



Bulgarian Academy of
Sciences and Arts

Българска Академия на
Науките и Изкуствата

Bulgarian *medicine*

Българска медицина

Editorial Board/*Редакционна колегия:*

Philip Kumanov (Editor-in-chief)

Филип Куманов (главен редактор)

Drozdstoj Stoyanov (Scientific Secretary)

Дроздстой Стоянов (научен секретар)

Boyan Lozanov/ Боян Лозанов

Dobrin Svinarov/ Добрин Свинаров

Georgi Kirilov/ Георги Кирилов

Grigor Velev/ Григор Велев

Margarita Kamenova/ Маргарита Каменова

Marussia Petkova/ Маруся Петкова

Mihail Boyanov/ Михаил Боянов

International Advisory Board

Международен редакционен съвет:

Ashok Agarwal (Cleveland, Ohio, US)

Ашок Агарвал (Кливланд, САЩ)

Günter K. Stalla (München, Germany)

Гюнтер Стала (Мюнхен, Германия)

Juan E Mezzich (New York, USA)

Хуан Е. Месич (Ню Йорк, САЩ)

Kenneth William Fulford (Warwick, Oxford, UK)

Кенет Уилиам Фулфорд (Уоруик, Оксфорд,
Обединено Кралство)

Samuel Refetoff (Chicago, Illinois, US)

Самуел Рефетоф (Чикаго, САЩ)

Stanley B. Prusiner, (San Francisco, USA)

Стенли Призинър, Сан Франциско, САЩ

Bulgarian *medicine*

Editorial message



Dear colleagues and readers,

A great courage is expected in order to make an effort to bring forward scientific research edition before the medical community in such period of economical impasse and muddle in the health care system. More specifically the re-launch and restitution of the well-known „Bulgarian Medicine“ Journal, published in the last decades. This time it will be published in English language and only exceptional announcements and reviews will be accepted in Bulgarian. The adoption of the English language comes from the willingness to publicize the observations and hopefully discoveries of our research bodies worldwide. Currently English has been imposed as international language for scientific communities in the same mode as the Latin was governing literary language of the Medieval and Renaissance medicine.

We are happy to announce that outstanding scientists from European Union and the United States of America were so kind to accept our invitation and join the International Advisory Board, among them Stanley B. Prusiner – Nobel Laureate for Medicine/Physiology (1997) for his discovery of the prions.

We hope that you will find answers to the queries arising in your everyday practice in our re-established journal. At the same time we hope that in your capacity of contributing authors you will be equally satisfied with the publication of your original papers in Bulgarian Medicine.

Let me wish you health and prosperity in both medical and research career.

We create as long we breathe!

Prof. Philip Kumanov, MD, PhD, DMSc
Editor-in-chief, Bulgarian Medicine Journal

Уважаеми читатели! Драги колеги!

Голяма смелост е необходима, за да се направи опит в това време на безизходица в икономиката и безпътница в здравеопазването да се предложи строго научно издание на вниманието на оредяващата лекарска общност у нас. По-точно да бъде възстановено известното от недалечното минало списание „Българска медицина“. Сега обаче то ще излиза на английски език и само важни съобщения и обзори по животрелпящи проблеми от теорията и практиката ще бъдат публикувани на български. Възприемането на английския език не е проява на чуждопоклонство, а е породено от желанието наблюденията и, дай Боже, откритията на нашите учени да стават незабавно известни на колегите по целия свят. Понастоящем английският се е наложил като език на международната научна общност, тъй както през Средновековието и Възраждането латинският е бил книжовният език и е господствал в медицината.

Щастливи сме, че в Международния Редакционен съвет приеха да участват водещи учени от Европа и САЩ, между тях е лауреатът на Нобелова награда професор Stanley B. Prusiner, откривателят на прионите.

Дано Вие, уважаеми колеги, като читатели намерите по страниците на възобновеното списание отговори на въпроси от всекидневната Ви практика. И дано пак Вие, скъпи колеги, като автори бъдете лично удовлетворени след появата в „Българска медицина“ на Ваши оригинални трудове.

Здраве и успехи в лекарското поприще и в научната дейност!

Докато дишаме творим!

Проф. Д-р Филип Куманов, г.м.н.
Главен редактор на списание „Българска медицина“

Contents

• R. Robeva, A. Tomova, Ph. Kumanov Hormonal drugs abuse	4
• Marianna Murdjeva, Nikolay Krastev, Marian Draganov, Petya Gardjeva Antimitochondrial Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis – the Challenge of Diagnostic Methods and Their Clinical Value	14
• Svetlin Tsonev, Marina Garcheva, Temenuga Donova, Maria Milanova, Michail Matveev An Objective Proof of Decreased Functional Capacity in Patients with Cardiac Syndrome X using SPECT CT	22
• Ivan Kindekov, V. Vassilieva, M. Mileva, M. Alyakov. Supplementation with Respistim plus as Protector Against Ionizing Radiation in Experimental Conditions	29
• R. Robeva, D. Dobрева, G. Kirilov, A. Tomova, A. Savov, Ph. Kumanov Androgen Receptor Polymorphism in Healthy Hirsute and Non-hirsute Young Women	41
• Drozdstoj Stoyanov, Non-linear Complex Dynamics and the Medical Definition of Mental Disorder	48
• Supplement	57
• Author's guidelines	77

Съдържание

• Р. Робева, А. Томова, Ф. Куманов Злоупотреба с хормонални препарати	4
• Мариана Мурджева, Николай Кръстев, Мариан Драганов, Петя Гарджева Антимитохондриални антитела при първична билиарна цирроза – предизвикателства на диагностичните методи и клинична стойност	14
• Светлин Цонев, Марина Гарчева, Теменуга Донова, Мария Миланова, Михаил Матвеев Доказателство за намаления функционален капацитет при пациенти с кардиологичен синдром X чрез SPECT CT	22
• Иван Кендеров, В. Василева, М. Милева, М. Аляков Приложение на Респистим плюс като радиопротектор в експериментални условия	29
• Р. Робева, Д. Добрева, Г. Кирилов, А. Томова, А. Савов, Ф. Куманов Полиморфизъм на андрогенния рецептор при здрави хирзутидни и нехирзутидни жени	41
• Дроздстой Стоянов, Нелинейни комплексни динамични системи и медицинското определение за психично разстройство	48
• Supplement	57
• Указания за авторите	77

Hormonal Drugs Abuse

R. Robeva, A. Tomova, Ph. Kumanov

Clinical Center of Endocrinology, Medical University – Sofia

Злоупотреба с хормонални препарати

Р. Робева, А. Томова, Ф. Куманов

Клиничен център по ендокринология, Медицински университет – София

Abstract

Doping is undoubtedly one very important problem but actually it concerns a few elite athletes. The real threat of the hormonal drugs abuse lies in the uncontrolled use of these substances by adolescents and young people. In the present review the types of anabolic steroids and their side effects have been reviewed. Probably, the prolonged application of supraphysiological doses of steroids can provoke cardiovascular, hepatic and mental disturbances. The use of other hormones like somatotropin, insulin-like growth hormone 1, insulin and thyroid hormones becomes also very frequent among amateurs. In contrast to the other substances insulin overdose can lead immediately to fatal incident and that makes it notably dangerous.

The present problem needs more attention, because the number of hormonal abuse victims increases and probably they will need medical help more often in the future, especially in the emergency units, internal medicine departments and psychiatric clinics.

Резюме

Използването на допинг е безспорно важен проблем, но засяга относително малко елитни спортисти. Истинската опасност от злоупотребата с хормонални препарати се крие в безконтролното използване на тези субстанции от подрастващото поколение. В настоящия обзор се дискутират видовете анаболи и техните странични ефекти. Продължителният прием на твърде високи дози стероиди вероятно предизвиква сърдечно-съдови, чернодробни и психични нарушения. Употребата на други хормонални средства като соматотропин, инсулиноподобен растежен фактор 1, инсулин и трийодтиронин от хора, които нямат нищо общо с професионалния спорт, също зачестява. За разлика от другите посочени вещества предозирането на инсулин може да доведе до фатален инцидент много по-бързо, което го прави особено опасен.

На тези проблеми трябва да се обърне по-голямо внимание, тъй като е много ве-

Key words:

anabolic steroids, growth hormone, insulin, abuse.

Използването на допингови средства съпровожда развитието на спорта от древни времена до наши дни. След изолирането на тестостерона в началото на миналия век, все повече атлети посягат към анаболните стероиди, за да подобрят спортните си постижения (16). Същевременно половите хормони, а по-късно и соматотропинът навлизат в т. нар. anti-ageing индустрия, която убеждава хилядите си възрастни клиенти, че именно употребата на хормонални препарати е ключът към вечна младост.

Използването на допинг безспорно е важен проблем, но засяга относително малко елитни спортисти. Приемът на хормони като средство за подмладяване също има странични ефекти, но при всички положения е съзнателен избор на достатъчно зрели хора. Истинската опасност от злоупотребата с хормонални препарати се крие в безконтролното използване на тези субстанции от подрастващото поколение. Физическите, психическите и икономическите последици на този феномен за съжаление са непрегвдими.

Няма как да се установи със сигурност, какво е потреблението на анаболни стероиди и други подобни медикаменти на черния пазар. Законодателството и етичните норми не допускат извършването на проучвания върху здрави доброволци с дози и схеми, съответстващи на тези, които се използват нелегално (24). Следователно, трябва да се подчертае, че съществуващата информация за честотата на

роятно медицинският персонал в спешните отделения, вътрешните и психиатричните клиници да се среща все по-често с жертви на хормонална злоупотреба.

Ключови думи:

анаболни стероиди, растежен хормон, инсулин, злоупотреба

употреба, ефектите и потенциалните рискове от приложението на хормонални препарати е непълна и се основава в голяма степен на предположения.

Честота на злоупотреба и видове хормонални препарати

Според изследвания в различни популации, които изучават злоупотребата с анаболни стероиди (АС), тя засяга между 1 и 5% от подрастващите (41). Проучване сред шведски тинейджъри показва, че 3,6% от 16-годишните и 2,2% от 17-годишните са приемали анаболни стероиди, като 43% са ги използвали в продължение на най-малко една година (27). Приемът на този тип медикаменти се среща и в по-млади възрастови групи: 2,5% от 13-14-годишните американски ученици и подобен процент от австралийците на възраст между 12 и 15 години признават, че са употребявали анаболи (9, 45).

За да изяснят кои точно медикаменти се използват най-често, английски изследователи са изпратили въпросници на 210 посетители на фитнес клубове в Южен Уелс. 136 мъже и 10 жени са се включили в анонимната анкета. Резултатите показват, че 70% от участвалите в проучването са приемали хормонални препарати през последната година, като 65,8% все още използват такива. 96% не са имали затруднения

с намирането на стероидни медикаменти по избор, а по-голяма част от младежите са употребявали повече от един препарат. Средната възраст, на която е започнал приемът на анаболи, е била 18 години, а най-често използваните стероидни и нестероидни субстанции според проучването са представени на таблица 1 (4).

От 1993 година в Швеция функционира гореща антидопинг линия, на която анонимно може да се получи информация за различните видове допингови средства. До 2006 година на този телефон са регистрирани 40 000 обаждания. Отново най-дискутирани са били стероидните препарати – testosterone, nandrolone decanoate, methandienone и stanozolol. Сред нестероидните хормонални медикаменти най-много запитвания са отправени за човешкия хорион-гонадотропин, растежния хормон, инсулино-подобния растежен фактор-1 (IGF-1) и инсулина (40).

Причини за злоупотреба с хормонални препарати

Причините за злоупотреба с хормони вероятно са различни във всеки отделен случай. Независимо от това, съществуват рискови групи, които трябва да се имат предвид най-вече с оглед на потенциалното лечение.

Проучване сред тинейджъри показва, че основна причина за злоупотребата с анаболи е желанието за по-атрактивен външен вид (27). В много случаи необходимостта от внушителна физика е свързана с психическото нарушение *бигорексия*, известно още като *обратна анорексия* или *мускулна дисморфия*. При това състояние за разлика от класическата анорексия, проблемът не е в страха от напълняване, а в липсата на достатъчно мускулеста фигура или достатъчна мускулна сила. Бигорексията е форма на obsесивно-компулсивно разстройство. При нея фокусирането на болните върху „дефектите“ на тяхна-

та фигура води до прекарване на безкрайни часове във фитнесзалите, като това постепенно предизвиква проблеми в социалната среда и на работното място. Засегнатите са склонни да харчат огромни средства за хранителни добавки и различни групи субстанции, които биха могли да повлияят натрупването на мускулна маса. Счита се, че над 100 000 души по света покриват формалните критерии за това състояние (21).

Друга съществена причина за желание то да се развие свръхатлетична фигура и съответно сила, е преживяното насилие. Според проучване върху мъже, занимаващи се със силови спортове, 25% от употребяващите стероиди са били жертва на физическо или сексуално насилие в детството си. Аналогично, сред жени, които вдигат тежести, тези, които са били жертва на изнасилване, приемат два пъти по-често анаболи в сравнение с останалите. Пострадалите вярват, че с развитието на мускулна маса биха могли да предотвратят последващо насилие, тъй като потенциалните нападатели биха ги възприели като застрашителни или неатрактивни (43).

Друга особена рискова група са погротващите авантюристи. Те употребяват хормонални препарати, като част от комплексен модел на високорисково поведение. За този тип младежи е характерно шофирането в нетрезво състояние, носенето на оръжие, както и употребата на забранени субстанции (43).

Злоупотреба с тестостерон и анаболни стероиди

Андрогените са абсолютно необходими за силния пол през целия живот. В ембрионалния период те определят развитието на половите органи, през пубертета – възмъжаването, а у зрелия мъж поддържат фенотипа и имат важни анаболни функции. От друга страна взаимодействието между андрогените и андрогенния рецептор подпомага и процеси, съществени за

Table 1. Най-често употребявани стероидни и нестероидни препарати (4). % - процент на младежите (n=96), употребявали посочените медикаменти, сред участниците в анкетата. Процентите са повече от 100 поради полифармацията.

Анаболни стероиди	%	Нестероидни препарати	%
Deca durabolin (Nandrolone decanoate)	87	Ephedrine	44
Тестостерон	85	Расстежен хормон	24
Methandienone (Methandrostenolone)	89	Tamoxifen	22
Anadrol (Oxymetholone)	62	Clenbuterol	21
Winstrol/Stromba (Stanozolol)	67	Инсулин	14
Primobolin	23	Човешки хорионгонадоотропин	11
Equipoise (Boldenone)	16	Диуретици	10
Maxibolin (Ethylestrenol)	4	Щитовидни хормони	10
Finajet (Trenbolone)	4	Други стероиди	4

гвата пола, като модулирането на имунитета и развитието на нервната система (1, 35).

Андрогенното действие на тестостерона е отговорно за изграждането и поддържането на мъжката репродуктивна система, докато анаболните му ефекти са свързани със стимулиране на азотната фиксация и увеличен синтез на протеини. Терапевтичният потенциал на мъжкия полов хормон води до синтезирането на много негови производни за преодоляване на катаболни състояния. Целта е да се разработят вещества с по-изразени анаболни качества, по-слаби андрогенни ефекти, удължено биологично действие и възможност за перорален прием. Въпреки че пълна дисоциация на андрогените от анаболните действия не е постигната, някои синтезирани вещества имат значително по-изразена анаболна активност от останалите (38). Според химическата структура

и начина на приложение анаболните стероиди могат да се класифицират в три групи: тестостеронови естери, 19-нортестостеронови производни и 17- α алкилирани медикаменти, разработени за перорален прием (44).

Лечението с тестостерон е показано при всички форми на хипогонадизъм. В допълнение, приложението на андрогени може да има положителен ефект и при други патологични състояния като апластична анемия, анемия при бъбречна недостатъчност, наследствен ангионевротичен едем, напреднал карцином на гърдата и кахексия при СПИН (1, 23). Супрафизиологичните дози тестостерон особено в комбинация със силови тренировки увеличават немастната тъкан, мускулната маса и сила при здрави мъже (5). Това е и основната причина за употребата на стероида от подрастващото поколение.

Приемът на анаболи е рисков за здраве-

то най-вече поради консумацията на твърде високи дози, самостоятелно или в комбинация с други вещества. В Интернет може да се намери описание на стероиден цикъл за напреднали, който включва употреба на Testosterone Enanthate – 800 mg седмично наред с Deca-Durabolin 500 mg на седмица и Stanozolol – 50 mg всекидневно. За сравнение профилактичната доза Stanozolol, използвана при наследствен ангионевротичен оток е 2 mg на ден, като в тази доза страничните ефекти на препарата са минимални (8).

Продължителният прием на супрафизиологични дози анаболни стероиди оказва странични ефекти върху сърдечно-съдовата система като хипертония, кардиомиопатия, левокамерна хипертрофия, дислипидемия, миокардна исхемия, нарушения в коагулацията и аритмии (18). За разлика от повишеното артериално налягане и дислипидемията, които се коригират след спирането на злоупотребата, атеросклеротичните промени и кардиомиопатията вероятно са необратими (18). Ashar и съавт. обобщават резултатите от 49 налични до момента проучвания и заключават, че при атлетични мъже с нарушения в липидния профил (високи стойности на липопротеините с ниска плътност и понижени нива на липопротеините с висока плътност), хипертония и променени размери на лявата камера следва да се има предвид възможна злоупотреба с анаболи (3). Трябва да се знае, че по-голямата част от потребителите на стероиди не признават пред своите лекари, че приемат хормонални препарати (34).

Приемът на андрогенни препарати е свързан с преходно понижаване на гонадотропините и намаляване на размерите на тестисите. Част от атлетите съобщават за промени в либидото и еректилна дисфункция в края на стероидните цикли или след спирането им (28). Опитите с животни показват, че комбинирането на физически упражнения със супрафизиологични дози nandrolone decanoate предизвиква апотоза на герминативния епител в тестисите и влошава значително качеството на спермата (39). Приложението на анаболи

при бодибилдери също води до понижаване на броя на сперматозоидите и съответно на фертилитета (6). Ендокринният дисбаланс и репродуктивната функция обикновено се нормализират, след като приемът на анаболи бъде прекратен (37, 42). В подкрепа, Boyadjiev и съавт. описват случай на български атлет, злоупотребявал с Bionabol и Retabolil, у когото първоначално са установени естремно ниски концентрации на тестостерона и азооспермия. Пет месеца покъсно пациентът вече е с олигоспермия, а 10 месеца след спирането на анаболните стероиди – нивата на тестостерона са се нормализирали, а концентрацията на сперматозоидите достига 20 милиона в ml (7). Възстановяването на сперматогенезата обаче при някои е много по-бавно, отколкото е при други и може да се придружава от дефекти в мейотичното делене на половите клетки (26, 37). Дали след дълггодишна употреба на стероиди герминативната функция наистина се нормализира при всички и какъв е рискът от последващи генетични аномалии понастоящем остава неясно.

Употребата на анаболни препарати може да се съпровожда и от други соматични нарушения. Приемът на орално активни 17- α алкилирани стероиди се свързва с развитието на различни чернодробни увреждания като пелиоза, интрахепатална холестаза, аденоми и карциноми, ангиосарком и дори спонтанна руптура на черния дроб. Промени в чернодробната функция се срещат изключително рядко при употреба на неалкилирани анаболи (18). Въпреки че посочените ефекти са описани само в отделни изолирани случаи, прави впечатление, че повечето Интернет схеми на примерни анаболни цикли препоръчват същевременно и прием на хепатопротектори.

В допълнените, стероидите могат да оказват и много други ефекти върху физиката и психиката на тези, които злоупотребяват с тях. При жени андрогенните стероиди предизвикват вирилизация и менструални нарушения, при мъже – гинекомастия. Приемът на анаболи в твърде ранна

възраст води до предивременно затваряне на епифизите и последващ по-нисък краен ръст (15). Въпреки че не застрашават пряко живота, тези странични ефекти могат да се отразят неблагоприятно върху самочувствието на позрастващите. Освен това анаболните стероиди пряко въздействат върху психиката на младежите: 23% от потребителите на хормоналните средства съобщават за депресия, мания или хипомания (33). Гръцко плацебо-контролирано проучване показва, че употребата на съвременни анаболи води до широк спектър от психопатологични странични ефекти като враждебност, агресия, фобии, депресии, обсесии, компулсии и т.н. Важно е да се отбележи, че тежестта на психичните промени е пряко свързана с дозите на използваните медикаменти (29). Счита се, че при някои потребители на анаболи може дори да се развие зависимост. Проучванията върху животни и хора показват, че тя е свързана с опиоидните системи в мозъка (17).

С оглед на посочените рискове за здравето възниква въпросът, дали смъртността при младежите, употребяващи хормонални препарати, е повишена. Petersson и съавт. са подложили на анализ наличната статистическа информация за 1463 души, предоставили проби за анаболни стероиди между 1995 и 2001 година, със съответен положителен или отрицателен резултат. Младежите са били насочени за изследване от общопрактикуващи лекари, клиници за терапия на зависимости, психиатри и други лечебни заведения. Данните показват, че независимо от вида на изпращащата институция, смъртността при хората, употребявали стероидни медикаменти, е била над два пъти по-висока в сравнение с останалите. Средната възраст, на която са починали младежите с положителни проби е била 26,5 години, а най-честите причини за смъртта са били самоубийството и свръхдозата наркотици (32). Друго проучване също изследва смъртността сред 62 силови спортисти, за които се предполага, че са употребявали анаболни средства. След 12

годишно проследяване смъртността сред тях е била 12,9% срещу само 3,4% в контролната група. Най-честите причини за смъртта са били самоубийството и острият миокарден инфаркт (31). Високата честота на самоубийства и в двете групи показва, че връзката между психическите нарушения и анаболната злоупотреба е много тясна и следва да бъде проучена детайлно.

Анаболната зависимост е сред проблемите, за които съвременните познания са все още твърде ограничени. Ясно е, че много младежи започват да употребяват стероиди, но всъщност повечето от тях използват медикаментите циклично, като общото време на експозиция не надхвърля една година. Отделни атлети обаче продължават да употребяват анаболи постоянно и независимо от възникващите медицински, психични, професионални и социални усложнения. Именно при тях състоянието еволюира до степен, която много наподобява „класическите“ зависимости. При тези хора се установява подчертана склонност към полифармация, като най-често приеманите от тях допълнителни хормонални средства са растежният хормон, инсулинът, инсулиноподобният растежен фактор 1 и трийодтиронинът (19). За разлика от злоупотребата с анаболни стероиди, нелегалният прием на комбинацията от тези хормони се обсъжда много по-рядко в литературата.

Злоупотреба с растежен хормон, инсулиноподобен растежен фактор 1, инсулин и щитовидни хормони

От дълги години синтетичният растежен хормон (РХ, соматотропин) се използва успешно за лечение на нанизъм при деца. Той подобрява качеството на живот и у възрастни пациенти с намалена ендогенна продукция на хормона. РХ стимулира растежа на костите и хрущялите, подпомага липолизата, увеличава синтеза на протеини и съответно натрупването на мускулна маса. Повечето от действията му

се осъществяват чрез стимулиране на производството на инсулиноподобния растежен фактор 1 (IGF-1) (2). Когато се прилага заедно с тестостерон, РХ значително намалява телесните мазнини и увеличава немастната тъкан (25). Вероятно поради това едновременната злоупотреба с анаболни стероиди и РХ зачестява. Цитираната по-горе анкета сред фитнесклубовете в Уелс показва, че 24% от тези, които употребяват анаболи, приемат и соматотропин (4).

Приложението на РХ при здрави възрастни хора е свързано с множество странични ефекти като например отоци на меките тъкани, артралгии, синдром на карпалния тунел и възлехидратни промени (22). При болните с акромегалия (и съответно с повишена собствената продукция на РХ и IGF-1) е установена предивременна смъртност поради сърдечно-съдови, белодробни и ракови заболявания (36). На практика обаче не е ясно какви странични ефекти биха възникнали при дългогодишна едновременна употреба на различни видове анаболни стероиди в комбинация с РХ.

Човешкият рекомбинантен IGF-1 е разработен за лечение на деца с нарушения в растежа и болни с тежка инсулинова резистентност. Той опосредства много от анаболните ефекти на РХ, стимулира синтеза на протеини в мускулите и повишава липолизата. Тези качества го правят много подходящ за разпространение сред атлети, които искат да подобрят постиженията си чрез забранени методи (13). Анонимни потребители от Интернет форумите наричат IGF-1 „новото чудотворно средство на 90-те“.

На пазара се срещат две разновидности на хормона: рекомбинантен човешки IGF-1 и рекомбинантен протеинов комплекс от IGF-1 и свързващия IGF-1 протеин 3 в еквимоларно съотношение. Най-честите странични ефекти на тези препарати са хипогликемия, болка в челюстите, главоболие, миалгии и задържане на течности. При прилагане на комбинирания медикамент обаче, IGF-1 циркулира под формата на комплекс, поради което плазменият му полу-

живот се удължава, а страничните ефекти намаляват. Въпреки това при твърде голяма доза или едновременно приложение на инсулин може да възникне хипогликемия (13).

Инсулинът също се използва от атлетите поради изразените си анаболни качества. Какво е реалното потребление на хормона сред аматьорите във фитнес залите не е известно. Анонимна анкета разкрива, че от 500 потребители на анаболни стероиди, 25% са приемали допълнително инсулин в доза между 2 и 60 единици/дневно. Това показва, че в периода 1997 – 2006 честотата на злоупотреба с този хормон се е увеличила повече от 12 пъти. Следва да се подчертае, че 78% от участниците в проучването не са били спортисти, т.е. приемът на медикаменти е имал за цел по-скоро козметични промени, отколкото подобрене на постиженията (10, 30). Неотдавна под наше наблюдение беше младеж, употребявал продължително време по 90 единици инсулин на ден с цел развитие на мускули.

За разлика от злоупотребата с анаболни стероиди, безконтролният прием на инсулин може да доведе до смърт веднага. В литературата са описани няколко случая на хипогликемична кома при млади мъже след смяна на използвания инсулин, както и след приложение на твърде висока доза – 70 единици (11, 20). Възможно е да има случаи с фатален край, неизвестни на широката общественост. Не трябва да се подценяват също така ефектите на честите хипогликемии върху нервната система и психиката на младежите.

Бегла справка в Интернет показва, че към цикъла с тестостерон, растежен хормон, IGF-1 и инсулин е „желателно“ да се добавят и щитовидни хормони. Примерна схема препоръчва трийодтиронин, като първоначалната доза е 12,5 µg, а впоследствие се стига до 100–150 µg/дневно. Страничните ефекти при злоупотреба с тироидни хормони са добре известни: ускорение на катаболните процеси в костите и мускулите, палпитации, повишена нервност, аритмии и други (15).

Коментираниите дотук нежелани действия засягат само преките ефекти от преозизирането на хормонални вещества. Не по-малък проблем обаче е и приемът на нелегално синтезирани или фалшиви субстанции, включително и на препарати, предназначени за ветеринарни нужди (14). Освен това по време на стероидните цикли, както и при тяхното прекратяване, се използват много други лекарства и хранителни добавки с цел да се подобри ефекта или да се намалят страничните действия. Списъкът на тези вещества може да включва: човешки хорионгонадотропин, антиестрогени и ароматазни инхибитори като clomiphene citrate, tamoxifen, raloxifen, cyclofenil, aminoglutethimide, exemestane, testolactone, formestane, letrozole и anastrozole, стимуланти на нервната система като амфетамини, coffeine и ephedrine, диуретици, clenbuterol и други (15). Възможните схеми и комбинации са различни и се изготвят от съответни „Специалисти“, чиято компетентност често е много съмнителна. Абсолютно неясни са и дългосрочните странични ефекти на полифармацията, като например канцерогенният потенциал на комбинацията от инсулин, растежен хормон, IGF-1 и анаболни стероиди.

С оглед на обективността трябва да се подчертае, че в някои Интернет сайтове рекламите на стероиди и други хормонални субстанции са придружени от конкретна медицинска информация за възможните нежелани последици. Това обаче съвсем не важи за всички електронни издания. Същевременно някои пограстващи, които мечтаят за внушителна физика, нямат абсолютно никаква представа за реалните рискове от злоупотребата с хормони. Дори възрастни американски атлети, които приемат анаболни стероиди от години, са ужасени от наивността, с която пограстващото поколение се отнася към тях:

„...В края на 40-те атлетите ги използват внимателно, дойдоха 50-те и се появиха синтетички, през 60-те започнаха изследвания, в края на 60-те и началото на 70-те лекарствените компании осъзнаха, че пазарът е адски голям и хвърлиха малко долари

за проучвания. Сега стероидите са толкова сложни и стават все по-сложни...

Не мисля, че тялото може да постигне дозите или науката във всички тях. А и сега ги използват много повече хора... Така че след 20 години ще видите цял куп хора да умират. Но трябва да почакате 20 години“ (12). Тази зловеща прогноза на възрастен анаболен „user“ не бива да става факт нито в България, нито някъде по света. Затова е необходимо младите хора да разполагат с повече обективна информация за хормоналните средства, която да получават от своите лекари, а не от случайни форуми в мрежата. Вероятно медицинският персонал в спешните отделения, психиатричните и вътрешните клиники ще се среща все по-често с последиците на анаболната злоупотреба, поради което трябва да е наясно с реалните размери на проблема и да е добре подготвен, за да може да окаже активна подкрепа на зависимите.

References

1. **Куманов, Ф.** Ендокринна функция на тестисите. В: Ендокринология. Б. Лозанов (Ред.). София, Издателство Тилиа, 2000, 922-933.
2. **Куманов, Ф. Соматотропна ос.** В: Климактериум и мъжа? София, АБ Студио, 2002, 30-32.
3. **Achar, S., A. Rostamian, S. Narayan.** Cardiac and metabolic effects of anabolic-androgenic steroid abuse on lipids, blood pressure, left ventricular dimensions, and rhythm. *Am. J. Cardiol.*, 106, 2010, 893-901.
4. **Baker, J.S., M.R. Graham, B. Davies.** Steroid and prescription medicine abuse in the health and fitness community: A regional study. *Eur. J. Intern. Med.*, 17, 2006, 7, 479-484.
5. **Bhasin, S., T.W. Storer, N. Berman et al.** The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N. Engl. J. Med.*, 335, 1996, 1-7.

