</sup> – a significant difference versus the group with BMI 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup>; – <sup>a</sup>P<0,05, <sup>aa</sup>P<0,01, <sup>aaa</sup>P<0,001;

<sup>b</sup> – a significant difference between the groups with BMI 25,0–29,9 kg/m<sup>2</sup> and BMI ≥30,0 kg/m<sup>2</sup> – <sup>b</sup>P<0,05;

<sup>#</sup> – a borderline difference versus the group with BMI 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup>, P=0,06;

<sup>##</sup> – a borderline difference versus the group with BMI 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup>, P=0,07.

The statistical analysis was performed by SPSS, version 21,0 for Windows. A comparative analysis of clinical, anthropometric and biochemical parameters was performed among the studied groups of women. The results are presented as mean±SD. Statistical significance was taken at the level of P<0,05. Comparative analysis concerning the values of SBP and DBP was performed using the Mann-Whitney test because of their non-normal distribution determined by the Kolmogorov-Smirnov test. The Pearson correlation coefficient (r) for assessing correlations among the investigated parameters was used.

## Results

Table 1 shows the clinical and anthropometric characteristics in the studied groups of women, namely 40 PCOS women with normal weight, 12 overweight women with PCOS and 24 PCOS women with I-st degree of obesity. The PCOS women with normal weight were significantly younger than the PCOS women with I-st degree of obesity. As was expected, the values of waist circumference were significantly higher in the obese women with PCOS than those in the other two groups (Table 1). Higher values of GLU0', IRI0', HO

**Table 3.**

Correlations (r – Pearson correlation coefficient) between the serum sE-selectin levels and the investigated clinical and metabolic parameters

Parameters	sE-selectin r
Age	0,268 P=0,048
Weight	0,422 P=0,001
BMI	0,467 P<0,001
Waist	0,463 P<0,001
WHR	0,318 P=0,018
IRI 0'	0,566 P<0,001
HOMA-IR	0,543 P<0,001
HDL-C	-0,312 P=0,020

MA-IR, TG and SBP were determined in the patients with PCOS and I-st degree of obesity compared to those with normal weight (Table 2). A significant difference in IRI0' and HOMA-IR was found between the overweight and the obese PCOS women – those with obesity had significantly higher values of the aforementioned parameters (Table 2). The serum levels of HDL-C were found to be the lowest in the PCOS women with I-st degree of obesity (Table 2).

We established significantly higher serum levels of sE-selectin in the PCOS women with I-st degree of obesity compared to those in the PCOS women with normal weight (Table 2). sE-selectin showed a positive correlation with age, weight, BMI, waist circumference, WHR, IRI0', HOMA-IR and a reverse one with HDL-C. Using linear regression analysis, we found that HOMA-IR was the strongest predictor of sE-selectin levels in the studied PCOS women ( $R=0,517$ ,  $R^2=0,268$ ,  $P<0,01$ ,  $F=10,59$ ) (Table 3).

## Discussion

We found significantly higher serum levels of sE-selectin in the obese insulin resistant PCOS women compared to those in the PCOS women with normal weight. The values of sE-selectin between the PCOS with normal weight and the overweight PCOS as well as between the overweight PCOS and those with obesity were comparable.

It is considered that sE-selectin represents a link between obesity and the related co-morbidities (7). Furthermore, this cytokine is suggested to be an independent predictor of T2DM (8).

Adamska et al. (9) carried out a study which aimed to evaluate the association of sE-selectin levels with insulin sensitivity and metabolic flexibility in 22 lean and 26 overweight/obese women. In fact, metabolic flexibility represents the capacity of the organism to adapt fuel

oxidation to fuel availability. The inability to modify fuel oxidation in response to changes in nutrient availability has been implicated in the accumulation of intramyocellular lipid and insulin resistance (10). The investigators of the aforementioned study performed a hyperinsulinemic euglycemic clamp and indirect calorimetry. Actually, an increase in the respiratory exchange ratio in response to insulin was used to measure metabolic flexibility. The results showed lower insulin sensitivity ( $P<0,01$ ) and higher plasma sE-selectin levels ( $P=0,007$ ) in the obese women. The Metabolic Syndrome total Z-score (MS Z-score) correlated positively with sE-selectin levels. The MS Z-score is one of the methods that may show the severity of MS and can be assessed using the standardized individual components such as waist circumference, blood pressure, lipid profile, glucose level and physical activity. A lower score means a better, and a higher score indicates a worse profile for individuals [11]. Similar to the results of our study, insulin sensitivity was found to correlate negatively with sE-selectin levels ( $P=0,04$ ). sE-selectin was negatively correlated with metabolic flexibility ( $P=0,003$ ). Using multiple regression analysis the investigators observed that the relationship between metabolic flexibility and sE-selectin ( $P=0,004$ ) was independent of the other evaluated factors. The data suggest that endothelial dysfunction (assessed by plasma sE-selectin) is associated with metabolic flexibility, inversely and independently of the other estimated factors. As a conclusion – the elevated serum sE-selectin levels in obesity could play an important role in the development of glucose and lipid metabolism disturbances.

