

UNION OF SCIENTISTS IN BULGARIA – PLOVDIV



**Scientific Works
of the**



**Union of
Scientists Plovdiv**



**Series G. Medicine, Pharmacy and Dental medicine
Vol. XXXI**

**2024
Plovdiv**

ISSN 1311-9427 (Print)
ISSN 2534-9392 (On-line)

Scientific Works
of the Union of Scientists in Bulgaria – Plovdiv



Plovdiv, 2024

**UNION OF SCIENTISTS IN BULGARIA –
PLOVDIV**

**Scientific Works
of the
Union of Scientists in Bulgaria – Plovdiv**

**Series G. Medicine, Pharmacy and
Dental medicine
Vol. XXXI**

**Xth INTERNATIONAL CONFERENCE
OF YOUNG SCIENTISTS**

**20-23 June 2024
Plovdiv**

„Научни трудове на СУБ – Пловдив“ е периодично, индексирано, рецензирано и реферирано научно издание на Пловдивския клон на Съюза на учените в България, най-голямата и авторитетна неправителствена професионално-творческа организация на българските учени.

В изданието (в 4 серии) се публикуват доклади и научни съобщения, представени на научни форуми на СУБ – Пловдив. Приемат се за публикуване и статии на български и чуждестранни учени срещу заплащане по приета от Управителния съвет тарифа.

Тези 4 серии, в които са обхванати всички клонове на съвременната научна мисъл, са регистрирани в печатна и онлайн версия със самостоятелни ISSN индекси и са съответно:

Серия А. Обществени науки, изкуство и култура, ISSN 1311-9400 (Print); ISSN 2534-9368 (Online);

Серия Б. Естествени и хуманитарни науки, ISSN 1311-9192 (Print); ISSN 2534-9376 (Online);

Серия В. Техника и технологии, ISSN 1311-9419 (Print); ISSN 2534-9384 (Online);

Серия Г. Медицина, фармация и дентална медицина, ISSN 1311-9427 (Print); ISSN 2534-9392 (Online).

Всички публикувани материали се рецензират от утвърдени и водещи в съответната научна област специалисти.

Авторите носят напълно и изцяло отговорност за съдържанието на своите материали. Подготвените за отпечатване материали трябва да са в обем до 4 страници. Допускат се и по-обемни статии и доклади, като всяка допълнителна страница се заплаща отделно.

Текстът трябва да бъде набран на компютър във формат Microsoft Word и записан на диск и хартиен носител. Материали могат да се изпращат и по e-mail на адрес: office@usb-plovdiv.org, приложени като прикачен файл (attachment) към основното писмо.

Основните параметри на всяка страница са:

1. Размер на страницата: File, Page Setup, Paper Size – A4.

2. Размер на печатаемото поле – 14 см на 21 см: File, Page Setup, Margins:

в сантиметри Top, Bottom – 4,3 cm; Left, Right – 3,5 cm;

в инчове Top, Bottom – 1,69; Left, Right – 1,38.

3. Междуредово разстояние: Format, Paragraph, Line spacing single.

4. Шрифт – Times New Roman C (кирилик)

Тема на доклада, автори, месторабота – Size 12 Bold Abstract – Size 10, Bold

Текст на доклада и резюмето – Size 10, Normal.

5. Първа страница трябва да започва с 6 празни реда (3 см), за да се монтира „шапка“ с темата и датата на научния форум, както и идентификаторите на съответния том.

6. На първа страница, след оставеното място за „шапка“, се изписва в посочения ред, КАТО СЕ ЦЕНТРИРА:

тема на доклада (с главни букви) – на български език;

автори (име и фамилия – без титли и съкращения) – на български език; месторабота – на български език;

Празен ред

тема на доклада (с главни букви) – **на английски език;**

автори (име и фамилия – без титли и съкращения) – **на английски език; месторабота – на английски език.**

7. На нов ред се изписва **Abstract (т. е. резюме)**, което не се центрира.

8. Следва текстът на резюмето (**на английски език**).

9. Ключови думи (**на английски език**).

Празен ред

10. Следва текстът на доклада.

11. Фигурите, снимките и диаграмите към доклада трябва да бъдат черно-бели и монтирани в текста.

12. Бележки и забележки се пишат под линия на съответната страница, **изписани на латиница.**

13. Всички цитирания в текста – в скоби се изписва фамилията на автора (на латиница) и годината на публикуване.

Пример: (Ivanov, 2014).

Отделно се прилага *списък с цитираните публикации*, подредени азбучно според фамилията на първия автор. Когато се цитират няколко публикации от един и същи автор, най-напред в списъка се дават самостоятелните му публикации, следвани от публикациите в съавторство. Желателно е да се изброяват имената на всички автори. Литературните източници не се номерират.

Всички литературни източници на кирилица се изписват, като **имената** на авторите и на източниците се транслитерират *на латиница*, а заглавията на статиите се превеждат *на английски език*. При транслитерирането буквите се заменят според Закона за транслитерацията. Оригиналният език на публикациите, преведени на английски език, се посочва след библиографското описание в скоби (български = Bg, руски = Ru, сръбски = Sr, македонски = Mk, гръцки = Gr, и т. н.).

Пример: Ibrishimov N., H. Lalov, 1984. *Clinical Laboratory Investigations in Veterinary Medicine*, 1984, Zemizdat, S. 363 p. (Bg)

14. При желание авторите могат да публикуват в края на статията информация за себе си и адрес за връзка и кореспонденция.

15. Материалът, включен в статията, трябва да е оригинално и непубликувано до момента теоретично изследване, да съдържа оригинални експериментални данни или нови интерпретации на съществуващи резултати.

Материали, които не са оформени според горезложените изисквания, няма да бъдат разглеждани. Хонорари не се изплащат.

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ: проф. Владимир Андонов (отговорен редактор); проф. Мария Панчовска-Мочева; проф. Божидар Хаджиев; проф. Веселин Василев; проф. Димитър Димитраков; проф. Йордан Тодоров; проф. Лена Костадинова-Георгиева; проф. Николай Панайотов; проф. Цанка Андреева; проф. Пепа Атанасова; проф. Симеон Василев; проф. Атанас Арнаудов; доц. Весела Стефанова; доц. Красимира Чакърова; доц. Тодорка Димитрова; доц. Станка Хаджиколева.

EDITORIAL BOARD: Prof. Vladimir Andonov (editor-in-chief); Prof. Maria Panchovska-Mocheva; Prof. Bozhidar Hadzhiev; Prof. Veselin Vasilev; Prof. Dimitar Dimitrakov; Prof. Jordan Todorov; Prof. Lena Kostadinova-Georgieva; Prof. Nikolay Panayotov; Prof. Tzanka Andreeva; Prof. Pepa Atanasova; Prof. Simeon Vasilev; Prof. Atanas Arnaudov; Assoc. Prof. Vesela Stefanova; Assoc. Prof. Krassimira Chakarova; Assoc. Prof. Todorka Dimitrova; Assoc. Prof. Stanka Hadzhikoleva.

РЕДАКЦИОНЕН СЪВЕТ: проф. Иван Дечев; проф. Виктория Сарафян; проф. Димитър Димитраков; проф. Мария Панчовска-Мочева; проф. Снежана Цанова; проф. Симеон Василев; проф. Владимир Андонов; проф. Делян Делев; проф. Емил Хаджиколев.

EDITORIAL COUNCIL: Prof. Ivan Dechev; Prof. Victoria Sarafyan; Prof. Dimitar Dimitrakov; Prof. Maria Panchovska-Mocheva; Prof. Snejana Tzanova; Prof. Simeon Vasilev; Prof. Vladimir Andonov; Prof. Delian Delev; Prof. Emil Hadzhikolev.

DEATH BY LACTIC ACID? IMPLICATIONS OF LACTATE IN HEALTH AND DISEASE – A MINI REVIEW

Nikolay Mandadzhiev

Department of Physiology, Medical University of Plovdiv

Abstract: Lactate is an organic molecule and a normal product of glycolysis in cells. Since its discovery in the 18th century, it has been regarded as the metabolic waste of working muscle and oxygen deprived tissues – a harbinger of fatigue, acidosis and even death. Nevertheless, its role in regular metabolism and pathology has been challenged by compelling research in the last three decades, bringing a transformation in the understanding of its nature. The lactate shuttle hypothesis has been one of those revelations, which has revolutionized exercise physiology and brought astounding performance results to elite athletes. Moreover, its proposed role as a universal cellular fuel, a major gluconeogenic precursor, an important signaling molecule and a regulator of gene expression has given rise to a debate about the part it plays in normal physiology, but also in the pathophysiology of prominent medical problems such as acidosis, trauma, sepsis, brain injury, etc. Not all of its newfound glory, however, is positive in nature. It has been theorized and studied extensively whether lactate shuttling can indeed be maladaptive in cancer metabolism – promoting cancer cell regeneration and survival. Thus, in this review is explored an up-to-date understanding of lactate’s origin and fate in physiology and pathophysiology.

Keywords: lactate, shuttles, acidosis, cancer

1. INTRODUCTION

Lactate was discovered in the late 18th century by German apothecary Carl Wilhelm Scheele, who named it lactic acid after identifying it as a part of sour milk. Although its metabolism and overall biochemical and physiological role have been considered a ‘closed book’ for a long time, newer research in the field of exercise physiology in the last three decades has made it an emerging topic of debate once again. It is in this field, ironically, that its nature was established as an undisputable fact owing to the work of esteemed Nobel laureates such as Hopkins, Meyerhof and Hill, to name a few. From a waste product of oxygen-deprived cells, the paradigm for lactate has shifted to being a prominent factor in cell metabolism and energy production, while also showing some important actions as a signaling molecule (Ferguson et al., 2018). The most extensive body of work on lactate has been done by George Brooks and his laboratory, who was one of the pioneers of the lactate resurgence research in the 1980’s (Brooks, 1985). A central piece of his ‘lactate shuttle hypothesis’ has been the discovery of the lactate transporter family of proteins. It also opened, however, another more ‘sinister’ door for lactate metabolism: a key metabolic player in the ‘emperor of all maladies’ – cancer. It was indeed just a well forgotten idea that German physiologist Otto Warburg discovered in the 1920’s, but that was acknowledged more than 50 years later (Racker, 1972; Semenza, 2000). It eventually entered the mainstream research eye and has been an extensive topic of investigation for the last 15 years. Apart from cancer it has been implicated to have a suspected role in the pathophysiology of other diseases such as trauma, infection, heart failure, pulmonary hypertension, but a direct causative effect has thus far not been established (Li et al., 2022). This review aims to take a deeper look at those newfound roles of lactate in health and disease.

2. METHODS AND MATERIALS

The medical databases PubMed, Scopus, Web of Science and Google Scholar were searched for original articles, narrative reviews, systematic reviews and meta-analyses using the terms ‘lactate’, ‘hypoxia’, ‘metabolism’, ‘physiology’, ‘cancer’, ‘trauma’, ‘sepsis’, ‘clearance’ and others, in various combinations. The search was done until June 2024 and yielded 36 documents.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Biochemistry and physiology of lactate in health

Chemically speaking lactate is known as 2—hydroxypropanoic acid and in humans exists mainly in its L-enantiomer form. There are two main sources for its synthesis in healthy cells – glucose and alanine.

Via glucose the main precursor of lactate – pyruvate, is produced in two pathways – glycolysis and the pentose-phosphate pathway.

Then pyruvate is acted on by the oxido-reductase enzyme lactate-dehydrogenase to produce a molecule of

L-lactate. Via alanine lactate is produced through the action of the alanine-aminotransferase enzyme which yields a pyruvate molecule, while also producing one glutamate molecule (Adeva-Andany et al., 2014). The production of lactate is strictly bound to the energetic needs of cells, in contrast to the notion that hypoxia is the main driver of that process – it now has been shown that accelerated levels of glycolysis are strongly correlated with increased lactate levels, regardless of the local partial pressure of oxygen (Li et al., 2022).

Lactate dehydrogenase (LDH) is the key enzyme in lactate synthesis. Structurally it consists of two main types of protein subunits which form homo- and heterotetramers. The result is the formation of two main ubiquitously found isoforms of the enzyme that exhibit counteracting functions – types 1 and 5, encoded by two distinct genes, LDHA (type 1) and LDHB (type 5). LDH-1 (LDHA) favors the reduction of pyruvate to lactate, which consumes one NADH molecule and produces one NAD⁺ molecule, thus being found in very metabolically active tissues where complete aerobic oxidation of pyruvate is not always efficient, such as in glycolytic muscle fibers. LDH-5 (LDHB) on the other hand, acts in the opposite way – it oxidizes lactate molecules back to pyruvate (Draoui & Feron, 2011). It then enters mitochondria via the mitochondrial pyruvate carrier protein (MPC), where it is further oxidized in the TCA cycle. This is in effect the main pathway for lactate clearance. Another option for pyruvate is to enter the pathways of gluconeogenesis via its metabolites (Adeva-Andany et al., 2014). This is also another major alternative for lactate clearance and it has been shown that it is mostly active in the postprandial state, where de novo synthesis of glucose relies heavily on lactate, in contrast to the fasted state, where glycerol is the main precursor (Wang et al., 2020). A final newly proposed pathway supposes that lactate could enter mitochondria directly, where it is oxidized to pyruvate by a so called ‘mitochondrial lactate oxidation complex’ (mLOC), but this hypothesis is still under debate (Brooks, 2018).

Lactate transport in and out of cells happens through facilitated diffusion via the proton-coupled monocarboxylate transporter (MCT). To date 14 types of MCTs have been identified but only two are widely expressed and related to lactate transport – MCT 1 and 4. MCT1 is found ubiquitously in most cells, while MCT4 is specific for skeletal muscle, heart, kidney, lung and intestines. MCT4 has also been found to be upregulated as a result of endurance exercise, which is hypothesized to improve muscle energetics. Since the function of MCTs is tightly coupled with proton transport it is obvious that this protein participates partly in the control of cellular pH. This

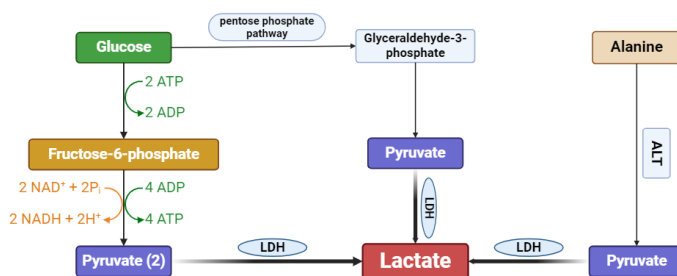


Figure 1. Lactate synthesis (created with BioRender)

has been further emphasized by the discovery that MCT function is enhanced by some subtypes of the enzyme carbonic anhydrase (Felmlee et al., 2020).

Although it seems intuitive that lactate would be produced and cleared in the same cells, that is not the case, evidenced by the large quantities of lactate released in blood and extracellular space during strenuous exercise (Sahlin et al., 1976). A unifying concept of lactate production and clearance is the lactate shuttle hypothesis, pioneered by George Brooks in the 1980s (Brooks, 1986) and backed by vast experimental data in the years since (Brooks, 2018). It postulates that lactate is predominantly produced in one subset of tissues, specifically glycolytic muscle fibers, and consumed or cleared by others – heart, brain and erythrocytes among others. In this model lactate exists in a homeostatic equilibrium, where it is readily produced at rest and in exercise in healthy people and is therefore used up as a cellular fuel, contradicting the established view that only extraordinary dysoxic stress leads to lactate production. The lactate shuttle is further subdivided in two types: the cell-cell and intracellular shuttle (Brooks, 2009). The cell-cell shuttle explains the aforementioned phenomena of lactate production, transport and clearance around the body in differing tissues. It was formulated on the observation of the results of radioactive tracer studies, which were repeatedly showing a discrepancy between the lactate concentrations of red oxidative and white glycolytic muscle fibers (Brooks, 2018). Further evidence backing this hypothesis includes the observation that some subtypes of MCTs predominantly import lactate into cells (MCT 1) and others (MCT 4) predominantly export lactate (Draoui & Feron, 2011), while as explained those subtypes are expressed by different tissues (Felmlee et al., 2020). The intracellular shuttle on the other hand introduced a concept that was debated by some authors (Sahlin et al., 2002), but favored by others (Brooks, 2009; Passarella et al., 2008). It explains the supposed occurrence of direct lactate transport into mitochondria, where it is then oxidized to pyruvate by the mLOC. Further, it has been proposed that peroxisomes could also play such a role in lactate oxidation (Brooks, 2018). This shuttle concept contrasts with the established model of lactate’s final destination of cytosol or export. Nevertheless, the possibilities for an intracellular shuttle remain open. In summary, this hypothesis proposes that lactate in the end is not a waste product of metabolism, but rather an important cellular fuel, that is readily available at rest and even more so in exercise, while also being a sign of enhanced glucose and glycogen metabolism, rather than a marker of hypoxia.