6. **Bonetti, A., F. Tirelli, A. Catapano et al.** Side effects of anabolic androgenic steroids abuse. *Int. J. Sports. Med.*, 29, 2008, 8, 679-687.
7. **Boyadjiev, N. P., K. N. Georgieva, R. I. Massaldjieva, S. I. Gueorguiev.** Reversible hypogonadism and azoospermia as a result of anabolic-androgenic steroid use in a bodybuilder with personality disorder. A case report. *J Sports Med Phys Fitness.*, 40, 2000, 3, 271-274.
8. **Cicardi, M., L. Bergamaschini, M. Cugno et al.** Long-term treatment of hereditary angioedema with attenuated androgens: a survey of a 13-year experience. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 87, 1991, 4, 768-773.
9. **Dunn, M., V. White.** The epidemiology of anabolic-androgenic steroid use among Australian secondary school students. *J. Sci. Med. Sport.*, 2010, doi:10.1016/j.jsams.2010.05.004
10. **Evans, N. A.** Gym & Tonic: a profile of 100 male steroid users. *Br. J. Sports. Med.*, 31, 1997, 54-58.
11. **Evans, P. J., R. M. Lynch.** Insulin as a drug of abuse in body building. *Br. J. Sports. Med.*, 37, 2003, 4, 356-357.
12. **Goldstein, P.** Anabolic steroids: an ethnographic approach. In: NIDA Research Monograph series. №102. Anabolic steroid abuse. *G. Lin, L. Erinoff (Eds).* NIDA, Rockville, 1990, 74-96.
13. **Guha, N., P. H. S?nksen, R. I. Holt.** IGF-I abuse in sport: current knowledge and future prospects for detection. *Growth. Horm. IGF. Res.*, 19, 2009, 4, 408-411.
14. **Handelsman, D. J. Testosterone:** use, misuse and abuse. *Med. J. Aust.*, 185, 2006, 8, 436-439.
15. **Hoffman, J. R., W. J. Kraemer, S. Bhasin et al.** Position stand on Androgen and human growth hormone use (National Strength and Conditioning Association). *J. Strength. Cont. Res.*, 23, 2009, 5, S1-S59.
16. **Holt, R. I., I. Erotokritou-Mulligan, P. H. S?nksen.** The history of doping and growth hormone abuse in sport. *Growth. Horm. IGF. Res.*, 19, 2009, 4, 320-326.
17. **Kanayama, G., K. Brower, R. Wood et al.** Anabolic-androgenic steroid dependence: an emerging disorder. *Addiction.*, 104, 2009, 12, 1966-1978.
18. **Kanayama, G., J. I. Hudson, H. G. Pope.** Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: a looming public health concern? *Drug. Alcohol. Depend.*, 98, 2008, 1-2, 1-12.
19. **Kanayama, G., J. I. Hudson, H. G. Pope.** Features of men with anabolic-androgenic steroid dependence: A comparison with nondependent AAS users and with AAS nonusers. *Drug. Alcohol. Depend.*, 102, 2009, 1-3, 130-137.
20. **Konrad, C., G. Sch?pfer, M. Wietlisbach, H. Gerber.** Insulin as an anabolic: hypoglycemia in the bodybuilding world. *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.*, 33, 1998, 7, 461-463.
21. **Leone, J. E., E. J. Sedory, K. A. Gray.** Recognition and treatment of muscle dysmorphia and related body image disorders. *J. Athl. Train.*, 40, 2005, 4, 352-359.
22. **Liu, H., D. M. Bravata, I. Olkin et al.** Systematic review: the safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly. *Ann. Intern. Med.*, 16, 2007, 146, 104-115.
23. **Liu, P. Y., D. J. Handelsman.** Androgen therapy in non-gonadal disease. In: Testosterone - action, deficiency and substitution. E. Nieschlag, H. Behre (Eds). Berlin, Springer Verlag, 1998, 474-512.
24. **Lombardo, J. Anabolic-Androgenic Steroids.** In: NIDA Research Monograph series. No 102. Anabolic steroid abuse. *G. Lin, L. Erinoff (Eds).* NIDA, Rockville, 1990, 60-73.
25. **Meinhardt, U., A. E. Nelson, J. L. Hansen et al.** The effects of growth hormone on body composition and physical performance in recreational athletes: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.*, 152, 2010, 9, 568-577.
26. **Moretti, E., G. Collodel, A. La Marca et al.** Structural sperm and aneuploidies studies in a case of spermatogenesis recovery after the use of androgenic anabolic steroids. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 24, 2007, 5, 195-198.
27. **Nilsson, S., A. Baigi, B. Marklund, B. Fridlund.** The prevalence of the use of androgenic anabolic steroids by adolescents in a county of Sweden. *Eur. J. Public. Health.*, 11, 2001, 195-197.
28. **O'Sullivan, A. J., M. C. Kennedy, J. H. Casey et al.** Anabolic-androgenic steroids: medical assessment of present, past and potential users. *Med. J. Aust.*, 173, 2000, 6, 323-327.
29. **Pagonis, T. A., N. V. Angelopoulos, G. N. Koukoulis, C. S. Hadjichristodoulou.** Psychiatric side effects induced by supraphysiological doses of combinations of anabolic steroids correlate to the severity of abuse. *Eur. Psychiatry.*, 21, 2006, 8, 551-562.
30. **Parkinson, A. B., N. A. Evans.** Anabolic androgenic steroids: A survey of 500 users. *Med. Sci. Sports. Exerc.*, 38, 2006, 644-651.
31. **P?rssinen, M., U. Kujala, E. Vartiainen et al.** Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents. *Int. J. Sports. Med.*, 21, 2000, 3, 225-227.
32. **Petersson, A., M. Garle, F. Granath, I. Thiblin.** Morbidity and mortality in patients testing positively for the presence of anabolic androgenic steroids in connection

with receiving medical care. A controlled retrospective cohort study. *Drug. Alcohol. Depend.*, 81, 2006, 215-220.

33. **Pope, H. G., D. L. Katz.** Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use. A controlled study of 160 athletes. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 51, 1994, 5, 375-382.

34. **Pope, H. G., G. Kanayama, M. Ionescu-Pioggia, J. I. Hudson.** Anabolic steroid users' attitudes towards physicians. *Addiction.*, 99, 2004, 9, 1189-1194.

35. **Quigley, Ch.** The androgen receptor: physiology and pathophysiology. In: Testosterone - action, deficiency, substitution. E. Nieschlag, H. Behre (Eds). Berlin, Springer-Verlag, 1998, 33-106.

36. **Rehman, A. G., B. M. Brennan.** Acromegaly, growth hormone and cancer risk. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 22, 2008, 4, 639-657.

37. **Schürmeyer, T., L. Belkien, U. A. Knuth, E. Nieschlag.** Reversible azoospermia by the anabolic steroid 19-nortestosterone. *Lancet.*, 323, 1984, 8374, 417-420.

38. **Shahidi, N. T.** A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical. Therapeutics*, 23, 2001, 9, 1355-1390.

39. **Shokri, S., R. J. Aitken, M. Abdolvahhabi et al.** Exercise and supraphysiological dose of nandrolone decanoate increase apoptosis in spermatogenic cells. *Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 106, 2010, 4, 324-330.

40. **Sjävqvist, F., M. Garle, A. Rane.** Use of doping agents, particularly anabolic steroids, in sports and society. *Lancet*, 371, 2008, 9627, 1872-1882.

41. **Thiblin, I., A. Petersson.** Pharmacoeconomics of anabolic androgenic steroids: a review. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 19, 2005, 27-44.

42. **Turek, P. J., R. H. Williams, J. H. Gilbaugh, L. Lipschutz.** The reversibility of anabolic steroid-induced azoospermia. *J. Urol.*, 153, 1995, 5, 1628-1630.

43. **Volkow, N.** National institute on drug abuse. Research report series. *Anabolic steroid abuse*. 2006, www.drugabuse.gov

44. **Winters, S.** Androgens: endocrine physiology and pharmacology. In: NIDA Research Monograph series. №102. Anabolic steroid abuse. G. Lin, L. Erinoff (Eds). NIDA, Rockville, 1990, 113-130.

45. **Wood, R.** Anabolic-androgenic steroid dependence? Insights from animals and humans. *Front. Neuroendocrinol.*, 29, 2008, 4, 490-506.

Address for correspondence:

Ralitsa Robeva, MD, PhD

Clinical Center of Endocrinology
Medical University – Sofia, 2 Zdrave
Str., Sofia 1431
e-mail: rali_robewa@yahoo.com

г-р Ралица Робева,

Клиничен център по ендокринология,
МУ – София, ул. „Здраве“ 2, София 1431
e-mail: rali_robewa@yahoo.com

Antimitochondrial Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis – the Challenge of Diagnostic Methods and Their Clinical Value

Marianna Murdjeva¹, Nikolay Krastev², Marian Draganov³, Petya Gardjeva¹

¹Department of Microbiology and Immunology, Medical University-Plovdiv, Bulgaria

²Clinic of Gastroenterology, University Hospital „St. George“ Plovdiv, Bulgaria

³Department of Developmental Biology, University of Plovdiv "Paisii Hilendarski", Bulgaria

Антимитохондриални антитела при първична билиарна цирроза – предизвикателства на диагностичните методи и клинична стойност

Мариана Мурджева¹, Николай Кръстев², Мариан Драганов³, Петя Гарджева¹

¹Категра Микробиология и Имунология, Медицински университет-Пловдив

²Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Свети Георги“ Пловдив

³Категра „Биология на Развитието“, Пловдивски университет „Паусий Хилендарски“

Abstract

The antimitochondrial antibodies, found in over 90% of patients with primary biliary cirrhosis, are the main immunological marker in the laboratory diagnosis of this disease. The problem concerning clinical value of antimitochondrial antibodies becomes more complicated given the fact that they could be positive in other autoimmune disorders as well. The indirect immunofluorescent assay is a standard method for antimitochondrial antibodies detection. However its sensitivity when routinely applied

Резюме

Антимитохондриалните антитела, които се откриват при над 90% от болните с първична билиарна цирроза, са основният имунологичен маркер в лабораторната диагноза на заболяването. Клиничната стойност на антимитохондриалните антитела е сложен въпрос, като се има предвид, че те се позитивират и при други аутоимунни заболявания. Стандартният метод за тяхното определяне е индиректната имуофлуоресценция. Чувствител-

for antimitochondrial antibodies determination remains disputable. A new approach for that is the indirect immunofluorescence on serum-free cell lines, carrying mitochondrial antigens. The difficulty in interpretation of a negative or a positive antimitochondrial antibodies' result from indirect immunofluorescence implies the need for introduction of other sensitive and specific methods and even diagnostic immunological algorithm to the diagnosis of primary biliary cirrhosis. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoblot present contemporary approach for the detection of most significant antimitochondrial antibodies against M2 mitochondrial antigen in the disease.

Key words:

antimitochondrial antibodies, primary biliary cirrhosis, indirect immunofluorescence, ELISA, immunoblot

ността ѝ е все още предмет на дискусии. Нов подход за доказването на антимиохондриални антитела с индиректна имунофлуоресценция се предлага чрез безсерумни клетъчни линии, носещи митохондриални антигени. Трудността при интерпретацията на отрицателен или положителен резултат от имунофлуоресцентното изследване за антимиохондриални антитела налага необходимостта от по-чувствителни и специфични методи и дори диагностичен имунологичен алгоритъм в диагностиката на първична билиарна цирроза. Ензимно-свързаният имуно-сорбентен метод и имуноблотът са съвременен подход за детекцията на най-важните антимиохондриални антитела срещу митохондриалния антиген M2 при заболяването.

Ключови думи:

антимиохондриални антитела, първична билиарна цирроза, индиректна имунофлуоресценция, ELISA, имуноблот

Introduction

Primary biliary cirrhosis (PBC) is an organ-specific autoimmune disease affecting most frequently women at the fourth and sixth decades of life (34). It is marked by slow progressive destruction of the small-to-medium bile ducts, which leads to chronic cholestasis and often end-stage liver disease. The early diagnosis of PBC, especially at the anicteric stage, is very important. The continuous treatment with the main therapeutic agent (Ursodeoxycholic acid) with 13-15 mg/kg/daily shows a reduction in liver biochemistry, jaundice, and ascites, thus distancing the liver transplantation (10,12).

PBC is characteristic with:

- 1) cholestasis (itching),
- 2) increased alkaline phosphatase more than 6 months and

3) positive antimitochondrial antibodies (AMA) (18). The most distinctive immunological sign of PBC – positive AMA in serum, confirm the diagnosis. They are routinely detected in indirect immunofluorescent assay (IFA) (13). The main disadvantage of this method is its impossibility to reach maximum sensitivity (it varies between 72 and 89%). AMA titer of 1/40 is accepted as pathognomonic for PBC but titers below 1/80 may be observed in other diseases as well (34).

The problem of diagnostic value of AMA becomes more complicated giving the fact that they could be found positive in other autoimmune diseases (35). However, AMA testing in patients suspicious for PBC is necessary but the interpretation of a positive or a negative result

from IFA titer is a challenge in the context of all clinical signs and laboratory constellation. Recently, the concept of other and more-sensitive methods for AMA detection rises as well as the necessity to introduce a diagnostic immunological approach (algorithm) to the disease.

AMA – Inductors or markers of PBC?

According to the physical and chemical characterization of antigens and their localization in the mitochondrial membrane, nine distinct AMA types are known. Four of them are found in PBC – anti-M2, anti-M4, anti-M8 and anti-M9 AMA (13). The most important for PBC diagnosis are AMA with IgM isotype, directed against five components of the M2-antigen:

- 1) E2 subunit of the pyruvate dehydrogenase complex (PDC),
- 2) 2-oxoglutarate dehydrogenase complex,
- 3) branched chain 2-oxo acid dehydrogenase complexes,

4) E1-alpha subunit of PDC and

5) E3-binding protein (protein X). The main antigenic epitope for AMA-M2 is PDC-E2, which is a part of the inner mitochondrial membrane (17). Newer data show that its immunodominant domains are not only lipoyl-binding but also have catalytic activity (4). M2, M4 and M8 antigens, recognized by AMA, are situated in the outer mitochondrial membrane and their diagnostic value for PBC is uncertain (13).

AMA are the main immunological marker in PBC but they do not cause the disease (13, 19). AMA in PBC are usually found in high titers (>1/160) and in over 90% of PBC patients (34). They can precede the clinical and biochemical manifestations of the disease 10-15 years and sometimes are determined when testing other autoantibodies routinely. Although some authors report about correlation between PBC-specific AMA and PBC severity and prognosis (28), the dominant concept is that there is no association between serum AMA concentrations and disease progression (13,22). Then what drives the PBC pathogenesis? The role of exogenous factors and genetic predisposition is

proposed (11, 20). It is accepted that during the apoptosis of biliary intraductal cells a large quantity of PDC-E2 antigen is released. It induces formation of specific autoreactive CD4+ and CD8+ T cells, responsible for the destructive process in biliary cells. The last are considered innocent victims of autoimmune attack (13, 21). Bacterial infection has been invoked in the etiopathogenesis of PBC. A molecular (epitope) mimicry and cross reactivity between mitochondrial antigens and E.coli, as well as with mycoplasma and viruses have been reported (1, 13, 20). All these data imply the multifactorial genesis of the disease, with genetic and environmental factors interplaying to determine PBC onset and progression.

Circulating serum AMA cannot be detected in some patients with clinical, biochemical and histological signs of classical PBC (34). This condition is known as „autoimmune cholangitis“ or „AMA-negative PBC“ (2, 23). PBC and autoimmune cholangitis are not „overlap“ syndromes. They have the same clinical features whereas „overlap“ is a term concerning two or more autoimmune diseases, for example PBC and autoimmune hepatitis (AIH). New non-M2 AMA (60 u 80 kDa) are found in patients with AMA-M2 negative PBC (6). They could serve as an additional marker to the serological diagnosis of the disease.

AMA-M2 serum levels decrease in post-transplanted patients but do not disappear completely (34). It is suggested that infectious or toxic factors cause antigenic expression of epithelial cells from the donor transplanted liver. These antigens are recognized by AMA.

Almost one third of PBC patients do not show clinical symptoms but present deviation in laboratory liver functional tests. AMA presence may be the first sign of the disease in the absence of clinical features and cholestatic liver enzymes (34). If AMA are not found or are in low titers but patients have elevated levels of liver enzymes or have taken hepatotoxic drugs, the liver biopsy is necessary to confirm or dismiss the diagnosis PBC.

AMA tested in serum have leading role in PBC diagnostics. However, they could be found in healthy individuals as well as in patients with

infectious or other autoimmune disorders – tuberculosis, viral hepatitis, autoimmune hepatitis, systemic sclerosis (30%), primary Sjogren syndrome (5%), pernicious anemia, autoimmune hemolytic anemia, systemic lupus erythematosus (1%) (13, 16, 33). These findings indicate that the role of AMA in PBC diagnostics should not be overestimated although some AMA positive individuals could develop PBC.

In addition to AMA, PBC sera can present specific antinuclear antibodies (ANA). They are detected in about 25% of PBC patients. These ANA are directed against several nuclear proteins which are autoantigens in PBC - Sp100, the promyelocytic leukemia protein PML, Sp140 and the small ubiquitin-like protein SUMO (9, 14). The corresponding ANA generate an interesting fine fluorescent pattern in HEp-2 cell line – multiple nuclear dots (MND). Other specific ANA react with two components of the nuclear membrane pore complex (gp 210 u NUP62). In IFA they are visualized as bright perinuclear fluorescence. In recent years, the clinical significance of specific ANA in PBC has been widely investigated. It is proposed that, different from AMA, PBC-specific ANA correlate with disease activity and have an apparently higher prevalence among AMA-negative PBC patients thus becoming useful for PBC diagnostics and prognosis (13, 29).

Methods for AMA detection

Methods applied in routine immunological practice for AMA testing (IFA, ELISA and immunoblot) are based on the opportunity to use conjugated with fluorochromes or enzymes anti-human sera.

1. Indirect immunofluorescent assay for AMA (IFA-AMA). IFA for AMA is a sensitive and specific method but it is semi-quantitative (determines AMA by titers) and subjective (dependent on observer's experience) (Table 1). Another disadvantage of the test is that up to 15% of PBC sera are AMA-negative when examined in indirect immunofluorescence (13). The

standard substrates for IFA-AMA are cryostat tissue sections of rodent kidney or HEp-2 cell line. In tissue sections AMA are presented as granular fluorescence of the cytoplasm of the epithelial cell in distal and, to a lower extent, in proximal renal tubules, in hepatocytes, and in stomach parietal cells. Bradwell A. et al. consider that mouse kidney tissues are more sensitive than HEp-2 cells for AMA detection and propose to use kidney sections in confirmatory tests (3). The absence of cells in mitosis as well as the difficult differentiation between AMA fluorescent pattern and the one of antibodies against liver-kidney microsome antigen (LKM-1) requires another confirmatory method. Zuber and Recktenwald indicate that the introduction of HEp-2 cell cultures as substrate for IFA-AMA makes the method more sensitive (33). HEp-2 cells give a specific pattern of mitochondrial fluorescence - granular filamentous staining of the cytoplasm. The disadvantage of cell substrate is that it may generate false-positive AMA results (25).

The serum-free cell lines are another possible substrate for AMA detection by IFA except standard kidney tissues and HEp-2 cells. Our studies on McCoy-Plovdiv serum-free cell line demonstrated that McCoy-Plovdiv cells are similar to HEp-2 ones in the serological testing of ANA and AMA (7,32). This cell line is cheaper alternative than standard serum-supplemented substrates due to the absence of serum in the culture medium. To facilitate AMA determination by IFA, we developed a new serum-free cell line - HEp-2 Plovdiv F (5). Our team found very good correlation between HEp-2 Plovdiv F cells and standard HEp-2 cells concerning the mitochondrial fluorescence pattern and AMA titer (7). The low cost of IFA-AMA with serum-free cultures is an attractive perspective to apply them in AMA and ANA screening.

2. Indirect immunoperoxidase test for AMA (IPA-AMA). This assay is similar to IFA. It utilizes tissue sections or cell cultures as substrates but the difference is that the anti-serum is conjugated with peroxidase, not with fluorochromes. In IPA the object is observed using a light microscope. It could be preserved for long time without change. Comparing IFA-AMA with IPA-AMA when HEp-2 substrates are applied,

Table 1. Comparison between indirect immunofluorescence, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot for AMA detection

Methods	IFA-AMA	ELISA-M2	Immunoblot-M2
Advantages	<ul style="list-style-type: none"> * Sensitive * Specific * Cheap * Simultaneous screening of several autoantibodies * Good reproducibility (± 1 titer) 	<ul style="list-style-type: none"> * Sensitive * Specific * Objective * Standardization of mitochondrial antigens * Semi-automated * Possibility to test many sera 	<ul style="list-style-type: none"> * Very sensitive * Standardization of mitochondrial antigens
Disadvantages	<ul style="list-style-type: none"> * Possible false-positive results from reactivity against other mitochondrial antigens * Semi-quantitative * Subjective * Dependent on personnel qualification * Limited number of tested sera * Dependent on antigen expression * High inter-laboratory variability 	<ul style="list-style-type: none"> * Incorrect selection of the cut-off * Limited to antigens, presented in the wells * Lower sensitivity for AMA, detected against conformational epitopes 	<ul style="list-style-type: none"> * Unspecified specificity * Limited to antigens, immobilized on the strip * Eventual loss of sensitivity for AMA, detected against conformational epitopes * More difficult for performance * Time-consuming * High inter-laboratory variability

Fritzler M. et al. found higher end-point AMA titer by IPA (8). This assay allows very good resolution of the image, easy interpretation and may be proposed as a reliable alternative to IFA-AMA in laboratories lacking fluorescent microscope equipment.

3. ELISA for AMA-M2. ELISA with purified or recombinant M2 antigens is used for AMA detection. Compared to IFA and immunoblot, this method is faster. Patel D. et al. established higher specificity of IFA-AMA with rodent tissue sections than ELISA with recombinant M2 antigens (27). However, most studies have consistently demonstrated that ELISA with recombinant M2 antigens possesses higher sensitivity and specificity than IFA for AMA, especially in

AMA-negative PBC patients (15, 22, 24, 25).

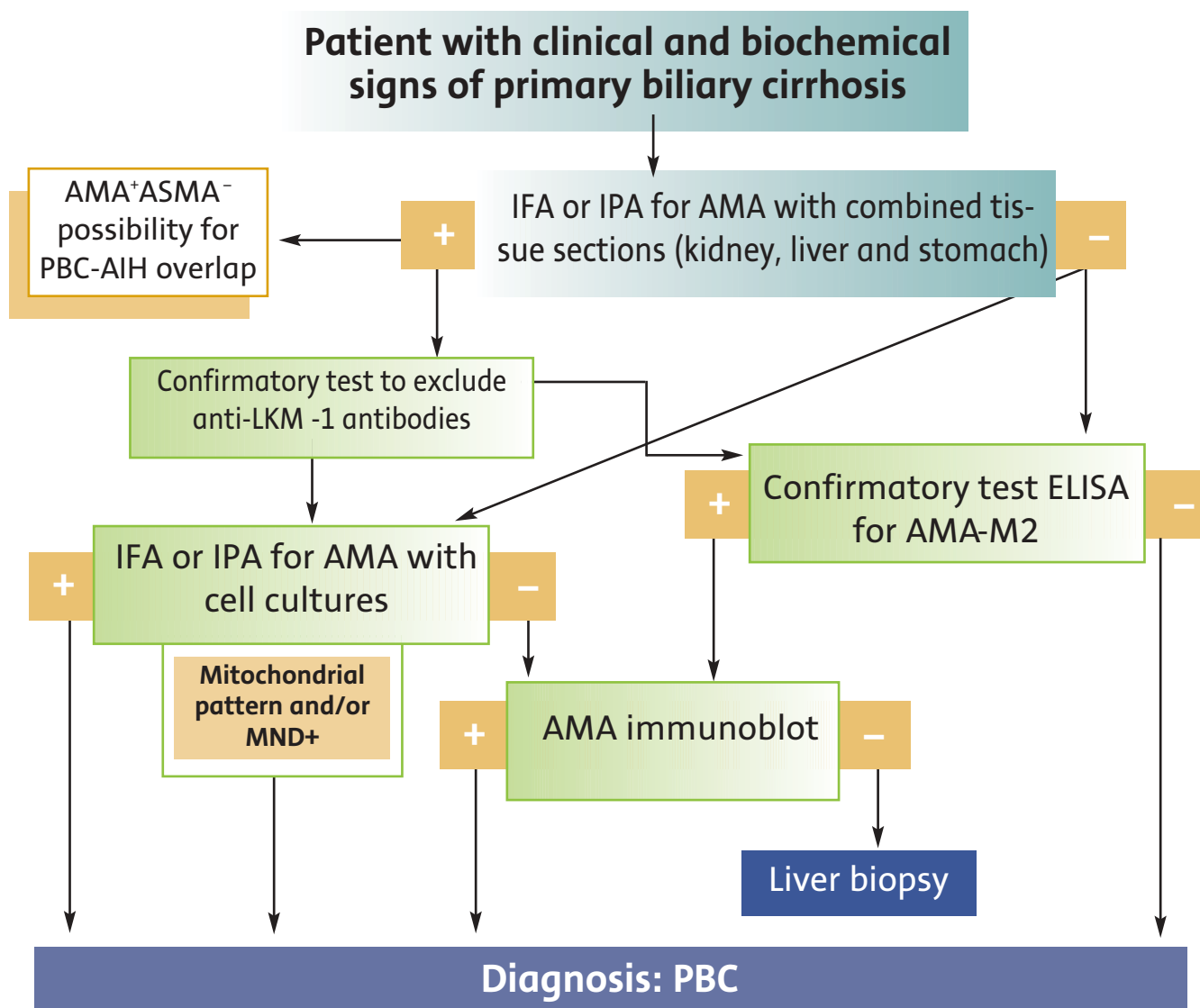
4. Immunoblot AMA-M2. Muratori P. et al. demonstrated significantly higher diagnostic sensitivity and specificity of the immunoblot in comparison with IFA for AMA on HEp-2 cells and tissue section. They also found better sensitivity and similar specificity of this test compared to ELISA with recombinant antigens (25). Nevertheless, the high immunoblot sensitivity correlates with lower specificity than IFA-AMA (15). Nezu S. et al. detect AMA by immunoblot in 34% AIH patients who are AMA-negative in IFA (26). In summary, the diagnostic specificity of immunoblot for AMA is still debated. It is expensive, more difficult for performance and may be applied in specialized laboratories.

Recommended diagnostic algorithm for AMA detection in PBC

The diagnostic approach in PBC patients starts with differential diagnosis between intra- and extrahepatic jaundice (therapeutic and sur-

gical jaundice, respectively) (34). Patients are presented often with cholelithiasis (39%). The sonographic examination of liver and biliary pathways should answer the following questions: „is there a stop?“, „where is the stop?“ and eventually „what is the cause for the stop?“. According to Sherlock, ERCP (endoscopic retro-

Figure 1. Diagnostic algorithm for detection of AMA and specific ANA in PBC



Legend to figure 1:

AMA – antimitochondrial antibody, ANA – antinuclear antibody, ASMA – anti-smooth muscle antibody, AIH- autoimmune hepatitis, IFA – indirect immunofluorescent assay, IPA – indirect immunoperoxidase assay

LKM-1 - liver-kidney-microsome-1, MND – multiple nuclear dots, PBC – primary biliary cirrhosis

grade cholangio-pancreatography) is indicated in PBC for: male patients, absence of itching, pain, atypical histological changes or negative AMA (30). However, in later cirrhosis stages the establishment of certain histological diagnosis of PBC is not always possible.

The analysis of literature influenced us to look for a generalized laboratory diagnostic algorithm for AMA and ANA testing in PBC patients sera (Figure 1). It is desirable to test specific PBC-autoantibodies only in the presence of clinical and biochemical symptoms of the disease since the reaction against mitochondrial antigens could be determined in lower rate in healthy people and in patients with other autoimmune or non-autoimmune disorders. The Consensus Statement from the Committee for Autoimmune Serology of the International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) is to perform the initial screening of AMA and ANA on c

ombined rodent tissue sections (kidney, liver and stomach) (31). This gives an opportunity for simultaneous detection of AMA, ANA and anti-smooth muscle antibodies (ASMA). The finding of several autoantibodies may be an indication for overlap between PBC and AIH. Serum anti-LKM-1 antibodies, giving fluorescence in proximal tubules, may lead to a false-positive AMA result. The latter needs confirmation with IFA (or IPA) with cell line substrates or ELISA-M2. If AMA detected in IFA with tissue substrate are positive but with cell cultures or in ELISA are negative, this may guide the presence of anti-LKM-1 antibodies. A brilliant advantage of cell cultures in IFA-AMA compared to ELISA is their potential for additional determination of PBC-specific ANA with MND or perinuclear fluorescence. The higher sensitivity of immunoblot makes it applicable in AMA-negative results following all preceding methods.

References

1. **Berg, C., T. Kannan, R. Klein, M. Gregor, et al.** Mycoplasma antigens as a possible trigger for the incidence of antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *Liver Int.*, 29, 2009, 6, 797-809.
2. **Bizzaro, N., G. Covini, P. Muratori, et al.** Overcoming a „Probable“ Diagnosis in Antimitochondrial Antibody Negative Primary Biliary Cirrhosis: Study of 100 Sera and Review of the Literature. *Clin Rev Allergy Immunol.*, 2010, Dec 29 (Epub ahead of print).
3. **Bradwell, A., R. Stokes, G. Johnson.** Mitochondrial antibodies. In: *Atlas of Autoantibody Patterns on Tissues.* (Eds.The Binding Site Ltd), Birmingham, 1997, 29.
4. **Braun, S., C. Berg, S. Buck, et al.** Catalytic Domain of PDC-E2 Contains Epitopes Recognized by Antimitochondrial Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis. *World J Gastroenterol.*, 16, 2010, 8, 973-981.
5. **Draganov, M., S. Fransazov, D. Draganov, et al.** Two New Serum Free and Protein Free Cell Strains, Derived from HEP-2 Cell Line: Cultural Conditions and Proliferation Activity. *Journal of Culture Collections*, 6, 2009, 1, 112-121.
6. **Feuchtinger, M., S. Christ, B. Preuss, et al.** Detection of Novel Anti-M2-related Antimitochondrial Antibodies in Patients with Anti-M2 Negative Primary Biliary Cirrhosis. *Gut*, 58, 2009, 7, 983-989.
7. **Fransazov, S., M. Draganov, B. Georgieva, et al.** Comparative Study on Different Substrates of Indirect Immunofluorescent Assay for Antimitochondrial Antibodies. *Comp Rend Acad Bulg Sci.*, 2008, 61, 269-274.
8. **Fritzler, M., W. Wall, J.Gohill, et al.** The Detection of Autoantibodies on HEP-2 Cells Using an Indirect Immunoperoxidase Kit (Colorzyme). *Diagn. Immunol.*, 4, 1986, 4, 217-221.
9. **Granito, A., W-H. Yang, L. Muratori, et al.** PML Nuclear Compartment Sp140 Is a Novel Autoantigen in Primary Biliary Cirrhosis. *Am J Gastroenterol.*, 105, 2010, 1, 125-131.
10. **Heathcore, E.** Management of Primary Biliary Cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guidelines. *Hepatology*, 31, 2000, 4, 1005-1013.
11. **Hirschfield, G.M., X. Liu, C. Xu, et al.** Primary Biliary Cirrhosis Associated with HLA, IL-2R and IL-12RB2 Variants. *N Engl J Med.*, 360, 2009, 24, 2544-2555.
12. **Hohenester, S, R.P. Oude-Elferink, U. Beuers.** Primary Biliary Cirrhosis. *Semin. Immunopathol.*, 31, 2009, 3,283-307.