A chronic low-grade inflammatory process and oxidative stress have been related to the pathogenesis of PCOS (12, 13), including a stimulated production of reactive oxygen species (ROS) by peripheral blood leukocytes (14, 15), an activation of leukocyte-endothelium interactions (16) and the proinflammatory transcription factor nuclear  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), as well as a rise in the levels of proinflammatory cytokines, bioactive atherogenic factors and C-reactive proteins (17, 18). Oxidative stress has been implicated in the etiology of IR in leukocytes from PCOS patients, and an increase in leukocytes has been highlighted as a marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in these subjects (19).

E. Diamanti-Kandarakis et al. conducted a prospective case-control study aiming to investigate whether soluble inflammatory markers – soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), sE-selectin and C-reactive protein (CRP) are altered in PCOS and to assess the effect of metformin treatment on their levels. The plasma levels of CRP (mg/l), sICAM-1 (ng/ml) and sE-selectin (ng/ml) were higher in the PCOS group compared to those in the controls ( $P<0,05$ ). A significant reduction in CRP and sVCAM-1 was achieved after 6 months of

metformin administration. Undoubtedly, the data shows a presence of chronic inflammation in the women with PCOS (17).

A study of V. Victor et al. included 101 subjects with PCOS and 105 clinically healthy subjects (controls). The PCOS subjects were divided into non-insulin resistant PCOS (HOMA-IR<2,5) and insulin resistant PCOS (HOMA-IR>2,5). Metabolic and anthropometric parameters, total and mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production, myeloperoxidase (MPO) levels, adhesion molecules (sE-selectin, sICAM-1 and sVCAM-1) and proinflammatory cytokines (IL-6 and TNF- $\alpha$ ) were evaluated. Oxidative stress was observed in the PCOS patients, in whom there was an increase in the total and mitochondrial ROS production and MPO levels. Increases in the levels of IL-6, TNF- $\alpha$  and adhesion molecules (sE-selectin, sICAM-1 and sVCAM-1) were also observed, particularly in the insulin resistant PCOS women. Similar to our data, HOMA-IR was positively correlated with sE-selectin ( $p<0.01$ ). The authors concluded that the existing inflammation in PCOS induced a simultaneous increase in IL-6, TNF- $\alpha$ , sE-selectin, sICAM-1 and sVCAM-1. The inflammatory process might be aggravated by the presence of IR (20).

The results of our study were partially confirmed by A. Taniguchi et al. who investigated the correlations between insulin resistance (IR) and sE-selectin levels, BMI, leptin, and serum lipid profile in 97 nonobese Japanese patients with T2DM. IR was estimated by HOMA-IR and the subjects were divided into 2 groups according to the values of HOMA-IR. Values greater than 2,5 were

indicative of an insulin-resistant state, and values less than 2,5 were indicative of an insulin-sensitive state. The insulin-resistant group had significantly higher levels of sE-selectin, leptin, TG, TC, LDL-C, and DBP as compared to those in the insulin-sensitive group. No significant difference in age, sex, diabetes duration, BMI, SBP, and HDL-C between the 2 groups was found. IR was positively correlated with sE-selectin ( $P=0,003$ ), BMI ( $P=0,006$ ), leptin ( $P=0,004$ ), TG ( $P<0,001$ ), TC ( $P=0,019$ ), LDL-C ( $P=0,013$ ), SBP ( $P=0,024$ ) and DBP ( $P=0,006$ ). Multiple regression analyses showed that IR was independently predicted by serum sE-selectin ( $F=18,4$ ), serum leptin ( $F=14,0$ ) and serum TG ( $F=20,0$ ) levels, which explained 45% of the variability of IR. It can be concluded that in conjunction with serum TG and serum leptin, serum sE-selectin is another important independent factor associated with IR in nonobese Japanese type 2 diabetic patients (21).

## Conclusion

The higher sE-selectin levels in the obese insulin resistant women with PCOS provided the idea for an incipient process of atherosclerosis in these patients. Although sE-selectin showed a positive correlation with a number of clinical and metabolic parameters, insulin resistance (determined by HOMA-IR) – more prominent in obesity, was confirmed to be the strongest predictor of sE-selectin levels in the obese PCOS women.