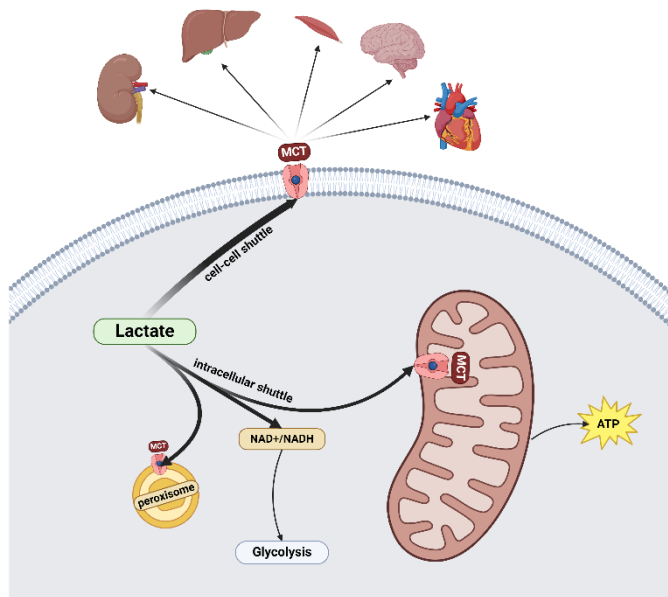


Figure 2. Lactate shuttles (created with BioRender)

Finally, a newly proposed physiological role of lactate is that of a signaling molecule. It has been identified that it has a direct ligand effect on the so called g-protein coupled receptor 81 (GPR-81), which was later renamed as the hydroxycarboxylic acid receptor 1 (HCAR1). This receptor has been identified in an abundance of tissues, the brain notably among them, but the effects of its signaling are yet to be elucidated (Morland et al., 2015). Other indirectly activated signaling pathways include PGC-1 α and the sirtuins – SIRT-1 and SIRT-3. The overall effect of stimulating this subset of pathways is enhanced mitochondrial biogenesis. Further through its metabolic processing and by the forming of malonyl-CoA it is hypothesized that lactate plays a role in

inhibiting CPT-1 and thus the oxidation of fatty acids, especially during vigorous exercise (Brooks et al., 2023). In another twist lactate could also affect muscle protein synthesis and induce hypertrophy by acting on mTOR, AMPK, and MAPK (Cerdeira-Kohler et al., 2018; Lawson et al., 2022).

Lactate in some pathophysiological states

Cancer

It is now well-established that lactate plays some role either directly or through correlative mechanisms in the pathophysiology of cancer. This fact was first appreciated by German physiologist Otto Warburg, who discovered that in normally oxygenated cancer cells, the rate of anaerobic glycolysis and lactate production is much higher than it would be expected (Ferguson et al., 2018). This finding was not considered of importance until the 1970s when Racker acknowledged it and named this phenomenon after its discoverer – the Warburg effect (Racker, 1972). In contemporary cancer research the role of lactate has been extensively investigated. Some parts of the lactate metabolism infrastructure have been identified as critical hallmarks of cancer –

LDH-A (LDH-1), MCT 1 and 4, the MCT chaperone proteins embigin and basigin (Doherty & Cleveland, 2013). It is not entirely elucidated why cancer cells switch to primarily an anaerobic metabolism of glucose to lactate, but some hypotheses propose that since lactate synthesis helps in recycling NAD⁺, which is essential for actively growing cells, this is one of the underlying mechanisms of increased NAD⁺ delivery. Moreover a plethora of oncogenes,

including HIF-1, c-myc and p53, have an important stimulatory effect on the expression of glycolytic enzymes, LDH-A, MCT4 and GLUT1, all of which favor lactate production (San-Millán & Brooks, 2016). The significance of this accelerated research on the role of lactate in cancer is that it presents multiple promising targets of anti-cancer therapy which are under investigation and could potentially lead to new and improved therapeutic agents (Benjamin et al., 2018; Draoui & Feron, 2011; Feng et al., 2018; Marchiq & Pouyssegur, 2016).

Critical care

Lactate has been perceived as a harbinger of disease in critical care medicine for at least 4 decades, most notably in shock states such as trauma and sepsis. Traditionally perceived as a marker of hypoxia, its blood concentrations were used as a therapeutic criterion for cardiovascular and pulmonary resuscitation (Mizock & Falk, 1992). An updated view of the literature behind lactate production suggests that rarely hypoxia is the only cause of increased lactate synthesis (James et al., 1999). A team of researchers did propose a hypothesis that adrenaline has a stimulatory effect on the ubiquitous Na-K ATP-ase, which in turn leads to an immense stimulation of anaerobic glycolysis to produce ATP and thus hyperlactatemia (Luchette et al., 2002). Coupling that with the abnormally high secretion of catecholamines in shock states it is believed and backed by some experimental data that this is one of the main reasons for observing high blood lactate levels in critical care patients, contrary to the engrained belief that it is solely because of tissue hypoxia (Grip et al., 2015; Levy et al., 2005). Nevertheless, blood lactate level measurements remain an important tool for clinicians. Most widely lactate is used as a stratifying factor for mortality risk, especially in trauma

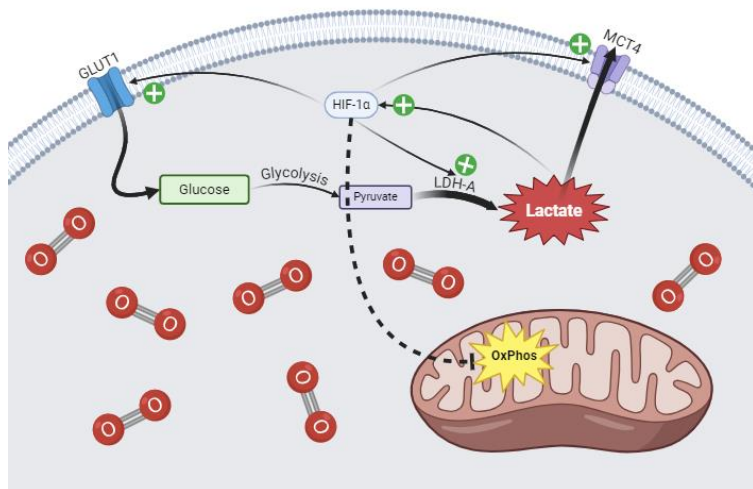


Figure 3. Lactogenesis in cancer (created with BioRender)

and sepsis patients. In these two groups measuring lactate levels at admission in hospital care has proven to be a useful marker of mortality, regardless of the underlying mechanisms of its production (Liu et al., 2019; Mikkelsen et al., 2009). Blood lactate values below 1 mmol/l are considered normal, while values above 2 mmol/l and especially higher than 4 mmol/l signify increased mortality risk (Mikkelsen et al., 2009). Moreover, an additional useful concept is that of lactate clearance. It is described as the fall in lactate levels during the hospital stay with the baseline being the lactate level at admission and measured as a percentage of that value:

$$\text{Lactate clearance} = \frac{(\text{Lactate}^{\text{admission}} - \text{Lactate}^{\text{chosen hour (2,4 or 6)}}) \times 100}{\text{Lactate}^{\text{admission}}}$$

Most notably lactate clearance has shown a good prognostic value for the risk of death in critical care patients, specifically in the first 12 hours of hospital admission, and therein it is most appreciated (Oxidative stress and antioxidant status in patients with complicated urolithiasis 2004; Odom et al., 2013; Régnier et al., 2012).

4. CONCLUSION

It can be said with confidence that lactate isn't what it was supposed to be. The advance of the understanding in its physiology shifted its role from 'waste' to 'treasure' in health and especially in exercise. On the other hand, in clinical medicine accepting it as an active metabolite has elevated our understanding of a plethora of pathophysiological processes, but most notably cancer. The practical implications are, of course, an entirely new group of cancer therapy agents, which is well appreciated by oncologists and patients alike. In critical care medicine it has cemented its place as an important marker for stratifying mortality risk, which is a powerful tool, if used accordingly. Nevertheless, research is ongoing and further clarifying its place and role in physiology and pathophysiology will definitely be an important advance in clinical medicine.

REFERENCES

- Adeva-Andany, M., López-Ojén, M., Funcasta-Calderón, R., Ameneiros-Rodríguez, E., Donapetry-García, C., Vila-Altesor, M., & Rodríguez-Seijas, J.** (2014). Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*, *17*, 76–100. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.05.007>
- Benjamin, D., Robay, D., Hindupur, S. K., Pohlmann, J., Colombi, M., El-Shemerly, M. Y., Maira, S.-M., Moroni, C., Lane, H. A., & Hall, M. N.** (2018). Dual inhibition of the lactate transporters MCT1 and MCT4 is synthetic lethal with metformin due to NAD⁺ depletion in cancer cells. *Cell Reports*, *25*(11), 3047–3058.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.043>
- Brooks, G. A.** (1985). Lactate: Glycolytic end product and oxidative substrate during sustained exercise in mammals—The “lactate shuttle.” In R. Gilles (Ed.), *Circulation, respiration, and metabolism* (pp. 208–218). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-70610-3_15
- Brooks, G. A.** (1986). The lactate shuttle during exercise and recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *18*(3), 360–368. <https://doi.org/10.1249/00005768-198606000-00019>
- Brooks, G. A.** (2009). Cell–cell and intracellular lactate shuttles. *The Journal of Physiology*, *587*(23), 5591–5600. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.178350>
- Brooks, G. A.** (2018). The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell Metabolism*, *27*(4), 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
- Brooks, G. A., Osmond, A. D., Arevalo, J. A., Duong, J. J., Curl, C. C., Moreno-Santillan, D. D., & Leija, R. G.** (2023). Lactate as a myokine and exerkine: Drivers and signals of physiology and metabolism. *Journal of Applied Physiology*, *134*(3), 529–548. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00497.2022>
- Cerda-Kohler, H., Henríquez-Olguín, C., Casas, M., Jensen, T. E., Llanos, P., & Jaimovich, E.** (2018). Lactate administration activates the ERK1/2, mTORC1, and AMPK pathways differentially according to skeletal muscle type in mouse. *Physiological Reports*, *6*(18), e13800. <https://doi.org/10.14814/phy2.13800>

- Doherty, J. R., & Cleveland, J. L.** (2013). Targeting lactate metabolism for cancer therapeutics. *Journal of Clinical Investigation*, 123(9), 3685–3692. <https://doi.org/10.1172/JCI69741>
- Draoui, N., & Feron, O.** (2011). Lactate shuttles at a glance: From physiological paradigms to anti-cancer treatments. *Disease Models & Mechanisms*, 4(6), 727–732. <https://doi.org/10.1242/dmm.007724>
- Felmlee, M. A., Jones, R. S., Rodriguez-Cruz, V., Follman, K. E., & Morris, M. E.** (2020). Monocarboxylate transporters (SLC16): Function, regulation, and role in health and disease. *Pharmacological Reviews*, 72(2), 466–485. <https://doi.org/10.1124/pr.119.018762>
- Feng, Y., Xiong, Y., Qiao, T., Li, X., Jia, L., & Han, Y.** (2018). Lactate dehydrogenase A: A key player in carcinogenesis and potential target in cancer therapy. *Cancer Medicine*, 7(12), 6124–6136. <https://doi.org/10.1002/cam4.1820>
- Ferguson, B. S., Rogatzki, M. J., Goodwin, M. L., Kane, D. A., Rightmire, Z., & Gladden, L. B.** (2018). Lactate metabolism: Historical context, prior misinterpretations, and current understanding. *European Journal of Applied Physiology*, 118(4), 691–728. <https://doi.org/10.1007/s00421-017-3795-6>
- Grip, J., Jakobsson, T., Hebert, C., Klaude, M., Sandström, G., Wernerman, J., & Rooyackers, O.** (2015). Lactate kinetics and mitochondrial respiration in skeletal muscle of healthy humans under influence of adrenaline. *Clinical Science*, 129(4), 375–384. <https://doi.org/10.1042/CS20140448>
- James, J. H., Luchette, F. A., McCarter, F. D., & Fischer, J. E.** (1999). Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *The Lancet*, 354(9177), 505–508. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)91132-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)91132-1)
- Lawson, D., Vann, C., Schoenfeld, B. J., & Haun, C.** (2022). Beyond mechanical tension: A review of resistance exercise-induced lactate responses & muscle hypertrophy. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 7(4), 4. <https://doi.org/10.3390/jfmk7040081>
- Levy, B., Gibot, S., Franck, P., Cravoisy, A., & Bollaert, P.-E.** (2005). Relation between muscle Na⁺K⁺ ATPase activity and raised lactate concentrations in septic shock: A prospective study. *The Lancet*, 365(9462), 871–875. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)71045-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)71045-X)
- Li, X., Yang, Y., Zhang, B., Lin, X., Fu, X., An, Y., Zou, Y., Wang, J.-X., Wang, Z., & Yu, T.** (2022). Lactate metabolism in human health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 305. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01151-3>
- Liu, Z., Meng, Z., Li, Y., Zhao, J., Wu, S., Gou, S., & Wu, H.** (2019). Prognostic accuracy of the serum lactate level, the SOFA score and the qSOFA score for mortality among adults with sepsis. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 27(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13049-019-0609-3>
- Luchette, F. A., Jenkins, W. A., Friend, L. A., Su, C., Fischer, J. E., & James, J. H.** (2002). Hypoxia is not the sole cause of lactate production during shock. *The Journal of Trauma*, 52(3), 415–419. <https://doi.org/10.1097/00005373-200203000-00001>
- Marchiq, I., & Pouysségur, J.** (2016). Hypoxia, cancer metabolism and the therapeutic benefit of targeting lactate/H⁺ symporters. *Journal of Molecular Medicine*, 94(2), 155–171. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1307-x>
- Mikkelsen, M. E., Miltiades, A. N., Gaieski, D. F., Goyal, M., Fuchs, B. D., Shah, C. V., Bellamy, S. L., & Christie, J. D.** (2009). Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Critical Care Medicine*, 37(5), 1670–1677. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819f68>
- Mizock, B. A., & Falk, J. L.** (1992). Lactic acidosis in critical illness. *Critical Care Medicine*, 20(1), 80.
- Morland, C., Lauritzen, K. H., Puchades, M., Holm-Hansen, S., Andersson, K., Gjedde, A., Attramadal, H., Storm-Mathisen, J., & Bergersen, L. H.** (2015). The lactate receptor, G-protein-coupled receptor 81/hydroxycarboxylic acid receptor 1: Expression and action in brain. *Journal of Neuroscience Research*, 93(7), 1045–1055. <https://doi.org/10.1002/jnr.23593>
- Nguyen, H. B., Rivers, E. P., Knoblich, B. P., Jacobsen, G., Muzzin, A., Ressler, J. A., & Tomlanovich, M. C.** (2004). Early lactate clearance is associated with improved outcome in

severe sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine*, 32(8), 1637–1642. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000132904.35713.a7>

Odom, S. R., Howell, M. D., Silva, G. S., Nielsen, V. M., Gupta, A., Shapiro, N. I., & Talmor, D. (2013). Lactate clearance as a predictor of mortality in trauma patients. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 74(4), 999–1004. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e3182858a3e>

Passarella, S., de Bari, L., Valenti, D., Pizzuto, R., Paventi, G., & Atlante, A. (2008). Mitochondria and l-lactate metabolism. *FEBS Letters*, 582(25), 3569–3576. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.09.042>

Racker, E. (1972). Bioenergetics and the problem of tumor growth: An understanding of the mechanism of the generation and control of biological energy may shed light on the problem of tumor growth. *American Scientist*, 60(1), 56–63.