13. **Hu, C-J., F-C. Zhang, Y-Z. Li, et al.** Primary Biliary Cirrhosis: What Do Antibodies Tell Us? *World J Gastroenterol.*, 16, 2010, 29, 3616-3629.
14. **Invernizzi, P. C. Selmi, C. Ranftler, et al.** Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin. Liver Dis.*, 25, 2005, 3, 298-310.
15. **Kadokawa, Y., K. Omagari, K. Ohba, et al.** Does the Diagnosis or Primary Biliary Cirrhosis or Autoimmune Cholangitis Depend on the 'Phase' of the Disease? *Liver Int.*, 25, 2005, 2, 317-324.
16. **Krawitt, E.L.** Discrimination of Autoimmune Hepatitis: Autoantibody Typing and Beyond. *J Gastroenterol.*, 2011, Suppl 1, 39-41.
17. **Kumagi, T. E.J. Heathcote.** Primary Biliary Cirrhosis. *Orphanet Journal of Rare Disease*, 2008, 3:1 doi: 10.1186/1750-1172-3-1.
18. **Lazaridis, K., J. Talwakar.** Clinical Epidemiology of Primary Biliary Cirrhosis: Incidence, Prevalence, and Impact of Therapy. *J. Clin. Gastroenterol.*, 41, 2007, 5, 494-500.
19. **Leuschner, U.** Primary Biliary Cirrhosis. In: Hepatobiliary Diseases: Cholestasis and Gall-stones. (Eds. M. Acalovschi, G. Paumgarter). *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, Boston, London, 2001, 68-72.
20. **Lleo, A., P. Invernizzi, I.R. Mackay, et al.** Etiopathogenesis of Primary Biliary Cirrhosis. *World J Gastroenterol.*, 14, 2008, 21, 3328-3337.
21. **Lleo, A., S. Shimoda, H. Ishibashi, et al.** Primary Biliary Cirrhosis. *J Gastroenterol.*, 2011, Suppl 1, 29-38.
22. **Lu, J.X., S.Y. Oian, H.Shu, et al.** The significance of antimitochondrial IgA and IgG in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 17, 2009,12, 905-909.
23. **Mendes, F, K.D. Lindor.** Antimitochondrial Antibody-negative Primary Biliary Cirrhosis. *Gastroenterol Clin North Am.*, 37, 2008, 2, 479-484.
24. **Miyakawa, H., A. Tanaka, K. Kikuchi, et al.** Detection of Antimitochondrial Autoantibodies in Immunofluorescent AMA-Negative Patients with Primary Biliary Cirrhosis Using Recombinant Autoantigens. *Hepatology*, 34, 2001, 2, 243-248.
25. **Muratori, P., L. Muratori, M.E. Gershwin, et al.** True Antimitochondrial Antibody-negative Primary Biliary Cirrhosis, Low Sensitivity of the Routine Assays, or Both? *Clinical and Experimental Immunology*, 135, 2004, 1, 154-158.
26. **Nezu, S., A. Tanaka, H. Yasui, et al.** Presence of Antimitochondrial Autoantibodies in Patients with Autoimmune Hepatitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21, 2006, 9, 448-1454.
27. **Patel, D., W. Egner, D. Gleeson, G. Wild, A. Ward.** Detection of Serum M2 Anti-mitochondrial Antibodies by Enzyme Linked Immunosorbent Assay is Potentially Less Specific than by Immunofluorescence. *Annals of Clinical Biochemistry*, 4, 2002, 4, 304-307.
28. **Rigopoulou, E., E.T. Davies, D.P. Bogdanos, et al.** Antimitochondrial Antibodies of Immunoglobulin G3 Subclass are Associated with a More Severe Disease Course in Primary Biliary Cirrhosis. *Liver Int.*, 27, 2007, 9, 1226-1231.
29. **Sfakianaki, O., M. Koulentaki, M. Tzaedi, et al.** Peri-nuclear Antibodies Correlate with Survival in Greek Primary Biliary Cirrhosis patients. *World J Gastroenterol.*, 16, 2010, 39, 4938-4943.
30. **Sherlock, S.** Primary Biliary Cirrhosis. In: Disease of the Liver and Biliary System. (Ed. S. Sherlock), 8 edition. *Oxford Blackwell Scientific Publications*, 1995, 273-278.
31. **Vergani, D., F. Alvares, F. B. Bianchi, et al.** Liver Autoimmune Serology: a Consensus Statement from the Committee for Autoimmune Serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol.* 4, 2004, 4, 677-683.
32. **Zagorov, M., M. Draganov, St. Alimanska, et al.** Indirect Immunofluorescent Assay for Antinuclear Antibodies on McCoy-Plovdiv Serum-free Cell Line Substrate. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 30, 2007, 3,153-62.
33. **Zuber, M., C. Recktenwald.** Clinical Correlation of Antimitochondrial Antibodies. *Eur. J. Med. Res.*, 8, 2003, 2, 61-70.
34. **Krastev, N.** Primary Biliary Cirrhosis In: Clinical Hepatology. (Ed. L. Dinkov), *Avtospektar, Plovdiv*, 2008, 189-204 (bulg).
35. **Ninova-Bradistillova N., N. Naumov, Z. Krastev, et al.** Importance of High Titers of Some Autoantibodies for Diagnostics and Follow-up of Chronic Liver Disease. *Internal Diseases*, 22, 1983, 6, 46-52 (bulg).

Address for correspondence:

Marianna Murdjeva, MD, PhD,
associate professor

Department of Microbiology and Immunology,
Medical University-Plovdiv
15A Vassil Aprilov blvd

Phone: #359 32 602 450,
e-mail: mmurdjeva@yahoo.com

An Objective Proof of Decreased Functional Capacity in Patients with Cardiac Syndrome X using SPECT CT

Svetlin Tsonev^{1*}, Marina Garcheva¹, Temenuga Donova¹, Maria Milanova³, Michail Matveev²

¹Medical University Sofia

²Centre of Biomedical Engineering, Bulgarian Academy of Sciences

³University Hospital „N. I. Pirogov“

Доказателство за намаления функционален капацитет при пациенти с кардиологичен синдром X чрез SPECT CT

Светлин Цонев^{1*}, Марина Гарчева¹, Теменуга Донова¹, Мария Миланова³, Михаил Матвеев²

¹Медицински университет –София

²Централна лаборатория по биомедицинско инженерство, БАН

³Университетска болница „Н. И. Пирогов“

*Кореспондиращ автор

Abstract

Introduction: The concept of cardiac syndrome X (CSX) includes patients, mainly women before or in the period of menopause fulfilling the following three major criteria: chest pain, positive exercise-strain test, normal coronary angiogram. In most cases, the syndrome is associated with symptoms of impaired functional capacity leading to disability, increased risk for psychological morbidity and a consequent poor quality of life.

Aim of the study: to investigate if there is a pathoetiological substratum of impaired functional capacity in patients with CSX using gated SPECT CT at rest and in exertion.

Material and methods: a prospective randomized study including 26 consecutive

Резюме

Въведение: Концепцията за кардиологичен синдром X (КСХ) обединява пациенти, предимно жени, в период на пре- или постменопаузата, със следните три големи критерия: типична гръдна болка, позитивен тест с натоварване, нормална коронарна ангиография. В повечето случаи синдромът е свързан с намален функционален капацитет водещ до инвалидизация, повишен риск от психически разстройства и последващо влошено качество на живот.

Цел на проучването: да изследва патоетиологичния субстрат на намаления функционален капацитет при пациенти с КСХ чрез SPECT CT в покой и при натоварване.

patients (women) at the mean age $54,32 \pm 9,52$ who fulfilled criteria for CSX hospitalized in the Clinic of Cardiology, Department of internal medicine, Medical university of Sofia. All patients underwent a quantitative gated SPECT examination at rest and exertion.

Results: In 18 (69,23%) patients from the studied group there were different degrees of perfusion abnormalities at exertion. Changes in the LV kinetics were found in 5 patients (19,23%).

When comparing parameters of systolic function in patients with perfusion defects, there was no significant increase of EF (p 0,257) and no significant change of the ESV (p 0,487) at exertion. There was a preserved reaction of the PER (p 0,05) at exertion in those patients, but no significant difference of the PFR (p 0,683) as a parameter for diastolic function at rest and exertion.

Conclusion: The current study demonstrates that in patients with criteria for CSX there are more marked changes in the myocardial perfusion which do not correspond always with the LV kinetics. Nevertheless, parameters of the functional capacity have a particular profile: no adequate increase of EFLV at exertion, which is probably related to the disturbed diastolic function assessed by PFR.

Key words:

Cardiac syndrome X, functional capacity, SPECT CT

1. Introduction

The concept of coronary X syndrome includes patients, mainly women before or in the period of menopause fulfilling the following three major criteria: chest pain, positive exercise-strain test, normal coronary angiogram (1,2,10). The chest pain is a leading symptom of these patients, usually stronger and more prolonged than the typical angina pectoris which is

Материали и методи: проспективно рандомизирано проучване, което включва 26 пациенти (жени) на средна възраст $54,32 \pm 9,52$ с КСХ хоспитализирани в Клиника по кардиология, КПВБ, МУ-София. Всички пациенти в проучването са изследвани със SPECT CT в покой и при натоварване.

Резултати: при 18 (69,23%) пациенти от изследваната група се откриват различни по степен перфузионни дефекти. Промени в ЛК кинетика се установяват при 5 жени (19,23%).

При сравняването на систолната функция на изтласкване (ФИ) при жени с перфузионни дефекти не се открива значимо повишаване на ФИ (p 0,257) и значима промяна в КСО (p 0,487) при натоварване. Наблюдава се запазена рекация на PER (p 0,05) при натоварване при тези пациенти, но липсва статистически значима разлика при PFR (p 0,683) като параметър за диастолна функция в покой и при натоварване.

Заключение: Настоящото проучване доказва, че при пациентки с КСХ има по-изразени промени в миокардната перфузия, които не съответстват със степента на промените в сегментната кинетика на ЛК. Въпреки това, показателитена функционалния капацитет имат специфичен профил: липсва адекватно повишаване на ФИ на ЛК при натоварване, което вероятно се дължи на диастолна дисфункция оценена чрез PFR.

Ключови думи:

кардиологичен синдром X, функционален капацитет, SPECT CT

also more difficult to control by the standard anti-ischaemic therapy (3,7). Impaired functional cardio-vascular capacity is usual for these patients. As a result, they are often re-hospitalised, new unnecessary angiograms are being done and quality of life of these patients worsens (4).

Investigating the prognosis of these patients show that their life-expectancy does not differ considerably from the rest of the population, excluding those with rhythm and conductance

disorders such as left-bundle branch block who develop dilatated cardiomyopathy more frequently (NLHBI WISE study with mean duration of follow-up- 5,2 years) (5).

The results from St. James Women Take Heart (WTH) Project were announced In May 20095. The project gives some important facts. The first one is that „...women with symptoms and signs suggestive of ischemia, but without obstructive CAD are at elevated risk for cardiovascular events compared with asymptomatic community-based women“. The second one defines that the finding form the study and others linking endothelial dysfunction and future cardiovascular events it is recommended that all women with symptoms suggestive of ischemia undergo initial evaluation for obstructive CAD and if there is no evidence of obstructive CAD, such women need further assessment for endothelial dysfunction.

All these give enough reasons for further investigation, and despite all cardiac syndrome X, keep on being a diagnostically and therapeutically unclarified event. Many authors work on finding the pathogenesis of this syndrome: myocardial ischemia; endothelial dysfunction; metabolic and hormonal factors; change in pain perception.

Heterogeneous pathogenesis of cardiac syndrome X makes therapeutic approach difficult (2).

The statistics shows that not less than one third of women presenting with typical angina chest pain have clear coronary vessels, proved by selective coronary angiogram5.

Aim of the study: to investigate if there is a substratum for the decreased functional capacity in patients with cardiac syndrome X using SPECT CT at rest and exertion.

2. Material and method

A prospective randomized study including 26 consecutive patients (women) at the mean age 54,32±9,52 hospitalized who fulfilled criteria for cardiac syndrome X in the Clinic of Cardiology, Department of internal medicine,

Medical university of Sofia and who are selected from cath-Labs in Bulgaria.

All randomized patients with Cardiac Syndrome X in the study underwent myocardial perfusion SPECT CT. Before performing the study, all patients were carefully acquainted with the protocol of the study.

The protocol of the study includes rest and stress SPECT and after application of nitrates with depot effect.

Radiopharmaceutical: ^{99m}Tc Tetrofosmin. Single day protocol. Activity applied: 250 MBq at exertion and 750 MBq at rest with total activity- 1000 MBq. Records are made at exertion on the 30 min. after the application of the radiopharmaceutical and on the 1 and 2 h at the rest. Just after the first record at rest, patients are given per os 10 mg Isodinit. All records are made in γ-camera SPECT-CT with ECG synchronization. Framing – eight frames for a cardiac cycle.

Stress test: treadmill. Step by step exertion until the patient complains from chest pain or ECG changes in the repolarization. If there are no such complains, the test continued until reaching 90% from the maximum calculated heart rate. The radiopharmaceutical is infused at the maximal exertion.

Interpretation: point of interest were changes in the perfusion (reversible or not reversible), and the left ventricle (LV) kinetics. Using the quantitative gated SPECT (QGS), the total defect in perfusion was calculated in percentage of the myocardium of the LV. The following parameters were defined: total exertion, rest and differential scores: summed stress score (SSS), summed rest score (SRS), summed difference score (SDS). The following parameters of LV function were calculated at rest and exertion: ejection fraction of the left ventricle (EFLV), end diastolic volume (EDV), end systolic volume (ESV), max velocities of filling and ejection: peak emptying rate (PER), peak filling rate (PFR).

3. Results

Changes in the LV kinetics were found in 5 patients (19,23%): 4 with perfusion defect (1 with no change at rest) and 1 without such (**fig.1**).

In 18 (69,23%) patients from the studied group there were different degrees of perfusion abnormalities: SDS max 9, min 2, mean $3,4 \pm 2,76$ (**fig.1**). From patients with $SDS > 0,6$ (33%) recovered at rest and 2 (11%) normalized after receiving nitrates with depot effect.

Ejection fraction is one of the major parameters from SPECT CT that could assess functional capacity. Comparing that parameter at rest and exertion in patients with perfusion defects there was not significant increase of EFLV ($p = 0,257$) (**fig.2**) and no significant change of the ESV ($p = 0,487$) (**fig.3**). There is preserved reaction of stress of the PER ($p = 0,05$) in those patients but no significant difference of the PFR ($p = 0,683$) as a parameter of diastolic function (**fig.4**).

Figure 1. Distribution of patients according to perfusion.

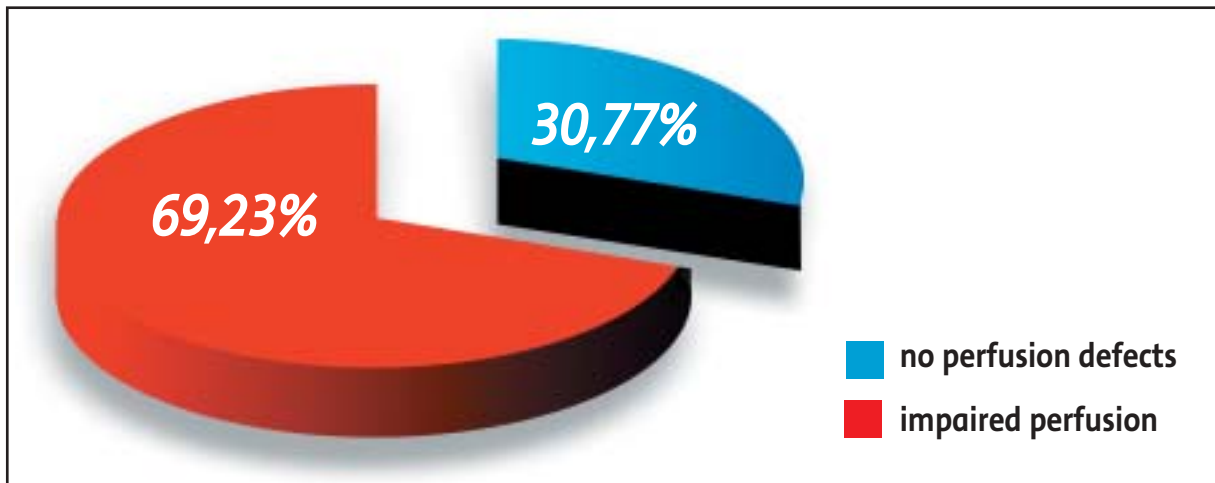
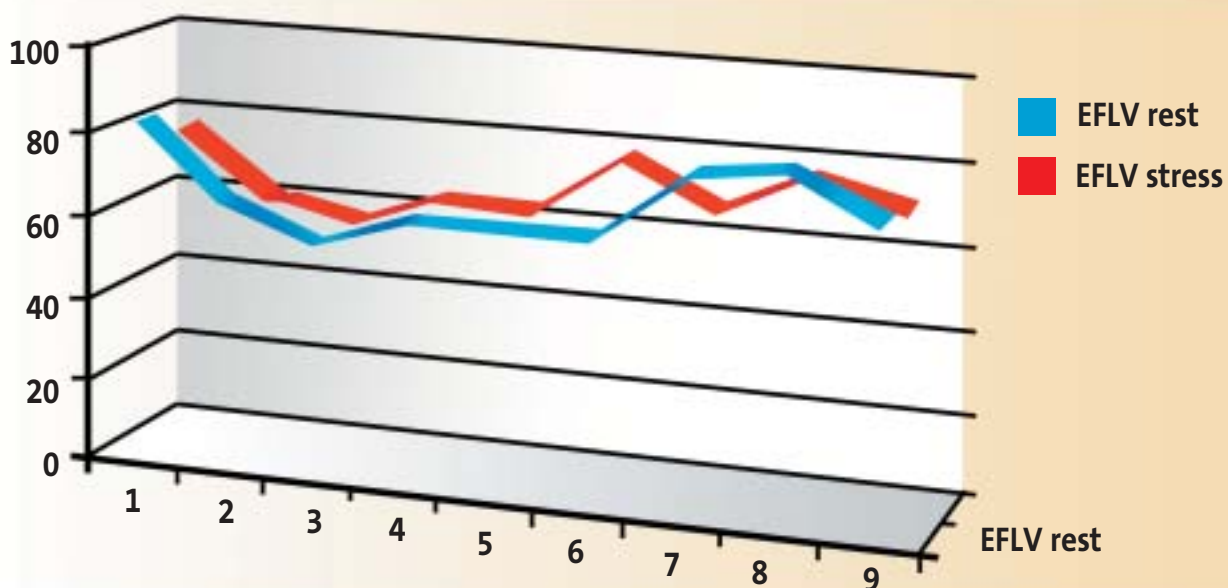


Figure 2. EFLV at rest and stress in patients with perfusion disorder ($p = 0,257$).



In patients without perfusion defects there is preserved reaction to stress of the EFLV ($p=0,06$) (fig.5) and the parameter of diastolic function PFR ($p=0,068$) (fig.6).

Figure 3. ESV at rest and stress in patients with perfusion disorder ($p=0,487$).

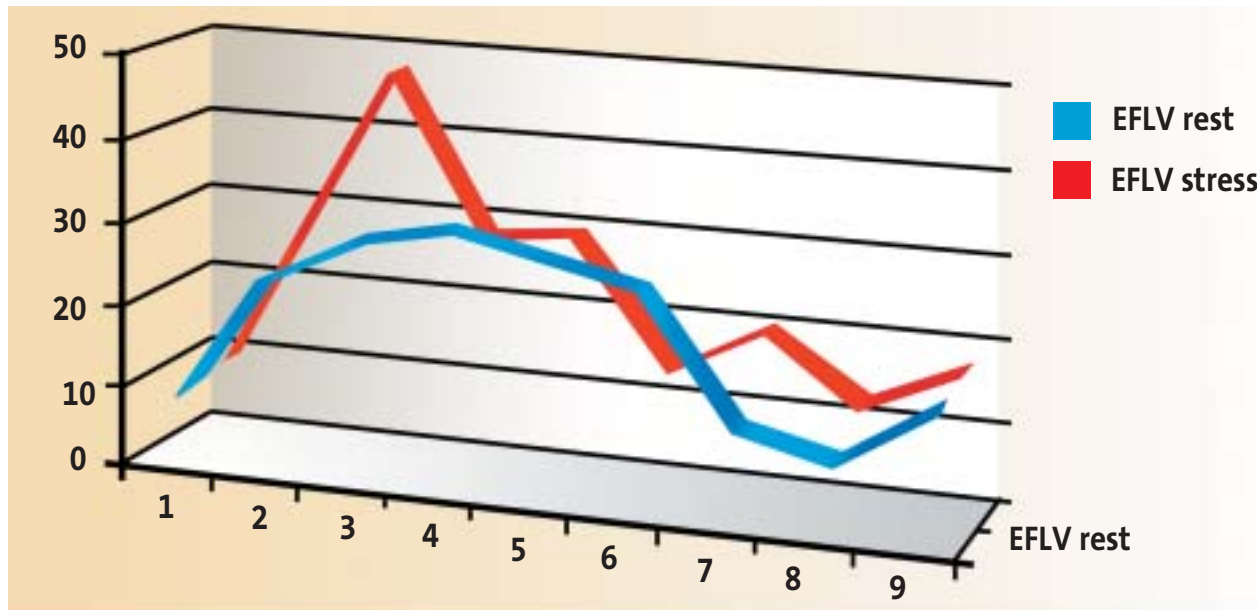
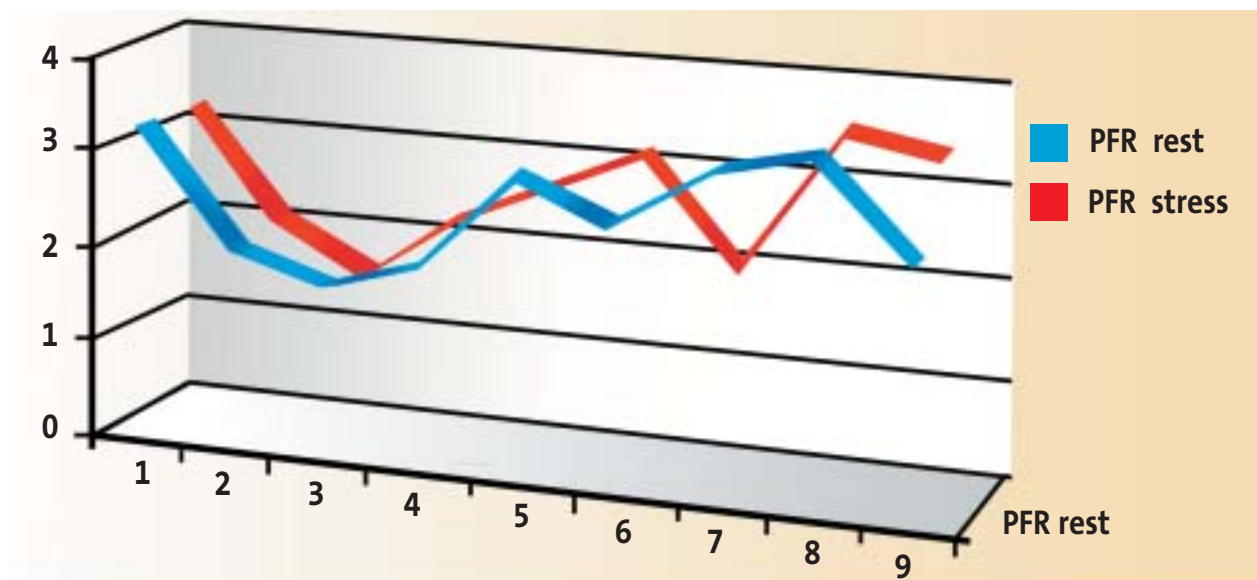


Figure 4. PFR at rest and stress in patients with perfusion disorder ($p=0,683$).



4. Discussion

There is no one opinion about the pathoethiology of cardiac syndrome X. Kaski and colleagues first discuss the decreased functional capacity in these patients (7). Cannon et al. proved that patients with disturbed coronary

vasodilative reserve had decreased left-ventricle ejection fraction (EF) during exertion compared to those with preserved coronary reserve (2). They concluded that these patients had signs of myocardial ischemia. Sax et al. investigated systemic vasodilative response by a method based on venous plethysmography in order to compare patients to healthy controls 12.

Figure 5. EFLV at rest and stress in patients without perfusion disorder ($p= 0,06$).

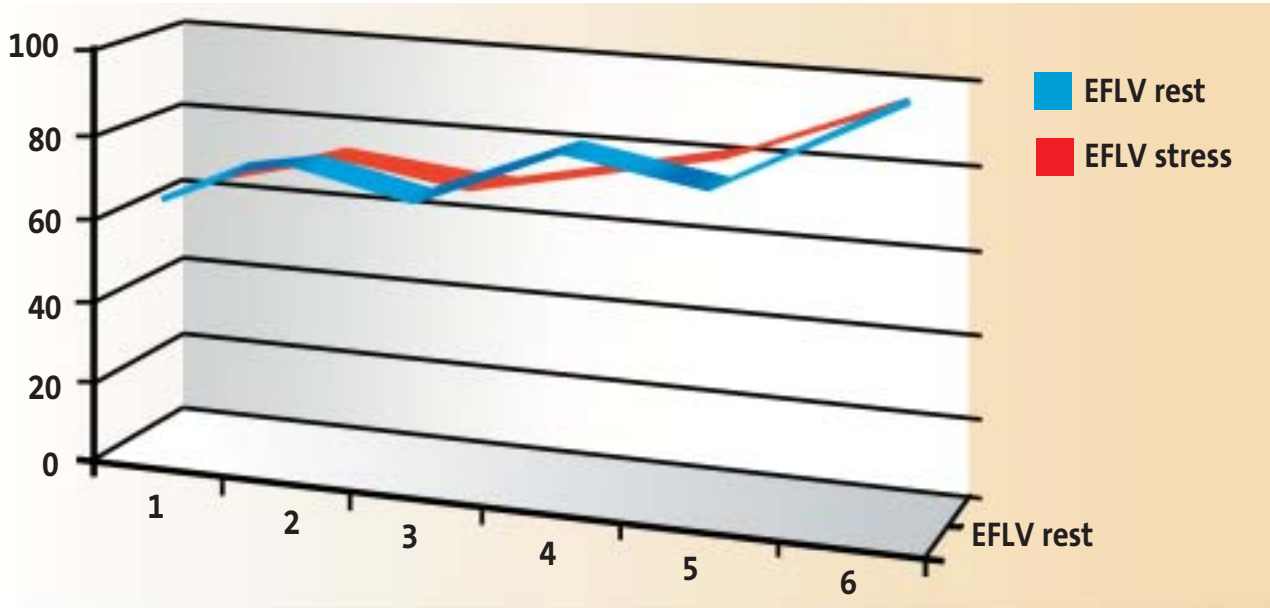
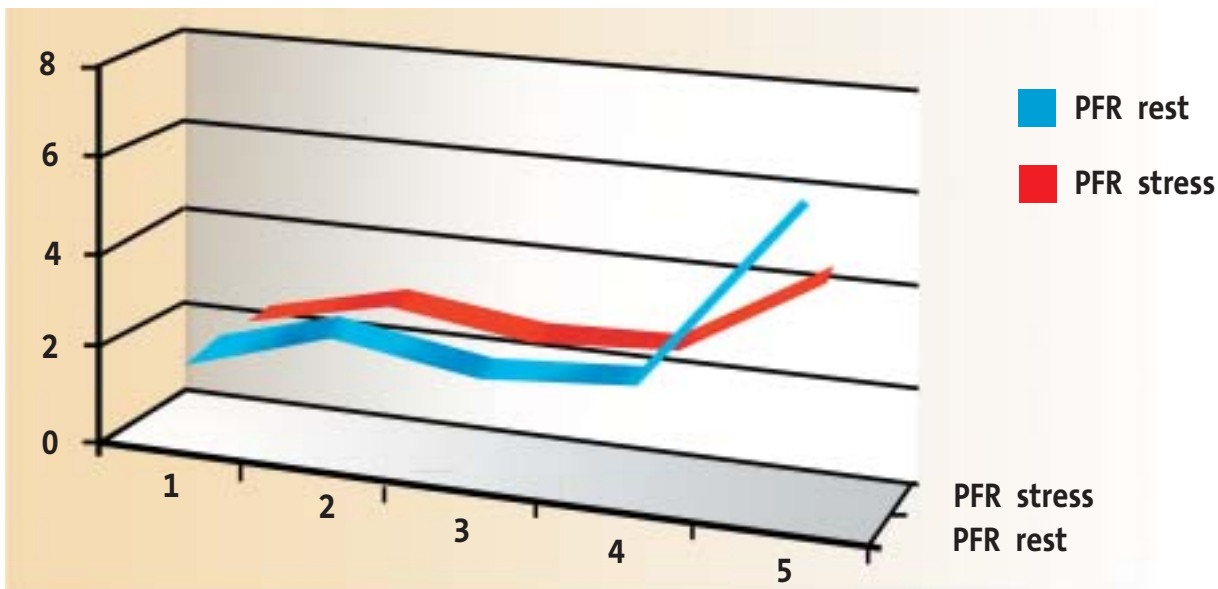


Figure 6. PFR at rest and stress in patients without perfusion disorder ($p= 0,068$).



Their results showed a 21% decrease of vasodilative response in patients with cardiac X syndrome, appearing on the 3rd minute. The authors also found significantly increased vessel resistance in this group of patients. Supported by these results, Cannon concludes that X-syndrome is based on small coronary vessel dysfunction, i.e. „microvascular angina“^{2,3}. All these gives increasing proves that there is an objective substratum of the decreased functional capacity in patients with cardiac syndrome X.

Conclusion

The current study demonstrates that in patients with criteria for cardiac syndrome X there are more marked changes in the myocardial perfusion which do not correspond always with the LV kinetics. Nevertheless, parameters of the functional capacity have a particular profile: no adequate increase of EFLV at exertion, which is probably related to the disturbed diastolic function assessed by PFR.

1. **Braunwald E, E Antman, J Beasley et al.** ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-STsegment elevation myocardial infarction - executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation*, 2000, 102, 1193-1209.

2. **Cannon RO III, AA Quyyumi, R Mincemoyer et al.** Imipramine in patients with chest pain despite normal coronary angiograms. *N Engl J Med*, 1994, 330, 1411

3. **Cannon R, SE Epstein.** „Microvascular angina‘ as a cause of chest pain with angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol*, 1988, 61, 1338-1343.

4. **Fernandez F, S Brown, J Velasco et al.** Assessment of quality of life in patients with chest pain and normal coronary arteriograms (syndrome X) using a specific questionnaire. *Clin Cardiol*, 1999, 22, 283-290.

5. **Gulati M, RM Cooper-DeHoff, BD Johnson et al.** Adverse cardiovascular outcomes in women with nonobstructive coronary artery disease: a report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation Study and the St James Women Take Heart Project. *Arch Intern Med*. 2009 May 11; 169(9):843-50.

6. **Kaski JC, LF Valenzuela Garcia.** Therapeutic options for the management of patients with cardiac syndrome X. *Eur Heart J*, 2001, 22, 283-293.

7. **Kaski JC.** Chest pain with normal coronary angiogram, pathogenesis, diagnosis and management. In Kaski JC (ed), *Angina pectoris and normal coronary arteries, syndrome X*. 2nd edn. Boston, *Kluwer Academic Publishers*, 1999, 1-12.

8. **Kaski JC, GM Rosano, P Collins et al.** Cardiac syndrome X, Clinical characteristics and left ventricular function. Long-term follow-up study. *J Am Coll Cardiol*, 1995, 25, 807-814.

9. **Panting JR, PD Gatehouse, GZ Yang et al.** Abnormal subendocardial perfusion in cardiac syndrome X detected by cardiovascular magnetic resonance imaging. *N Engl J Med*, 2002, 346, 1948-1953.

10. **Paoletti R, NK Wenger.** Review of the international position on women's health and menopause, a comprehensive approach. *Circulation*, 2003, 107, 1336-1339.

11. **Sax FL, RO Cannon III, C Hanson et al.** Impaired forearm vasodilator reserve in patients with microvascular angina. Evidence of a generalized disorder of vascular function? *N Engl J Med* 1987; 317: 1366-70.