## References

1. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO, et al. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2745-2759.
2. Giallauria F, Orio F, Palomba S, Vigorato C. Cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *J Cardiovasc Med* 2008; 9:987-992.
3. Harrington E, Stefanec T, Newton J, Rounds S. Release of Soluble E-Selectin from Activated Endothelial Cells upon Apoptosis. *Lung* 2006, 184 (5):259-266.
4. Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, Gearing AJ. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187(2): 584-589.
5. Roldan V, Marin F, Lip GY, Blann AD. Soluble E-selectin in cardiovascular disease and its risk factors. A review of the literature. *Thromb Haemost* 2003; 90(6):1007-1020.
6. Newman W, Beall L D, Carson C W, Hunder GG, Graben N, Randhawa ZI, et al. Soluble E-selectin is found in supernatants of activated endothelial cells and is elevated in the serum of patients with septic shock. *J Immunol* 1993; 150(2):644-654.
7. El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Ibrahim SM. Adiponectin and pro-inflammatory cytokines in obese diabetic boys. *Indian Pediatr* 2011; 48(10): 815-816.
8. Kampoli AM, Tousoulis D, Briasoulis A, Latsios G, Papa-georgiou N, Stefanadis C. Potential pathogenic inflammatory mechanisms of endothelial dysfunction induced by type 2 diabetes mellitus. *Curr Pharm Des* 2011; 17(37):4147-4158.
9. Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Nikolajuk A, Otziomek E, Gorska M, Kowalska I, et al. Relationships of serum soluble E-selectin concentration with insulin sensitivity and metabolic flexibility in lean and obese women. *Endocrine* 2014; 45(3):422-429.
10. Galgani J, Moro C, Ravussin E. Metabolic flexibility and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(5): E1009-E1017.

11. **Brage S, Wedderkopp N, Ekelund U, Franks PA, Wareham NJ, Andersen LB, et al. E. Y. H. S.** (EYHS), features of the metabolic syndrome are associated with objectively measured physical activity and fitness in Danish children: the European youth heart study (EYHS). *Diabetes Care* 2004; 27(9):2141–2148.

12. **Zhao Y, Zhang C, Huang Y, Yu Y, Li R, Li M, et al.** Up-Regulated Expression of WNT5a Increases Inflammation and Oxidative Stress via PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B Signaling in the Granulosa Cells of PCOS Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100:201–211.

13. **Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, Gonzalez F.** Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril* 2011; 95:1048–1058.

14. **Gonzalez F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP.** Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:336–340.

15. **Victor VM, Rocha M, Banuls C, Sanchez-Serrano M, Sola E, Gomez M, et al.** Mitochondrial complex I impairment in leukocytes from polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:3505–3512.

16. **Victor VM, Rocha M, Banuls C, Alvarez A, de Pablo C, Sanchez-Serrano M, et al.** Induction of oxidative stress and human leukocyte/endothelial cell interactions in polycystic ovary

syndrome patients with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:3115–3122.

17. **Diamanti-Kandaraki E, Paterakis T, Alexandraki K, Piperi C, Aessopos A, Katsikis I, et al.** Indices of low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin. *Human Reproduction* 2006; 21(6):1426–1431.

18. **Gonzalez F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP.** In vitro evidence that hyperglycemia stimulates tumor necrosis factor alpha release in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol* 2006; 188:521–529.

19. **Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanova L, et al.** The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2–5.

20. **Victor V, Rovira-Llopis S, Banuls C, Diaz-Morales N, Martinez de Maranon A, Rios-Navarro C et al.** Insulin Resistance in PCOS Patients Enhances Oxidative Stress and Leukocyte Adhesion: Role of Myeloperoxidase. *PLoS One* 2016; 11(3):e0151960.

21. **Taniguchi A, Fukushima M, Nakai Y, Kuroe A, Yamano G, Yanagawa T, et al.** Soluble E-selectin, leptin, triglycerides, and insulin resistance in nonobese Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism*. 2005; 54(3):376–380.

# www.endotext.org

✓ Свободно достъпен сайт, предлагащ изчерпателна информация във всички области на клиничната ендокринология, предоставена от екип водещи световни специалисти ръководен от Prof. Leslie De Groot (САЩ).

✓ Поместваните материали, текущо актуализирани, са съобразени със съвременните международни стандарти за диагностика и лечение на ендокринните заболявания

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

## Книгопис

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

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

## References

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

## Examples

### Reference to a journal article:

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

### If the original cited paper is in Bulgarian:

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

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

### Примери:

#### Статия от списание:

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

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

#### Глава (раздел) от книга:

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

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

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

### References to a book chapter:

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

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

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

#### Editorial Board Address for Correspondence:

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