Régnier, M.-A., Raux, M., Le Manach, Y., Asencio, Y., Gaillard, J., Devilliers, C., Langeron, O., & Riou, B. (2012). Prognostic significance of blood lactate and lactate clearance in trauma patients. *Anesthesiology*, 117(6), 1276–1288. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318273349d>

Sahlin, K., Fernström, M., Svensson, M., & Tonkonogi, M. (2002). No evidence of an intracellular lactate shuttle in rat skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 541(2), 569–574. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.016683>

Sahlin, K., Harris, R. C., Nylind, B., & Hultman, E. (1976). Lactate content and pH in muscle samples obtained after dynamic exercise. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 367(2), 143–149. <https://doi.org/10.1007/BF00585150>

San-Millán, I., & Brooks, G. A. (2016). Reexamining cancer metabolism: Lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg Effect. *Carcinogenesis*. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw127>

Semenza, G. L. (2000). Hypoxia, clonal selection, and the role of HIF-1 in tumor progression. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 35(2), 71–103. <https://doi.org/10.1080/10409230091169186>

Wang, Y., Kwon, H., Su, X., & Wondisford, F. E. (2020). Glycerol not lactate is the major net carbon source for gluconeogenesis in mice during both short and prolonged fasting. *Molecular Metabolism*, 31, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.11.005>

ACTIVITY OF THE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY ENZYMES IN THE LIVER OF DIABETIC RATS WITH PRESERVED GLYCEMIA AND MELATONIN INJECTION

Oleksandra Kushnir, Yaremii Kateryna

Department of bioorganic and biological chemistry and clinical biochemistry, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Abstract: Goal: to determine the enzyme activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGDH) and transketolase (TK) under conditions of preserved glycemia and melatonin exposure.

Material and methods. Experiments were carried out on male outbred white rats weighing 180 ± 10 grams. Diabetes was induced by a single injection of alloxan monohydrate at the rate of 170 mg per kg of animal weight. Groups: 1) control; 2) preserved glycemia (≤ 6.9 mmol/l); 3) preserved glycemia with melatonin (5 mg/kg of body weight for a week at 8:00 a.m. daily). Groups were under conditions of constant light, darkness and the equinox. Animals were euthanized on the 19th day, taking into account ethical principles. Statistical processing was performed according to the Student. The results. The activities of G-6-PDH, 6-PGDH in rats with preserved glycemia were 80% and 65% higher, respectively, than in control. In the liver of control animals that were under conditions of darkness, the activities of G-6-PDG, 6-PGDH, and TK increased by 40%, 30%, and 15%, respectively while under conditions of light, these activities decreased by 20%, 13% and 17%, respectively, in comparison with control under equinox. Under constant darkness and preserved glycemia the activities of G-6-PDG, 6-PGDH and TK increased by 117%, 96% and 32%, respectively; under constant light, these activities were 25%, 17%, and 25% lower, respectively, than in control under equinox. Administration of melatonin led to normalization of investigated parameters.

Conclusion. The pentose phosphate pathway of glucose-6-phosphate oxidation is normalized in diabetic rats with preserved glycemia due to melatonin administration.

Keywords: diabetic rats, liver, melatonin, pentose phosphate pathway of glucose-6-phosphate oxidation

1. INTRODUCTION

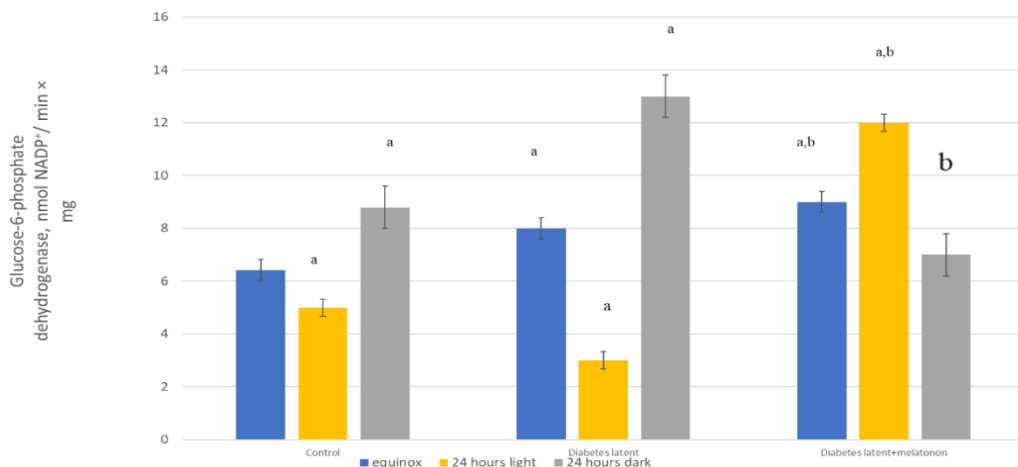
The "sleep hormone" melatonin is a powerful antioxidant and a natural stimulator of immunity (Onaolapo & Onaolapo, 2018). The pentose phosphate pathway is a metabolic pathway for the conversion of glucose required to obtain reducing equivalents of NADPH₂, which are used in the biosynthesis processes of many substances, in particular, fatty acids and cholesterol, and ribose-5-phosphate, which is an important precursor in the formation of nucleotides (Ceban et al., 2016).

2. METHODS AND MATERIALS

Experiments were carried out on male outbred white rats weighing 180 ± 10 grams. Diabetes was induced by a single injection of alloxan monohydrate at the rate of 170 mg per kg of animal weight. Groups: 1) control; 2) preserved glycemia (≤ 6.9 mmol/l); 3) preserved glycemia with melatonin (5 mg/kg of body weight for a week at 8:00 a.m. daily). Groups were under conditions of constant light, darkness and the equinox (Djindjic et al., 2017). Animals were euthanized on the 19th day, taking into account ethical principles. Statistical processing was performed according to the Student (Gerush et al., 2012).

3. RESULTS

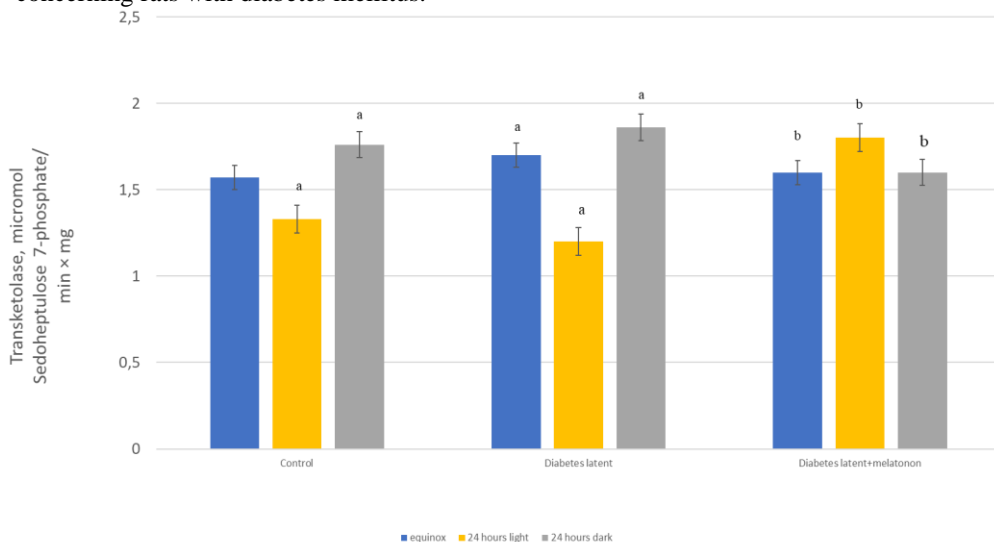
The activities of G-6-PDH, 6-PGDH in rats with preserved glycemia were 80% and 65% higher, respectively, than in control. In the liver of control animals that were under conditions of darkness, the activities of G-6-PDG, 6-PGDH, and TK increased by 40%, 30%, and 15%, respectively while under conditions of light, these activities decreased by 20%, 13% and 17%, respectively, in comparison with control under equinox.



Note: 1. a, b, c - changes are reliable ($p \leq 0,05$).

2. a - concerning control (intact rats);

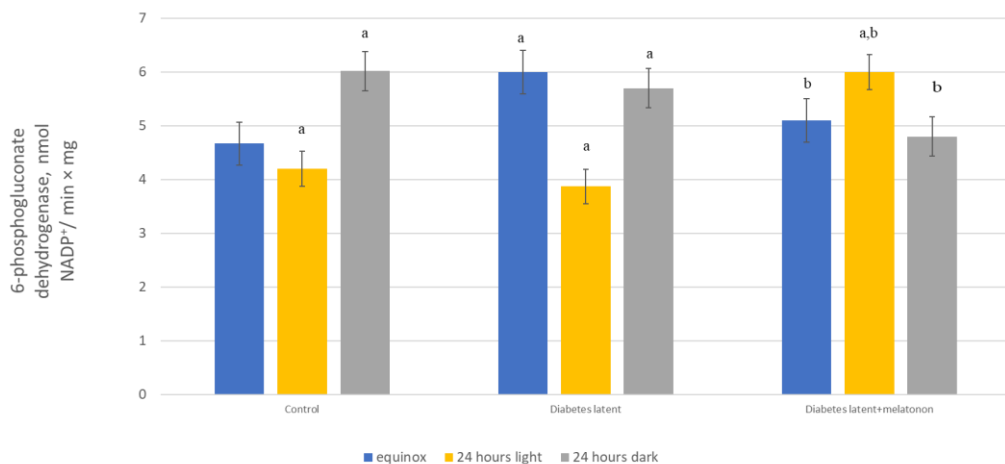
b - concerning rats with diabetes mellitus.



Note: 1. a, b, c - changes are reliable ($p \leq 0,05$).

2. a - concerning control (intact rats); b - concerning rats with diabetes mellitus.

Under constant darkness and preserved glycemia the activities of G-6-PDG, 6-PGDH and TK increased by 117%, 96% and 32%, respectively; under constant light, these activities were 25%, 17%, and 25% lower, respectively, than in control under equinox. Administration of melatonin helped in normalization of investigated parameters.



Note: 1. a, b, c - changes are reliable ($p \leq 0,05$).

2. a - concerning control (intact rats);

b - concerning rats with diabetes mellitus.

4. DISCUSSION

An increase in the activity of enzymes of the pentose phosphate pathway of glucose-6-phosphate oxidation may be caused by the need for the formation of NADPH_2 for the functioning of the antioxidant defense system in conditions of compensated diabetes (Mok et al., 2019).

Administration of melatonin to animals with latent diabetes under all lighting conditions led to normalization of all investigated parameters (except for the activity of G-6-PDH under conditions of constant light in latent diabetes, which increased by 20%, compared to intact animals at the equinox) (Yang et al, 2022).

5. CONCLUSIONS

The pentose phosphate pathway of glucose-6-phosphate oxidation is normalized in diabetic rats with preserved glycemia due to melatonin administration.

ACKNOWLEDGMENTS: We are grateful to you for the opportunity to present the results of research carried out on the basis of the Bukovyna State Medical University.

REFERENCES

- Ceban, E., Banov, P., Galescu, A., & Botnari, V. (2016). Oxidative stress and antioxidant status in patients with complicated urolithiasis. *Journal of Medicine and Life*, 9(3), 259–262.
- Djindjic, B., Kostic, T., Radovanovic, Z., Djindjic, N., Lazovic, M., Zivic, M., Perisic, Z., & Krstic, N. (2017). The contributions of fasting and postprandial blood glucose increments to oxidative stress and inflammation in dyslipidemic type 2 diabetic patients with stable ischemic heart disease. *International Journal of Cardiology*, 227, 611–616. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.10.089>
- Gerush, I., Boichuk, T., Yaremii, I., Kushnir, O., & Gerush, O. (2012). Effects of melatonin on the glutathione system in the blood of alloxan diabetic rats. *The International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) and The Federation of European Biochemical Societies (FEBS)*, 279(1), 88.
- Mok, J. X., Ooi, J. H., Ng, K. Y., Koh, R. Y., & Chye, S. M. (2019). A new perspective on the role of melatonin in diabetes and its complications. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 40(1). <https://doi.org/10.1515/hmbci-2019-0036>
- Onaolapo, A. Y., & Onaolapo, O. J. (2018). Circadian dysrhythmia-linked diabetes mellitus: Examining melatonin's roles in prophylaxis and management. *World Journal of Diabetes*, 9(7), 99–114.
- Yang, K., Qiu, X., Cao, L., & Qiu, S. (2022). The role of melatonin in the development of postmenopausal osteoporosis. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 975181. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.975181>

THE INFLUENCE OF MELATONIN ON THE MAIN INDICATORS OF THE GLUCOSE-LACTATE CYCLE IN THE SKELETAL MUSCLES AND LIVER OF RATS WITH DEXAMETHASONE DIABETES

K.M. Yaremii, O.Yu. Kushnir, I.M. Yaremii

Department of bioorganic and biological chemistry and clinical biochemistry, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Abstract: Melatonin is considered a promising remedy against diabetic disorders. The scientific work is devoted to the study of exogenous melatonin on certain indicators of carbohydrate metabolism, which characterize the functioning of the Cori cycle in white rats with dexamethasone diabetes.

Keywords: melatonin, dexamethasone diabetes, Cori cycle

1. INTRODUCTION

According to the World Health Organization experts, diabetes is a state of chronic hyperglycemia caused by a violation of the synthesis or action of insulin (Kolesnyk et al., 2016).

Diabetes mellitus is a chronic endocrine-metabolic disease caused by an absolute (impairment of synthesis) and/or relative (impairment of action) lack of insulin, which is caused by the action of various endogenous (genetically determined) and exogenous factors, which is accompanied by a violation of all types of metabolism, primarily carbohydrate metabolism with subsequent damage due to hyperglycemia and the resulting glycosylation of various organs and tissues.

At the beginning of the second millennium, in 2000, the number of diabetes patients was 175.4 million people, in 2015 it increased to 245 million patients, and by 2040, the number of diabetes patients is predicted to increase to 642 million people.

At the same time, most diabetics are diagnosed with type 2 diabetes, which is known to be characterized by severe insulin resistance (Peschke et al., 2011).

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is a hormone synthesized mainly by the pineal gland and functions in the body not only as a synchronizer of circadian rhythms and a sleep regulator, but also as a regulator of glucose homeostasis (Peschke, 2008).

Exogenous melatonin is currently considered as one of the possible means of correcting metabolic disorders that occur against the background of hyperglycemia, in particular, in diabetes (Ha et al., 2006).

2. METHODS AND MATERIALS

The study was conducted on 45 male 18-month-old white non-linear rats, divided into three groups: 1) control group of rats; 2) rats with diabetes (daily subcutaneous administration of dexamethasone solution at a dose of 0.125 mg/kg body weight for 13 days); 3) diabetic rats were orally administered daily melatonin (Sigma, USA) at a dose of 10 mg/kg (Mok et al., 2019).

This method for reproducing diabetes was proposed by professor Stefanov in 2001. According to this method, to reproduce insulin resistance, rats were injected subcutaneously with dexamethasone solution for injections (4 mg/kg, KRKA, Slovenia).

Animals were treated according to ethical principles.