Address for correspondence:

Svetlin Tsonev

„St. George Sofiiski“ Str., №1, p.c. 1431,
Sofia, Bulgaria
Mobile: +359 898 426 907
E-mail: svetmed@gmail.com

Светлин ЦонеВ

бул. „Св. Г. Софийску“, №1,п.к. 1431,
София, България
Мобилен: +359 898 426 907
E-mail: svetmed@gmail.com

Supplementation with Respistim Plus as Protector Against Ionizing Radiation in Experimental Conditions

Ivan Kindekov,¹ V. Vassilieva,² M. Mileva,³ M. Alyakov¹

¹ Scientific Laboratory of Radiation Protection, Military Medical Academy – Sofia.

² Scientific Laboratory of Radiobiology and Cell Radiobiology, Military Medical Academy – Sofia.

³ Department of Virology, Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences.

Приложение на Респистим плюс като радиопротектор в експериментални условия

Иван Киндеков,¹ В. Василева,² М. Милева,³ М. Аляков¹

¹ Научна лаборатория по радиационна защита, Военна Медицинска Академия – София

² Научна лаборатория за радиобиология и клетъчна радиобиология, Военна Медицинска Академия – София

³ Департамент по вирусология, Институт по микробиология, БАН

Abstract

The potential of antioxidants to reduce the cellular damage induced by ionizing radiation has been studied in animal models for more than 50 years. The application of antioxidants as radioprotectors to various human exposure situations has not been extensively studied although it is generally accepted that endogenous antioxidants, such as cellular non-protein thiols and antioxidant enzymes, provide some degree of protection. Many reviews are focused on the radioprotective efficacy of naturally occurring antioxidants, specifically antioxidant nutrients and phytochemicals, and how they might influence various endpoints of radiation damage.

OBJECTIVE: To follow post irradiation recovery and antioxidant prevention with *Respistim Plus* in experimental animals.

Резюме

Антиоксидантите, като протектори на клетъчни увреждания, предизвиквани от йонизиращо лъчение, са проучвани при животински модели повече от 50 години. Радиопротективните свойства на антиоксидантите при хора, изложени на радиационна експозиция, са слабо проучени. Съществуват откъслечни данни в научната литература, че прилагането на ендегенни антиоксиданти, като тиолови съединения и антиоксидантни ензими, имат известен защитен ефект. Известно е, че радиационните поражения в своята етиопатогенеза включват генериране на активни форми на кислорода, на свободни радикали и като резултат развитието на оксидативен стрес в облъчения организъм. Интерес

MATERIAL AND METHODS: Radiation injury is modelled with lethal dose ionizing irradiation on experimental animals (white male mice C3H, weight 23 gr.), divided in groups and exposed to radiation from ^{137}Cs with power 2,05 Gy/min. Respistim Plus is administrated to those experimental animals per os during 15 consecutive days before irradiation. We control the following indexes: survival rate, levels of lipid peroxidation and Cu/ZnSOD protein expression in some internal organs: liver, spleen and testis. The protein expression is confirmed by Western blot analysis.

RESULTS: The obtained results give an opportunity to perform comparative analysis of survival rate, levels of lipid peroxidation (in liver, spleen and testis) and protein expression of Cu/ZnSOD.

CONCLUSION: Respistim Plus has positive effect over survival rate in experimental animals. Administration of *Respistim Plus* brings for decreased markers of oxidative stress in experimental groups in comparison to controls. Prevention with *Respistim Plus* induces increased expression of Cu/ZnSOD protein.

представлява изследването на радиопротективните свойства на естествените антиоксиданти, съдържащи се в хранителни вещества или под формата на фитопрепарати, и най-вече как те биха могли да повлияят уврежданията, причинени в резултат на радиационно облъчване.

Цел на настоящата работа беше да се изследва влиянието на антиоксидантната профилактика с *Respistim Plus* върху уврежданията, причинени след облъчване на експериментални животни с източник ^{137}Cs .

Материал и методи: Радиационно увреждане моделирахме с летална доза йонизиращо лъчение на опитни животни (мъжки бели мишки СЗН с тегло 23 гр.), разделени на групи, облъчени с гама-лъчи от източник ^{137}Cs с мощност на гозата 2,05 Gy/мин. Експерименталните животни приемаха *Respistim plus* per os в продължение на 15 последователни дни преди облъчването. Проследявани бяха следните показатели: преживяемост, нива на липидна пероксидация и експресия на ензима Cu/Zn SOD в някои вътрешни органи: черен дроб, слезка и тестиси. Експресията на ензима Cu/Zn SOD анализирахме с Western blot.

Резултати: Получените резултати дадоха възможност да бъдат анализирани следните параметри: преживяемост, нивата на липидна пероксидация (в черния дроб, слезка и тестисите) и експресията на ензима Cu/ZnSOD.

Извод: *Respistim Plus* има положителен ефект върху преживяемостта при експерименталните животни. Профилактиката с *Respistim Plus* доведе до снижаване показателите на оксидативния стрес при експериментални групи в сравнение с контролите. Профилактиката с *Respistim Plus* повиши експресията на антиоксидантния ензим Cu/Zn SOD.

Key words:

acute radiation syndrome, respistim plus, survival, oxidative stress, Cu/Zn SOD, experimental animals.

Ключови думи:

остър радиационен синдром, респистим плюс, преживяемост, оксидативен стрес, Cu/Zn SOD, експериментални животни.

1. Introduction

The potential of antioxidants to reduce the cellular damage induced by ionizing radiation has been studied in animal models for more than 50 years (28, 42). The application of antioxidant radioprotectors to various human exposure situations has not been extensively studied although it is generally accepted that endogenous antioxidants, such as cellular non-protein thiols and antioxidant enzymes, provide some degree of protection. Many reviews are focused on the radioprotective efficacy of naturally occurring antioxidants, specifically antioxidant nutrients and phytochemicals, and how they might influence various endpoints of radiation damage (17, 22). Results from animal experiments indicate that antioxidant nutrients, such as vitamin E, β -carotene, vitamin C, vitamin B6, nicotinamide, folic acid, zinc, iron, copper, selenium, and magnesium compounds, are protective against lethality and other radiation effects but to a lesser degree than most synthetic protectors (42). Some antioxidants have advantage of low toxicity although they are generally protective when administered at pharmacological doses. Naturally occurring antioxidants also may provide an extended window of protection against low-dose, low-dose-rate irradiation, including therapeutic potential when administered after irradiation. Many antioxidant nutrients have antimutagenic properties, and their modulation of long-term radiation effects, such as cancer, needs further examination (13, 38, 8). The effects of whole-body exposure to ionizing radiation on animals have been studied in the laboratory. Data on human exposures have been obtained from the Japanese survivors of Hiroshima and Nagasaki and from accidental exposures. Summarizing briefly the extensive literature on whole-body irradiation, there are three general classes of radiation lethality, which depend on dose, exposure rate and quality of radiation (i.e. photons, neutrons or particles) (31, 20, 34, 1, 4, 17). The syndromes resulting from single-dose exposure are:

- cerebrovascular syndrome (CNS syndrome), >100 Gy, death within 24-48 h;
- gastrointestinal syndrome (GI syndrome),

5-12 Gy (primarily >10 Gy), death within 3-10 days;

- hematopoietic syndrome (bone marrow syndrome), 2,5 to 8 Gy, death within 1-2 months; survival possible.

However, after exposure to doses of 1-10 Gy, measurable effects can be detected in many tissues, including persistent and transient alterations in protein expression, growth factor activity, and normal cell and tissue function (5). For example, radiation has been shown to produce chronic oxidative stress (29, 44), and there are a number of degenerative conditions as well as aging that have been associated with decreased antioxidant status and increased oxidative stress. The use of mice genetically modified in their expression of potentially critical molecules (e.g. TGF β and SOD) in various pathways relevant to specific disease endpoints would facilitate investigation of the role of these molecules in response to radiation. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) are formed and degraded by all aerobic organisms. In normal cells, ROS are believed to play an important role in intracellular signalling and redox regulation. ROS/RNS generation and removal are in balance in the presence of effective antioxidant defences (antioxidants and antioxidant enzymes). Any increase in the ratio of ROS/RNS generation to antioxidant defences can create cellular stress. Indicators of oxidative stress have been detected in *in vitro* models after irradiation of rodents (35, 40, 44, 24).

Because radiation-induced cellular injury is attributed mainly to ROS, it is anticipated that antioxidant treatment should delay or prevent the onset of radiation induced oxidative stress and tissue injury. Therefore, the aim of the present study was to examine the antioxidant radioprotective effects of Bulgarian drug Respistim plus against survival, oxidative damage and organ injury induced by ionizing radiation.

2. Materials and methods

Male white mice weighing 23 g, were housed in cages with free access to drinking water and diet and maintained in the animal care facility throughout the duration of the

experiment. The animals were kept at 22–240 C with the 12 h light/dark cycle. Animal husbandry and experimentation were consistent with protocols approved by the local experimental animal ethics committee. *Respistim plus* contains: immunostimulating complex (a proprietary blend of lypopolysaccharides, peptidoglycans, teichoic acids, derived from selected bacterial strains); vitamin A, β -carotene, vitamin D, vitamin E, vitamin K, vitamin C, vitamin B1, vitamin B₂, vitamin B₆, nicotinamide, folic acid, vitamin B₁₂, biotin, pantothenic acid, zinc (zinc sulphate), iron (ferrous fumarate), copper (copper gluconate), manganese (manganese sulphate), selenium (sodium selenite), chromium (chromium chloride), iodine (potassium iodide), molybdenum (sodium molybdate), magnesium (magnesium oxide), calcium (calcium carbonate). *Respistim plus* is administered in experimental animals at a dose of 100mg/kg body weight that is equivalent of 10mg/kg body weight for humans.

Mice were randomly divided into six experimental groups. Control group animals received *Respistim plus* at dose of 100 mg/kg body weight for 15 consecutive days, non irradiated. Control group animals without administration of *Respistim plus*, non irradiated. Gamma irradiated groups-mice exposed to dose of 7,5Gy whole-body radiation, and mice exposed to dose of 7,5 Gy and administered *Respistim plus* for 15 consecutive days before irradiation; mice exposed to dose of 8Gy and 9Gy and mice exposed at the same doses and administered *Respistim plus* for 15 consecutive days, before irradiation. Animals were placed in a specially designed well-ventilated acrylic container and the whole bodies of the animals were exposed to 7,5, 8 and 9 Gy, given at a dose rate of 2,05 Gy/min from cesium-137 source, belonging to the Institute of Plant Genetics „Acad. D. Kostov“, Bulgarian Academy of Science, Sofia. The animals were sacrificed 24 hours after irradiation.

A tissue samples from the liver, spleen and testis were accurately weighed and homogenized (Soniprep 150 MSE) for 30 seconds in ice-cold 1,15% KCl buffer, pH 7,4. The homogenates were subjected to the following biochemical analysis. Lipid peroxidation product,

malondialdehyde (MDA), was measured by thiobarbituric acid assay, which is based on MDA reaction with thiobarbituric acid to give thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), a red species that absorbs at 535nm (Asakava and Matsushita, 1980). The protein expression is confirmed by Western blot analysis. Statistical significance of the data was analyzed using Student's t-test and data are shown as means \pm SD. Survival analysis was made by Kaplan-Meier methods and statistical significance of the data was analyzed using Mantel-Cox log rank test. For all statistical tests we accepted, the level for statistical significance $p < 0,05$.

3. Results

The results presented in Figure № 1 show that the administration of *Respistim plus* for 15 consecutive days increased life expectancy. Administration of *Respistim plus* has a positive effect over 30 days survival of experimental animals. On the survival curves the point of early death were shifted to the right: on the twentieth day of exposure with 8 Gy and on the tenth day after irradiation with a dose rate of 9 Gy. Statistical analysis of the results shows that there is a statistically significant difference between post irradiation survival in groups administered *Respistim plus* and irradiated controls. Our previous studies show that prevention with *Respistim plus* increases survival and LD50/30 is 8,3Gy in comparison with irradiated controls – 7,5 Gy.

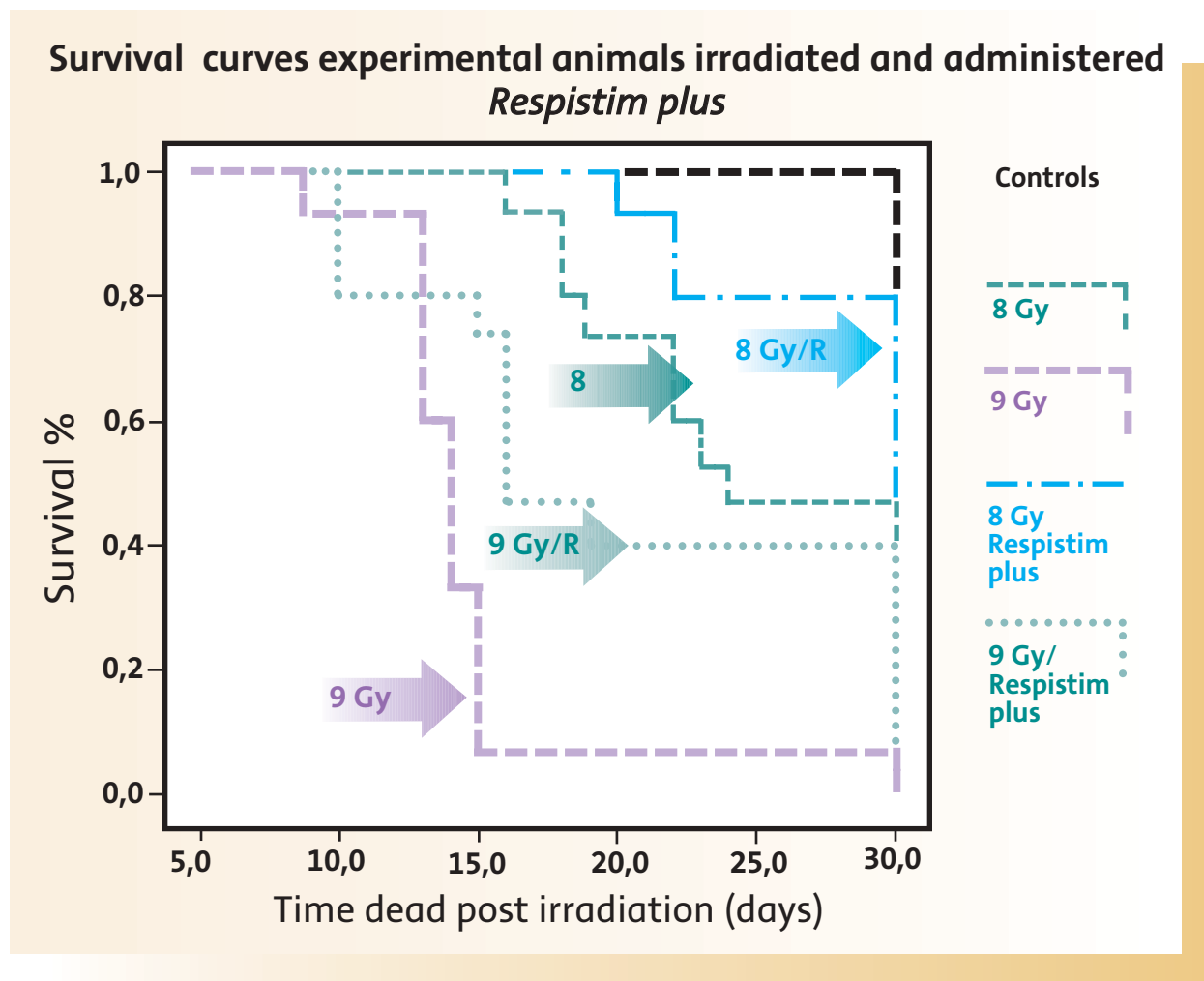


Figure 4. Survival curves of experimental animals irradiated with 8 Gy, 9 Gy, irradiated with 8Gy and 9 Gy and administered Respistim plus and controls non irradiated. Mice were irradiated in ^{137}Cs gamma radiation source at a dose rate of 2,05 Gy/min. Survival was followed in the 5, 10, 15, 20, 25 and 30th day post irradiation.

Ionizing radiation generates reactive oxygen species as a result of water radiolysis [17]. Exposure of mice to g-radiation resulted in a significant increase in lipid peroxidation, as measured by the formation of MDA in the liver, spleen and testes 24 hours after irradiation (**Fig. 2, 3 and 4**). Such an increase occurred at the all internal organs examined. The dose (7,5 Gy) caused the 26% increase in liver, 54% increase in spleen and 9% increase in testes, while the administration of Respistim plus was effective in further increasing (6% in liver, 39% in spleen and 2% in testes) the extent of lipid peroxidation. Adminis-

tration of Respistim plus for 15 consecutive days before acute irradiation significantly abolished this radiation-induced elevation in MDA level in the liver, spleen and testes (**Fig. 2, 3 and 4**).

Exposure of mice to g-radiation resulted in a decrease in protein expression of the antioxidant enzyme Cu/Zn SOD (SOD1), as measured by the Western blot analysis in the liver, spleen and testes 24 hours after irradiation (**Fig. 5,6 and 7**). The data were presented as a integral optical density (IOD). Administration of Respistim plus increase protein expression of SOD1 in all internal organs examined.

Figure 2. Changes in levels of endogenous MDA in liver of experimental animals irradiated with a dose of 7,5Gy from gamma source Cs⁻¹³⁷, on the 24 hours post irradiation. *** presented a significant statistical level of p<0,05.

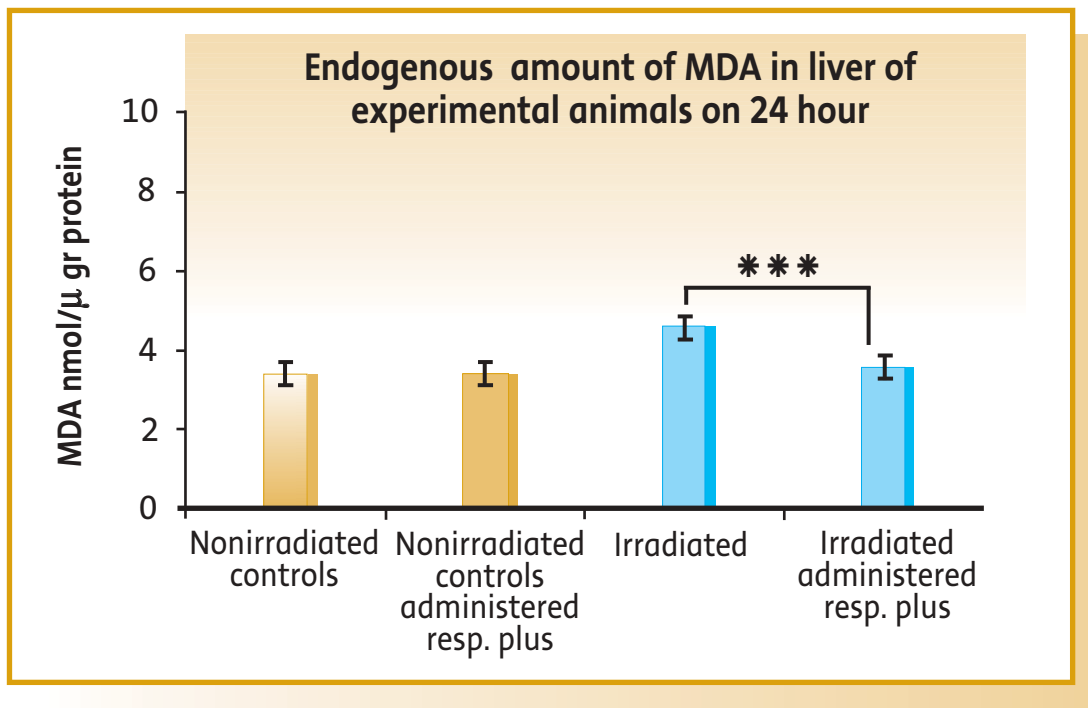


Figure 3. Changes in levels of endogenous MDA in spleen of experimental animals irradiated with a dose of 7,5Gy from gamma source Cs⁻¹³⁷, on the 24 hours post irradiation. *** presented a significant statistical level of p<0,05.

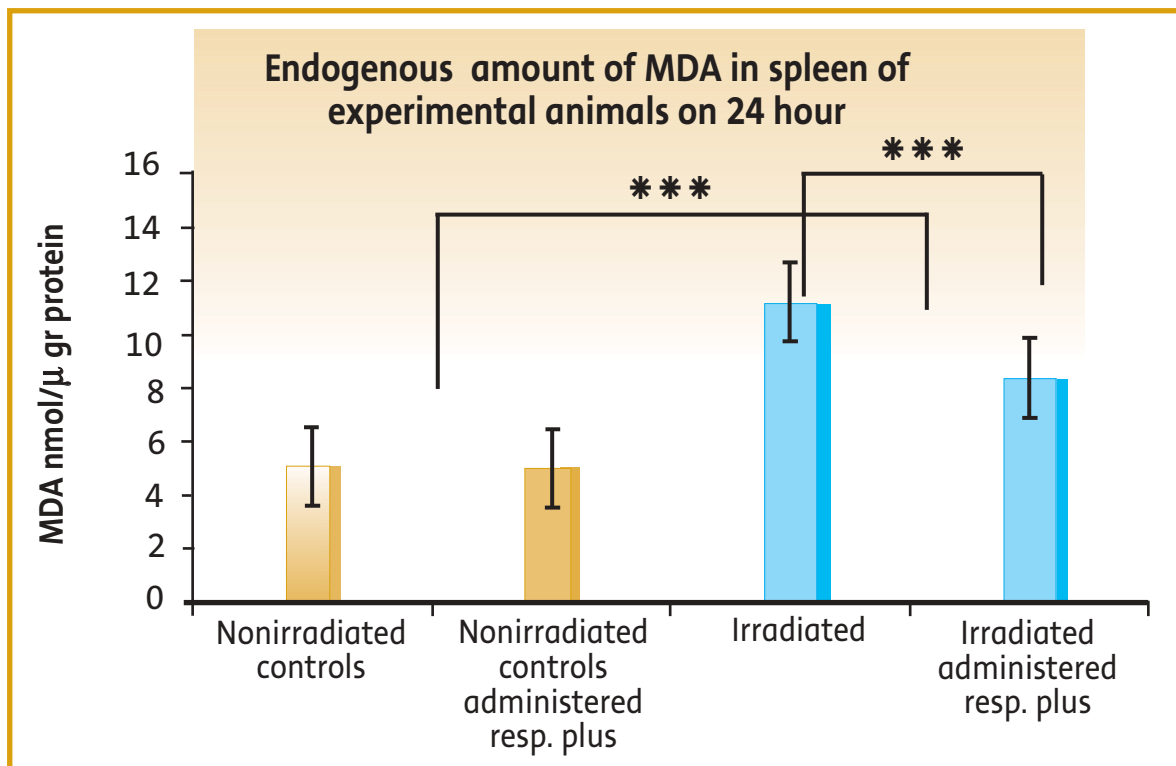


Figure 4. Changes in levels of endogenous MDA in testes of experimental animals irradiated with a dose of 7,5Gy from gamma source Cs¹³⁷, on the 24 hours post irradiation.

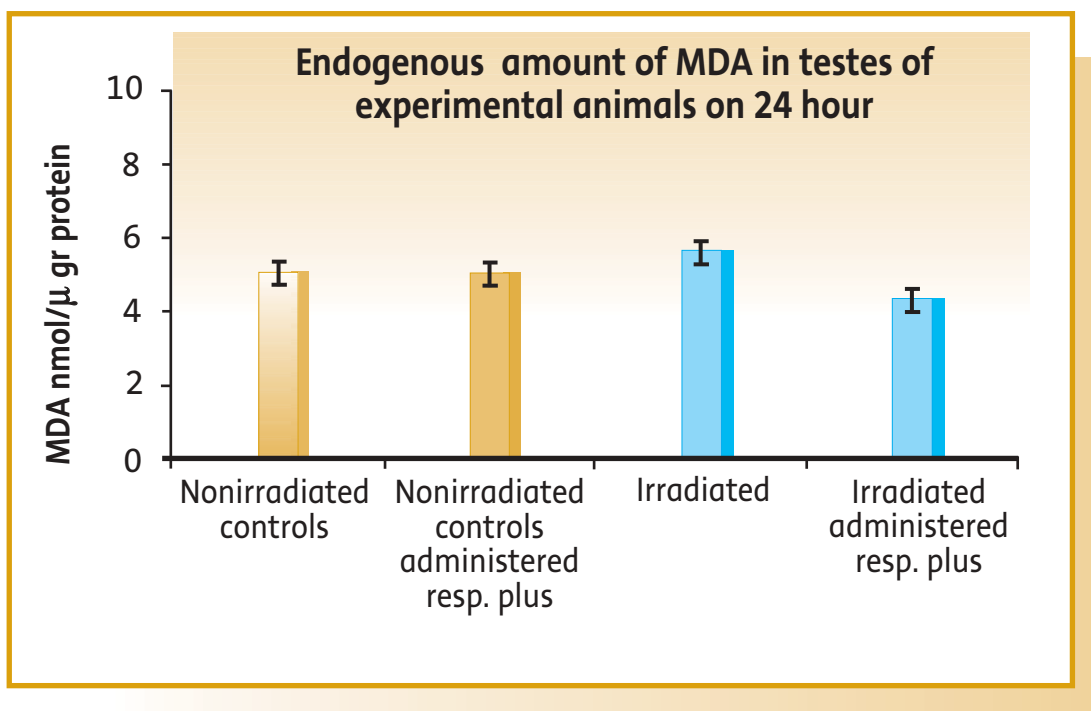
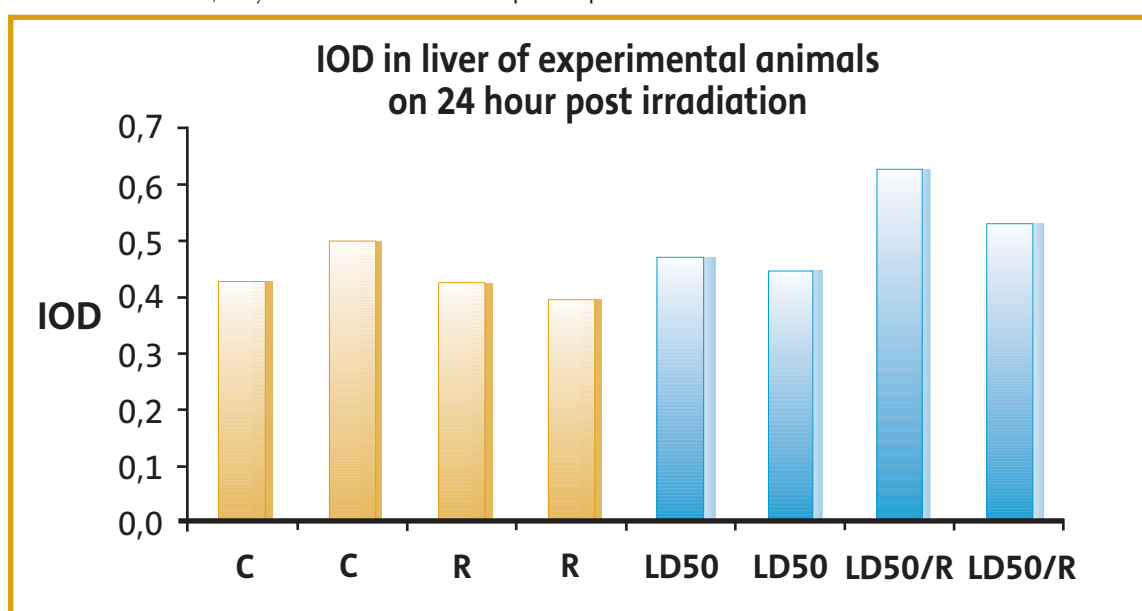


Figure 5. Integral optical density of Cu/Zn SOD protein expression in liver on 24 hours post irradiation. Experimental animals were irradiated with a single dose of 7,5Gy from gamma source Cs¹³⁷. C-nonirradiated controls, R-nonirradiated controls with administration of respistim plus, LD50-irradiated with a single dose of 7,5Gy, LD50/R-irradiated with 7,5Gy and administered respistim plus.



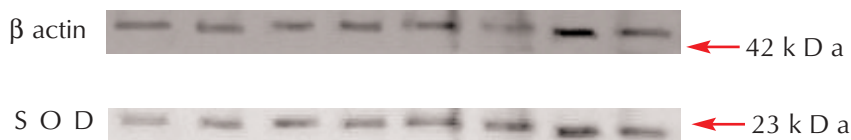


Figure 6.

Integral optical density of Cu/Zn SOD protein expression in spleen on 24 hours post irradiation. Experimental animals were irradiated with a single dose of 7.5Gy from gamma source Cs¹³⁷. C-nonirradiated controls, R-nonirradiated controls with administration of respistim plus, LD50-irradiated with a single dose of 7,5Gy, LD50/R-irradiated with 7,5Gy and administered respistim plus.

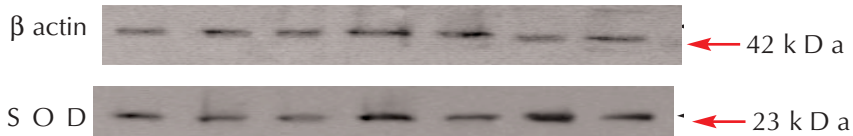
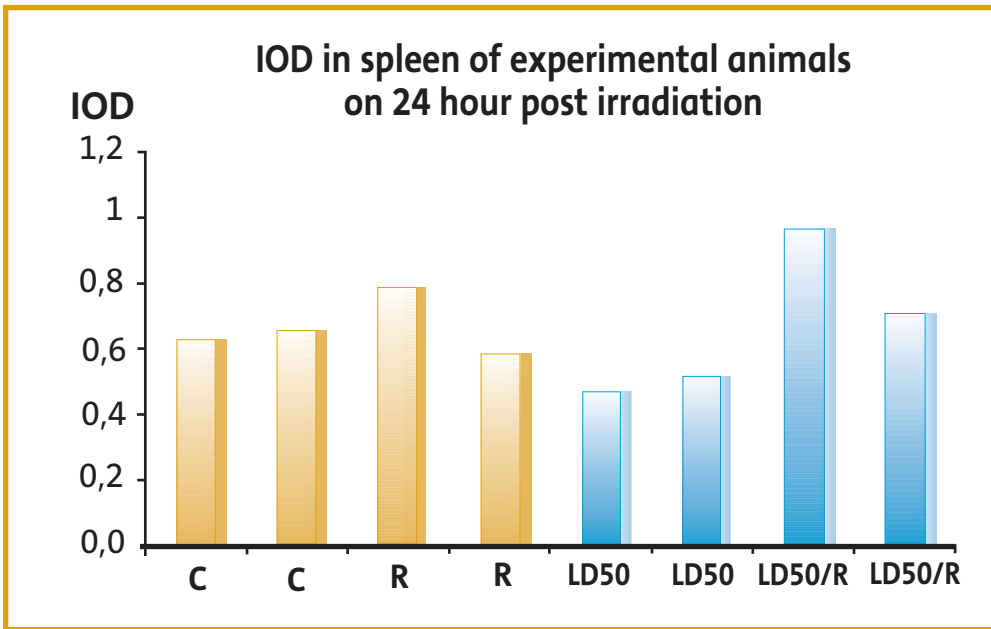
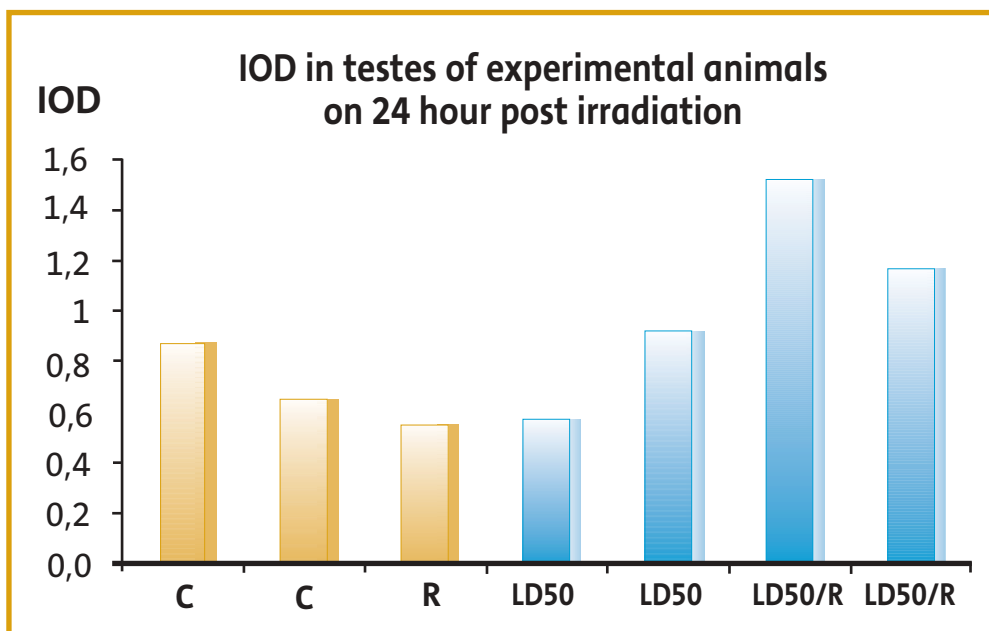


Figure 7.