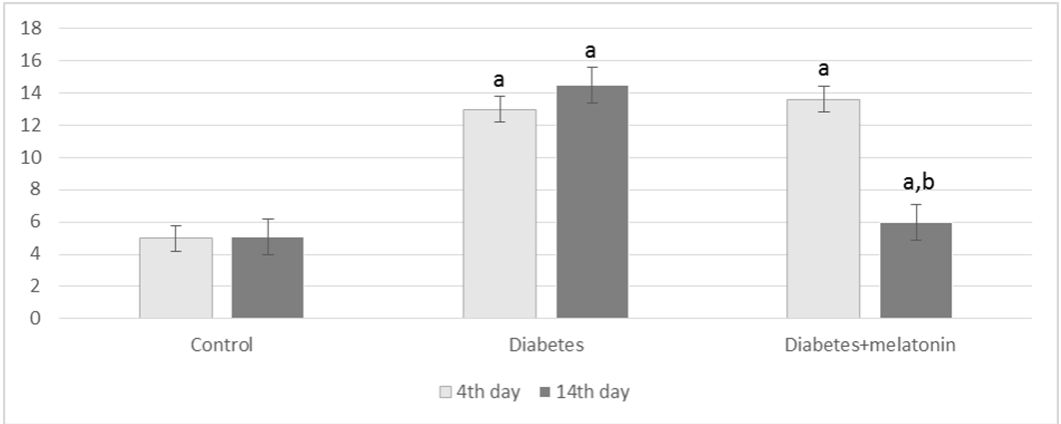
The object of this experimental research was to ascertain the effect of exogenous melatonin (10 mg/kg) on glycogen content and activity of pyruvate kinase (PK) [EC 2.7.1.40], lactate dehydrogenase (LDH) [EC 1.1.1.27] in muscles and the liver; glucose-6-phosphatase (G-6-P-ase)

[EC 3.1.3.9] – in the liver of rats with dexamethasone diabetes.

The reliability of the difference between the obtained indicators was assessed using the parametric Student's t-test (for normal distribution) and the non-parametric Mann-Whitney U-test (for non-normal distribution). Differences were considered probable at $p \leq 0.05$.

3. RESULTS

Two-week daily administration of dexamethasone solution in the above-mentioned dose to 18-month-old rats causes the development of resistance of peripheral tissue receptors to the action of insulin with subsequent increase in the concentration of glucose in the blood (fig. 1), changes that are characteristic of type 2 diabetes.



According to the results (Table 1) in skeletal muscles of diabetic rats, glycogen content and pyruvate kinase activity were 21% and 37% lower, respectively, and lactate dehydrogenase was 18% higher compared to the control.

Table 1.

Changes of Cori cycle indicators in the muscles of rats, (n=15, $\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Indicators \ Groups	Glycogen content (mg%)	PK, micromol/min×mg	LDH, nmol/min×mg
1. Control	75,5±5,37	62,8±4,53	5,7±0,39
2. Diabetes	59,4±3,22 ^a	39,5±2,35 ^a	6,8±0,47 ^a
3. Diabetes + melatonin	73,2±4,28 ^b	57,8±4,48 ^b	5,9±0,45 ^b

In the liver of diabetic rats (Table 2), glycogen content and pyruvate kinase activity decreased by 33% and 32%, respectively, and lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphatase increased by 20% and 56%, respectively compared with control.

The investigated parameters of diabetic rats, that received melatonin, did not differ from the parameters of control. Therefore, the administration of melatonin (10 mg/kg) to rats in parallel with dexamethasone prevents the development of insulin resistance in animals and helped to normalize investigated indicators. As for the investigated parameters of carbohydrate metabolism, both the glucose content in the blood of rats, as well as the glycogen content and the activity of all the studied enzymes in the muscles and in the liver of rats that were given melatonin against the background of

the development of diabetes, did not reliably differ from the parameters of intact animals of control group, which confirms the assumption about the probable hypoglycemic effect of melatonin against the background of the development of diabetes.

Table 2.

Changes of Cori cycle indicators in the liver of rats, (n=15, $\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Indicators Groups	Glycogen content (mg%)	PK, micromol/min ×mg	LDH, nmol/min×mg	G-6-P-ase, microg/min×mg
1. Control	3412,5±65	53,5±3,45	2,9±0,43	29,7±2,02
2. Diabetes	2289,4±57 ^a	36,4±2,93 ^a	3,6±0,52 ^a	67,4±3,27 ^a
3. Diabetes + melatonin	3258,4±72 ^b	51,2±4,19 ^b	3,0±0,37 ^b	35,9±3,22 ^b

Note: 1. a, b - changes are reliable ($p \leq 0,05$).

2. a - concerning intact rats;

3. b - concerning diabetic rats

4. DISCUSSION

As we know, during physical activity, lactate is formed in skeletal muscles during glucose metabolism. Under anaerobic conditions, pyruvate is reduced to lactate by lactate dehydrogenase. Lactate produced in the muscle cannot be utilized for the synthesis of glucose due to the absence of key enzymes of gluconeogenesis (glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase).

Lactate produced by active skeletal muscle is a major precursor for gluconeogenesis in liver. The plasma membrane is freely permeable to lactate. Lactate is carried from the skeletal muscle through blood and handed over to liver, where it is oxidized to pyruvate. Pyruvate, so produced is converted to glucose by gluconeogenesis, which is then transported to the skeletal muscle.

The cycle involving the synthesis of glucose in liver from the skeletal muscle lactate and the reuse of glucose thus synthesized by the muscle for energy purpose is known as Cory cycle.

In animals that were injected with dexamethasone for 14 days, a violation of glucose tolerance occurs, so this model allows to reproduce the most important pathogenetic mechanisms of the development of diabetes, in particular, a violation of the action of the hormone insulin, which is characteristic of patients with type 2 diabetes. Dexamethasone diabetes, as is known, is one of the models for the study of hypoglycemic agents, since the administration of excessive doses of glucocorticoids leads to a violation of the secretory function of the beta cells of the islets of Langerhans of the pancreas and the development of insulin resistance. In experimental animals with dexamethasone diabetes, there is a deterioration of tolerance to carbohydrates and a decrease in the sensitivity of peripheral tissues to the action of insulin.

With diabetes mellitus, as is known the processes of glucose entering tissues are disrupted, the formation of glucose-6-phosphate decreases, the intensity of glycogen synthesis in tissues decreases, the process of glycolysis and aerobic oxidation of glucose is inhibited.

Glycogen synthase, as is known, is active in dephosphorylated form under the action of insulin, and its lack leads to a decrease in the intensity of glycogenesis. In the liver, the deficiency of glucose-6-phosphate in diabetes is known to be compensated by its formation through gluconeogenesis from non-carbohydrates, in particular from amino acids and lactate.

Melatonin influences day and night cycle, is produced by pineal gland. Synthetic melatonin drug is not approved by the US Food and Drug Administration for any purpose. It is confirmed that melatonin receptor agonists - ramelteon and tasimelteon are US Food and Drug Administration approved and are considered by the American Academy of Family Physicians for the treatment of sleep disorders (Frese et al., 2009). There are many medicines that consist melatonin, so it is possible

to investigate effects of this hormone besides sleep control (Leelaviwat et al., 2022). Melatonin, as is known (Rai et al, 2024), affects the functioning of GLUT and contributes to the realization of the intracellular effects of insulin, in particular, the utilization of glucose by cells as an energy substrate through its aerobic oxidation (Watanabe et al, 2023).

5. CONCLUSIONS

Melatonin prevents disruption of Cory's glucose-lactate cycle in rats with dexamethasone diabetes.

ACKNOWLEDGMENTS: We are grateful to you for the opportunity to present the results of research carried out on the basis of the Bukovinian State Medical University.

REFERENCES

- Frese, T., Bach, A. G., & Muhlbauer, E., et al.** (2009). Pineal melatonin synthesis is decreased in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Life Sciences*, 85(13–14), 526–533.
- Ha, E., Yim, S. V., Chung, J. H., et al.** (2006). Melatonin stimulates glucose transport via insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol-3-kinase pathway in C2C12 murine skeletal muscle cells. *Journal of Pineal Research*, 41(1), 67–72.
- Kolesnyk, Y. M., Ivanenko, T. V., Abramov, A. V., & Kuzo, N. V.** (2016). Current method of the modeling of experimental diabetes mellitus type 2: A literature review. *Pathology*, 1(36), 10–14.
- Leelaviwat, N., Mekraksakit, P., Cross, K. M., Landis, D. M., McLain, M., Sehgal, L., & Payne, J. D.** (2022). Melatonin: Translation of ongoing studies into possible therapeutic applications outside sleep disorders. *Clinical Therapeutics*, 44(5), 783–812. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2022.03.008>
- Mok, J. X., Ooi, J. H., Ng, K. Y., et al.** (2019). A new perspective on the role of melatonin in diabetes and its complications. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 40(1), 1–14. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2019-00363>
- Peschke, E.** (2008). Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. *Journal of Pineal Research*, 44, 26–40.
- Peschke, E., Hofmann, K., Bahr, I., et al.** (2011). The insulin-melatonin antagonism: Studied in the LEW.1AR1-iddm rat (an animal model of human type 1 diabetes mellitus). *Diabetologia*, 54(7), 1831–1840.
- Rai, S., Roy, G., & Hajam, Y. A.** (2024). Melatonin: A modulator in metabolic rewiring in T-cell malignancies. *Frontiers in Oncology*, 13, 1248339. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1248339>
- Watanabe, K., Nakano, M., Maruyama, Y., Hirayama, J., Suzuki, N., & Hattori, A.** (2023). Nocturnal melatonin increases glucose uptake via insulin-independent action in the goldfish brain. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1173113>

THE SEVENTH CRANIAL NERVE AND ITS CLINICAL MANIFESTATION – BELL’S PALSY

Dimitar Dimitrov¹, Katerina Georgieva¹, Petar-Preslav Petrov², Maria Motrenikova³, Plamen Penchev¹, Todor Todorov¹, Darina Barbutska¹

¹ Students, Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

² Department of Anatomy, Histology and Embryology,

Medical University of Plovdiv

³ Department of Biochemistry, Medical University of Plovdiv

Abstract: The facial nerve is one of the most essential and significant cranial nerves in human anatomy. It is displayed on the surface of the brainstem via a somatomotor and sensory root. For the most part, the nervus facialis is a somatomotor nerve and is responsible for the innervation of facial muscles. The nerve has one sensory and two parasympathetic nodes. Its branches are in and outside the canalis facialis. Paralysis of the seventh cranial nerve is a common pathological condition in clinical practice. The reasons for the occurrence of this type of pathology can be due to a supranuclear, nuclear or infranuclear lesion. The symptoms of Bell's palsy can be different. Cytomegaloviruses, coxsackieviruses and adenoviruses are among the leading etiological causes. The treatment is complex.

Keywords: treatment facial nerve, somatomotor, cytomegaloviruses, paralysis, treatment

1. INTRODUCTION

The facial nerve is the seventh cranial nerve (CN VII). It belongs to the group of mixed cranial nerves as it consists of motor, sensory and parasympathetic fibers. Nervus facialis provides motor innervation to the muscles of facial expression, the occipitofrontal muscle, the stylohyoid muscle, the posterior belly of the digastric muscle, the platysma, and the stapedius muscle, all of which originate from the second branchial arch. Sensory innervation includes taste sensations from the anterior two-thirds of the tongue. Visceral efferent fibers reach the lacrimal, submandibular, and sublingual glands as well as palatine and nasal glands. The facial nerve emerges in the pontocerebellar angle with two roots – a motor one and a sensory one commonly referred as nervus intermedius due to its location between the motor root and the fibers of the vestibulocochlear nerve (CN VIII). The facial nerve’s nuclei are found in the brainstem, particularly in the pontine tegmentum. Its somatomotor nucleus is a part of the ventrolateral group. Its emerging nerve fibers pass around the nucleus of abducens nerve thus creating the facial colliculus in the rhomboid fossa. In medulla oblongata, lateral to the motor nucleus of the vagus nerve is located nucleus solitarius. This nucleus has two parts: Rostral and caudal. The rostral part also called “the gustatory nucleus” form the taste inputs. The anterior two-thirds of the tongue send taste inputs to the solitary nucleus through the facial nerve, posterior third of the tongue uses the glossopharyngeal nerve, and the vagus nerve sends taste inputs from the epiglottis to the gustatory nucleus. The caudal part accepts inputs through glossopharyngeal and vagus nerves. The location of the upper motor neuron of CN VII is in the primary motor cortex in the precentral gyrus. Its axons reach the tegmentum of the pons after becoming part of the ipsilateral corticopontine tract passing through the genu of the internal capsule, thus communicating with the cell bodies of lower motor neurons forming the facial nucleus. The nucleus itself can be divided into ventral and dorsal parts. There is a substantial difference between the origin of innervation of the muscles in the lower and upper facial regions. The dorsal part of the motor nucleus receives input from both cerebral hemispheres and its axons reach the muscles of the

upper facial half, whereas the ventral part, which provides innervation for the lower facial region, receives input only from the contralateral hemisphere. The parasympathetic nucleus of the facial nerve includes the superior salivatory and lacrimal nucleus. Their location is posterolateral to the motor one. Efferent fibers from the hypothalamus reach both nuclei. Another source of input to the superior salivatory nucleus is the solitary tract transmitting taste sensations, and for the lacrimal nucleus – the trigeminal nerve (since lacrimation can occur due to eye irritation). Superior salivatory nucleus is responsible for the postganglionic parasympathetic innervation of the glands of the palate and in the nasal cavity, sublingual, and submandibular salivary glands, whereas the lacrimal nucleus – for glandula lacrimalis. After emerging from the pontocerebellar angle, both the motor root and nervus intermedius enter the external auditory meatus in the petrous part of the temporal bone together with CN VIII. The facial nerve passes through the meatus for 8 to 10 mm before continuing its way into the facial canal (also known as the fallopian canal). It has three segments - labyrinthine, tympanic, and mastoid. After emerging from the stylomastoid foramen the nerve curves downward and ventrolateral and enters the retromandibular fossa lateral to the external carotid artery and the retromandibular vein (Pascual, 2018). Inside the parotid gland, the nerve runs between the deep and superficial lobe until it emerges beyond the anterior border of the gland to continue to the facial muscles. The clinical manifestation of the facial nerve is Bell’s Palsy. The condition is characterized by unilateral, partial, or complete paralysis of the facial muscles. Bell’s palsy is characterized by unilateral, acute paresis or acute paralysis of the face, which may occur with mild pain, numbness, increased sensitivity to noise, and altered taste (Holland, 2008).

2. METHODS AND MATERIALS

Our team presents a case of a 52-year-old male, I.P., who was admitted to the Neurology Clinic at the University Hospital “Saint George” on the fifth day after the onset of initial symptoms. The patient complained of acute pain behind his left ear after waking up. On day two facial asymmetry was noticed as well as inability to close his left eye, lacrimation, and leak of food from the left corner of his mouth while eating.

After a consultation with his general practitioner and no visible results from the administrated home treatment, he was redirected to the neurology department for further clarification of his condition.



Figure 1

<https://facialparalysisinstitute.com/photo-gallery/>

CN7 - Facial Nerve Paths of the 5 Exterior Branches

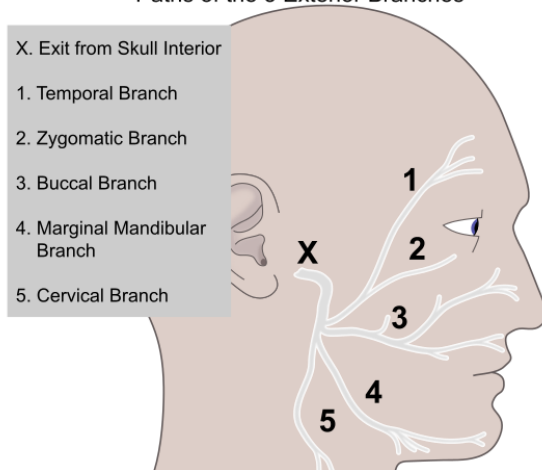


Figure 2

[\(https://samarpanphysioclinic.com/facial-the-seventh-cranial-nerve/\)](https://samarpanphysioclinic.com/facial-the-seventh-cranial-nerve/)

The patient was diagnosed with Bell's palsy based on the anamnestic information provided – acute initial phase, drooping of the left side of the mouth, incomplete left eyelid closure and inability to corrugate the left part of the forehead. A diagnostic electromyography (EMG) was performed, and it showed the presence of extremely slow nerve conduction regarding the lower branch of the left facial nerve as well as the upper branch, but in a lighter form.

The prescribed medications include Mannitol 10% x 1 IV, Almira x 1 ampulla/day IM, Pentilin 400mg 2x1 tablets, Milgamma x 1 ampulla/day IM and by prescription book – Verapamil 80mg 3x1 tablets.

3. RESULTS

After completing the treatment, there has been some improvement in the condition of the patient with peripheral damage to the VII cranial nerve on the left side. Although there is some recovery in the movement of the left facial muscles, there is still a slight inability to close the left eye and some drooping of the left side of the mouth.

The patient is advised to avoid exposure to cold drafts and to protect against colds. Facial massages should also be avoided. Follow-up examinations are scheduled within 30 days after discharge at the neurology clinic. The patient should be referred to rehabilitation and monitored by their general practitioner for overall condition and therapy adjustments. Additionally, a reevaluation by a neurologist at the outpatient clinic is recommended to assess the neurological status.

4. DISCUSSION

The idiopathic unilateral acute facial paralysis, mostly referred to as Bell's palsy, occurs due to dysfunction of the seventh cranial nerve CN VII. It belongs to the group of peripheral paralyzes since it involves nerve lesions located anywhere from its origin to the periphery of the face. The exact reason for this ailment remains unknown. Factors that may increase the risk of Bell's Palsy are diabetes, high blood pressure, toxins, some viruses (e.g., herpes simplex virus one, HIV and Epstein-Barr Virus), Lyme Disease, and ischemia. Studies have established the link between this condition and pregnancy with approximately forty-five cases per 100 000 pregnant women. It is most often presented during the third trimester or postpartum. Since Bell's palsy is identified as an idiopathic condition, research has not been able to give an explicit answer to what the universal plan for successful treatment is. This is supported by the fact that in almost 70% of cases, the condition resolves on its own in less than 6 months. One method proven to be highly effective is the administration of corticosteroids (e.g., prednisone) due to their anti-inflammatory properties, causing a reduction of edema around the nerve. This tends to minimize the extent of the nerve compression and drastically improves the chances for better recuperation. Other usually prescribed drugs include antiviral medications since one potential cause for this disease is the infection with herpes simplex virus. Their focus is to cease viral replication thus lowering the viral load and consequently decreasing the degree of loss of normal nerve functions. When used on their own, antiviral drugs are not considered a particularly effective alternative, but when combined with anti-inflammatory medications like corticosteroids, the results look more promising. However, such a pairing of medications is still further investigated due to controversial data. Since a common symptom of this condition is drooping of the corner of the eye and difficulty in closing the eyelid to its maximum extent, protecting the patient's eye is an integral part of the treatment plan. It includes patching as well as the usage of lubricating eye drops and ointments to prevent the cornea from drying.

Research suggests that physical therapy might be beneficial to patients diagnosed with this condition. It is focused on preventing long-term muscle contractures, weakness, and involuntary movements (synkinesis). The treatment plan involves exercise, electrostimulation, massage, and thermotherapy. A project from 2008 aimed at examining the effects of combining facial exercise with mirror or EMG biofeedback in patients with delayed recovery, but it showed insignificant results due to a small number of randomized controlled trials. It is expected for all Bell's palsy patients to show signs of improvement by the end of the 6th month. Some of the poor prognostic factors include advanced age, hypertension, diabetes, taste impairment, and whole facial paralysis.

5. CONCLUSIONS

The prognosis for Bell's Palsy is favorable, with a considerable proportion of patients experiencing partial or complete recovery within weeks to months. However, some individuals may suffer from long-term complications such as incomplete recovery or synkinesis, which require further therapeutic intervention. Ongoing research into the pathophysiology of Bell's Palsy and the development of more targeted treatments is essential for enhancing patient care and outcomes. Multidisciplinary management, including neurologists, otolaryngologists, and physical therapists, plays a vital role in supporting patients through their recovery journey. Bell's Palsy, though often self-limiting, demands a comprehensive approach to treatment and management to minimize its impact and promote full recovery. Continued advancements in medical research are expected to shed more light on this enigmatic condition, leading to better therapeutic strategies and improved patient prognoses.

REFERENCES

- Holland, J.** (2008, January 2). Bell's palsy. *PMID: 19450338, PMCID: PMC2907944.*
- Dulak, D., & Naqvi, I. A.** (2023, July 24). Neuroanatomy, Cranial Nerve 7 (Facial). *PMID: 30252375, Bookshelf ID: NBK526119.*
- Holland, N. J., & Sawarbandhe, J. M., Mohod, P. A., Batra, M. R., et al.** (2024, June 24). Exploring non-invasive therapies for Bell's palsy: A case report. *Cureus, 16(6), e63071.* <https://doi.org/10.7759/cureus.63071>
- Laso, J. R. S.** (2018, April 24). Extracranial course of the facial nerve revisited. Madhok, V. B., Gagyor, I., Daly, F., Somasundara, D., Sullivan, M., Gammie, F., et al. (2016). Corticosteroids for Bell's Palsy (idiopathic facial paralysis) (Cochrane review). *Cochrane Database of Systematic Reviews, (2), CD001942.*
- Martínez Pascual, P., Maranillo, E., Vázquez, T., Simon de Blas, C., Lasso, J. M., & Sañudo, J. R.** (2018, April 24). Extracranial course of the facial nerve revisited. *PMID: 29659175.* <https://doi.org/10.1002/ar.23825>

VARIATIONS AND CLINICAL SYNDROMES OF THE ANATOMICAL ELEMENTS IN THE INFRACLAVICULAR SPACE

Petar-Preslav Petrov¹, Darina Barbutska¹, Krikor Indjian²,
Todor Todorov³, Plamen Penchev³, Kiril Ivanov³, Stoyan Papalakov³

¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology,
Medical University of Plovdiv

² Department of language and specialized training,
Medical University of Plovdiv

³ Students, Medical Faculty, Medical University of Plovdiv

Abstract: The infraclavicular space is located between the clavicle and the first rib. This is a small, but very important area, through which anatomical elements pass both from the neck area to the axillary fossa and from the brachial area to the root of the neck. Here is located part of plexus brachialis, subclavian artery, subclavian vein and their branches and tributaries. The three trunks of the brachial plexus, just above or behind the clavicle, divide into anterior and posterior branches. Another anatomical element in the infraclavicular space is the axillary artery. Here the axillary vein is in important topographic relationship with the eponymous artery, the bundles and nerves of the brachial plexus and the various groups of lymph nodes. In case of anatomical features, variations or changes in the normal arrangement of the elements above, pathological symptoms or difficulties in visualization of certain anatomical structures may occur. The anatomy of the infraclavicular space is also important for the implementation of peripheral infraclavicular anesthesia. Knowledge of the normal anatomy, as well as the variations of the infraclavicular space is a precondition for the successful work of each physician.

Keywords: infraclavicular space, brachial plexus, axillary artery, axillary vein

1. INTRODUCTION

The infraclavicular space is located between the clavicle and the first rib. This is a small, but extremely important area through which elements pass both from the neck area to the axillary fossa and from the brachial area to the root of the neck. Part of the brachial plexus, subclavian artery, subclavian vein and their branches and tributaries are located here (Balev, 2020). Each of these anatomical elements can be found both in their normal topography and in various relationships with neighboring elements. The supraclavicular and infraclavicular nerves of the brachial plexus can divide at different levels. The branches of the axillary artery can be of a standard type or with various additional arterial branches. The venous tributaries of the axillary vein form a differently expressed venous network. The location of the groups of lymph nodes is determined by the elements above.

2. METHODS AND MATERIALS

During the examination and observation of eight (8) cadavers at the Department of Anatomy, Histology and Embryology of the Medical University of Plovdiv, the following anatomical elements were described. The axillary plexus is formed by connections between the lower four anterior cervical roots and the greater part of the first thoracic anterior root of the spinal nerves. The fifth and sixth anterior roots connect at the level of the lateral edge of the middle scalene muscle and form the superior trunk. The eighth cervical and the first thoracic roots connect behind the anterior scalene muscle and form the inferior trunk and the seventh ventral root continues as the medial trunk. These three trunks divide just above or behind the clavicle into anterior and posterior divisions. The

anterior divisions of the upper and middle trunk merge and form the lateral cord, located laterally from the axillary artery. The anterior division of the lower trunk passes behind and then medially from the axillary artery, forming the medial cord. The posterior divisions of the three trunks form the posterior cord, which is initially above and then behind the axillary artery. The brachial plexus passes between the anterior and the middle scalene muscles. In the axillary fossa, the lateral and posterior cords are located laterally from the initial part of the axillary artery and the medial cord is behind it. In the distal part of the artery, the cords occupy a position corresponding to their names. The nerves of the brachial plexus can be divided into two main groups, depending on the location of their separation relative to the clavicle-supraclavicular and infraclavicular nerves (Testut, 1909).



Figure 4

Another anatomical element located in the infraclavicular space is the axillary artery. It is an immediate continuation of subclavian artery. For its beginning, different authors define the outer end of the first rib, the middle of the clavicle and the lower edge of subclavius muscle. The direction

of the artery changes depending on the position of the upper limb. When the limb is abducted, the artery is in horizontal position and when the limb is adducted, it is obliquely downwards, sideways and backwards. In its initial part, axillary artery is located deep in the axillary fossa, and in its distal part it gradually comes to the surface, covered only by the skin and subcutaneous fat tissue. In the axillary fossa the artery abuts on one of its sides, and on the other side is in intimate relations with the infraclavicular part of the axillary plexus, the axillary vein, the lymphatic vessels and nodes in the fossa. All of them are located among an abundant amount of adipose tissue. When the artery enters the axillary fossa, it passes between the clavicle and subclavius muscle, the latter being in front of the artery. The coracoid process and the upper edge of the scapula remain laterally and behind the artery (Testut, 1909).



Figure 2

The axillary vein is located in the axillary region, where it is in important topographic relationship with the eponymous artery, bundles and nerves of the axillary plexus, and various groups of lymph nodes. It is formed by the union of the brachial and basilic veins. It is joined by the cephalic vein inferior to the clavicle. Some veins of the chest also drain into the axillary vein, namely the lateral thoracic vein, the thoracoepigastric vein, the areolar venous plexus (Testut, 1909).

The lymph nodes located in the axillary fossa are divided into two large groups-superficial and deep. To the superficial group belong the lateral axillary nodes, the pectoral axillary nodes and the subscapular axillary nodes.

The deep lymph nodes are located in the adipose tissue of the axillary fossa near the large blood vessels and nerve bundles. To this group belong the central axillary nodes and the apical axillary nodes.

3. RESULTS

On the cadavers examined by our team, the observed structures were in the correct anatomical position. The truncal part of the brachial plexus was found correctly situated in the supraclavicular space. The cords of the plexus were located around the axillary artery. A low formation of the median

nerve was found on one of the cadavers. Its fork was located outside the axillary fossa. The branches of the axillary artery, with few exceptions, were located in their usual places. The posterior circumflex humeral artery and the scapular circumflex artery passed through the lateral axillary foramen and the medial axillary foramen, respectively. Multiple venous tributaries were found entering the axillary vein at different levels. The clavicle was palpable and a different degree of concavity was found in the different cadavers.



Figure 3

4. DISCUSSION

In case of anatomical features, variations or changes in the normal arrangement of the above-mentioned elements, pathological symptoms or difficulties in visualization of certain anatomical structures arise. When they change, compression syndrome may occur.

Clinically, the compression syndrome can be manifested with neurogenic symptoms: paresthesia, weakness, paresis; arterial symptoms: claudication, aneurysm with peripheral embolism and venous symptoms: thrombosis.

Causes of costoclavicular syndrome can also be: complex anatomy, possibility of congenital

and acquired abnormalities, incorrect hand position, compression syndrome.

The most common compression syndrome is costoclavicular syndrome – in 80% of the cases. Cervical rib syndrome and scalenus syndrome are much less common. In cervical rib syndrome, pain and moderate swelling of the hand are leading (Koichev, 1996). The anatomy of the infraclavicular space is also important in the implementation of peripheral infraclavicular anesthesia. Visualization of the nerve structures and blood vessels is performed by using ultrasound. In this way, the needle is navigated to the target nerves. Any change in the normal anatomy of the space involved may make the block more difficult to perform. The location of the medial cord behind and cranial to the subclavian artery can complicate both operative interventions in this area and peripheral anesthesia. With the atypical separation and location of the large branches of the plexus, incomplete anesthesia of the corresponding anatomical area is possible. The unusual position of the pectoralis lateral pectoral nerve, the medial pectoral nerve, the subscapular nerves and the thoracodorsal nerve coming off the infraclavicular part of the plexus would also make infraclavicular anesthesia difficult (Kaye, 2021). The location of the anatomical structures in the infraclavicular space also depends on the patient's respiratory movements. The sizes and proportions of anatomical structures in children are quite variable and dynamically changing with age. Namely children benefit most from the ultrasound technique. The anatomical features of the infraclavicular space are important not only for the success of the block, but also for its safety. Significantly smaller anatomical distances in children make infraclavicular block more risky (Heydinger, 2021). The curvature of the clavicle in the posterior position is also important for the position of the elements in the infraclavicular space. As it is known, this curvature can be expressed to a different degree and have an impact on the size of the infraclavicular space. With atypical location and formation of the main vein of the infraclavicular space, the diagnosis of its thrombosis can be difficult. Paget-von Schroetter's disease is thrombosis of the subclavian vein and usually occurs in young, healthy people. A common cause is activities that overexert the shoulder, such as tennis, handball, etc. It manifests with oedema, pain, cyanosis, development of venous collateral circulation in the shoulder area.

With an atypical location of the main elements, as well as the presence of additional ones, the location of the main groups of lymph nodes is also changed. This may have repercussion on the diagnosis of metastases in the relevant axilla.

Any abnormality would also complicate and delay the various surgical interventions in the shoulder area. Possible complications include: nerve damage, puncture of blood vessels, hematoma, induced paresthesia, intravascular / intraneural injection of medication.

In the infraclavicular space, variations of the anatomical elements of vascular and nervous type are observed. Each individual's anatomy is strictly individual, and variations are not always required. The presence of variation anatomy in this area leads to numerous pathological clinical syndromes with different clinical manifestation. The cadavers studied by our team have minimal, but clearly visible to the anatomists variation riddles of the vascular-nervous elements, which could lead to possible pathological disorders. Any change in the normal anatomical position of any element of space is a potential future pathological syndrome with characteristic symptoms.

5. CONCLUSION

The location of the trunks and cords of the brachial plexus is extremely important when performing supraclavicular and infraclavicular anesthesia. Any deviation from the normal location of these structures can make it difficult or impair the corresponding peripheral block. The additional arterial branches or venous tributaries create difficulties both in the performance of peripheral anesthesia and in the operative interventions in this area. The knowledge of the normal anatomy, as well as the variations of the infraclavicular space, is significant for the successful work of every physician.

REFERENCES

- Breitenseher, M., Pokieser, P., & Lechner, G.** (2020). *Textbook of clinical radiology* (Edited by B. Balev & G. Kirova). Medical University of Varna. ISBN: 978-619-221-262-9.
- Heydinger, G., Tobias, J., & Veneziano, G.** (2021). *Fundamentals and innovations in*

regional anaesthesia for infants and children. *Anaesthesia*, 76(Suppl 1), 74–88. <https://doi.org/10.1111/anae.15283>

Kaye, A. D., Allampalli, V., Fisher, P., Kaye, A. J., Tran, A., Cornett, E. M., Imani, F., Edinoff, A. N., Motlagh, S. D., & Urman, R. D. (2021). Supraclavicular vs. infraclavicular brachial plexus nerve blocks: Clinical, pharmacological, and anatomical considerations. *Anesthesia and Pain Medicine*, 11(5), e120658. <https://doi.org/10.5812/aapm.120658>

Koichev, K. (1996). *Human anatomy: Part II*. Sofia. ISBN: 954-420-159-9.