Integral optical density of Cu/Zn SOD protein expression in testes on 24 hours post irradiation. Experimental animals were irradiated with a single dose of 7,5Gy from gamma source Cs¹³⁷. C-nonirradiated controls, R-nonirradiated controls with administration of respistim plus, LD50-irradiated with a single dose of 7,5Gy, LD50/R-irradiated with 7,5Gy and administered respistim plus.



4. Conclusion

Administration of *Respistim plus* has a positive effect over 30 days survival of experimental animals. The LD50, used to quantify mortality in a population, is defined for radiation as the dose that will cause death in half (50%) of the people (or animals) exposed. The time of death depends on the dose, being within hours for the CNS syndrome, approximately 3-10 days for the GI syndrome, and 30-60 days for the hematopoietic syndrome. Therefore, the term for hematopoietic death is the LD50/30 (it is also known as LD50/60, because death from marrow failure may occur at up to 60 days in humans). LD50/60 values for humans are estimated to be about 4,5 Gy (approximate range of 3-6 Gy) based on the experience of the Japanese atomic bomb survivors and other studies (1, 4). Medical interventions such as blood cell replacements, antibiotics and cytokines and in high-dose cases hematopoietic stem cell transplants could increase survival to the extent of doubling the LD50, value (31, 20, 34, 28).

Classical radiobiology is based on the paradigm that cell death results from DNA damage that occurs both directly in the form of DNA strand breaks and indirectly as a result of oxidative reactions (17). In cells that survive, there is the potential for DNA mutations and chromosomal aberrations (26, 11, 27, 3). Radiation induces a variety of additional effects that can be expressed at cellular and tissue levels. These effects include the generation of oxidative stress (29, 35), alterations in gene transcription (43), changes in signal transduction (30), and a number of epigenetic phenomena (22). In addition to contributing to the fundamental understanding of radiation effects within tissue, evaluation of specific changes in gene expression or protein profiles in irradiated cells will likely provide a practical means of defining tissue exposure (2, 9). The present study demonstrates that administration of *Respistim plus* prior to gamma irradiation protected against the oxidative stress and tissue damage produced by acute sublethal dose of gamma radiation. The major forms of cellular damage induced by radiation are DNA

damage, lipid peroxidation, and protein oxidation. The present study demonstrates increased concentration of MDA in the liver, spleen and testis, indicating high level of oxidative stress, in irradiated with a single dose of 7,5Gy which markedly enhanced in comparison with controls (**Fig. 3, 4 and 5**). Similar observations are reported on radiation-induced oxidative damage in several organs (7) and mitochondrial membranes (21). Ionizing radiation generates ROS as a result of water radiolysis. In actively metabolizing cells, there is considerable water apart from the target macromolecules. These ROS can induce oxidative damage to vital cellular molecules and structures including DNA, lipids, proteins, and membranes (12, 16). Products of lipid peroxidation such as MDA have the ability to interact with and alter macromolecules, possibly resulting in diseases (10, 33). Oxidative damage to proteins, as assessed by formation of carbonyl groups is a highly damaging event, and may occur in the absence of lipid peroxidation (13, 38). Thus, modification of lipids and proteins by ROS is implicated in the etiology of radiation-induced physiological disorders and diseases. The present results show that 7,5Gy γ -radiation from cesium-¹³⁷ source produced significant oxidative damage 24 hours following radiation exposure. It is reported that whole-body exposure of rats to radiation from Co-60 causes tissue damage in several organs, as assessed by increased lipid peroxidation, 2, 12, and 72 h after irradiation (23, 37). Recently, emerging evidence suggests that oxidative stress is possibly involved in the pathology of some diseases and other inborn errors of lipid and protein metabolism (32). Therefore, it is suggested that oxidative stress is linked to the organ damage following exposure to ionizing radiation. It is hypothesized that if the oxidative stress is involved in the origin of tissue damage, then successful antioxidant treatment should delay or prevent the onset of that damage (6, 15, 25, 14, 18). The present result demonstrates that *Respistim plus* treatment before irradiation for 15 consecutive days protected against oxidative stress, evidenced by decreased MDA production in the liver, spleen and testis compared to the irradiated mice.

Since 70% of cellular damage produced by ionizing radiation is due to *OH formed from water radiolysis (41), the protective action of *Respistim plus* might be attributed to its ability to scavenge this damaging radical. Ionizing radiation causes oxidative damage to tissues within an extremely short period, and possible protection against it would require the rapid transfer of antioxidants to the sensitive sites in cells. The protective action of *Respistim plus* against lipid oxidation as a factor modifying membrane organization may also be related to his ability to scavenge the oxidation-initiating agents, which are produced during the oxidation of lipids. Since membrane functions and structure are influenced by proteins in membranes and radiation is known to damage thiol proteins (8). Although it is probable that antioxidant enzymes provide important protection from radiation exposure (39), the proper balance of the enzymes, in specific cells and in the whole organism, required for maximum radioprotection is far from clear. For example, a large increase in manganese superoxide dismutase activity in some model systems may have a radiosensitizing effect rather than a radioprotective effect (36), which is probably related to the inability of the cell to cope with overproduction of H_2O_2 or *OH (42). Another potential radioprotector that currently is being studied is the antioxidant enzyme Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1). Both superoxide and hydroxyl radicals generated by ionizing radiation are rapidly destroyed by SOD1 with the generation of hydrogen peroxide, which is converted by intracellular catalase to oxygen and water (19). Over expression of intracellular SOD1 has been demonstrated to be radioprotective in rodents (6, 15, 25). Thus, besides its direct effect, *Respistim plus* may protect against oxidative stress by modulating SOD1 level in organs by acting as antioxidant and working cooperatively with other antioxidants (**Fig. 5, 6 and 7**). Antioxidants must be administered prior to radiation exposure to be effective protectors, because the half-life of radiation-induced free radicals is so short that free radical damage is essentially complete by 10⁻³ s (19). Although the prolonged radioprotective effects could be advantageous for

post exposure treatment in an environmental radiation exposure, this might not necessarily be suitable for radiotherapy, where treatments are given daily, and persistent radioprotectors could reduce tumour response.

In conclusion, *Respistim plus* is shown to have effect against gamma radiation by preventing oxidative stress, this might be through stimulating Cu/Zn SOD, or direct scavenging on free radicals. Administration of *Respistim plus* for 15 consecutive days before irradiation increased survival rate of experimental groups which are administered to 8,3 Gy, in comparison with irradiated controls (LD 50/30=7,5Gy).

Acknowledgments

The authors express their sincere appreciation to Assoc. prof. Margarita Apostolova PhD, scientific investigator and former Chairman of Laboratory of Medico-biological research, Institute of Molecular Biology, Bulgarian Academy of Science for providing the necessary biological facilities, helpful discussion and encouragement.

The authors would like to thanks to Prof. R. Shekerdjiski PhD, DSc, scientific coordinator of the team invented *Respistim plus*.

1. **21st Century Biodosimetry:** Quantifying the Past and Predicting the Future, Vol. 97(1). *Nuclear Technology Publishing*, Arlington, VA, 2001.
2. **Amundson S. A. and A. J. Fornace, Jr.,** Gene expression profiles for monitoring radiation exposure. *Radiat. Prot. Dosim.* 97, 11-16 (2001).
3. **Anderson R. M., S. J. Marsden, E. G. Wright, M. A. Kadhim, D. T. Goodhead and C. S. Griffin,** Complex chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes as a potential biomarker of exposure to high-LET alpha-particles. *Int. J. Radiat. Biol.* 76, 31-42 (2000).
4. **Anno G. H., S. J. Baum, H. R. Withers and R. W. Young,** Symptomatology of acute radiation effects in humans after exposure to doses of 0.5-30 Gy. *Health Phys.* 56, 821-838 (1989).
5. **Barcellos-Hoff M. H.,** How do tissues respond to damage at the cellular level? The role of cytokines in irradiated tissues. *Radiat. Res.* 150 (Suppl.), S109-S120 (1998).
6. **Benyon R. C. and J. P. Iredale,** Is liver fibrosis reversible? *Cut* 46, 443-446 (2000).
7. **Bhatia, A.L., Manda, K., Study on pretreatment of melatonin against radiation-induced oxidative stress in mice.** *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 18, 13-20 (2004).
8. **Biaglow, J.E., Ayene, I.S., Koch, C.J., Donahue, J., Stamato, T.D., Mieval, J.J., Tuttle, S.W.** Radiation response of cells during altered protein thiol redox. *Radiat. Res.* 159 (4), 484-494 (2003).
9. **Boothman D. A., I. Bouvard and E. N. Hughes,** Identification and characterization of X-ray-induced proteins in human cells. *Cancer Res.* 49, 2871-2878 (1989).
10. **Box, H.C., Maccubbin, A.E.,** Lipid peroxidation and DNA damage. *Nutrition* 13 (10), 920-921 (1997).
11. **Brown J. M. and M. S. Kovacs,** Visualization of nonreciprocal chromosome exchanges in irradiated human fibroblasts by fluorescence in situ hybridization. *Radiat. Res.* 136, 71-76 (1993).
12. **Cadet, J., Bellon, S., Douki, T., Frelon, S., Gasparutto, D., Muller, E., Pouget, J.P., Ravanat, J.L., Romieu, A., Sauvaigo, S.,** Radiation-induced DNA damage: formation, measurement, and biochemical features. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 23 (1), 33-43 (2004).
13. **Dean, R.T., Fu, S., Stocker, R., Davies, M.J.** Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 324, 1-18 (1997).
14. **Delanian S., E Baillet, J. Huart, J. L. Lefaix, C. Maulard and M. Housset,** Successful treatment of radiation-induced fibrosis using liposomal Cu/Zn superoxide dismutase: clinical trial. *Radiother. Oncol.* 32, 12-20 (1994).
15. **Epperly M., J. Bray, S. Kraeger, R. Zwacka, J. Engelhardt, E. Travis and J. Greenberger,** Prevention of late effects of irradiation lung damage by manganese superoxide dismutase gene therapy. *Gene Ther.* 5, 196-208 (1998).
16. **Esterbauer, H.,** Estimation of peroxidative damage: a critical review. *Pathol. Biol. Paris* 44, 25-28 (1996).
17. **Hall E. J.,** Acute effects of total-body irradiation. In *Radiobiology for the Radiologist*, 5th ed., pp. 124-135. *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, 2000.
18. **Halliwell, B., Whiteman, M.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cellculture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.* 142, 231-255(2004).
19. **J. B. Mitchell, A. Russo, P. Kuppusamy and M. C. Krishna,** Radiation, radicals, and images. *Ann. NY Acad. Sci.* 899, 28-43 (2000).
20. **Jarrett D. G.,** Medical Management of Radiological Casualties, 1st ed. Armed Forces Radiobiology Research Institute, Bethesda, MD, 1999.
21. **Kamat, J.P., Bolor, K.K., Devasagayam, T.P.A., Venkatachalam, S.R.,** Antioxidant properties of Asparagus racemosus against damage induced by g-radiation in rat liver mitochondria. *J. Ethnopharmacol.* 71, 425-435 (2000).
22. **Kamiya K., J. Yasukawa-Barnes, J. M. Mitchen, M. N. Gould and K. H. Clifton,** Evidence that carcinogenesis involves an imbalance between epigenetic high-frequency initiation and suppression of promotion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 1332-1336 (1995).
23. **Koc, M., Taysi, S., Buyukokuroglu, M.E., Bakan, N.** The effect of melatonin against oxidative damage during total-body irradiation in rats. *Radiat. Res.* 160, 251-255 (2003).
24. **Leach J. K., G. Van Tuyle, P. S. Lin, R. Schmidt-Ullrich and R. B. Mikkelsen,** Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. *Cancer Res.* 61, 3894-3901 (2001).
25. **Lefaix J. L., S. Delanian, J. J. Leplat, Y. Tricaud, M. Martin, A. Nimrod, E Baillet and E Daburon,** Successful treatment of radiation-induced fibrosis using Cu/Zn-SOD and Mn-SOD: an experimental study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 35, 305-312 (1996).

26. **Lloyd D. C., A. A. Edwards, J. E. Moquet and Y. C. Guerrero- Carbajal**, The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties. *Appl. Radiat. Isot.* 52, 1107-1112 (2000).
27. **Loucas B. D. and M. N. Cornforth**, Complex chromosome exchanges induced by gamma rays in human lymphocytes: An mFISH study. *Radiat. Res.* 155, 660-671 (2001).
28. **MacVittie T. J., D. Brown and J. E Weiss, Eds.**, *Advances in the Treatment of Radiation Injuries. Proceedings of the 2nd Consensus Development Conference on the Treatment of Radiation Injuries*, pp. 3-14. Putnam, New York, 1996.
29. **Mitchell J. B., W. DeGraff, D. Kaufman, M. C. Krishna, A. Samuni, E. Finkelstein, M. S. Ahn, S. M. Hahn, J. Gamson and A. Russo**. Inhibition of oxygen-dependent radiation-induced damage by the nitroxide superoxide dismutase mimic, tempol. *Arch. Biochem. Bio-phys.* 289, 62-70 (1991).
30. **Mothersill C. and C. B. Seymour**, Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: Evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the medium. *Radiat. Res.* 149, 256- 262 (1998).
31. **NCRP**, Management of Terrorist Events Involving Radioactive Material. Report 138, National Council on Radiation Protection and Measurements, Bethesda, MD, 1993.
32. **Onody, A., Csonka, C., Gircz, Z., Ferdinandy, P.** Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrite formation in rat hearts. *Cardiovasc. Res.* 58 (3), 663-670 (2003).
33. **Petersen, D.R., Doorn, J.A.**, Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. *Free Radical Biol. Med.* 37 (7), 937-945 (2004).
34. **Ricks R. C., M. E. Berger and E M. O'Hara, Jr., Eds.**, *The Medical Basis for Radiation Accident Preparedness: The Clinical Care of Victims. Proceedings of the Fourth International Conference REAC/ TS Conference on the Medical Basis of Radiation Accident Preparedness.* CRC Press-Parthenon, London, 2001.
35. **Robbins M. E. C., W. Zhao, C. S. Davis, S. Toyokuni and S. M. Bonsib**, Radiation-induced kidney injury: A role for chronic oxidative stress? *MICRON* 33, 133-141 (2002).
36. **Scott, M.D., Meshnick, S.R., Eaton, J.W.** Superoxide dismutase amplifies organismal sensitivity to ionizing radiation. *J. Biol. Chem.* 264, 2498-2510 (1989).
37. **Sener, G., Jahovic, N., Tosun, O., Atasoy, B.M., Yegen, B.**, 2003. Melatonin meliorates ionizing radiation-induced oxidative organ damage in rats. *Life Sci.* 74, 563-572(2003).
38. **Stadtman, E.R., Berlett, B.S.** Reactive oxygen mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem. Res. Toxicol.* 10, 485-490 (1997).
39. **Sun, J., Chen, Y., Li, M., Ge, Z.**, Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance. *Free Radical Biol. Med.* 24, 586-593 (1998).
40. **Tofilon P. J. and J. R. Fike**, The radioresponse of the central nervous system: A dynamic process. *Radiat. Res.* 153, 357-370 (2000).
41. **Ward, J.F.** DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* 35, 95-125 (1988).
42. **Weiss, J.F., Michael, R., Landauer, M.R.** Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals. *Toxicology* 189, 1-20 (2003).
43. **Yang C. R., C. Wilson-Van Patten, S. M. Planchon, S. M. Wuerz-berger-Davis, T. W. Davis, S. Cuthill, S. Miyamoto and D. A. Boothman**, Coordinate modulation of Spl, NF-kappa B, and p53 in confluent human malignant melanoma cells after ionizing radiation. *FA- SEB J.* 14, 379-390 (2000).
44. **Zhao W., D. R. Spitz, L. W. Oberley and M. E. Robbins**, Redox modulation of the pro-fibrogenic mediator plasminogen activator inhibitor-1 following ionizing radiation. *Cancer Res.* 61, 5537-5543 (2001).

*Address for correspondence:***Ivan Kindekov**Scientific Laboratory of Radiation Protection,
Military Medical Academy – Sofia.**Иван Кингеков**Научна лаборатория по радиационна защита,
Военна Медицинска Академия – София

Androgen Receptor Polymorphism in Healthy Hirsute and Non-hirsute Young Women

R. Robeva¹, D. Dobрева², G. Kirilov¹, A. Tomova¹, A. Savov², Ph. Kumanov¹

¹Clinical Center of Endocrinology, Medical University – Sofia

²Laboratory of molecular pathology, Medical University – Sofia

Полиморфизъм на андрогенния рецептор при здрави хирзутидни и нехирзутидни жени

Р. Робева¹, Д. Добрева², Г. Кирилов¹, А. Томова¹, А. Савов², Ф. Куманов¹

¹Клиничен център по ендокринология, Медицински университет – София

¹Лаборатория по молекулярна патология, Медицински университет – София

Abstract

Aim: The purpose of the study was to compare the androgen receptor (CAG)_n polymorphism in non-hirsute and hirsute healthy women, and to clarify the possible relationships between the CAG repeat number and some reproductive hormones.

Materials and methods: The CAG repeat number in the androgen receptor (AR) gene of both X chromosomes was investigated in 52 young healthy women with regular menstrual cycles. Hirsutism was evaluated through Ferri-

Резюме

Цел: Проучването имаше за цел да сравни (CAG)_n полиморфизма на андрогенния рецептор при нехирзутидни и хирзутидни жени с редовен менструален цикъл, както и да изясни връзката между броя на CAG триплетите и някои репродуктивни хормони.

Материали и методи: Степената на окосмяване в андроген-зависимите зони, броят на CAG мотивите в андрогенния рецептор и нивата на някои хормони (общ и

man-Gallwey scale (FG). A score ≥ 8 was found in 11 women, while the other females were non-hirsute. The shorter and longer alleles of every participant as well as the mean biallelic number are described. The levels of total testosterone, sex hormone binding globuline (SHBG), luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone, estradiol and dehydroepiandrosterone-sulphate (DHEAS) were determined. The free testosterone concentrations were also calculated.

Results: The mean CAG repeat number did not differ between the hirsute and non-hirsute women. The females with more than 23 CAG repeats in the long allele of the AR gene did not differ from the others regarding their age, body mass index, total and free androgen levels, concentrations of estradiol, DHEAS or SHBG. However, they were significantly less hirsute (FG-score: 2 vs. 4, $p=0,033$) than those with fewer CAG triplets. In addition, CAG repeat length in the long allele correlated negatively with Ferriman-Gallwey score in non-hirsute females ($r= -0,312$, $p=0,047$). No such relationship was found in women regarding the short allele or the mean biallelic CAG number.

Conclusions: The presence of long allele with more than 23 CAG repeats in healthy Bulgarian women was related to less pronounced hair growth in the androgen-dependent body regions. This correlation was expressed predominantly in healthy normal weight women and was independent of the concentrations of total testosterone, free testosterone or DHEAS. According to our data it seems that long allele is more closely involved in androgen sensitivity at least in healthy women.

Key words:

CAG repeat, Androgen receptor, hirsutism, androgens.

свободен тестостерон, глобулин, свързващ половите хормони, лутеинизиращ хормон, фоликуло-стимулиращ хормон, естрадиол и дехидроепиандростерон-сулфат) бяха определени при 52 млади жени без менструални нарушения. Хирзутизм (≥ 8 точки по скалата на Ferriman-Gallwey /FG/) беше установен у 11 от изследваните жени. При участничките беше определен броят на CAG мотивите и в двете X хромозоми. Аелът с относително по-малък брой CAG триплети беше означен като „къс“ аел /КА/, а този с по-голям брой – като „дълъг“ аел /ДА/. Средната биалелна стойност също беше изчислена.

Резултати: Средният брой на CAG мотивите беше сходен при хирзутидните и нехирзутидните жени. Участничките в проучването с повече от 23 CAG мотива в дългия аел не се различаваха от останалите по възраст, индекс на телесна маса или концентрации на половите хормони. Те обаче бяха по-слабо окосмени от жените с по-малък брой триплети (FG: 2 срещу 4 точки, $p=0,033$). Освен това, броят на CAG мотивите в дългия аел при нехирзутидните жени беше обратно пропорционален на точките по скалата на Ferriman-Gallwey ($r= -0,312$, $p=0,047$). Такива зависимости не бяха установени по отношение на късия CAG аел или на средната биалелна стойност.

Заключение: Наличието на дълъг аел с повече от 23 CAG триплета при здрави българки се свързва с по-слабо окосмяване по андроген-зависимите зони. Тази връзка е по-изразена при жените с нормално тегло и не зависи от нивата на общия тестостерон, свободния тестостерон или ДХЕАС. Възможно е аелът с по-голям брой CAG мотиви да има по-голямо значение за андрогенната чувствителност при здрави жени.

Ключови думи:

CAG мотив, андрогенен рецептор, хирзутизм, андрогени.

Introduction

Androgens exert their effects mainly through the androgen receptor (AR). The AR gene has been mapped to the long arm of the X-chromosome. Exon 1 of the gene consists of two polymorphic repeat (CAG and GGC) motifs, encoding variable lengths of polyglutamine and polyglycine stretches, respectively, in the N-terminal region of AR protein. The CAG repeat length and the AR transactivation potential are inversely correlated. Therefore, it seems that the increased CAG repeat length is associated with decreased AR activity and hence with disorders related to the reduced androgen actions (reviewed in 10).

Accordingly, the role of the CAG repeat number has been thoroughly investigated also in hyperandrogenic states. Ibanez et al. suggested that shorter CAG number, indicative of enhanced androgen sensitivity, increases risks for precocious pubarche and subsequent ovarian hyperandrogenism (6). Moreover, the smaller biallelic mean of CAG repeats was associated with increased odds of polycystic ovarian syndrome, a common reproductive disease associated with metabolic disturbances (2, 13).

Although the AR gene polymorphism has been largely investigated in pathological hyperandrogenic conditions, the data about its role in healthy young women are still insufficient. Therefore, we aimed to investigate the relationships between the CAG repeat number, hirsutism and hormonal indices in healthy Bulgarian females under 40 years, who did not suffer from ovarian dysfunction.

Subjects and methods

Subjects and study protocol

Fifty-two women (mean age 30,21±4,60 years) with regular menstrual cycles were included in the study. They underwent a complete general assessment, including height, weight, waist circumference, body mass index (BMI), general condition and assessment of hirsutism. From the investigated 52 females 11 were hirsute (modified Ferriman-Gallwey score ≥ 8),

therefore, hormonal disturbances and ovarian dysfunction were excluded in all of them. Blood samples for hormonal assay were collected on the third to fifth day from the first day of a spontaneous menstrual cycle in the morning between 08.00 and 10.00 a.m. after an overnight fast. The experimental protocol was explained to all participants and informed consent was obtained.

Hormone assay

Total testosterone (TT), sex hormone binding globulin (SHBG), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), dehydroepiandrosterone-sulphate (DHEAS) and estradiol (E2) were determined. Testosterone, gonadotrophins, estradiol and SHBG were measured with commercially available DELFIA kits (DELFLIA, Perkin Elmer, Wallac Oy, Turku, Finland). DHEAS was determined by RIA kit (Immunotech, Beckman Coulter Co), the free testosterone (FT) concentrations were calculated according to the Vermeulen formula (<http://www.issam.ch/freetesto.htm>) (14).

Androgen receptor polymorphism

The genomic DNA was extracted from venous blood by salt extraction method. Polymerase chain reaction amplification of CAG repeat in exon 1 of the androgen receptor gene was performed. The method in details is described elsewhere (11). Eleven men with different allelic size were subjected to direct sequencing for evaluation of polymorphic loci, and then used as molecular marker for determination of allelic size of the investigated groups. Each sample was analyzed by capillary electrophoresis on an ABI Prism 310 ABiosystems® automated sequencer and the products were analyzed with software ABI Prism Data Collection, Sequencing Analysis 3.4.1®, ChromasPro®.

Statistical analysis

In all women CAG repeat number were determined in the two X chromosomes. Only two women had equal CAG repeat lengths, while others had longer and shorter one. The terms „short“ and „long“ were relative for individual, like in other studies (3). The biallelic mean CAG repeat length was calculated. The

mean values were used for cut point dividing longer from shorter CAG repeat length carriers. Thereby the women with lower from those with higher androgen sensitivity were differentiated.

After the Kolmogorov–Smirnov test for normality of the distribution, a two-tailed Pearson correlation or a two-tailed Spearman correlation was performed. The correlation was considered significant at the 0.05 level. Differences among two groups were established with independent sample t-test or Mann-Whitney test. The results were expressed as mean \pm S.D., except for the values of free testosterone concentration and FG score. Both did not show normally distribution and were presented as medians. Statistical analysis was conducted through SPSS v. 11 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA).

Results

The mean CAG repeat number in the investigated women was $21,26 \pm 3,52$ and varied between 11 and 31 (**Fig. 1**). Anthropometrical

and hormonal values are shown on **table 1**. The eleven females with hirsutism did not differ from the others regarding the age, BMI, LH, FSH, SHBG, total testosterone or DHEAS ($p > 0.05$). However, their free testosterone levels were significantly higher in comparison to non-hirsute females ($32,50$ vs. $23,50$ pmol/l, $p = 0,027$). The median for FG-score was 2 in non-hirsute and 13 in hirsute females ($p < 0,001$).

The mean CAG repeat number in the short allele ($19,41 \pm 3,48$ vs. $19,55 \pm 2,38$) as well as the mean biallelic CAG number ($21,33 \pm 2,87$ vs. $21,00 \pm 1,61$) did not differ between the healthy females and women with hirsutism. However, the long allele CAG number was higher in non-hirsute than in hirsute women ($23,24 \pm 2,88$ vs. $22,45 \pm 2,38$), but the difference did not reach statistical significance, probably because of the small number of women in the second group. The women with more than 23 CAG repeats in the long allele of the AR gene did not differ from the others regarding their age, BMI, total and free androgen levels, concentrations of estradiol or DHEAS ($p > 0.05$). However, they were significantly less hirsute (FG-score: 2 vs. 4, $p = 0,033$).

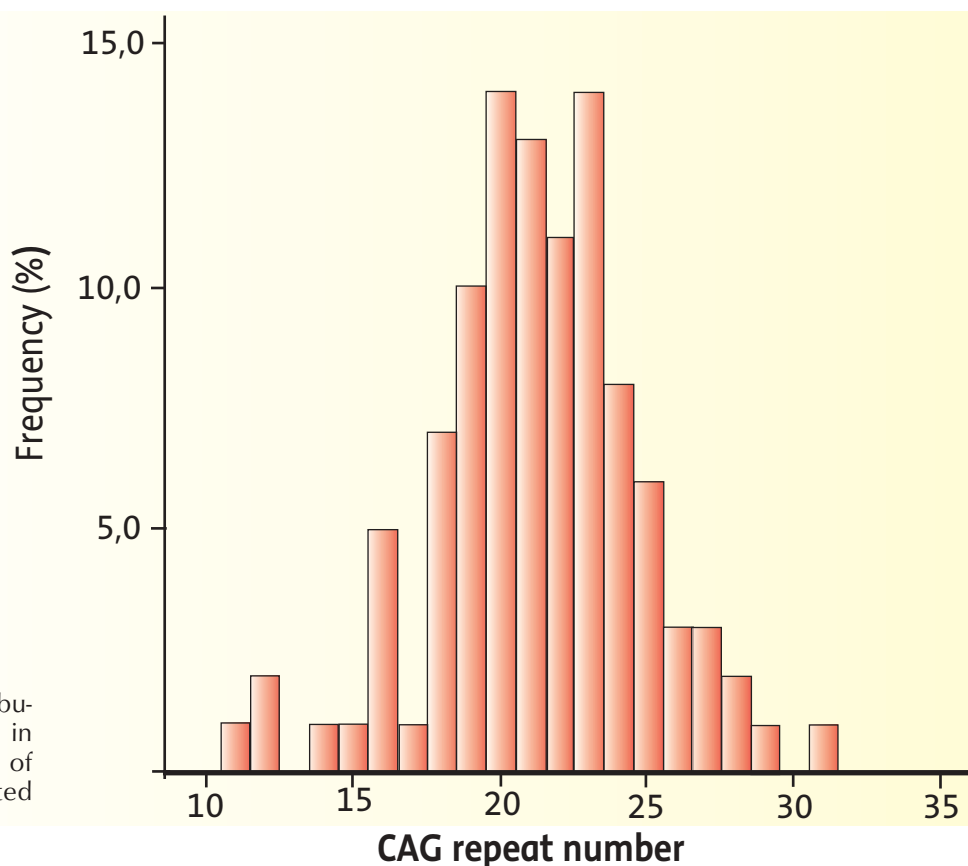


Figure 1.

Frequency (%) distribution of (CAG) n alleles in both X chromosomes of the 52 investigated women ($n=104$).

than those with fewer CAG triplets in the long allele. The women with higher mean biallelic CAG number had lower DHEAS levels in comparison to the others ($6,41\pm 3,49$ vs. $8,92\pm 4,81$, $p=0,047$), but no differences in other anthropometrical indices, hormonal values or FG-score were established ($p>0,05$). Similarly, no significant differences were found in women regarding the CAG number in their short allele.

relate to the levels of hirsutism, androgen concentrations or any other of the investigated hormonal values.

Table 1.

Some anthropometrical, hormonal and genetic indices in the investigated women (n=52).