Testut, L. (n.d.). *Topographical anatomy with medico-surgical applications*. Paris.

CHANGE IN MYOCARDIAL MAS RECEPTOR EXPRESSION INDUCED BY ARONIA MELANOCARPA

Maria-Florans Kitova¹, Elena Daskalova², Mina Pencheva³

¹ Student of medicine, Medical University of Plovdiv

² Department of Anatomy, Histology and Embryology, Medical Faculty, Medical University of Plovdiv

³ Department of Medical Physics and Biophysics, Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv

Abstract: Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) plays a fundamental role in haemodynamics and is expressed in various organs, including the myocardium. The ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis represents an endogenous counter-regulatory pathway within the renin-angiotensin system whose effects are opposite to the vasoconstrictive and proliferative effects represented by the ACE/Ang II/AT(1) receptor axis. With age, the second axis tends to dominate. The influence of age-related changes in myocardial ACE2 after supplementation with *Aronia melanocarpa* has been experimentally demonstrated. The aim of the study was to determine the influence of *Aronia melanocarpa* on the ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis in ageing myocardium. Male rats (n=18) were divided into three groups: young controls (CY) - aged 2 months, old controls (CO) - aged 27 months and old animals aged 27 months supplemented with 10 ml/kg *Aronia melanocarpa* juice (AMJ) for 105 days. An immunohistochemical and morphometric study was carried out on sections of left ventricular myocardium. The intensity of the immunoreaction for the Mas receptor in the myocardium of supplemented animals was significantly higher than in the old controls. A significant difference in the intensity of the immunoreaction was found between the young and old controls. The results suggest a mechanism by which chokeberry affects the myocardium. The present data support our previous finding of positive effects of aronia supplementation on ACE2 intensity in ageing myocardium. They confirm the beneficial influence of antioxidant functional foods on age-related changes.

Keywords: *Aronia melanocarpa*, ACE2, Mas receptor, ageing heart

1. INTRODUCTION

With ageing, various alterations are observed in the myocardium which result in deterioration of its functional capacity (Domenighetti, 2005). One of the key factors in cardiovascular physiology and pathophysiology is the renin angiotensin aldosteron system (RAAS). The substance producing major effects in it is angiotensin II (Ang II), with vasoconstrictive, proinflammatory and profibrotic properties (Domenighetti, 2005). The angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) has been found recently to belong to RAAS. There is increasing evidence that ACE2 exhibits protective vascular effects by counteracting the deleterious effects of Ang II (Kuba, 2020; Ferreira, 2008). In the process of ageing ACE2 expression is reduced (Bártová, 2020). The application of natural products for the purposes of improving the functional abilities of the myocardium in the elderly is a valuable prophylactic strategy. The fruits of the plant *Aronia melanocarpa* possess proven anti-inflammatory and antioxidant properties, that underlie in their hepatoprotective, immunomodulating, antimutagenic, anticarcinogenic, lipid lowering, antidiabetic, antihypertensive effects (Denev, 2012; Valcheva-Kuzmanova, 2006; Valcheva-Kuzmanova 2018; Gao, 2021; Platonova, 2021). The aim of the study was to determine the influence of *Aronia melanocarpa* on the ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis in ageing myocardium.

2. METHODS AND MATERIALS

Male Wistar rats (n=24) were provided by the Vivarium of Medical University - Plovdiv where they were maintained under standard laboratory conditions. The rats were divided into 3 groups: Young controls (CY) - aged 2 months without AMJ (Aronia melanocarpa juice) supplementation (n=8); Old controls (CO) - aged 27 months without AMJ supplementation (n=8); and (AMJ) group – 27-month-old animals, supplemented orally with AMJ (10 ml·kg⁻¹), diluted 1:1 in their drinking water for 105 days (n=8). At the end of the experimental period, the animals were euthanized by cervical decapitation. After that, the hearts were fixed in 10% neutral formalin and embedded in paraffin. Immunohistochemical, morphometric and statistical analyses were performed.

2.1. Immunohistochemistry

The sections (5 µm-thick) obtained from rat hearts were deparaffinized and subjected to the immunohistochemical analysis using ACE2 polyclonal antibody 1:200 (E-AB-12224, Elabscience Biotechnology Inc., Houston, TX, USA) and MAS1 monoclonal antibody 1:300 (sc-390453, San. Cruz Biot. Inc., USA). The immunohistochemical protocol is described in detail in our previous article (Daskalova, 2022). All microphotographs were taken using a Leica DM3000 microscope (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), combined with Flexocam C3 digital camera.

2.2. Morphometric analysis

The morphometric analysis involved tissue slices 5 µm in thickness, obtained from rat hearts immediately below the coronary sulcus of the left ventricle. The intensity of the immune reaction in the myocardium of left ventricle was measured in arbitrary units (AU) on the slices immunostained for ACE2 and MAS 1 using the DP-Soft ver. 3.2 software (Olympus, Tokyo, Japan).

2.3. Statistical analysis

The data were processed by SPSS software (version 25.0) and presented as mean±SEM. The differences were considered significant at p<0.05.

3. RESULTS

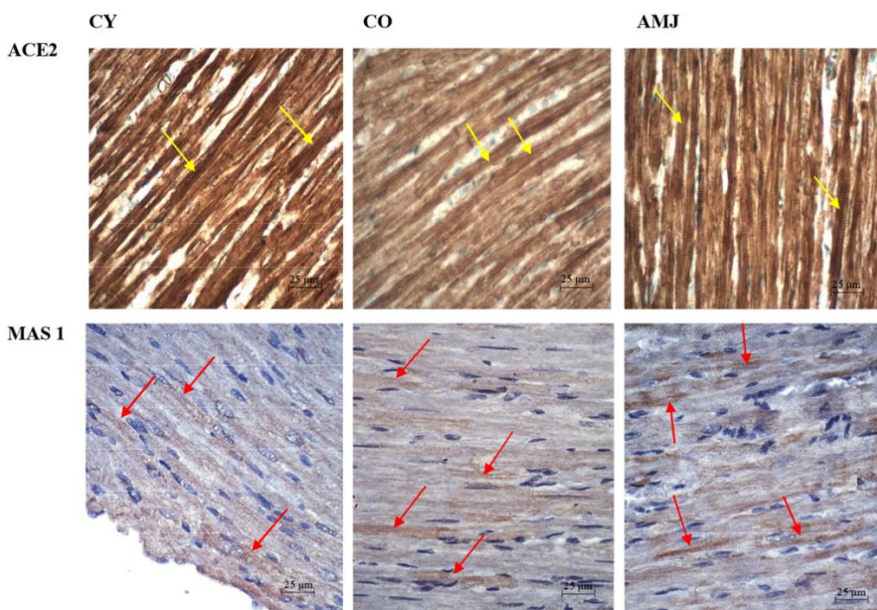


Figure 1. Rat myocardium. ACE2 immunoexpression (yellow arrows), (magn. x400, scale bar = 25µm) and MAS 1 immunoexpression (red arrows), (magn. x400, scale bar = 25µm).

Immunohistochemical staining in rat myocardial sections showed that ACE2 was widely expressed in cardiomyocytes, cardiac fibroblasts, and coronary endothelial cells (dark brown color)

(Figure 1). MAS1 protein was detected in cardiomyocytes as well as in coronary arteries and capillaries in all three experimental groups (light brown color) (Figure 1).

Morphometric analysis of immunoreaction intensity of ACE2 in myocardium showed significantly higher values in the AMJ group compared to the CO group ($p < 0.05$). Comparison between CY and CO showed a significantly higher intensity ($p < 0.05$) in CY group (Figure 2). This confirms the decrease in enzyme activity that occurs with age.

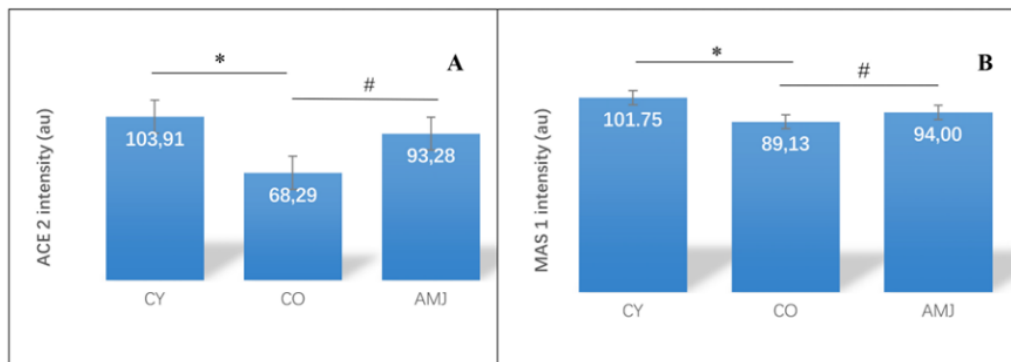


Figure 2. Rat myocardium. A) ACE2 immunoexpression intensity: * $p < 0.05$; # $p < 0.05$; B) MAS 1 immunoexpression intensity: * $p < 0.05$; # $p < 0.05$

Morphometric analysis of MAS 1 immunoreaction intensity showed significantly higher values in the AMJ group compared to the CO group ($p < 0.05$). Comparison between CY and CO showed a significant difference ($p < 0.05$) in favor of CY (Figure 2).

4. DISCUSSION

With advancing age, tissue levels of ACE2 decline and, accordingly, its effects diminish (Domenighetti, 2005, Bártová, 2020). Numerous medical therapies have been developed in recent decades aimed at suppressing RAAS, yet morbidity remains high. An innovative therapeutic line is the stimulation of ACE 2 production. Several ACE2 activators and Ang 1–7/MasR agonists have been developed. In addition, novel approaches, including oral ACE2 and Ang 1–7 biencapsulated in plant cells, have been designed and used in preclinical studies, showing promising cardioprotective effects (Silva, 2010). The polyphenolic compounds, specifically anthocyanins, present in *Aronia melanocarpa* have demonstrated efficacy in delaying age-related degenerative changes in the heart through multiple mechanisms like reduction of oxidative stress, attenuation of inflammation, reduction of hyperlipidemia and hypercholesterolemia, lowering of blood pressure, and influencing coagulation processes (Kasprzak-Drozd, 2021).

5. CONCLUSIONS

Our results demonstrate that the supplementation of an antioxidant-rich functional beverage derived from *Aronia melanocarpa* fruit increases the activity of the ACE2/MAS1 axis within the myocardium and reveals one of the mechanisms of its implementation, by affecting the MAS1 receptor. Attaining preventive and therapeutic effects through functional foods/beverages represents a promising natural alternative and an opportunity for promoting healthy aging.

FUNDING: This research was funded by the Bulgarian National Science Fund, grant number DN 09/20 and the Bulgarian Ministry of Education and Science, National Program "Young Scientists and Postdoctoral Students – 2".

REFERENCES

Bártová, E., Legartová, S., Krejčí, J., & Arcidiacono, O. A. (2020). Cell differentiation and aging accompanied by depletion of the ACE2 protein. *Aging*, *12*(22), 22495–22508.

- Daskalova, E., Delchev, S., Vladimirova-Kitova, L., Bivolarski, I., Pencheva, M., & Denev, P.** (2022). *Aronia melanocarpa* fruit juice modulates ACE2 immunoexpression and diminishes age-related remodeling of coronary arteries in rats. *Foods*, *11*(9), 1220.
- Denev, P. N., Kratchanov, C. G., Ciz, M., Lojek, A., & Kratchanova, M. G.** (2012). Bioavailability and antioxidant activity of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols: In vitro and in vivo evidences and possible mechanisms of action: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *11*(5), 471–489.
- Domenighetti, A. A., Wang, Q., Egger, M., Richards, S. M., Pedrazzini, T., & Delbridge, L. M. D.** (2005). Angiotensin II-mediated phenotypic cardiomyocyte remodeling leads to age-dependent cardiac dysfunction and failure. *Hypertension*, *46*(4), 426–432.
- Ferreira, A. J., & Raizada, M. K.** (2008). Genomic and proteomic approaches for targeting of angiotensin-converting enzyme 2 for cardiovascular diseases. *Current Opinion in Cardiology*, *23*(4), 364–369.
- Gao, J., Yu, W., Zhang, C., Liu, H., Fan, J., & Wei, J.** (2021). The protective effect and mechanism of *Aronia melanocarpa* Elliot anthocyanins on IBD model mice. *Food Bioscience*, *41*, 101075.
- Kasprzak-Drozd, K., Oniszczyk, T., Soja, J., Gancarz, M., Wojtunik-Kulesza, K., Markut-Miotła, E., et al.** (2021). The efficacy of black chokeberry fruits against cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(12), 6541.
- Kuba, K., Imai, Y., & Penninger, J. M.** (2013). Multiple functions of angiotensin-converting enzyme 2 and its relevance in cardiovascular diseases. *Circulation Journal*, *77*(2), 301–308.
- Platonova, E. Y., Shaposhnikov, M., Lee, H. Y., Lee, J.-H., Min, K., & Moskalev, A.** (2021). Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria. *Trends in Food Science and Technology*, *114*, 570–584.
- Silva, P. M.** (2010). From endothelial dysfunction to vascular occlusion: Role of the renin-angiotensin system. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, *29*(5), 801–824.
- Valcheva-Kuzmanova, S., & Belcheva, A.** (2006). Current knowledge of *Aronia melanocarpa* as a medicinal plant. *Folia Medica (Plovdiv)*, *48*(2), 11–17.
- Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, A., Kuzmanova, V., & Tzaneva, M.** (2018). *Aronia melanocarpa* fruit juice ameliorates the symptoms of inflammatory bowel disease in TNBS-induced colitis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *113*, 33–39.

**ГАСТРОИНТЕСТИНАЛНИЯТ ХОРМОН ГРЕЛИН И НЕГОВАТА
ПРОТЕКТИВНА РОЛЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА СТОМАШНАТА
ЛИГАВИЦА, ИНФЕКТИРАНА С HELICOBACTER PYLORI**

**Сабри Сабри, Надя Пенкова, Пепа Атанасова
Катедра по Анатомия, Хистология и Ембриология,
Медицински Факултет, Медицински университет – Пловдив**

**GASTROINTESTINAL HORMONE GHRELIN AND IT'S PROTECTIVE
ROLE IN GASTRIC MUCOSA INFECTED WITH HELICOBACTER
PYLORI**

**Sabri Sabri, Nadya Penkova, Pepa Atanassova
Department of Anatomy, Histology and Embryology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv**

Abstract: The oligopeptide hormone ghrelin is produced mainly by enteroendocrine ghrelin-producing cells in the gastric mucosa and is a potent anti-inflammatory mediator. By binding to specific receptors in the nuclei of the diencephalon, ghrelin participates in the formation of the acute feeling of hunger, and through receptors in the adenohypophysis, it releases the secretion of growth hormone. Ghrelin is also a powerful anti-inflammatory mediator. Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a gram-negative bacterium found in the stomach of injected individuals. Attached to gastric epithelial cells, it causes an inflammatory response by producing toxins such as vacuolating cytotoxin A (VacA) and cytotoxin-associated gene A (CagA), which contribute to pathogenicity and damage to gastric tissues. Carrier patients may be asymptomatic or have abdominal pain, nausea, vomiting, and dyspepsia developing only after gastritis and peptic ulcer have developed. *H. pylori* carriers also have an increased risk of gastric carcinoma. In patients with atrophic gastritis infected with *H. pylori*, reduced ghrelin levels are observed due to the destruction of the gastric wall, including ghrelin-producing cells by *H. pylori*. In patients with eradicated *H. pylori* infection, ghrelin levels are restored to normal, but not immediately, due to the slow regeneration of ghrelin-producing cells. This relationship highlights the potential role of ghrelin as a biomarker for the progression of atrophic gastritis.

Keywords: ghrelin, Helicobacter pylori, gastric mucosa, atrophic gastritis

АТРОФИЧЕН ГАСТРИТ: ЕТИОЛОГИЯ И СИМПТОМИ

Атрофичен гастрит е хронично възпалително заболяване на стомашната лигавица, което води до прогресивна загуба на стомашните жлези и атрофия на стомашната стена. Това състояние е свързано с различни етиологични фактори, но една от основните причини за атрофичен гастрит е инфекцията с *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) (Kusters, 2006). *H. pylori* е грам-отрицателна бактерия, която обитава стомаха на заразените индивиди. Тази бактерия се свързва със стомашните епителни клетки и причинява възпалителна реакция, произвеждайки редица ензими - уреаза, каталаза, муциназа, липаза, фосфатаза и хемолизин; както и токсини – вакуолиращ цитотоксин А (VacA) и цитотоксин-асоцииран ген А (CagA), които допринасят за патогенността и увреждането на стомашните тъкани (Blaser, 2004). Инфекцията с *H. pylori* може да протече безсимптомно, но често води до развитието на гастрит и пептична язва (Suerbaum, 2002). Пациентите могат да изпитват симптоми като коремна болка, гадене,

повръщане и диспепсия. Носителите на *H. pylori* също имат повишен риск от развитие на стомашен карцином (IARC, 1994).

Симптомите на атрофичен гастрит могат да варират, но често включват коремна болка, загуба на апетит, гадене и повръщане, подуване на корема и диспепсия, тегловна загуба и анемия (поради недостиг на витамин B12). В напредналите стадии на заболяването, рискът от развитие на стомашен карцином се увеличава значително (Correa, 1992).

През 1999 г. в стомаха е открит грелинът като ендегенен лиганд за рецептор за освобождаване секретцията на растежен хормон (GHS-R). Оттогава за грелина е установено, че участва в секретцията на растежния хормон (GH), хранителния прием, метаболизма на глюкозата, паметта и има ефект срещу депресията, играе многостранна роля в стомашно-чревната физиология, включително регулиране на апетита, енергийна хомеостаза и стомашния мотилитет (Castañeda, 2010). Произвежда се главно от ентероендокринни грелин-продуциращи клетки, които се намират във фундуса на стомаха. Неговото действие е върху рецептора на растежния хормон GHS-R1a, който е G-купелуван пептид. Голям брой тъкани и органи, включително периферната и централната нервна система, имат висока експресия както на грелин, така и на рецептори за грелин GHS-R1a. По този начин допълнителни органи поддържат производството на грелин, въпреки че стомахът е основният производител. Грелин и GHS-R1a участват в регулацията и хомеостазата на централния прием на храна, модулиране на сърдечно-съдовата система, производство на стомашна киселина и подобряване на кръвообращението, както и регулиране на клетъчната пролиферация и оцеляване (Mehdar, 2021).

Грелинът има защитна роля в стомашната лигавица, особено при инфекция с *H. pylori* (Konturek, 2004). Защитни механизми на грелина се изразяват в: противовъзпалителния ефект като модулира имунния отговор инхибирайки про-възпалителните цитокини, като TNF- α и IL-6, които са повишени при инфекция с *H. pylori* (Wang, 2017). Чрез намаляване на възпалението се смекчава и увреждането на лигавицата; Подобрява стомашния кръвоток, което подпомага доставката на хранителни вещества и кислород до стомашната тъкан, като по този начин играе роля в заздравяването и защитата на лигавицата (Chen, 2009). Грелинат намалява апоптозата на стомашните епителни клетки, като така запазва целостта на стомашната лигавица. Този антиапоптогичен ефект е особено полезен за поддържане на бариерата на лигавицата срещу увреждания, предизвикани от *H. pylori* (Togliatto, 2014), чрез намаляване на маркерите за оксидативен стрес; предпазва стомашната лигавица от оксидативно увреждане, свързано с хронична инфекция с *H. pylori* (Kojima, 2005). Грелинът подпомага пролиферацията и диференциацията на стомашните епителни клетки, като взема участие във възстановяването на стомашната лигавица. Тази регенерация е от съществено значение за противодействие на ерозивните ефекти на *H. pylori* (Konturek, 2004).

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

Диагностиката на атрофичен гастрит включва гастроскопия с биопсия, кръвни изследвания за антитела и тестове за инфекция с *H. pylori* (Kuipers, 1995). Лечението на атрофичен гастрит зависи от причината. Ако причината е инфекция с *H. pylori*, лечението включва използването на комбинация от антибиотици и инхибитори на протонната помпа, което води до ерадикация на бактерията и подобрене на стомашната среда (Malfertheiner, 2012). Възстановяването на нивата на грелин след лечението показва, че уврежданията могат да бъдат обратими, което подчертава важноста на ранната диагностика и лечение (Chen, 2009).

В контекста на инфекцията с *H. pylori*, особено при пациенти с атрофичен гастрит, се наблюдава значително намаление на нивата на грелин. Това намаление се дължи на разрушаването на стомашната стена и клетките, произвеждащи грелин, причинено от възпалителната реакция на *H. pylori* (Tatsuguchi, 2003). След успешна ерадикация на *H. pylori*, нивата на грелин намаляват (Kasai, 2016), но в дългосрочен план те постепенно се възстановяват до нормалните стойности, но това става бавно поради регенерацията на увредените клетки (Nwokolo, 2003; Mori, 2022).

ИЗВОДИ

Атрофичният гастрит е сериозно заболяване, което изисква ранна диагностика и подходящо лечение за предотвратяване на дългосрочни усложнения като стомашен карцином (Correa, 1992). Разбирането на причините и механизмите на развитие на атрофичен гастрит, както и навременната терапия, са ключови за подобряване на здравето и качеството на живот на пациентите (Suerbaum, 2002). *H. pylori* е значим патоген, който засяга здравето на стомаха и играе роля в развитието на различни стомашни заболявания. Разбирането на механизмите на взаимодействие между *H. pylori* и стомашната среда, както и навременното лечение, са ключови за предотвратяване на дългосрочни увреждания и усложнения (Blaser, 2004).

Разбирането на защитната роля на грелин в стомашната лигавица отваря потенциални терапевтични възможности. Повишаването на активността на грелин може да бъде нова стратегия за облекчаване на уврежданията на стомаха, предизвикани от *H. pylori*, и свързаните с това заболявания, като гастрит и пептична язва. Бъдещите изследвания, насочени към модулиране на грелиновата сигнализация, могат да предоставят нови инструменти за лечение на стомашно-чревни заболявания (Castañeda, 2010).

ЛИТЕРАТУРА

- Bessède, E., Dubus, P., Mégraud, F., & Varon, C. (2015). Helicobacter pylori infection and stem cells at the origin of gastric cancer. *Oncogene*, 34(20), 2547–2555. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.187>
- Blaser, M. J. (2004). Helicobacter pylori and gastric diseases. *BMJ*, 328(7452), 150–152.
- Castañeda, T. R., Tong, J., Datta, R., & Culler, M. (2010). Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(1), 44–60. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.10.008>
- Chen, C. Y., Asakawa, A., Fujimiya, M., Lee, S. D., & Inui, A. (2009). Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility. *Pharmacology & Therapeutics*, 122(3), 298–309. <https://doi.org/10.1124/pr.109.001958>
- Correa, P. (1992). Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process – First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research*, 52(24), 6735–6740.
- Czesnikiewicz-Guzik, M., Bielanski, W., Guzik, T. J., Loster, B., & Konturek, S. J. (2005). Helicobacter pylori in the oral cavity and its implications for gastric infection, periodontal health, immunology, and dyspepsia. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56(6), 77–89.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (1994). Schistosomes, liver flukes, and Helicobacter pylori. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, 61.
- Kasai, C., Sugimoto, K., Moritani, I., Tanaka, J., Oya, Y., Inoue, H., Tameda, M., Shiraki, K., Ito, M., Takei, Y., & Takase, K. (2016). Changes in plasma ghrelin and leptin levels in patients with peptic ulcer and gastritis following eradication of Helicobacter pylori infection. *BMC Gastroenterology*, 16(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0532-2>
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (2005). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762), 656–660.
- Kuipers, E. J., Thijs, J. C., & Festen, H. P. (1995). The prevalence of Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 9(2), 59–69.
- Konturek, S. J., Konturek, J. W., Pawlik, T., & Brzozowski, T. (2004). Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 55(1 Pt 2), 137–154.
- Kusters, J. G., van Vliet, A. H. M., & Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449–490. <https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05>
- Lewiński, A., Karbownik-Lewińska, M., Wieczorek-Szukala, K., Stasiak, M., & Stawerska, R. (2021). Contribution of ghrelin to the pathogenesis of growth hormone deficiency. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 9066. <https://doi.org/10.3390/ijms22169066>

Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A., Atherton, J., Axon, A. T., Bazzoli, F., ... & European Helicobacter Study Group. (2012). Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut*, *61*(5), 646-664. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302084>

Mehdar, K. M. (2021). Ghrelin: Much more than a hunger hormone. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(16), 8751.

Mori, H., Suzuki, H., Matsuzaki, J., Kameyama, K., Igarashi, K., Masaoka, T., & Kanai, T. (2022). Development of plasma ghrelin level as a novel marker for gastric mucosal atrophy after *Helicobacter pylori* eradication. *Annals of Medicine*, *54*(1), 170–180. <https://doi.org/10.1080/07853890.2021.2024875>

Nwokolo, C. U., Freshwater, D. A., O'Hare, P., & Randeve, H. S. (2003). Plasma ghrelin following cure of *Helicobacter pylori*. *Gut*, *52*(5), 637–640. <https://doi.org/10.1136/gut.52.5.637>

Suerbaum, S., & Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine*, *347*(15), 1175–1186. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020542>

Tatsuguchi, A., Miyake, K., Gudis, K., Futagami, S., Tsukui, T., Wada, K., & Sakamoto, C. (2003). Effect of *Helicobacter pylori* infection on ghrelin expression in human gastric mucosa. *American Journal of Gastroenterology*, *98*(1), 46–53.

Togliatto, G., Trombetta, A., Dentelli, P., & Brizzi, M. F. (2014). GH/IGF-I axis in the modulation of cell senescence and aging. *Ageing Research Reviews*, *13*, 1–10.

Wang, L., Saint-Pierre, N., Hua, X., Tsai, C. C., & Chen, C. H. (2017). Ghrelin protects against lipopolysaccharide-induced sepsis and septic shock in mice. *Regulatory Peptides*, *142*(1–2), 41–48.

РОЛЯ НА ХОЛАНГИОЦИТИТЕ ОТ ЖЛЪЧНИТЕ ПЪТИЩА И ЖЛЪЧНИЯ МЕХУР ВЪВ ФОРМИРАНЕТО НА ЖЛЪЧНИЯ СОК И ЖЛЪЧНОКАМЕННАТА БОЛЕСТ

**Сабри Сабри¹, Никол Кирчев², Надя Пенкова¹,
Петър Хрисчев³, Пепа Атанасова¹**

**¹ Катедра по Анатомия, Хистология и Ембриология,
Медицински Факултет, Медицински университет – Пловдив**

**² Студент, Факултет по Дентална медицина,
Медицински университет – Пловдив**

**³ Катедра по Физиология, Медицински Факултет,
Медицински университет – Пловдив**

ROLE OF BILE DUCTS AND GALLBLADDER IN BILE FORMATION AND GALLSTONE DISEASE

**Sabri Sabri¹, Nicole Kirchev², Nadya Penkova¹,
Petar Hrischev³, Pepa Atanassova¹**

**¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv**

² Faculty of Dental Medicine, Medical University of Plovdiv

**³ Department of Physiology, Faculty of Medicine,
Medical University of Plovdiv**

Abstract: Bile secreted by the hepatocytes emulsifies the dietary fats. The formed lipid droplets have a larger total surface area for the action of pancreatic lipase, which facilitates lipid digestion and absorption. Bile is a highly complex watery secretion that contains less than 5% solid constituents including bile salts, bilirubin, phospholipids, cholesterol, peptides, amino acids, steroids, enzymes and porphyrins. Through the coordinated action of transmembrane transport systems, hepatocytes produce bile that passes through the biliary tree. Cholangiocytes from the intra- and extrahepatic ducts are actively involved in the modification of bile juice by absorption of water, ions, bile acids, amino acids, glucose, and other molecules. The storage of bile juice in the gallbladder is also related to its physicochemical properties such as osmolarity, ionic composition and ionic strength, which in turn define the critical micelle formation threshold. This creates conditions for nucleation and growth of microcrystals agglomerating in concretions with different composition - cholesterol, pigment, or a mixed, leading to the development of cholelithiasis.

Keywords: cholangiocytes, bile secretion, gallbladder, gallstone disease

Жлъчнокаменната болест е хронично рецидивиращо хепатобилиарно заболяване, в основата на което е нарушеният метаболизъм на холестерол, билирубин и жлъчни киселини. Характеризира се с образуване на жлъчни камъни в левия и десния чернодробен канал, общия чернодробен канал, жлъчния мехур, чернодробния жлъчен канал (ductus hepaticus dexter et sinister, ductus hepaticus communis, ductus cysticus, vesica biliaris, ductus choledochus). Разпространението на жлъчнокаменната болест се е увеличило през последните години. Това е свързано с промяна в начина на живот: намаляване на двигателната активност, намаляване

на физическото натоварване и промени в диетата.

Жлъчен сок – състав, функции. Основните компоненти на жлъчния сок са: 85-95 % вода, 10% жлъчни соли и жлъчни киселини (холева, дезоксихолева, хенодезоксихолева, литохолева), 0,51% липиди (холестерол, мастни киселини), фосфолипиди (лецитин), пигменти (билирубин глюкоронид), 0,7% неорганични соли - електролити (натрий, калий, хлор, бикарбонати, сулфати, фосфати), метали (мед, манган, желязо, цинк), аминокиселини, пептиди, мукополизахариди (Boyer, 2013). Жлъчката е изоосмотична електролитна течност, която се образува в черния дроб и е продукт на неговата секреторна функция. Тя се секретира от хепатоцитите (хепатална жлъчка), транспортира се през интрахепаталните и екстрахепаталните жлъчни пътища и се складира в жлъчния мехур. Холангиоцитите от епитела на билиарното дърво участват в модифицирането на жлъчния сок (мехурна жлъчка). Жлъчният сок има алкално рН. Хепаталната жлъчка има рН от 7,50 до 8,05 и златисто жълт цвят. Мехурната жлъчка има рН от 6,80 до 7,65 с тъмен жълто-зеленикав цвят. Жлъчният сок емулгира липидите в приетата храна. Те се агрегират около липидните капчици и образуват мицели, с хидрофобната си част към липидната сърцевина и хидрофилни части с отрицателен заряд към външната повърхност. Отрицателният заряд на мицеларната повърхност предотвратява повторно им агрегиране в по-големи мастни частици. Образованите то този начин липидни капчици имат по-голяма обща повърхност за действие на панкреатичната липаза. Това улеснява ензимното им разграждане и резорбция в тънките черва. Жлъчната секреция участва в неутрализирането на киселинността на стомашното съдържимо, постъпило в дуоденума. Жлъчката е и основният път за елиминиране на холестерола. Има бактерицидни свойства.