	Mean±SD		Mean±SD
Age (years)	30,21±4,60	LH (IU/l)	4,96±2,04
BMI (kg/m ²)	24,15±5,98	FSH (IU/l)	6,11±2,11
Waist circumference (cm)	77,31±14,59	Testosterone (nmol/l)	2,49±0,98
CAG – Biallelic mean	21,26±2,65	SHBG (nmol/l)	73,28±23,14
CAG – Long allele	23,08±2,78	Estradiol (pmol/l)	325,7±263,8
CAG – Short allele	19,44±3,26	DHEAS (µmol/ml)	7,69±4,36

34 of the investigated women were with BMI <25, while the other 18 were overweight or obese (BMI≥25). The lean females had higher SHBG levels than the others, but the differences in the free testosterone levels did not reach a statistical significance (data not shown). The normal weight women with higher CAG repeat number in the long allele had similar androgen levels in comparison to the others (total testosterone - $2,41\pm 0,79$ vs. $2,34\pm 1,00$ nmol/l, $p>0,05$; free testosterone - $25,00$ vs. $21,00$ pmol/l, $p>0,05$; DHEAS - $6,77\pm 2,45$ vs. $7,70\pm 4,35$, $p>0,05$), but were significantly less hirsute (2 vs. 4, $p=0,018$). Such relationships were not established in the group of obese women. In both groups no significant differences regarding the CAG number in the short allele or the mean biallelic CAG number were found.

The correlation analyses in all women did not find any significant relationships between the CAG repeat number, androgen concentrations and grade of hirsutism. However, in the normal weight women the CAG repeat length in the long allele correlated negatively with the FG score ($r= - 0,441$, $p=0,009$). The same relation was significant, if only the non-hirsute females were included in the analysis ($r= - 0,312$, $p=0,047$). The mean biallelic CAG number and the CAG repeats in the short alleles did not cor-

Discussion

Our results showed that the presence of long allele with more than 23 CAG repeats in regularly cycling Bulgarian women was related to less pronounced hair growth in the androgen-dependent body regions. This correlation was expressed predominantly in normal-weight women and was independent of the concentrations of total testosterone, free testosterone or DHEAS. However, the smaller CAG repeat number in the short allele of women was not related to more expressed hirsutism. Consequently, it seems that long CAG allele is more closely involved in androgen sensitivity at least in lean women.

Such influence was not established in overweight females, probably because of the smaller number of investigated subjects. Furthermore, the increased fat tissue per se could modulate the grade of hirsutism through different mechanisms. The obesity in women was related to lower SHBG and higher free androgen index (15). Several studies demonstrated that hyperinsulinemia could stimulate directly the ovarian androgen production (9). In obese women these factors might influence the level of free androgens and the relevant FG score. Probably, the

mild protective role of the lower androgen sensitivity is insufficient in case of vastly increased androgen concentrations.

The published data about the relationships between the polymorphism of androgen receptor and hirsutism are contradictory. The American women with hirsutism had significantly lower number of CAG repeats in comparison to controls without androgenic skin disorders (12). Vottero et al. found no difference in the number of CAG repeats between hirsute patients and controls, and no correlation between number of repeats and the Ferriman score or hormonal values. However, they reported that in nonhyperandrogenic hirsutism the longer of the two AR alleles were preferentially inactivated, allowing for the shorter (and presumably, more functional) allele to be expressed on the active X-chromosome (16). In opposite, a larger study comparing women with hirsutism to healthy controls found no significant differences in the number of CAG repeats and concluded that neither the CAG repeat polymorphism in the AR gene, nor skewed X-chromosome inactivation, seemed to play a significant role in the pathogenesis of hirsutism (1). Our results supported the findings of Legro et al., who established an inverse relation between Ferriman Gallwey score and CAG repeat size in normoandrogenic patients with idiopathic hirsutism (8). The contradictory results from different studies could be due to specific ethnic characteristics, different age, anthropometrical and clinical signs of the participating women as well as different inclusion criteria.

In our study of healthy women no significant relationships between the levels of serum androgens, LH, FSH and SHBG on one hand and the CAG repeat number on the other were established. The correlations between the reproductive hormones and the AR gene polymorphism were thoroughly investigated in healthy men. The AR CAG repeat length correlated significantly with serum testosterone and estradiol levels of 3369 aging males from eight European countries. Weaker transcriptional activity of the AR with longer CAG-encoded polyglutamine repeats appeared to be totally or nearly totally compensated for by higher testosterone levels (5). Conversely, the data in women without

reproductive diseases are obscure. A negative correlation was found between the CAG repeat length and the concentration of total testosterone in Finnish females aged 34-55 years with metabolic syndrome and healthy controls (7). On the contrary, the study of 258 young women did not establish any relation between the total testosterone and CAG polymorphism, in accordance to our results (4). However, the presented data could not support or reject the hypothesis about the dependence between serum androgens and CAG repeat length, because of the small number of investigated subjects. This is also the main limitation of our study.

It is logically to suggest, that the androgen receptor sensitivity would have higher influence in healthy females, where the normal androgen levels are lower in comparison to males. However, the investigation of women is more complicated, because the blood sample for sex hormones should be taken at appointed days of the menstrual cycle. Moreover, the men have only one X chromosome and respectively one AR gene, while in women two usually different AR alleles with different expression in the diverse tissues should be determined. Larger studies are needed in order to reveal the exact relationships between the (CAG)_n polymorphism in the AR gene, sex hormones concentrations and hirsutism in women with normal reproductive function from different ethnic groups.

The authors express their gratitude to the National Science Fund of Bulgaria, MOMN for the financial support of the project L-1504/2005.

1. Calvo, R., M. Asuncion, J. Sancho, J. L. San Millan, H. F. Escobar-Morreale. The role of the CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene and of the skewed X-chromosome inactivation in the pathogenesis of hirsutism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85, 2000, 1735-1740.
2. Essah, P., J. Nestler. Metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.*, 86, 2006, s1, 18-19.
3. Hickey, T., A. Chandy, R. J. Norman. The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87, 2002, 1, 161-165.
4. Hietala, M., T. Sandberg, A. Borg, H. Olsson, H. Jernström. Testosterone levels in relation to oral contraceptive use and the androgen receptor CAG and GGC length polymorphisms in healthy young women. *Hum. Reprod.*, 22, 2007, 1, 83-91.
5. Huhtaniemi, I. T., S. R. Pye, K. L. Limer, W. Thomson, T. W. O'Neill, H. Platt, D. Payne, S. L. John, M. Jiang, S. Boonen, H. Borghs, D. Vanderschueren, J. E. Adams, K. A. Ward, G. Bartfai, F. Casanueva, J. D. Finn, G. Forti, A. Giwercman, T. S. Han, K. Kula, M. E. Lean, N. Pendleton, M. Punab, A. J. Silman, F. C. Wu. European Male Ageing Study Group. Increased estrogen rather than decreased androgen action is associated with longer androgen receptor CAG repeats. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 94, 2009, 1, 277-284.
6. Ibanez, L., K. K. Ong, N. Mongan, J. Jaaskelainen, M. V. Marcos, I. A. Hughes, F. De Zegher, D. B. Dunger. Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in the development of ovarian hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88, 2003, 7, 3333-3338.
7. Jääskeläinen, J., S. Korhonen, T. Kuulasmaa, S. Kurl, L. Niskanen, M. Vanhala, M. Hippeläinen, R. Voutilainen, S. Heinonen. Androgen receptor gene CAG repeat length in women with metabolic syndrome. *Gynecol. Endocrinol.*, 24, 2008, 7, 411-416.
8. Legro, R., B. Shahbarami, R. A. Lobo, B. W. Kovacs. Size polymorphisms of the androgen receptor among female hispanics and correlation with androgenic characteristics. *Obstet. Gynecol.*, 2004, 83, 701-706.
9. Poretsky, L., N. A. Cataldo, Z. Rosenwaks, L. C. Giudice. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr. Rev.*, 20, 1999, 4, 535-582.
10. Rajender, S., L. Singh, K. Thangaraj. Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. *Asian. J. Androl.*, 9, 2007, 2, 147-179.
11. Robeva, R., D. Dobрева, A. Savov, A. Tomova, Ph. Kumanov. Polymorphism of the androgen receptor in the Bulgarian population. *Endocrinologia*, 12, 2007, 3, 132-140 (in Bulgarian).
12. Sawaya, M. E., A. R. Shalita. Androgen receptor polymorphisms (CAG repeat lengths) in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *Cutan. Med. Surg.*, 3, 1998, 1, 9-15.
13. Shah, N. A., H. J. Antoine, M. Pall, K. D. Taylor, R. Azziz, M. O. Goodarzi. Association of androgen receptor CAG repeat polymorphism and polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 93, 2008, 5, 1939-1945.
14. Vermeulen, A., L. Verdonck, J. M. Kaufman. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84, 1999, 10, 3666-3672.
15. Vicennati, V., L. Ceroni, S. Genghini, L. Patton, U. Pagotto, R. Pasquali. Sex difference in the relationship between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sex hormones in obesity. *Obesity (Silver Spring)*, 14, 2006, 2, 235-243.
16. Vottero, A., C. Stratakis, L. Ghizzoni, C. A. Longui, M. Karl, G. P. Chrousos. Androgen receptor-mediated hypersensitivity to androgens in women with nonhyperandrogenic hirsutism: skewing of X-chromosome inactivation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84, 1999, 1091-1095.

Address for correspondence:

Prof. Philip Kumanov, MD, PhD, DMSc

Clinical Center of Endocrinology
Medical University – Sofia,
2 Zdrave Str., Sofia 1431
e-mail: phkumanov@lycos.com

Проф. Филип Куманов, гмн

Клиничен център по ендокринология,
Медицински университет – София,
ул. „Здраве“ 2, София 1431
e-mail: phkumanov@lycos.com

Non-linear Complex Dynamics and the Medical Definition of Mental Disorder

Drozdtoj Stoyanov, MD, PhD, PGCert
University of Medicine, Plovdiv
University of Pittsburgh, USA

Нелинейни комплексни динамични системи и медицинското определение за психично разстройство

Дроздтой Стоянов,
МУ Пловдив и Университет на Питсбърг, САЩ

Abstract

The aim of the study is to explore whether the idea of homeostasis together with the idea of function can serve as a bridge between different levels of organisation and thus to provide insight into the nature of disorder across levels including the psychological or whole person level. It is important to note that homeostasis and function are essentially different ideas and some authors like Wakefield are inclined to trust that function itself is satisfactory enough to ground the concept of disorder.

As it was already outlined in many other studies (Fulford, Thornton, 2006, Bolton, 2003b) the very definitions for health and disorder in psychopathology are unsatisfactory, in contrast to the conventional medical disciplines. Thus I shall focus critically on the current definitions of health in comparison to the disorder and disease. My focus on disorder will require an assessment of Jerome Wakefield's account of

Резюме

Целта на настоящото проучване е да изследва дали идеята за хомеостазата заедно с идеята за функцията могат да послужат като мост между различните нива на организма и така да осигурят разбиране за природата на болестта на всички нива, включително психологичното и нивото на цялостната личност.

Важно е да се изтъкне, че хомеостазата и функцията се разглеждат като същностно различни категории и някои автори, като Джером Уейкфийлд са склонни да вярват, че функцията сама по себе си е достатъчна за да удовлетвори концепцията за болест. Същевременно, както бе очертано в други изследвания (Фулфорд, 2006, Торнтън 2007, Болтън 2003), самите определения за здраве и болест в психопатологията са недостатъчни в сравнение с останалите медицински дисциплини. В този смисъл аз ще се насоча критично към ня

disorder, which incorporates the notion of function, respectively dysfunction.

So *my first argument* will concern an attempt to define function from both evolutionary and normative viewpoints as a possible synergetic interpretation of the item. Then I shall introduce the ideas of intentional and non-intentional causation as underlying the emergence of function. Basically this exposition is driven from the Bolton and Hill's theoretical analysis of causality in psychology and psychiatry (2003). Additionally, any plausible account of [dis]order will have to address the semantic and logical implications of the concept. This account will make link to the chaos theory where the antonym of disorder – namely „order“ is initially presented. As it is well known chaos theory adopts many terms and notions from other branches of knowledge, where the genuine semantic and practical implications are often set in a different way. Nevertheless some of these terms, such as non-linearity or entropy though not in their original context seem helpful in the pragmatic description of the concepts of function and homeostasis.

Thus we have to scrutinize the notions of 'order' in particular and to outline its dimensions in biomedicine. It requires the introduction of the logical and empirical correlates of 'disorder' in the general medicine and the common sense. The tacit issue we shall return to is the following definition for the disease as „harmful disorder“. Although I will touch partially the Wakefield's analysis I will not consider his narrower analysis of disease as „harmful disorder“ concept.

My second argument concerns the notion of homeostasis. There are studied the meaningful connections between homeostasis and its determinants – the processes of intentional, non-intentional causation; and the complementary constructs of [non] linearity, negative entropy and entropy as well. I claim for revision of the implementation of the explanatory model of homeostasis both in medicine and mental health specifically. As an outcome it is most promising term to serve the future definitions for mental disorder.

Then I shall consider whether it is entirely applicable in the area of mental health and explore its operative and essential aspects in this context.

кои съвременни определения за здраве, съотнесени с тези за болест и разстройство. Моят следващ акцент върху болеста включва преценка на схващанията на Уейкфийлд за разстройство, които съдържат в себе си понятията функция, съответно дисфункция.

Първият ми аргумент излага определението за функция като едновременно еволюционна и нормативна категория. После въвеждам термините за „целенасочената“ и „нецеленасочена“ причинност като процеси, лежащи в основата на възникването на функциите на организма. В общи линии това изложение следва теоретичния анализ на Болтън и Хил на причинността в психологията и психиатрията (2003).

Вторият ми аргумент засяга понятието за хомеостаза. Изследвани са смисловите връзки между хомеостазата и нейните детерминанти: процесите на целенасочена и нецеленасочена причинност, и комплементарните на тях конструкти: линейност, нелинейност, ентропия и негентропия. Предлага се ревизия на обяснителния модел на хомеостазата в медицината като цяло и в психичното здраве в частност.

В заключение приемам, че взаимоотношенията между целенасочената причинност, нелинейните динамики и хомеостазата могат да се използват като полезни познавателни средства при обяснението на сложните патогенетични механизми в медицината и психиатрията.

It includes the issues of operational (or working) definitions for 'mental disorders' in the international conventions and the essential contents.

In conclusion we summarize the interface between the intentional causality, non-linear dynamics and homeostasis as a cognitive instrument for arrangement of the mental disorder complexity.

Introduction and aim

I intend to explore some terms of crucial significance for biomedicine and psychiatry, which causes talking at cross-purposes concerning the contents of the definition for „disorder„. These are especially the notions of „function“, „aberrant function“, „function failure“ in comparison between the somatic and mental disorder.

Biomedicine puts an emphasis on biological explanations and definitions for any kind of abnormal state in the organism. When applied to psychopathology similar view looks unsatisfactory at less from two points. The first argument is epistemological. We are usually confused with the high diversity and reciprocal elimination of the different definitions. I mean that any of the formulations seems to contradict and thus to exclude the others. They range from anti-psychiatry (Schatz, Foucault and Cooper), through psychodynamic and hermeneutic understanding (Freud; Jaspers) to such strong biological definitions as given in biological neuropsychiatry (R. Kendell, E. Kandel, L.Iverssen, A. Carlsson). Anti-psychiatry for instance defines the mental illness as a „Myth“. This is the crucial point specifically for Thomas Schatz perspective. Other authors who belong to similar traditions, such as Foucault prefer to regard the „mental disorder“ as a kind of historical or socio-historical construct. In both cases the analysis entails an emphasis on extrinsic [value] factors of the social milieu which shape the idea of mental illness. Therefore it is sometimes regarded as „values in“ concept in contrast to „values out“ ascribed to Robert Kendell in contemporary psychiatry. Actually the publications criticizing conventional psychiatry caused a vigorous response from the so called **pro-psychiatry movement** and Kendell was just one of the speakers who advocated the medical

or pro-psychiatry viewpoint. Kendell stresses on the universal according to his account epidemiological and certainly natural indicators of disease: reduced fertility and increased mortality rate. Having registered these indicators definitely expressed in the population of the psychiatric patients in comparison with the general medicine patients Kendell and his associates conclude that the mental illness is obviously liable to medical or biological definitions for disease. Although Kendell's contribution is beyond any doubt influential, we must also consider a number of other presumably reductionist claims at the mental disorder as bodily illness. They are to be traced back to the works of Thomas Willis, a prominent English neuroscientist in XVI century who favored the view of mental illness as a brain disease, the same definition proposed later by the outstanding German psychiatrist Wilhelm Griesinger. Besides another response contra Schatz' 1974 publication „**The Myth** of Mental Illness“ was the 1986 paper deliberately entitled as „**The Reality** of Mental Illness“ by the influential Cambridge psychiatrist Martin Roth. In modern times Eric Kandel, a Nobel laureate, believes that ubiquitous mechanisms determine memory and thought in all kinds of living organisms respectively their disturbances. Other perspectives close to this debate are introduced in the (I) phenomenological psychopathology by Carl Jaspers and Ludwig Binswanger who put an emphasis on the unique personal experience and (II) Adolf Meyer who understands mental disorders as „maladaptive reactions“. Last but not least psychoanalytic and derivative theories also undermine the stability and relevance of the very concept for „mental disorder“.

So far it seems that there is something surprisingly difficult in the core concepts of psychiatry and medicine. One feature that has become clear about the definition of disorder (and hence of disease and illness as well) is that it is a contested notion and there is no hope for an early agreement on its correct definition. According to our view (Stoyanov, 2009, Machamer & Stoyanov 2009) any attempt for combination of the abovementioned approaches is not grounded on consensual understanding of the fundamental issues and therefore remains purely instrumental.

This analysis of this „core problem“ stated in the definition for mental disorder aims at reduc-

tion of the diversity and bringing the definitions closer but it may also set them at a distance. For this reason I intend to outline in my first argument the idea of dysfunction with respect to the „harmful dysfunction“ construct. In the second argument I shall try to establish connections with (non-) intentionality, non-linear dynamics and homeostasis as a guide of thinking about disorder independently of the final resolution of the debate.

Argument I: function, intentionality, linearity

In this section I will begin by outlining Wakefield's analysis of disorder. This outline is inescapably bound to the notion of function. I will then examine two other relevant notions that may shed light on the psychiatric disorder: **the concepts of intentionality and non-linearity.**

When biomedicine introduces the term of „function“ it usually means „normal function“ or **regular function.** Something in our organism is assumed as regular when it obeys the rules of physiology and keeps in the qualitative referent values indicated not to be harmful.

Another traditional sense implies function in Darwinian perspective as what is something **intended** to be for. This concept refers to the theory of evolutionary naturalism adopted from biology and explains the function as a process which occurred and developed in the evolution through the natural selection. Function is designed as intentional process with specific purpose and goal determined in adaptation. One suitable example to clarify the distinction between the two definitions of function is: *„the heart is for the pumping of blood, not the making of a noise, even though it does both and does both regularly“.*

However the *normal function* may include in the first rank the idea of regularity but it also depends on the evolutionary idea of the „proper“ function as it was mentioned above. For this reason in the further analysis we shall combine the two views for what is supposed the function to be: from a normative angle as a sign of regularity and from an angle of intentionality.

The issue which arises from the concept of function is the controversial definition for „abnormal“ function implied in the Jerome Wakefield's vision for „harmful dysfunction“. It

follows the general „naturalist“ trends in medicine, derived mainly from the Evolutionary theory. In particular Wakefield claims to offer such a definition for disorder in the context of plausible reading of DSM-IV. The crucial point in this understanding of mental disorder is that dysfunction is properly understood along the lines of some mental or behavioral mechanism not functioning as designed, selected for in evolution. According to the recent Derek Bolton's critique the core problem lies „precisely in the attempt to demarcate the natural from the social, which fails at least in the domain of psychological functioning“. Bolton stresses on two different from the evolutionary natural selection influences on the mental life and behavior. These are namely the process of socialization (I) and the individual choice (II). Furthermore it is outlined that there are many types of norm corresponding to each of the origins (or designs) of the human behavior – evolutionary/genetic, social/cultural and individual. In this perspective there are three possible ways of function failure (resp. dysfunction) considering mental states and behavior: failure to operate in the way designed by the evolution; failure to operate in the way taught and sanctioned by the culture and failure to act as the person intended, according to his needs and values as he sees them. The latter is regarded as the representation of the individual level dysfunction when there is evident for the very person involved a deviation from his personal norms and values.

Furthermore, as it has been summarized in the current paper by M. Aragona the general outline of mental disorder still includes biomedical definitions (and descriptors) on one hand and sociopolitical on the other. In the concluding remarks of his analysis Aragona states that psychiatric disorder remains both normative and evaluative and Wakefield's definition can not contribute any more to resolving of this controversy in DSM – V.

We may presume that there are number of processes in the living systems which underlie the emergence of functions. Therefore another related idea which has been deployed to shed light on psychological order and disorder is that of intentional causation. Bolton and Hill (2003) use it to describe intentional processes in a way that places them in a continuum with other bio-

logical processes and contrasting with more basic physical processes which can be possibly described in information-free terms.

Here is Bolton and Hill's (2003) description of the **intentional processes**:

- Informational, due to the fact that there are receptors carrying electrochemical signals to the nervous systems regulatory centers. This signaling is a considered actually as a form of informational stream.
- Intentional processes are connected with a distinction of normal/inappropriate (incorrect, abnormal) processes,
 - Have specified goals and purposes,
 - Present range of function and preoccupation
- Distinguished with selectivity and accuracy
- Do obey to conventional rules which constrain the range of normal function.

In resume intentionality enter into polemics with the Humean causation in its *positivist interpretation*. The latter is assumed to say that a consequence B happens whenever the action of the cause A is presented. In a logical proposition it sounds like this „Whenever A-type events happen, B-type ones follow“. According to David Hume, we reason inductively by associating constantly conjoined events, and it is the mental act of association that is the basis of our concept of causation. One may argue that in fact such description is addressed to non-linear relationships in present sense, as this is explored bellow.

Anyway the common sense for normal function to define the spectrum of „normality“ requires intentional causal explanation underlying this function. On the other hand as it was assumed by Bolton & Hill, the opposite non-intentional functions also present in the living world as well as in the mental functioning and do not necessarily mean „abnormality“. They assert the following features of **non-intentionality**:

- No reference to „normal“ or „correct“ functioning
- Does not require the concepts of goals and purpose

- Action is not directed and informed
- There are no conventional rules and agreements to be found

The authors believe that non-intentionality is valid in physical systems whilst the principles of intentionality seem to be applicable mainly in the biological systems. However the non-intentionality is also required in the biological systems due to the need of informational sensitivity in their processing. There follows that both intentional and non-intentional causation are necessary prerequisites for the function in biological as well as in psychological sense.

As a counterpart to the concept of intentionality the ideas of **non-linear and dynamic (i.e. chaotic) system's functioning** in the theory of chaos represent another attempt for „informational“ description of the health and disease. It has been stated in the theory of chaos that non-linearity is bound to increased complexity of the system regulation and the multitude of factors involved in the maintenance of the „healthy“ functions and homeostasis. On the other hand linearity represents a system of simple and definitive causal relationships, i.e. explicit deterministic system. *It is close to the mind that though not synonymous the terms of linearity and intentionality are related regarding the predictability and purposefulness of the action*. Nevertheless we must keep in mind that there exist many intentional processes in natural world which are non-linear and vica versa.

According to the Chaos theory any function which refers to informational linear order is described with the notion of **negative entropy** in contrast with entropy which diminishes informational contents in the system dynamics. Negative entropy is a term adopted in the theory of chaos and considered as a contribution of the physicist Erwin Schrödinger. In the context of the Informational theory namely negative entropy (A. Szent-Györdyi) is used to measure the **„distance from normality“**. There is meant the distance from the Gaussian (Gauss-Laplace) *normal distribution* which is actually the general statistical descriptor of the norm in medicine and therefore in psychiatry if regarded as a medical discipline. Any deviations from the Gaussian curve are hence defined as „abnormal“ including such states as the very high intelligence quo-

tient (IQ). Linearity and negative entropy are often assumed as the indicators of **order** in the living systems as far as they are considered responsible for the proportionality of the system response to any stimulus from the environment, physical or social. In this sense they inescapably refer to the notion of „**disorder**“ in English language semantically.

Let's focus then on some semantic and logical aspects in the definition of disorder. Foremost traditionally bio-medicine considers any indicators of a particular functional property (as is the heart frequency) outside a separate range as „aberrant“ or „abnormal“.

Consequently, the „aberrant“ function is related to the **notion of „disorder“**. We may see that „disorder“ semantically consists of denial. The matter denied is evidently „order“. As it was already scrutinized before *order means at the same time intentional and linear causation as well as negative entropy*. I would like to stress in this sense that the healthy system does not represent like this. It has been observed for instance in physical and thermo dynamical systems that the total order makes any system lifeless for it prevents the emergence of change and progress. Obviously the living systems involve both negative entropy and entropy in different proportions with respect to the particular process complexity. In the range from bodily processes to mental phenomena and whole personality complexity increases. Hence the borderline between health and disease expands and turns to be more sophisticated and indefinite.

Argument II: homeostasis

The continuous equilibrium of linearity /intentionality and non-linearity/ non-intentionality leads to another crucial notion: the homeostasis. Homeostasis is regarded as a traditional indication for let's say „healthy order“ of the human organism. But is it literally „order“ in the sense of intentional causality and linear functional connections?

Homeostasis (from Greek: ὅμος, *hómos*, „similar“; and ἵστημι, *histémi*, „standing still“; defined by Walter Bradford Cannon in 1929 + 1932) is defined in most of the

classical bio-medical sources as *the property of a system, either open or closed, that regulates its internal environment and tends to maintain a stable, constant condition*. Typically used to refer to a living organism, the concept came from that of **milieu interieur** that was created by **Claude Bernard** and published in 1865. What make the homeostasis possible are a multiple *dynamic equilibrium* adjustment and regulation mechanisms. All homeostatic control mechanisms have at least three interdependent components for the variable being regulated: The **receptor** is the sensing component that monitors and responds to changes in the environment. When the receptor senses a stimulus, it sends information to a **control center**, the component that sets the range at which a variable is maintained. The control center determines an appropriate response to the stimulus. In most homeostatic mechanisms the control center is the brain. The control center then sends signals to an effector which is supposed to be the „reaction segment“ of the operating mechanism (organs or other structures that receive signals from the control center). After receiving the signal, a change occurs to correct the deviation by either enhancing it with *positive feedback* or depressing it with *negative feedback*.

Practitioners often imply different use for homeostatic „normal function“ at the various levels of the organism. We also use the understanding for homeostatic rules in definitions concerning neural function. So the essence of the study deals with the issue whether we can define any conceptual discrepancy between the physiological, respectively „healthy“ function of the physical including nervous system in contrast to the mental-behavior functioning.

The understanding of homeostasis is regulated by some anticipatory underpinnings, as touched in the introduction. Though the concepts of non - intentionality and (negative) entropy are originally grounded on different theoretical premises, both indicate the key dimen-

sions for the circumscription of **homeostasis**:

- Homeostasis is non-linear multi-factorial state of the organism
- This state demands the Humean (or non-intentional) as well as intentional causal connections between the descriptors (indexes, as blood pressure or heart rate) and the underlying mechanisms
- Therefore homeostatic functions are implied to be deterministic but often non-linear;
- The complexity of the homeostatic functions increases from the physiological to the mental processes;
- The „normal“ function is referred in the idea of homeostasis. It is regarded as a conventional definition for biomedicine however contestable even at the level of the organism. The more sophisticated, complex and non-linear become the relationships, the less applicable it seems to be. E.g. „proper“ function in its normative sense is compromised for specific harmless conditions which are obvious deviations for the normal statistical distribution as the extremely high IQ.

As it is evident homeostasis is composed of total network of different properties sustaining its functional capacity during the processes of adaptation. Thus it involves intentional processes/functions as well as non-intentional. We accept traditionally that homeostasis is built on a multitude of „proper“ and „normal“ functional connections. However these connections are neither proper from an intentional perspective nor accurate in the sense of regularity. Homeostatic „order“ does not mean literally order, respectively linearity and predictability. If revisited it is rather supposed to be **„dosed instability“ or functioning „at the edge of chaos“** (G. Popov, 2007). One legitimate question which arises then is how actually such specific condition could be maintained given the context of the individual development, both physical and mental.

According to [Dynamic Energy Budget](#) theory for metabolic organization there exist structure and (one or more) reserves in an organism. Its formulation is based on three forms of homeostasis:

- **Strong homeostasis**, wherein structure and reserve do not change in composition. Since the amount of reserve and structure can vary, this allows a particular change in the composition of the whole body
- **Weak homeostasis**, wherein the ratio of the amounts of reserve and structure becomes constant as long as resources availability is constant, even when the organism grows. This means that the whole body composition is constant during growth in constant environments.
- **Structural homeostasis**, wherein the sub-individual structures grow in harmony with the whole individual; the relative proportions of the individuals remain constant.

Although these distinctions are evolved in the field of physical (or bodily) adaptation they are plausibly extrapolated for the whole person in the process of mental development.

Broadly speaking, the weak and the structural homeostasis seem relevant for the personal and mainly inter-personal level of regulation, which concerns the more sophisticated control of behavior in specific social situations. Simultaneously the strong homeostasis is more applicable in the sub-personal levels of the organism. It is obvious however that, by analogy with intentionality, all three types of homeostasis present on each level of the organism.

As it concerns the whole person the concept of homeostasis needs further clarification and reference to higher system complexity. Simultaneously with the increasing complexity and non-linearity towards the level of the inter-personal awareness in social interactions, the strong homeostasis is replaced by structural.

Personality fits in the interface of physical and social worlds, acting as a liaison between them. Therefore it inevitably subordinates to the descendent principles of causation exposed above. The sum of linear and intentional processes in the nervous system determines mental processes which are subject to reduction in some theoretical formulations as the Identity theory. Perhaps some singular processes as the inductive reasoning or factual memory activation are reducible to their substrate indeed. Then it is relatively easy to conclude that any loss of factual memory is due to impairment of the hippocampus NMDA systems or learning disabilities and executive functions deficit are convergent to dorso-lateral prefrontal cortex functional damage. However most of mental phenomena seem to be non-intentional and non-linear and thus are not liable to reduction as well. These are for instance the global traits of the personality such as emotional and cognitive intellect and experience qualia properties such as the feeling states. As it has been recently adopted by Stanghellini and Marino namely these characteristics of the person trace the development of the human social adaptation through the attunement and circumscription.

In this context the concept of homeostasis extrapolated at the level of the whole person requires strong consideration of the extrinsic for the organism itself value and social milieu factors and therefore rules of the weak and structural homeostasis.

Resumed, from an account of cognitive pluralism Intentional /non-intentional causality as well as linear/non-linear causality are not to be regarded as binary oppositions. Given the context of this essay these terms are complementary determinants for the concept of homeostasis.

Linear and intentional patterns of regulation seem to determine the „strong“ homeostasis at the level of the biological systems, where stability and predictability are requirements of vital significance for the system functioning. Simultaneously non-intentional and non-linear causal connections are predominantly implemented in sustaining of relatively „weak“ or structural homeostasis both in biological and social systems. Whilst at the level of the organism its indicators are measurable (such as heart rate) at the

level of inter-personal communication they are much more complex and difficult for evaluation. Perhaps one consistent view on this peculiar „*inter-personal*“ homeostasis is the social adaptation which involves many non-linear experiential or qualia functions which maintain the „healthy order“ in a social group such as attunement, appraisal, and circumscription etc. (Stanghellini and Marino 2009).

In summary, according to my argument there is considered a continuum between the two mainstreams of definitions:
intentional causality → linear dynamics → strong homeostasis of the organism and reciprocally non-intentional causation → non-linear (chaotic) dynamics → weak and structural homeostasis in the social systems.

One principal pattern organizing homeostatic functions and processes involved seems to be universally applied. This is the pattern of the **circular causation** as illustrated bellow. Whatever the particular set of functions is, it **must be regulated by the feedback mechanism** in order to maintain the „*dosed instability*“ of the health. Probably disease emerges from the „harmful dysfunction“ of this particular section in the system dynamics – absence of the feedback function which disconnects the chain of circular causation.

Perhaps the disease belongs to any of the two extremities in the continuum of linearity – the total (hyper) order constraining the flexibility and adaptation of the system as well as the chaotic ‚disorder‘ presented with high entropy, non-linearity and lack of any type of intentional regulation.

Conclusions

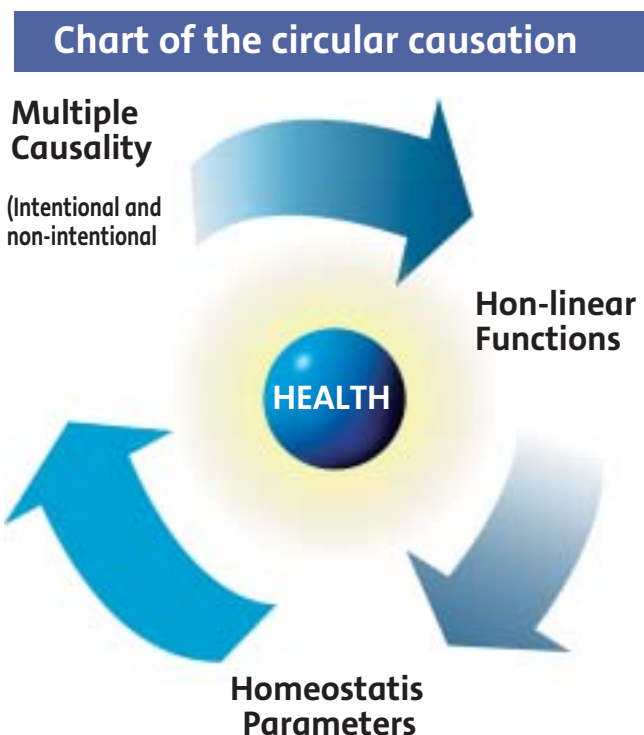
1. Conclusions. There are two trends to result from this overview:

(I) Medicine needs something rather more than homeostasis to define the health. Though in several papers we may find many slogans to address the integrative issues of any illness (somatic or mental) and the disturbance of the social wellbeing in particular sense, the current medical education and practice still ignore them.

(II) Medicine needs further clarification of „homeostasis“ as a basic term in its explanations and definitions. This requires an abandonment of the underlying traditional linear (and intentional) model and develops a pluralistic account of function and homeostasis as descriptors of health.

(III) Psychiatry needs further evidence data to introduce more sophisticated and precise definition for disorder which may also include the notion of homeostasis. Psychopathology needs to question the Wakefield’s definition for disorder both semantically and on an essential level.

This demands both medicine and psychopathology to attune their views in order to embrace the integrative, high complexity non-linear problems of the health and disease.



References

1. **Aragona, M**, The concept of mental disorder and the DSM, *Dial Phil Ment Neurosci*, 2009, 2(1): 1-14
2. **Bolton, D**, What is mental disorder? *Oxford University Press* 2008
3. **Bolton, D and J Hill**, Mind, meaning and mental disorder, *OUP* 2004
4. **Machamer, PK and DS Stoyanov**, The scientification project of psychiatry, *IAHPM „Asklepios“* 2009, Vol. III (XXII): 51-56
5. **Popov, G**, Chaos and order or the principle of dosed instability, *Steno books* 2007 [in Bulgarian]
6. **Stanghellini G and S. Marino**, Moods, Affects and Attunement: towards working definition of the feeling states and their role in social adaptation and self-identity, *IAHPM Asklepios*: 56-66
7. **Stoyanov DS**, The Cross-Validation in the Dialogue of Mental and Neuroscience, *Dial Phil. Ment. Neuro. Sci* 2009; 2(1): 24-28

8. **Stojanov D, J Korf, P De Jonge and G Popov**, The possibility of evidence-based psychiatry: depression as a case, *Clin Epigenet*, 2010: DOI 10.1007/s13148-010-0014-2
9. **Thornton, T**, Essential philosophy of psychiatry, *OUP* 2007
10. **Wakefield, J**, Disorder as a harmful dysfunction: a conceptual critique

Address for correspondence:

Assoc. Prof. Drozdatoj Stijanov, MD, PhD

Medical University – Plovdiv,
151 Vassil Aprilov Bul., Plovdiv 4002
stojanovpisevski@gmail.com

Доц. Дроздстој Стоянов, MD, PhD

Медицински универзитет – Пловдив,
Бул. „Васил Априлов“ 151, Пловдив 4002
stojanovpisevski@gmail.com

Българска Академия на
Науките и Изкуствата
Българска педиатрична асоциация

Национална интердисциплинарна научно-
практическа конференция

**„Актуални медико-
социални проблеми
на детската и
юношеската възраст“**

*Под патронажа на комисията по здравеопазване и
комисията по образование, младежта и спорта към
Народното събрание*

12-13 март 2011 „Новотел Пловдив“ – Пловдив



Supplement/Приложение

Организационен комитет

Национална интердисциплинарна научно-
практическа конференция
National interdisciplinary scientific &
practical conference entitled

**„Актуални медико-социални проблеми
на детската и юношеската възраст“**
*„Contemporary medico-social problems in
childhood and adolescence“*

Съпредседатели:

Академик проф. д-р Боян Лозанов (БАНИ) и
Доц. д-р Евгени Генеv (БПА)

Членове:

Академик проф. д-р Григор Велеv (БАНИ)
Доц. д-р Маргарита Каменова (БАНИ)
Проф. д-р К. Чамоv (БАНИ)
Доц. д-р Владимир Пилософ (БПА)
Доц. д-р Димитър Калайков – касиер (БПА)
Доц. д-р Светослав Ханджиеv (БАНИ)

12-13 март 2011 „Новотел Пловдив“
March 12-13, 2011, Plovdiv

Програма

12-13 март 2011 зала „Пловдив“

12. 03. 2011(СЪБОТА)

10,00 – 16,00

Регистрация на участниците

14,00 – 16,00 ПЪРВО ПЛЕНАРНО ЗАСЕДАНИЕ зала „Пловдив“

Модератори: проф. Б. Лозанов и доц. Е. Генеv

14,00 – 14,10

Откриване, приветствия

14,10 – 14,30

Състояние и перспективи на училищното здравеопазване в Европа – *проф. К. Чамов*, БАНИ

14,30 – 14,50

Училищното здравеопазване – опитът на Варна – *доц. Д. Радев*, Община Варна

14,50 – 15,10

Растеж и полово развитие на момчетата у нас – трансверзално и лонгитудинално проучване – *доц. А. Томова*, БАНИ

15,10 – 15,30

Аномалии в половото развитие на момчетата в България – *проф. Ф. Куманов*, БАНИ

15,30 – 15,50

Гушавостта в детската възраст – роля на струмигенните фактори – *проф. Б. Лозанов*, БАНИ

15,50 – 16,00

Дискусия

16,00 – 16,30

КАФЕ-ПАУЗА

16,30 – 18,00 ВТОРО ПЛЕНАРНО ЗАСЕДАНИЕ зала „Пловдив“

Модератори: проф. Гр. Велеv и проф. К. Чамов

16,30 – 16,50

Хранителен статус – поднормено и наднормено телесно тегло при българските деца и пограстващи – *Я. Жечева, И. Янкова, А. Начева* – Инст. по експ. Морфология и антропология, БАН

16,50 – 17,10

Затлъстяване в детско-юношеската възраст – *доц. С. Ханджиев*, БАНИ

17,10 – 17,30

Публично-частното партньорство в полза на детското здраве – опитът на ДАНОН – СЕРДИКА – *К. Траев, Ц. Георгиева*, ДАНОН

17,30 – 17,50

Проблеми на зависимостите в детската и юношеската възраст – *доц. А. Хубенова, доц. Е. Бързашка*, БАНИ

17,50 – 18,10

Съвременни предизвикателства за агресивността и насилието при деца – *доц. В. Писев*, БАНИ

18,10 – 18,20

Дискусия

18,30 – 19,30 **Кръгла маса**
 Проблеми на юношеската патология, ролята на училището и училищното здравеопазване

Модератори: проф. Б. Лозанов и доц. Е. Генеф

20,30 **КОКТЕЙЛ „Добре дошли“**

13.03.2011(НЕДЕЛЯ)

08,30 – 10,30 ТРЕТО ПЛЕНАРНО ЗАСЕДАНИЕ зала „Пловдив“

Модератори: доц. Д. Калайков и доц. М. Бошева

08,30 – 08,50 Метаболитен синдром и захарен диабет тип 2 – **доц. В. Йотова**, МУ – Варна

08,50 – 09,10 Комбиотик – новата концепция на НПП в детското хранене – **доц. Е. Генеф**, БПА

09,10 – 09,30 Хронични белодробни заболявания в училищната възраст – **доц. П. Переновска**, МУ София

09,30 – 09,50 Артериална хипертония в детската и юношеската възраст – **доц. Вл. Пилософ**, Национална Кардиологична Болница – София

09,50 – 10,10 Профилактика на рака на маточната шийка от гледна точка на педиатъра – **доц. П. Переновска**, МУ София

10,10 – 10,30 Хранителни разстройства в юношеската възраст – **доц. Е. Генеф**

10,30 – 11,00 **КАФЕ-ПАУЗА**

11,00 – 13,00 **ЧЕТВЪРТО ПЛЕНАРНО ЗАСЕДАНИЕ зала „Пловдив“**

Модератори: доц. Пилософ и доц. Переновска

11,00 – 11,20 Ранна диагностика на нарушенията в детското развитие – **д-р Й. Пискова**, Клиника по детски и генетични заболявания, УМБАЛ „Св. Георги“ Пловдив

11,20 – 11,40 Образната диагностика в педиатрията – **д-р М. Пенков**, Университетска болница „Св. Иван Рилски“ София

11,40 – 12,00 Ендокринни хипертонии – **д-р Н. Калева**, МУ Пловдив

12,00 – 12,20 Хематологични прояви при системни заболявания в детската и юношеската възраст – **д-р М. Спасова**, МУ Пловдив

12,20 – 12,40 **Фирмена презентация**

12,40 – 12,50 **Дискусия**

12,50 – 13,00 **Закриване на конференцията**

Проблеми и перспективи на училищното здравеопазване в Европа

1

Кънчо Чамов, Факултет по обществено здраве – София

През последните 10 години значителен брой Европейски държави реформират здравнополитическите си концепции в областта на училищното здравеопазване. Проучване на Европейското Регионално Бюро на Световната Здравна Организация от 2010 г., включващо 37 държави – членки установява, че 46% от тях са реформирали концепцията, организацията и управлението на системата за училищно здравеопазване през последните пет години. В повечето държави реформаторските начинания са постигнали положителни резултати, а в малък брой от тях те са имали негативно въздействие върху системата.

Анализират се проведените реформи в училищното здравеопазване в Европейските държави, които засягат следните приоритетни области:

здравнополитически анализ и целево позициониране на проблема;
организация, управление и източници на финансиране; форми на медицинско обслужване;
подбор и обучение на персонала; здравни потребности на целевия контингент; роля и значение и форми на здравната промоция в училищата.

Установяват се следните национални реалности свързани с негативни въздействия върху системата на училищното здравеопазване в държавите обект на проучването:

- липса на адекватна информация за проблемите в 88% от случаите;
- понижен интерес от страна на училищния персонал и родителите към програми за промоция на здравето – 68%;
- недостиг на финансови ресурси – 78%;
- недостиг на медицински персонал – 65%;
- отсъствие на ясен модел за разпределение на отговорностите за здравето на учениците между администрация, училищни (семеини) лекари, училищни сестри и др.
- неадекватна нормативна база – 14% и др.

Анализират се съществуващите модели на здравно обслужване в условията на съвременното училище с акцент върху здравната промоция и профилактика на заболяванията.

Представеният анализ няма за цел да предложи организационна панацея, нито да открие възможно най-верните решения на проблемите в училищното здравеопазване, а има за цел да предложи синтез на различни здравнополитически и организационни стратегии като полезна информация за адекватна дискусия.

Растеж и полово развитие на момчетата у нас – трансверзално и лонгитудинално проучване

Анелия Томова, *Клиничен център по ендокринология и геронтология, Медицински университет – София*

Трансверзалното изследване включва 6200 момчета на възраст от няколко месеца до 19 години от 5 региона на България. В сравнение с подобни проучвания досега в света това е най-мащабното, извършено от един и същ изследовател (Филип Куманов). Отделно са проследявани 131 момчета от София в продължение на 8 години. Измервани са ръстът и теглото и са определяни обемите на тестисите, дължината и обиколката на пениса, пубисното и аксиларното окосмяване. Въз основа на получените данни са изработени норми на тези показатели. И при двете проучвания бе установено, че след навършване на 10 години започва бързо увеличаване на размера на тестисите, най-изразено между 12 и 15 години. След навършване на 16 години, когато половите жлези достигат размери $13,69 \pm 3,80$ ml, уголемяването им е несигнификантно и на 18 – 19 годишна възраст развитието им приключва. В детството дължината и обиколката на пениса нарастват плавно, а след 12 годишна възраст по-рязко. В сравнение с данните за момчета, получени в нашата страна при предишни изследвания, в сегашното проучване бе установено, че понастоящем ръстът и теглото са по-големи и е налице избързване в половото развитие с около 1 година.

Аномалии в половото развитие на момчетата в България

Филип Куманов, *Клиничен център по ендокринология и геронтология, Медицински университет – София*

За изясняване на честотата на определени аномалии на мъжката репродуктивна система беше предприето най-мащабното досега у нас изследване.

Трансверзалното проучване върху 6200 момчета от 5 региона на страната показва, че хипоспадията е със сравнително ниска честота – 0,29%. Относителният ѝ дял сред селското население е по-висок. Установи се връзка с годишните времена на ражданията на деца с хипоспадия.

Честотата на крипторхизма е 1,52%. След съпоставяне на резултатите от това проучване с данните от предишни изследвания може да се приеме, че като цяло в страната честотата на крипторхизма се е повишила сред децата, ненавършили 1 година, а също и в някои региони.

Според извършените сега трансверзално и лонгитудинално наблюдения адоlescцентната гинекомастия е явление, характерно за средата на пубертета. Оказва се, че по-голяма вероятност за развитие на гинекомастия имат момчета с нисък индекс на телесната маса, както и тези с левостранно варикоцеле.

Честотата на идиопатично левостранно варикоцеле е 7,9%. При засегнатите бе установено съществено намаление на обема на тестиса от съответната страна. Ръстът и размерите на пениса са благоприятстващи фактори за развитие на варикоцеле; теглото и индексът на телесната маса може би имат протективно действие.

Проучваните аномалии се отразяват негативно върху цялостното развитие и особено на репродуктивната функция на погроставащите.

Гушавостта при деца и погроставащи, роля на струмидените фактори

4

Боян Лозанов, *Научен център по медицина към
Българска Академия на Науките и Изкуствата – БАН*

Струмиденезата е сложен мултифакторен процес, при който е налице взаимодействие между фактори от ендогенно и екзогенно естество. Ендогенните фактори, нередко фамилни, са определящи в етиологията и патогенезата на спорадичната гуша. Тялната роля е второстепенна и модулираща при ендемичната гушавост, основна роля за която имат факторите на околната среда, на първо място йодният дефицит.

Йоден дефицит се развива при хранителен прием на йод под нивата на рекомендацията за съответната възраст. Препоръчителният дневен йоден прием за деца в предучилищна възраст е 90 мкг, за ученици (6-12 г.) – 120 мкг, за юноши и възрастни (над 12 г.) – 150 мкг, за бременни и кърмещи жени – 250 мкг. Според дискриминативните критерии на СЗО (2007) за категоризация на йодния хранителен статус на популационно ниво при деца =>6 год. на база йодурия, за адекватни се приемат стойности между 100 и 199 мкг/л, за лек йоден дефицит тези между 50 и 99 мкг/л, за умерен – между 20 и 49 мкг/л, за тежък дефицит < 20 мкг/л, докато стойностите > 300 мкг/л се приемат за ексцесивни (с риск за неблагоприятни последствия – йод-индуциран хиперили хипотиреоидизъм, „йодна гуша“).

С ефектите си върху развиващия се мозък, менталния капацитет, физическото и полово развитие на погроставащите, йодният дефицит е глобален медико-социален проблем, изискващ политика на превенция и устойчиво елиминиране. Наред с него, от

значение е също дефицитът на микроелемента Селен, чиито ефекти са съпоставими с тези на йодния дефицит и се изразяват в стимулиране на струмигенезата и на имунологичните процеси свързани с тиреоидна дисфункция.

България е страна от Балканския ендемичен регион, в който тези фактори имат определящо значение по отношение гушавостта. В резултат на системно провежданата през последните 15 години универсална йодна профилактика йодният дефицит при децата и погроставащите у нас бе елиминиран, а честотата на гушавостта сведена под 5% в таргетната група за оценка, съответстваща на тази за спорадична гушавост в неендемичните райони. Независимо от това, данните от последното представително проучване (2008 г) показват, че при част от децата от 7 до 10 г. йодурията остава извън приетите норми (под 100 мкг/л в 14%, над 300 мкг/л в 16%), а при 14,6% от изследваните се доказва наличието и на селенов дефицит. Това корелира с относително висока честота на субклиничния хипотиреоидизъм (12,6% до 15,4% от изследваните са показали ТСХ > 4,2 mIU/l), като най-висок процент се установява в ендемичните райони Враца, Сливен и Благоевград. Това налага провеждане на допълнителни изследвания, отчитащи значението на ендогенните и фамилни фактори, в т.ч. наличие на частични ензимни дефекти в тиреоидната хормоносинтеза и метаболизма на тиреоидните хормони, автокринни механизми (растежни фактори и други цитокини), придобита или вродена резистентност към тиреоидните хормони на рецепторно или пострецепторно ниво. Някои от ендогенните фактори са хормонозависими или зависими от йодния прием, включително от наличие на йоден ексцес. Доказано е, че естрогените имат модулиращ ефект по отношение ефекта на тиреоидните хормони на периферно и централно ниво, което определя по-високия риск за тиреоидни нарушения при женския пол, особено в периода на пубертета, когато честотата на струмите нараства значително. Роля имат също собственият растежен потенциал на тиреоцитите и HLA-хаплогена, които са генетично детерминирани.

През последните години особено внимание се обръща върху струмигения ефект на екологичните фактори, свързани с човешката дейност и замърсяването на околната среда: роля на някои пестициди, изкуствени торове с високо нитратно съдържание, някои продукти на нефта съдържащи феноли, пиридини, фталати и други съединения, включително използваните пластмаси в бита. Доказан е също струмигенен ефект на тютюнопушенето и консумацията на алкохол, особено при децата и погроставащите. Изброените екзогенни фактори могат да имат директно действие върху тиреоидеята като блокират различни етапи на тиреоидната хормоносинтеза или стимулират растежния потенциал на клетките. Някои от тях оказват и индиректен ефект чрез автокринните и периферните механизми на регулация на тиреоидеята.

Превенцията на тиреоидните нарушения изисква комплексно въздействие върху възможните фактори на струмигенезата и хормоналната дисфункция, особено в рисковите групи каквито са децата и погроставащите. Те подлежат на системен контрол от компетентните органи, включително чрез организирането на системни скринингови проучвания и контрол в детските колективи и училищата.

Хранителен статус – поднормено и наднормено телесно тегло при български деца и пограстващи

5

Я. Жечева, И. Янкова, А. Начева, *Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей, Българска Академия на Науките*

Изследването на телесната охраненост и определянето на честотата, главно на нейните крайни форми – поднормено тегло III ст. и затлъстяване, при децата и пограстващите е необходим елемент от мониторинга на здравословното им състояние.

Целта на настоящото съобщение е да представим данни за Индекса на телесната маса (ИТМ) и за честотата на различните категории телесен хранителен статус при новородени и при 3-17 годишни деца и пограстващи от София.

Изследвани са 219 новородени деца (2001 г.), 640 деца от предучилищна възраст - 3-6 години (2004-2005 г.) и 2291 деца и пограстващи между 7 и 17 годишна възраст (1993-2002 г.) или общо 3150 деца, разпределени относително равномерно в 16 възрастови групи. Категоризирането на телесния хранителен статус е извършено според разграничителните стойности на ИТМ, разработени от Т. Cole и кол. въз основа на критериите на International Obesity Task Force (IOTF).

При раждането средната стойност на ИТМ е 13,20 кг/м² за момчетата и 13,04 кг/м² за момичетата. До 17 годишна възраст средните стойности на ИТМ постепенно се увеличават, като до 9 години те са по-големи при момчетата, а през активния пубертетен период – при момичетата. Честотата на децата и пограстващите със затлъстяване е относително постоянна между 3 и 17 години (0,0% ÷ 5,0%). Честотата на децата с наднормено тегло до 13 години е между 4,0% и 19,8%, като през постпубертетния период тя рязко спада и е между 8,0% и 12,5% при момчетата и между 3,0% и 6,7% при момичетата. Специален интерес представлява наличието на деца с поднормено тегло. Почти през всички възрасти честотата на момичетата с I-ва и II-ра степен поднормено тегло е по-голяма и варира от 5,0% на 5 години до 25,8% на 17 години. Честотата на момчетата с поднормено тегло е най-висока на 15 годишна възраст (22,0%). При изследваните деца се установява и наличие на индивиди с III-та степен поднормено тегло, т.е. мършави. Момичета с такъв тип телесен хранителен статус се срещат между 6 и 17 години, като тяхната честота достига до 2,0%. При момчетата III-та степен поднормено тегло се установява само в края на изследвания възрастов период, като честотата им е най-висока на 17 годишна възраст (3,4%).

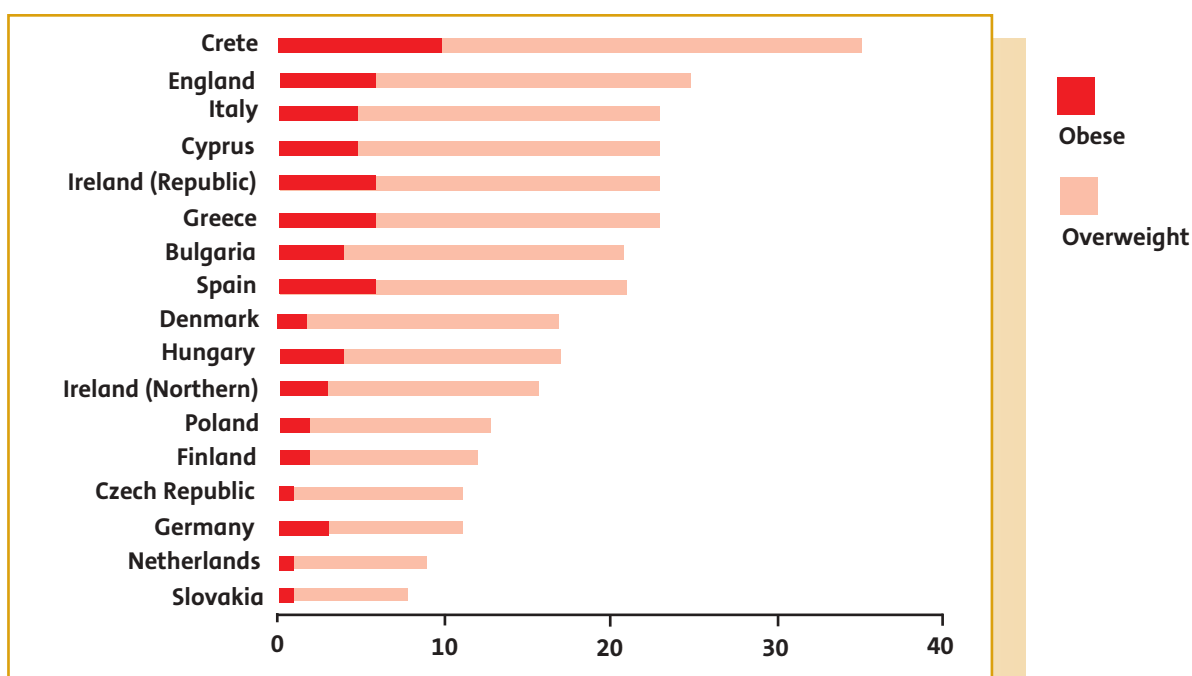
Тези резултати показват, че поднорменото тегло е здравословен проблем на настоящото пограстващо поколение в България и трябва да бъде третиран, както от специалистите по детско здравеопазване, така и на държавно ниво наравно с проблема за наднорменото тегло.

Проблеми на наднорменото тегло и затлъстяването в детска и юношеска възраст

Светослав Ханджиев, Българска Асоциация за изследването на затлъстяването и съпътстващите го заболявания

Разпространението на затлъстяването сред децата и юношите постоянно ескалира. Глобалната епидемия от наднормено тегло и затлъстяване бързо се превръща в съществен проблем на общественото здраве в много части на света. Според Световната Здравна Организация (СЗО), в края на 2010 г. около 43 милиона деца под 5-годишна възраст са с наднормено тегло. Превенцията на затлъстяването на населението ще бъде важна част от усилията да се спре тази надигаща се вълна от детското затлъстяване. Спешно са необходими стратегически усилия за въвеждане на ефективни и подходящи програми и инициативи за предотвратяване на затлъстяването в детска възраст, като със сигурност се включат уязвимите групи – например деца с увреждания.

Данни на проекта ДиОГенес:



Наг 22 милиона деца в ЕС са с наднормено тегло и 5 милиона страдат от затлъстяване. Според данните от европейския проект „ДиОГенес“, България е сред първите шест страни в Европа по разпространение на детското затлъстяването. Изследване на Националният център по опазване на общественото здраве (НЦООЗ) от 2008 г. показва, че 200 000 деца в България са с наднормено тегло, а от тях 65 000

са със затлъстяване. Същото изследване показва, че 30,6% от децата в първи клас са с наднормено тегло и 15,6% са със затлъстяване. За последните 10 години се наблюдава 7,3% увеличение на броя деца в първи клас с наднормено тегло и този брой нараства всяка година. Проучване на деца и юноши (от 6 до 18 годишна възраст) в София, демонстрира основните рискови фактори за възникване на наднормено тегло и затлъстяване – генетичната предиспозиция, нерационален хранителен режим с предпочитане към нездравословни продукти, намалена консумация на зеленчуци и плодове и хиподинамия.

Според групата по детско затлъстяване към Европейската Асоциация за изследване на затлъстяването целите на правилното хранене в детска възраст са да се постигне нормално телесно тегло и да се развият здравословни хранителни навици, които да се поддържат през целия живот на детето. Първата стъпка за успешно хранително консултиране е оценката на калорийния прием и навичките на хранене. Това трябва да включва оценка на досегашната консумация (като се акцентира върху плодовете и зеленчуците, подсладените напитки, бързите храни, размера на порциите), както и тенденциите на похапвания и основни хранения (например, честотата и качеството на храненията като закуската). Изразходването на енергия чрез физическа активност е важна част от уравнението за енергиен баланс, който определя телесното тегло.

Доброто здравословно състояние, независимо от телесното тегло, е свързано с намалени сърдечно-съдови и метаболитни рискове във всяка възраст. Редовната физическа дейност може също да подобри самочувствието и социалните отношения на детето като цяло. Със значително намалената редовност на дневна физическа дейност на децата поради западния начин на живот и модернизацията, въпросите са съсредоточени върху ежедневните дейности в рамките на домакинството и в училище. Тези въпроси за дейността на детето дават възможност за идентификация на области, в които малки промени, поотделно или заедно със семейството или приятелите, могат да се окажат от значителна полза. Основната цел на лечението на децата и юношите с наднормено тегло или със затлъстяване е да им се помогне да постигнат и поддържат телесно тегло, което да подобри здравето им и предотврати развитието на усложнения. Тъй като рискът на затлъстяло дете да стане затлъстиял възрастен се увеличава от 25% преди 6 годишна възраст и до 75% по време на юношеството, лечението трябва да започне възможно най-рано. Това е от особено значение, защото съпътстващи заболявания могат да се проявят по време на детството, дори преди детето да е определено като затлъстияло. Лечението цели промяна в поведението на детето и неговото семейство, подобрене на хранителния режим, физическа активност и качеството на живота. Лекуващият екип играе важна роля в мотивирането, обучението и подкрепата за промяна на поведението и неговата поддръжка.

Съвременните изследователи на детското затлъстяване обръщат особено внимание на перинаталните и пренаталните проблеми. Подчертава се, че профилактиката на затлъстяването, захарния диабет и болшинството от сърдечно-съдовите заболявания започва още от вътреутробното развитие на индивида. Децата (и възрастните), веднъж засегнати от затлъстяване, трудно губят тегло чрез физическа активност и здравословен режим на хранене. За това предотвратяването на наддаване на тегло още от най-ранна детска възраст е признато за стратегия, която ще бъде от полза за здравето им в дългосрочен план.

Опитът в някои страни показва, че успешната превенция на затлъстяване и промяна в поведението на погростащите може да бъде постигната чрез въвеждане на комбинация от мерки, прилагани едновременно на национално и локално ниво – в зависимост от местните условия и програми прилагани в училищата и местната общност. При децата и юношите с наднормено тегло има по-голям риск за поява на: проблеми с костите и ставите, сънна апнея, психологически проблеми и ниско самочувствие, водещо до депресивни състояния. При затлъстелите деца вероятността да се превърнат във възрастни с наднормено тегло или със затлъстяване е много по-голяма, отколкото при погростащите с нормално тегло. Затлъстелите деца са изложени на по-голям риск от здравни проблеми, включително сърдечно-съдови заболявания, диабет тип 2, мозъчен инсулт, някои видове рак и остеоартроза.

През първата половина на 2011 г., стартира програмата „Здрави деца в България“ (2011-2015). Тя ще обедини усилията на държавни, частни и обществени партньори с цел превенция на детското затлъстяване. Програмата е базирана на дългосрочна стратегия, която да промени хранителните, здравните и физическите навици на децата още в началото училище

7

Проблеми на зависимостите в детска и юношеска възраст

Анета Хубенова¹, Евгения Бързашка²

¹Началник Клиника Токсикология, УМБАЛСМ „Пирогов“ София

²Катедра по токсикология. МУ – Плевен

Проблемът „зависимости“ в последните 10 години поради социалната си значимост и особено високия риск за здравето на погростащите става все по-актуален. Налага се необходимостта да бъде привлечено вниманието не само на медицинската общност, а и на цялото общество.

Зависимостите се разглеждат като сложни явления с многофакторна генеза в контекста на био-психо-социалния модел. Налице е невиджана в историята на България „епидемия“ на злоупотреба с широк спектър наркотични вещества, вкл. алкохол, която обхваща сериозна част от младото поколение. Причините са разнообразни и много специфични за отделния индивид, което налага развитието на социални програми с широк обсег върху различните рискови фактори и с възконкретните индивидуални потребности. možnosti за адаптиране към конкретните индивидуални потребности.

Наркоманията или „зависимостта към наркотични вещества“ е състояние на психическа или комбинация от психическа и физическа зависимост към гаген вид вещество, вкл. и етилов алкохол.

Основните проблеми на тази рискова възрастова група биха могли да се синтезират по следния начин:

1. Непрекъснато увеличаване броя на зависимите
2. Увеличаване броя на потърсилите спешна помощ
3. Увеличаване броя и разнообразието на наркотичните вещества – преди всичко на групата психозомиметици
4. Увеличаване възможността на криминални прояви – кражби, грабежи, нерегламентирана проституция и др.
5. Увеличаване възможността за кръвнопреносими заболявания
6. Включване към друг вид престъпления с обществено опасен характер
7. Проблеми с демографския ресурс
8. Психологични вреди – негативно въздействие върху обкръжаваща среда – семейство, училище и други социални общности
9. Влошаване здравословното състояние на нацията – имунитет, вродени заболявания, непълноценно здравословно състояние, репродуктивна възможност и други.

Срещата с наркотични вещества във възраст, когато личността е незряла, води до бързо развитие на зависимост, ранна социална дезадаптация, маргинализация на личността, ранно отпадане от училище, рисково поведение и засилваща се криминализация.

Съвременни предизвикателства за агресивността и насилието над деца

8

Васил Писев, *Медицински университет – Факултет по обществено здраве – София*

Предизвикателствата, пред които е изправено детското население у нас, свързани със здравето, безопасността и сигурността, са комплексни и сложни. Това налага необходимостта от създаване на ефективна система за грижи към децата, която да се фокусира към предотвратяване на кумулиращия ефект на редица рискови фактори и причини. Ето защо, несъмнено, все по-нарастващото значение на детското и училищно здравеопазване за обществото, се насочва към идентифициране и решаване на актуални, многообразни и значими проблеми свързани с асоциално поведение на децата. В тази връзка трябва да подчертаем и прибавим за редица характерни особености на детската възраст, представляваща рисков, уязвим биологичен период от човешкия живот. Именно за това, спецификата на тези деца като демографска, възрастова и биосоциална група, очертава начините и средствата за тяхното отглеждане, здравно-психическо развитие и социализация.

Безусловно, това е инструмент за формиране на подхода осигуряващ изграждане на мотивирана подкрепяща околна среда. По този начин може да се очертае пространството за дефиниране и агресиване на редица превантивни и интервенционни практики за

решаване на различни рискови ситуации. Тяхното проектиране в адекватни секторни политики има за цел да формира и утвърждава здравословен и безопасен начин на живот сред позрастващото поколение.

Изучавайки рисковата група от детската общност свързана с агресивност и насилие се наблюдава, че причините и корените се крият най-вече в семейната среда, ценностните ориентации, поведението и начина на живот на родителите. Негативните последици от израстването на детето са свързани с атмосфера на дисхармония и дисфункции в семейството като институция.

Друг фактор, оказващ изключително влияние върху формирането и развитието на детската личност е училището, като обкръжаваща среда. От анализа на причините за отпадане от училище, може да се обособят следните основни категории: икономически, етнокултурни, социални и педагогически.

Третият по значимост фактор е обкръжаващата среда от връстници на детето. В тази социална среда не може да отминем факта, че поведението на съвременните деца се определя и от редица културни и информационни фактори. Най-често свързани с един „мултиучител“ като събеседник и разказвач наречен интернет. В тази връзка трябва да признаем, че броят на децата, които се вписват като потребители на културни и художествени ценности непрекъснато намалява.

Основните предизвикателства за девиантното поведение на децата, придобиващо застрашителни размери за мащабите на страната са:

- 1) Нравствената криза в обществото;
- 2) Дестабилизация на семейната среда;
- 3) Негативните личностно – психически промени сред детското население;
- 4) Процеса на социална диференциация и стратификация сред детското население – децата в неравностойно социално положение се увеличават;
- 5) Икономическата принуда;
- 6) Необхващането и отпадането на хиляди деца ежегодно от училище;
- 7) Агресивната детска субкултура в училище и обществения живот;
- 8) Нарастващата престъпност и криминогенност в обществото (води до нарастване и на детската престъпност);

В контекста на увеличаващото се проблемно поведение и конфликти сред децата става ясно, че за предотвратяване на рисковите фактори и причини е необходимо наличието на междуинституционален подход, увеличен обмен и добри практики между различните сектори на местно и национално ниво. Това изисква изграждане на конструктивна партньорска мрежа „семейство–училище–общност“, чиито мултидисциплинарни екипи активно да участват и подкрепят практики ориентирани към действията на разглежданата рискова група от деца.

В заключение бихме посочили, че стресовата ситуация, в която растът и се развиват съвременните български деца се характеризира с критичност, тревожност и неопределеност. Тази многоаспектност и многоизмерност откроява редица проблеми с негативно отражение върху поведението и степента на риска за здравето и живота на позрастващото поколение.

На практика това означава, че постигането на промяна в нагласите и поведението на децата с девиантно поведение е предпоставка и гарант за целенасочена и ефективна национална здравна и социална сигурност.

Хематологични прояви при системни заболявания

9

М. Спасова, Катедра по педиатрия и медицинска генетика, МУ Пловдив.

Редица заболявания не са първично хематологични, но имат диагностично важни хематологични ефекти и често стават повод за първоначално насочване към хематолог.

Разглеждат се по съответните органи и системи най-честите съпътстващи хематологични отклонения и поведението при тях:

1. Анемията на хроничното възпаление е сравнително чест феномен, най-характерен при колагенози и хронични или често рецидивиращи инфекции. Патогенезата ѝ е мултифакторна и включва увредено освобождаване на желязо от клетките на РЕС за нуждите на еритропоезата, инхибиторна роля на отделяните цитокини върху костномозъчната продукция и намалена преживяемост на еритроидните клетки в резултат на хемофагоцитоза. Обикновено анемията е лека или умелена, хипохромна, микроцитна; установява се ниско серучно желязо при нормален или повишен феритин.

2. Бъбречни заболявания с хематологични прояви:

а. Анемията при хронична бъбречна недостатъчност (ХБН) се дължи на вторична еритропоетинова недостатъчност и се повлиява благоприятно от лечение с еритропоетин.

б. Хемолитико-уремичният синдром (ХУС) се проявява с диагностичната триада от микроангиопатична хемолитична анемия, тромبوцитопения и остра бъбречна недостатъчност.

с. Тромботичната тромبوцитопенична пурпура (ТТР) включва тромبوцитопения, микроангиопатична хемолитична анемия, неврологични прояви, бъбречно увреждане и фебрилитет.

3. Чернодробни заболявания с хематологични прояви:

а. При цироза се установява от една страна повишена склонност към кървене поради тромبوцитопения и увредена тромبوцитна функция, намален синтез на всички коагулационни фактори с изключение на фактор VIII и нисък фибриноген; а от друга страна – риск от тромбози поради ниски нива на антикоагуланти и хипофибринолиза. Често е налице анемия в резултат на кръвозагуба от езофагеални варици, смутена фераабсорбция и хиперспленизъм.

б. При Болест на Wilson хемолитичната анемия е ранна, понякога и първа проява на заболяването и се доказва при около 20% от децата с чернодробно засягане. В повечето случаи е остра и интравазална. Болестта на Wilson трябва да се има предвид при всяка ДАТ-отрицателна остра хемолитична анемия, тъй като може да предскаже с дни или с години настъпването на фулминантно чернодробно увреждане.

с. Синдромът на Reye се съчетава с хематологични прояви на остро чернодробно увреждане – коагулационни нарушения, понякога до изява на ДИК синдром и тромبوцитопения.

4. Ендокринни заболявания с хематологични прояви:

а. Хипотиреоидизмът често се съчетава с лека до умерена нормоцитна или леко макроцитна анемия с наличие на малко количество неравномерно контрахиранни клетки.

б. При надбъбречна недостатъчност е налице лека нормохромна анемия, често съчетана с еозинофилия и неутропения. При започване на заместителното лечение е възможно да се наблюдава загълбочаване на анемията поради диспропорционално нарастване на плазменния обем в сравнение с еритроцитната маса.

в. Анемията при хипопитуитаризъм се дължи основно на дефицита на растежен хормон, увреждащ директно еритропоезата.

5. Цианотичните ВСМ често се съчетават с вторична полицитемия и са предразположени към вазооклузивни усложнения. При тях се сутановява и тромбоцитопения, която остава ненапълно обяснена, но корелира с хематокрита.

6. Белогробни заболявания с хематологични прояви:

а. Белогробната хемосидероза се характеризира с желязодефицитна анемия, често съчетана с резорбтивен тип индиректна хипербилирубинемия.

б. Синдромът на Loeffler се характеризира с транзиторни белогробни инфилтрати в съчетание с висок еозинофилен брой.

7. Колагенози:

а. При ювенилен ревматоиден артрит се среща анемия на хроничното възпаление, умерена вторична тромбоцитоза и неутрофилия, което в клиничната практика налага разграничаване на заболяването от бактериална инфекция.

б. При системен лупус най-често цитопениите са резултат от аутоимунен процес и могат да бъдат първа проява на заболяването. Макар и по-рядко се установява костномозъчна аплазия или селективна агранулоцитоза. Лимфопенията е характерен белег.

в. При полиартериитис ногоза може да е налице микроангиопатична хемолитична анемия в съчетание с бъбречно увреждане или хипертензивни кризи. Характерна е еозинофилията.

8. Инфекции с хематологични прояви:

а. Вирусни (инфекциозна мононуклеоза, parvovirus B19, HIV, TORCH)

б. Бактериални (коклюш, туберкулоза, лептоспироза, др.)

в. Паразитни (лайшманиоза, малария, др.)

9. Интоксикации с хематологични прояви:

а. Оловна интоксикация – налице е желязен дефицит, базофилно пунктирани еритроцити и ринг-сидеробласти в костния мозък.

б. Интоксикация с мед – може да доведе до хемолитична анемия по подобен механизъм като при Болест на Wilson.

в. Интоксикацията с нитрити, анилинови бои и нитробензен води до метхемоглобинемия.

10. Странични хематологични ефекти на медикаменти:

а. Лекарствено-индуцирана тромбоцитопения;

б. Лекарствено-индуцирана апластична и хемолитична анемия.

Ендокринни хипертонии в детска и юношеска възраст

10

Нарцис Калева, Катедра по педиатрия и медицинска генетика, МУ – Пловдив

Честотата на артериалната хипертония (АХ) в детската и юношеската възраст в последните десетилетия нараства значително, което налага доброто познаване на етиологията, патогенезата и лечението на това състояние не само от педиатрите, но и от общопрактикуващите лекари и от немедицински лица – родители и учители. Липсата на оплаквания при по-голяма част от децата с това състояние налага рутинно измерване на артериалното налягане при всеки профилактичен преглед при деца над 3 годишна възраст и при всяко съмнение за АХ и при по-малки деца. Нормалните стойности на артериалното налягане в отделните периоди на детството са различни от тези на възрастните пациенти.

В две отделни таблици са представени нормалните, горно граничните и патологично високите стойности на артериалното налягане за отделните възрастови групи.

Предложена е класификация на отделните причини за АХ при децата и подрастващите.

Етиологична класификация на артериалната хипертония в детската и юношеската възраст

Ренални причини

- Вродени аномалии;
- Диспластичен бъбрек;
- Бъбречна поликистоза;
- Обструктивни уропатии;

Придобити лезии

- Тумор на Wilms;
- Гломерулонефрити;
- Хемолитично-уремичен синдром;
- Рефлуксни нефропатии;
- Медикаменти, токсини;
- Системен лупус еритематозес;

Съдови причини

- Коарктация на аортата;
- Емболия на бъбречна артерия;
- Тромбоза на бъбречна вена;
- Стеноза на ренална артерия;
- Артериит/Takayasu, периаартериитис нодоза/;

Неврологични причини

- Синдром на Guillain – Barre;
- Дисаутономия /Riley-Day S./;
- Повишено вътречерепно налягане;
- Квадриплегия;
- Стрес, свръхвъзбуда;
- Симпатикомиметични медикаменти;
- Полиомиелит;

- Енцефалит;
- Неврофиброматоза;

Ендокринни причини

- Тумори, секретирани катехоламини;
- Адреногенитални синдроми – вродени надбъбречни хиперплазии;
- Синдром на Cushing;
- Минерал-кортикостероидна хипертония;

Заболявания, симулиращи минералкортикостероидна свръхпродукция/тубулопатии/;

Други ендокринни заболявания:

- хипертиреозизъм/Базедова болест, Хашитоксикоза, екзогенен прием на тиреоидни хормони;
- хипотиреозизъм;
- хиперпаратиреозизъм;
- захарен диабет с диабетна нефропатия;
- тумори на хипофизата, секретирани АКТХ и РХ;
- метаболитен синдром;

Не трябва да се забравя, че в детството артериалната хипертония е по-често вторична и на по-заден план е идиопатичната, първична АХ. В друга таблица се представят причините за АХ според възрастта на клинична изява на синдрома.

Ендокринните хипертонии при децата са малко познати както за ОПЛ, така и за педиатрите, което води до забавено поставяне на диагнозата. Вероятни причини за този факт са както редкостта на повечето ендокринни заболявания представени в по-горната класификация, така и малкото специалисти по детска ендокринология и метаболични заболявания в България.

Подробно се разглеждат интимните механизми на възникване на АХ при всяка една от посочените нозологични единици, допълнителните клинични симптоми, лабораторни изследвания и лечение.

Представен е случай с казуистично заболяване от групата на адреногениталните синдроми – с най-редкия ензимен дефицит – на 17- α хидроксилаза – при дете на 15 годишна възраст от женски пол с хипергонадотропен хипогонадизъм. Въпреки наличието на субективни оплаквания от главоболие до възрастта на поставяне на диагнозата артериално налягане не е измервано. Медицинска помощ е потърсена заради първична аменорея, без никому да е направило впечатление липсващото пубертетно развитие – телархе и пубархе. Проследяват се в динамика статуса, пубертетното развитие и лабораторните показатели – при поставяне на диагнозата и след започването на заместително лечение – с глюкокортикостероиди и полови хормони. Направен е кратък обзор на литературните данни, свързани с този синдром, който е първият случай, съобщен в България.

Докладът е изнесен на Националната педиатрична интердисциплинарна научно-практическа конференция, Пловдив 12 – 13 март 2011 г.

Основни елементи на диагностиката и рехабилитацията на нарушенията в детското развитие в първите години от живота

11

Йорданка Пискова, *Клиника по детски и генетични заболявания, Отделение за интердисциплинарна рехабилитация на развитието и за промоция на менталното здраве в ранна детска възраст, УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив*

С възможностите на ранната диагностика и рехабилитация на нарушенията в детското развитие се предоставят уникални за съдбата на детето шансове да бъде запазено то от пожизнена инвалидизация в една или друга функционална сфера на неговото развитие. Една ефективна интердисциплинарна медико-социална система за диагностика и рехабилитация на нарушенията в различни сфери на детското развитие се изгражда върху следните програми и методи:

- **Скрининг и рехабилитация чрез (информация и обучение на) родителите.**

Наблюдението върху развитието, поведението, придобитите умения и проблемите във функционирането на собственото дете от сензитивни и наблюдателни, но също

supplement Bulgarian medicine vol. I № 1/ 2011

така информирани и образовани родители е от изключително значение. При възможностите за наблюдение, с каквито само родителите разполагат, единственото, което те трябва да придобият, са знания за времевите и качествените показатели на правилното психо-моторно развитие, за оптималните варианти на емоционалните, социални и поведенчески модели за съответната възраст и ситуация. Много от скрининговите методики се реализират чрез въпросници за родителите.

• Интердисциплинарен диагностичен и терапевтично-рехабилитационен подход.

В екипната диагностична и терапевтично-рехабилитационна дейност се включват педиатър, детски невролог, психолог, логопед, кинезитерапевт, педагог, социален терапевт и др. Интердисциплинарността на екипа означава най-напред владеене от всеки специалист в него на такива научни знания и практически умения, които да създават „мостове“ между „практикуването“ на отделните специалности и теоретичното обосноваване на цялостната работна хипотеза за особеностите в развитието на детето и необходимите терапевтично-рехабилитационни интервенции при него.

• Специални диагностични и интервенционни методики (терапевтични програми за ранна рехабилитация)

Мюнхенска функционална диагностика и рехабилитация на развитието

(МФДР) изследва развитието на детето от 0 до 36 месеца в 8 функционални сфери. За разлика от другите широко разпространени тестови методики, МФДР не представя като краен резултат определен коефициент на развитие, с което се избягва негативно етикетирание на нивото на развитие. Крайните резултати от тестваните функционални сфери се представят като линейна графика за конкретната хронологична или корегурана възраст, в която е проведено изследването, във фиш, в който могат да се нанасят и следващите изследвания.

Неврокинезиологична диагностика и кинезитерапия по В. Войта

НКД изследва двигателните модели на отделните части на тялото при стандартно провокирани реакции на положението на тялото от внезапните му промени в пространството (постурална рефлексология), при наблюдението на спонтанната моторика в положение на детето по корем и по гръб (постурална онтогенеза) и при изследване на примитивната рефлексология.

Индикациите за провеждане на Войта-терапия са значително по-широки отколкото известните при различни форми на ДЦП и включват леките, средни и тежки форми на ЦКН в първите 6 месеца от живота с асиметрия на позата на тялото, роговотрауматична брахиалис пареза, мускулен и неврогенен тортиколис, вродени аномалии на костно-ставната система, периферни парези и спина бифида.

Диагностика на сензорната интеграция и ерго-терапия на сензорните дисфункции

От опита на ерготерапията при деца с т.н. диспраксии на развитието бива създадена диагностичната и рехабилитационна концепция (J. Ayres), която включва структуриран анамнестичен въпросник, видеозаснемане на спонтанната двигателна активност на детето в стандартно оборудвана зала за сензорна интеграция и изпълнението на възрастово апробирани тестове за отделните видове гнозис и сензо-моторен праксис. Резултатите от изследването служат за изработване на индивидуални рехабилитационни програми с цел оптимизиране на процесите на преработване на сензорната информация (предимно от тактилни, вестибуларни и проприоцептивни стимули) и интегрирането им чрез процесите на моторно планиране в оптимално двигателно поведение.

Видео-микро-анализ и поведенческа терапия на интеракционните, комуникативни и регулационни нарушения в кърмаческата и ранната детска възраст

В ранната кърмаческа възраст се залагат основите на поведенческата авторегулация на детето във всички ежедневни контексти на живота му (сън, хранене, игра, експлориране на околния свят и на междуличностните отношения). В развитието на поведенческата авторегулация основна роля играе разгръщането на богатия репертоар от интуитивни родителски умения за стимулиране и балансиране на мимическите, двигателни и вокални комуникативни сигнали на детето, показващи неговите емоционални, сензорни и когнитивни потребности и интегративни способности.

Качествените характеристики на интеракционните, комуникативни и регулационни способности на детето са изключително динамични, защото са възрастово детерминирани и защото върху тях оказват влияние всички събития от психо-социалната динамика на всяко семейство.

Монтесори-терапия (т.н. „лечебна педагогика“ в страните от Западна Европа)

Вътрешната логика в работата на детето с Монтесори-материала (която съдържа фундаментални невро-физиологични и невро-психологични принципи) го води към усъвършенстване на качеството на моторното планиране, фината моторика и графомоториката, на сензорната интеграция, на когнитивните процеси, на основните математически структури и закони, на фонематичния, семантичен и граматически речев анализ и праксис, но също така на способността за избор на дейност, за създаване и проверка на работни хипотези, за устойчивост на мотивацията и на концентрацията на вниманието, за самооценка и формулиране на необходимост за помощ, за автономност.

Профилактиката и превенцията са същностни стратегии на педиатрията. В горещата зона на предстоящите медико-социални задачи на педиатрията, особено след решаването на проблемите с първичната и вторична профилактика на голяма част от заболяванията и състоянията в детската възраст и осигуряване на high-tech методики в големите педиатрични стационари, стои третичната профилактика на последиците от хроничните заболявания при децата, които, независимо от нозологията, влияят върху тяхното психо-моторно, ментално, емоционално и социално развитие. Решаването на актуалните медико-социални задачи на педиатрията изисква от професионалната общност не само дълбоко познаване на механизмите на детското развитие във всичките му аспекти, но и интердисциплинарно мислене и организационни способности за реализиране на ефективна интердисциплинарна диагностична и терапевтично-реабилитационна работа.



The Bulgarian Medicine Journal, official edition of the Bulgarian Academy of Science and Arts, Science Division, Research Center for Medicine and Health Care is published in 4 issues per year. It accepts for publication reviews, original research articles, case reports, short communications, opinions on new medical books, letters to the editor and announcements for scientific events (congresses, symposia, etc) in all fields of fundamental and clinical medicine. The journal is published in English with exceptional reviews on significant topics in Bulgarian. The detailed abstracts and the titles of the articles, the names of the authors and institutions as well as the legends of the illustrations (figures and tables) are printed in Bulgarian and English.

The manuscripts should be submitted in two printed copies, on standard A4 sheets (21/30 cm), double spaced, 60 characters per line, and 30 lines per standard page.

The size of each paper should not exceed 10 pages (up to 5 000 words) for original research articles, 12 pages for reviews (7 500 words), 3 pages for case reports, 2 pages for short communications, 4 pages for discussions or correspondence on scientific events on medical books or chronicles. The references or illustrations are included in this size (two 9x13 cm figures, photographs, tables or diagrams are considered as one standard page).

The abstracts are not included in the size of the paper and should be submitted on a separate page with 3 to 5 key words at the end of the abstract. They should reflect the most essential topics of the article, including the objectives and hypothesis of the research work, the procedures, the main findings and the principal conclusions. The abstracts should not exceed one standard typewritten page of 200 words.

The basic structure of the manuscripts should meet the following requirements:

Title page

The title of the article, forename, middle initials (if any) and family name of each author; institutional affiliation; name of department(s) and institutions to which the work should be attributed, address and fax number of the corresponding author.

Text of the article

The original research reports should have the following structure: introduction (states the aim, summarizes the rationale for the study), subjects and materials, methods (procedure and apparatus in sufficient detail, statistical methods), results, discussion, conclusions (should be linked with the aims of the study, but unqualified statements not completely supported by research data should be avoided). These requirements are not valid for the other types of manuscripts. Only officially recognized abbreviations should be used, all others should be explained in the text. Units should be used according to the International System of Units (S. I. units). Numbers to bibliographical references should be used according to their enumeration in the reference list.

Illustrations

The figures, diagrams, schemes, photos should be submitted in a separate file with: consecutive number (in Arabic figures); titles of the article and name of the first author. The explanatory text accompanying the figures should be presented along with the respective number of the figure in the main text body with space left for insertion of the figure.

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 20 titles for the original articles and 40 titles for the reviews; 70% of them should be published in the last 5 years. References should be listed in alphabetical order, English first, followed by the Bulgarian ones in the respective alphabetic order. The number of the reference should be followed by the family name of the first author and then his/her initials, names of the second and other authors should start with the initials followed by the family names. The full title of the cited article should be written, followed by the name of the journal where it has been published (or its generally accepted abbreviation), volume, year, issue, first and last page. Chapters of books should be cited in the same way, the full name of the chapter first, followed by "In:" full title of the book, editors, publisher, town, year, first and final page number of the cited chapter.

Examples:

Reference to a journal article:

1. **McLachan, S. , M. F. Prumel, B. Rapoport.** Cell Mediated or Humoral Immunity in Graves' Ophthalmopathy? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78, 1994, 5, 1070-1074.

Reference to a book chapter:

2. Delange, F. Endemic Cretenism. In: *The Thyroid* (Eds. L. Braveman and R. Utiger). Lippincott Co, Philadelphia, 1991, 942-955.

Submission of manuscripts

The original and one copy of the complete manuscript are submitted together with a covering letter granting

the consent of all authors for the publication of the article as well as a statement that it has not been published previously elsewhere and signed by the first author. The procedure should be complemented via electronic submission. Manuscripts of articles accepted for publication will not be returned to the authors.

Peer-review process: following the international standards in the field, the Editorial board has adopted double-blind peer-review policy assigned to independent referees. Following acceptance for publication the authors are charged 5 euros per page for language editing and corrections.

Ethical regulations: reports with experiments on human subjects should specify whether the procedures were conducted in accordance with the ethical norms of the responsible committee on Human experimentation (local or regional) and/or with the Helsinki Declaration, as revised in 2000. Respective guidelines for animal experimentation should be considered.

Address for sending of manuscripts and other editorial correspondence

Prof. Dr Philip Kumanov Editor-in-chief, University Hospital of Endocrinology, 1431 Sofia, Zdrave str. 2, or electronic address: phkumanov@lycos.com

With copy for the scientific secretary – Assoc. Prof. Drozdstoj Stoyanov: stojanovpisevski@gmail.com

Изисквания към авторите

Списание „Българска медицина“, издание на Българската Академия на Науките и Изкуствата, Отделение за наука, Научен Център по Медицина и Здравеопазване излиза в четири книжки годишно. В него се отпечатват оригинални научни статии, казуистични съобщения, обзори, рецензии и съобщения за проведени или предстоящи научни конгреси, симпозиуми и други материали в областта на клиничната и фундаменталната медицина. Списанието излиза на английски език с подробни резюмета на български и английски. Изключения се правят за обзорни статии по особено значими теми. Заглавията, авторските колективи, а също надписите и означенията на илюстрациите и в таблиците се отпечатват и на двата езика. Материалите, предоставени от чужди автори се поемат на английски с подробно резюме на български.

Материалите трябва да се представят в два еднакви печатни екземпляра на хартия формат А4 (21 x 30 см), 30 реда с 60 знака на ред при двоен интервал между редовете (стандартна машинописна страница). Оформени така, материалите могат да бъдат изпращани и като прикачени файлове по електронната поща на адреса, посочен по-долу.

Обемът на представените работи не трябва да превишава 10 стандартни страници за оригиналните статии (или 5000 думи според стандарта на англосаксонските издания), 12 страници (7000 думи) – за обзорните статии, 3-4 страници за казуистичните съобщения, 4 страници за информации относно научни прояви в България и в чужбина, както и за научни дискусии, 2 страници за рецензии на книги (монографии и учебници). В посочения обем се включват книгописът и всички илюстрации и таблици. В същия не се включват резюметата на български и английски, чийто обем трябва да бъде около 200 думи за всяко (25-30 машинописни реда). Резюметата се представят на отделни страници. Те трябва да отразяват конкретно работната хипотеза и целта на разработката, използваните методи, най-важните резултати и заключения. Ключовите думи (до 5), съобразени с „Medline“, трябва да се посочат в края на всяко резюме.

Структурата на статиите трябва да отговаря на следните изисквания:

Титулна страница

а) заглавие, имена на авторите (собствено име и фамилия), название на научната организация или лечебното заведение, в което те работят. При повече от едно заведение имената на същите и на съответните автори се маркират с цифри или звездички;

б) същите данни на английски език се изписват под българския текст.

Забележка: при статии от чужди автори българският текст следва английския.

Основен текст на статията

Оригиналните статии задължително трябва да имат следната структура: увод, материали методи, собствени резултати, обсъждане, заключение или извод.

Методиките следва да бъдат подробно описани (включително видът и фирмата производител на използваните реактиви и апаратура). Същото се отнася и за статистическите методи.

Тези изисквания не важат за обзорите и другите видове публикации. В текста се допускат само официално приетите международни съкращения; при използване на други съкращения те трябва да бъдат изрично посочени в текста. За мерните единици е задължителна международната система SI. Цитатите вътре в текста е препоръчително да бъдат отбелязвани само с номерата им в книгописа.

Илюстрации и таблици

Илюстрациите към текста (с необходимия добър контраст и качество), се представят на отделни листове (без обяснителен текст), в оригинал и две копия за всяка от тях. Текстът към фигурите със съответната им номерация (на български и на английски език) се отбелязва вътре в основното текстуално тяло на статията под съответния номер на мястото, където трябва да се разположи при предпечатната подготовка. Таблиците се представят с готово написани обяснителни текстове на български и на английски, които са разположени над тях; номерацията им е отделна (също с арабски цифри).

Използвана литература:

Книгописът се представя на отделен лист. Броят на цитираните източници е препоръчително да не надхвърля 20 (за обзорите до 40), като желателно е повечето от тях да бъдат от последните 5 години. Подреждането става по азбучен ред на фамилното име на първия автор (първо на кирилица, после на латиница), като след поредния номер се отбелязва фамилното име на първия автор, след това инициалите му; всички останали автори се посочват с инициалите, последвани от фамилното име (в обратен ред) до третия автор, последвани от съкращението et al. Следва цялото заглавие на цитираната статия, след него – названието на списанието (или общоприетото му съкращение), том, година, евентуално брой на книжката, началната и крайната страница. Глави (раздели) от книги се изписват по аналогичен начин, като след автора и заглавието на главата (раздела) се отбелязват пълното заглавие на книгата, имената на редакторите (в скоби), издателството, градът и годината на издаване, началната и крайната страница на раздела.

Примери: Статия от списание:

1. **McLachlan, S., M. F.Prumel, B. Rapoport.** Cell Mediated or Humoral Immunity in Graves' Ophthalmopathy? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78, 1994, 5, 1070-1074.

Глава (раздел) от книга:

2. **Delange, F. Endemic Cretenism.** In: *The Thyroid* (Eds. L. Braveman and R. Utiger). *Lippincott Co*, Philadelphia, 1991, 942-955.

Агрес за кореспонденция с авторите

Той се дава в края на всяка статия и съдържа всички необходими данни (вкл. електронна поща) на български език за един от авторите, който отговаря за кореспонденцията.

Всички ръкописи трябва да се изпращат с придружително писмо, подписани от авторите, с което потвърждават съгласието си за отпечатване в сп. „Българска медицина“. В писмото трябва да бъде отбелязано, че материалът не е бил отпечатван в други научни списания у нас и в чужбина. Ръкописи не се връщат.

Процедура по рецензиране:

С оглед спазване на международните стандарти, редакцията е приела процедура по „двойно сляпа“ рецензия от независими референти.

След положителна рецензия и одобрение от редколегиата авторите на статията дължат заплащане в размер на 10 лв. за всяка страница с оглед покриване на разходите по английската редакция на текста и коректурите.

Етически съображения: всички трудове, които отразяват експерименти с хора следва да бъдат съобразени с етическите норми и регулации, въведени от съответния местна или регионална научна комисия и/или с Декларацията от Хелзинки, ревизия от 2000г. Експериментите с животни следва да бъдат също така съобразени със съответните норми и правила.

Всички материали за списанието се изпращат на адреса на редакцията:

Проф. Д-р Филип Куманов, Университетска болница по Ендокринология, 1431 София, ул. Здраве 2, Или по електронен път на адрес: phkumanov@ycos.com

С копие до научния секретар– Доц. Д-р Дроздстой Стоянов: stojanovpisevski@gmail.com

Bulgarian *medicine*



Magazine of
**Bulgarian Academy of
Sciences and Arts**

Founding Editor
Prof. Dr Grigor VELEV

Списание на
**Българска Академия на
Науките и Изкуствата**

Основател и първи главен редактор
проф. д-р Григор ВЕЛЕВ, д.м.н.

Philip KUMANOV, Editor-in-chief
Филип Куманов (главен редактор)
phkumanov@lycos.com

Drozdstoj Stoyanov, Scientific Secretary
Дроздстой Стоянов, научен секретар
stojanovpisevski@gmail.com

Drozdstoj Stoyanov, English editor
Дроздстой Стоянов, редактор на
английски език

© **Rumen Ninov, Cover&conception design**
© **Румен Нинов, първа корица и**
графична концепция

Stefan Ninov, prepress
Стефан Нинов, предпечат
stefanninov@gmail.com