Секреция на жлъчен сок от хепатоцитите. Хепатоцитите са силно поляризирани клетки, изграждащи морфо-функционални единици – чернодробни делчета. В делчето те формират лабиринт от двойни пластинки, повлекла, с предимно радиерно направление по отношение на *v. centralis*. Съдовите полюси на хепатоцитите са разположени към кръвните синуси между пластинките. Базалната мембрана в тази част на хепатоцита притежава голям брой микровили и контактува с кръвната плазма в пространството на Дисе. Жлъчният полюс на хепатоцита, който секретира жлъчка е насочен към срещулежащия в пластинката хепатоцит и представлява само 10% до 15% от клетъчната повърхност. В тази област между двата хепатоцити се формират жлъчни каналикули, в които секретираният жлъчен сок тече в посока, обратна на кръвния ток в чернодробните синусоиди. Смесването на жлъчката в каналикуларната система с кръвта в синусоидите се предотвратява от плътните контакти (*zonula occludens*) в хепаталните полюси – базолатералните повърхности на съседните хепатоцити. Това е единствената физическа бариера между кръвта и каналикуларния лумен. В порталните зони на чернодробните делчета каналикуларните мрежи между хепатоцитите се свързват с каналчетата на Херинг. Това са първите интрахепатални жлъчни пътища със собствени стени. Холангиоцитите, които ги изграждат са кубични епителни клетки, които в следващите сектори на билиарното дърво стават цилиндрични (Alpini et al., 1996). Каналчетата на Херинг отвеждат жлъчката в междуделчевиат канал (*ductus inerlobularis*) от порталното пространство. Първоначално хепатоцитите произвеждат жлъчка чрез секретирание на конюгиран билирубин, жлъчни соли, холестерол, фосфолипиди, протеини, йони и вода в каналикулите тубули между съседни хепатоцити. Жлъчните киселини, влизачи в ентерохепаталната циркулация, са първични киселини, синтезирани от холестерола в хепатоцитите. Те се секретират чрез активен транспорт през каналикуларната мембрана и се пренасят в жлъчката до жлъчния мехур, където се концентрират. Жлъчната секреция от хепатоцитите е резултат от векторен трансцелуларен транспорт на разтворени вещества и включва координираното действие на транспортните протеини в каналикуларните мембрани на хепатоцита. Сложна мрежа от сигнали контролира наличието и позицията на тези транспортери в клетъчната мембраната в дългосрочен и краткосрочен план. Тези регулаторни механизми са на нивото на генната транскрипция, трансляция и съзряване на протеини; ковалентна модификация и динамична локализация на транспортни протеини, както и наличие на субстрат. Важен фактор е хепатоцелуларна хидратация, която има голямо значение за трансцелуларния транспорт на разтворени вещества, като конюгирани жлъчни

киселини и конюгати на глюкуронид и глутатион. Хидратацията на чернодробните клетки е изключително динамичен фактор, който се променя за минути под въздействието на хормони, хранителни вещества и оксидативен стрес (Kubitz R, Häussinger D., 2007).

Модификация и транспорт на жлъчния сок през билиарното дърво. Холангиоцитите образуват епитела на билиарното дърво. Билиарното дърво е сложна хетерогенна мрежа от канали, която започва от каналчетата на Херинг и води прогресивно до интерлобуларни, септални, зонални канали, сегментни канали, ляв и десен чернодробен канал (ductus hepaticus dexter et sinister), жлъчен канал (ductus choledochus). В крайна сметка тези канали доставят жлъчката до жлъчния мехур и дуоденума. Триизмерната реконструкция на жлъчните пътища определя общата им повърхност от порядъка на 398 cm². Микровилите от апикалната повърхност на холангиоцитите увеличават тази площ приблизително още пет пъти. Холангиоцитите имат и реснички, които регистрират промените в скоростта на жлъчния поток, с рецептори за неговия осмоларитет и състав (LaRusso et al., 2011). Транспортните протеини в луменалната апикална мембрана на холангиоцитите осъществяват процеси на секреция, алкализирание от бикарбонати и реабсорбция на различни компоненти, които водят до модифициране на първичната хепатална жлъчка в крайната мехурна жлъчка, постъпваща в дуоденума. Секреторните процеси в билиарното дърво допринасят за 40% от общия обем на жлъчния сок. Всички тези процеси на модификация на жлъчния сок са физиологичен отговор на състава и количеството на приетата храна. Тяхната фина регулация се осъществява чрез редица невронални и хуморални фактори, а също и от голям брой гастроинтестинални хормони като холецистокинин, секретин, серотонин, мотилин, грелин, ацетилхолин и др..

Ентерохепатална циркулация на жлъчните киселини и формиране на жлъчни камъни. Човешкият черен дроб секретира близо 1 L жлъчка всеки ден. Около 95% от жлъчните киселини, секретирани със жлъчния сок в дуоденума, се реабсорбират във венозната кръв в илеума и дебелото черво. Чрез мезентериалната вена и порталната вена, накрая те отново достигат до синусоидите на черния дроб и хепатоцитите. Тази циркулация на молекулите на жлъчните киселини от черния дроб към червата и обратно към черния дроб се нарича ентерохепатална циркулация. По време на ентерохепаталната циркулация първичните жлъчни киселини претърпяват биотрансформация чрез деконюгация, с последваща модификация до вторични жлъчни соли и киселини. Хидролизата на жлъчните соли и реакции на дехидрогениране на хидроксилните им групи се извършват от широк спектър от чревни анаеробни бактерии (Oh et al. 2008).

Роля на жлъчния мехур при жлъчнокаменната болест. Нарушеното постпрандиално изпразване на жлъчния мехур, което често присъства при пациенти с холестеролови камъни, може да удължи престоя на жлъчката в жлъчния мехур. По този начин има повече време за нуклеация на холестероловите кристали от свръхнаситена жлъчка и техния растеж/агрегация в макроскопични камъни. Въпреки че нарушеният мотилитет на жлъчния мехур обикновено е вторичен фактор след свръхнаситането на жлъчния холестерол, той все пак може да улесни процеса на образуване на камъни в жлъчката. Мотилитетът на жлъчния мехур често е нарушен в много ситуации с висок риск за образуване на камъни в жлъчката, като бременност, при пациенти със затлъстяване и последваща бърза загуба на тегло, захарен диабет и на парентерално хранене. Ключова роля в мотилитета на жлъчния мехур има гастроинтестиналният хормон холецистокинин. Жлъчнокаменната болест има отношение към възпалението на жлъчни мехур, холецистит. Лигавицата на жлъчния мехур е изложена на детергентни жлъчни соли, неестерифициран холестерол и бактерии, които могат да предизвикат възпаление; и обратно – хроничните възпалителни процеси в стената на жлъчния мехур да предизвикат холелитиаза (Maurer et al. 2007). Преносителите на жлъчни киселини, транспортните протеинни системи в клетъчната мембрана на хепатоцитите и холангиоцитите играят важна роля в патогенезата на жлъчнокаменната болест. Всички ентероцити, холангиоцити и бъбречни тубулни клетки съдържат Апикален натрий-зависим транспортер на жлъчна киселина, който е една от транспортните системи на жлъчните киселини (Bergheim et al. 2006). Нарушената функция на този транспортер може да доведе до ниска реабсорбция на жлъчни киселини в илеума, променен

състав на жлъчните киселини и следователно може да допринесе за образуването на жлъчни камъни при пациенти без затлъстяване (Renner et al. 2008).

Заклучение

Жлъчнокаменната болест има многофакторна етиология и сложна патогенеза. Всеки един етап от синтеза, секрецията, модификацията и транспорта на жлъчния сок с неговия сложен състав може да бъде нарушен от външни фактори като диета и хиподинамия, вътрешни фактори като метаболитни нарушения и възпалителни заболявания на хепатобилиарната система. Но ключова остава ролята на генетичните регулаторни механизми на нивото на гена транскрипция, транслация и съзряване на транспортните протеини в каналикуларната мембрана на хепатоцитите и апикалната мембрана на холангиоцитите от билиарното дърво, както и тяхната невронална, хуморална и ендокринна регулация.

Литература

- Alpini, G., Roberts, S., Kuntz, S. M., Uneno, Y., Gubba, S., Podila, P. V., LeSage, G., & LaRusso, N. F.** (1996). Morphological, molecular, and functional heterogeneity of cholangiocytes from normal rat liver. *Gastroenterology*, *110*, 1636–1643.
- Bergheim, I., Harsch, S., Mueller, O., Schimmel, S., Fritz, P., & Stange, E. F.** (2006). Apical sodium bile acid transporter and ileal lipid binding protein in gallstone carriers. *Journal of Lipid Research*, *47*, 42–50.
- Boyer, J. L.** (2013). Bile formation and secretion. *Comprehensive Physiology*, *3*(3), 1035–1078.
- Kubitz, R., & Häussinger, D.** (2007). Osmoregulation of bile formation. *Methods in Enzymology*, *428*, 313–324.
- LaRusso, N. F., & Masyuk, T. V.** (2011). The role of cilia in the regulation of bile flow. *Digestive Diseases*, *29*, 6–12.
- Maurer, K. J., Rao, V. P., Ge, Z., Rogers, A. B., Oura, T. J., Carey, M. C., & Fox, J. G.** (2007). T-cell function is critical for murine cholesterol gallstone formation. *Gastroenterology*, *133*, 1304–1315.
- Oh, H. K., Lee, J. Y., Lim, S. J., Kim, M. J., Kim, G. B., Kim, J. H., Hong, S. K., & Kang, D. K.** (2008). Molecular cloning and characterization of a bile salt hydrolase from *Lactobacillus acidophilus* PF01. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *18*, 449–456.
- Renner, O., Harsch, S., Schaeffeler, E., Winter, S., Schwab, M., Krawczyk, M., Rosendahl, J., Wittenburg, H., Lammert, F., & Stange, E. F.** (2009). A variant of the *SLC10A2* gene encoding the apical sodium-dependent bile acid transporter is a risk factor for gallstone disease. *PLoS One*, *4*, e7321.

INTESTINAL MICROBIOTA AND INTESTINAL PERMEABILITY IN AUTOIMMUNE THYROID DISEASES

Boryana Levterova¹, Desislav Tomov²,
Maria Orbetzova³, Yordanka Uzunova⁴

¹Department of Health Management and Healthcare Economics,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

² Research Institute at Medical University of Plovdiv

³ Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, St. George University
Hospital EAD – Plovdiv; Department of Endocrinology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

⁴Department of Bioorganic Chemistry,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* Many commensal microorganisms colonize the human body and form a complex microecosystem called microbiota. The human gut is one of the most complex ecosystems and is vital to human health. The composition and abundance of the gut microbiota are dynamic and can be influenced by genetic and environmental factors. If the ecological balance of the intestinal microbiota is disrupted, it can compromise the normal physiological functions of the host, leading to associated diseases. Studies have found that the gut microbiota and its metabolites can directly or indirectly affect the thyroid gland, disrupting its function. Hashimoto's thyroiditis (HT) and Graves' disease (GD) are the main and most common types of autoimmune thyroid disease (AITD). This study *aims* to investigate the association between gut microbiota/intestinal permeability and autoimmune thyroid diseases. *Materials and methods:* We searched PubMed, Web of Science, Scopus, and Cochrane databases with language restrictions. Studies were considered eligible if they met the following criteria: 1) investigating the gut microbiota in patients diagnosed with AITD; 2) providing sufficient data on the relationship between AITD and intestinal microbiota; 3) written in English; and 4) full-text availability. *Results:* GD and HT are chronic diseases that cause impaired immunoregulation, resulting in specific immune responses against thyroid antigens. Emerging evidence suggests that gut microbiota alterations play a key role in the development and progress of autoimmune thyroid diseases. This may be explained by the damaged intestinal barrier and the subsequent increase in intestinal permeability, which allows antigens to pass more quickly and activate the immune system or cross-react with extra-intestinal tissues. The epithelium is the main site of organism interaction with the environment. Zonulin regulates tight junctions between cells in various tissues and organs of the human body. In the intestine, its higher concentration is associated with the opening of tight junctions between enterocytes and an increase in intestinal permeability. This allows bacteria, parts of bacteria, and toxins to enter the body and contact its immune system. Intestinal fatty acid-binding protein is expressed by small intestinal epithelial cells, and its release into the circulation indicates impaired intestinal permeability. Lipopolysaccharides, a major part of the cell wall of Gram-negative bacteria, and trimethylamine-N-oxide resulting from their activity can lead to immune activation and the development of systemic inflammation, oxidative stress, and impaired lipid metabolism. *Conclusion:* Understanding the pathology of diseases, identifying etiological factors, and improving research methods will help develop therapies for prevention and treatment.

Keywords: autoimmune thyroid diseases (AITD), Hashimoto's thyroiditis (HT), microbiota, trimethylamine-N-oxide (TMAO), intestinal permeability

1. INTRODUCTION

Autoimmune thyroid diseases (AITD) affect 2–5% of the population (Alkader et al., 2023). The most common types of AITDs are Hashimoto’s thyroiditis (HT) and Graves’ disease (GD). Their causes can be categorized into three groups: environmental factors, genetic susceptibility, and immune system dysfunction (Ashok et al., 2022). Currently, the treatment for AITD focuses on management rather than prevention or cure. Though there has been progress in identifying genetic variants that make people more likely to develop AITD, the increasing prevalence of all thyroid disorders suggests that factors other than genes are also involved (Alkader et al., 2023).

The gut microbiota, which starts developing before birth, is highly influenced by diet and the environment. This sensitivity could explain how non-communicable diseases can become communicable. The functions of the gut microbiota go beyond maintaining gut integrity: it also regulates the immune system and contributes to thyroid hormone metabolism, both of which are relevant to AITD. Observational and interventional studies in animal models support the idea that gut microbiota plays a role in AITD, and some reports from human groups have confirmed this idea. This study aims to investigate the connection between gut microbiota/intestinal permeability/ and Autoimmune Thyroid Diseases.

2. METHODS AND MATERIALS

We searched systematically for literature in PubMed, Web of Science, Embase, and Cochrane databases using the following search string: (thyroiditis OR Hashimoto's Disease OR Autoimmune Thyroiditis OR Chronic Lymphocytic Thyroiditis OR Graves' Disease OR Hyperthyroidism) AND (microbiota OR Gut Microbiome OR Microbial Community OR Gastrointestinal Microbiome OR Gut Flora OR Gastrointestinal Microbiota).

Studies were considered eligible if they met the following criteria: 1) investigating the gut microbiota in patients diagnosed with AITD; 2) providing sufficient data on the relationship between AITD and intestinal microbiota; 3) written in English; and 4) full-text availability. We also excluded studies with incomplete outcome data and studies with fewer than 20 participants.

3. RESULTS

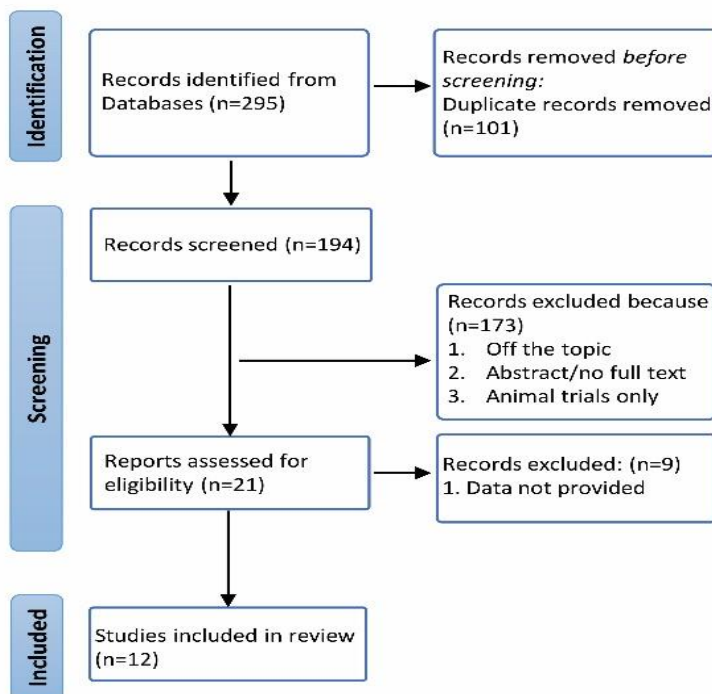


Figure 1. Flow chart of the search strategy and study selection progress (Alkader et al., 2023).

Researchers are interested in understanding the connection and underlying mechanisms linking autoimmune thyroid diseases and microbiota. With recent advancements in sequencing technologies, they have unveiled substantial differences in the abundance and composition of gut microbiota between individuals with AITD and healthy controls (Leccioli et al., 2017). This suggests that the gut-thyroid axis may play a key role in the development and progression of AITD. Figure 1 illustrates the process of literature searching and screening for the review.

The initial search yielded 295 publications. After reviewing the literature, we excluded 283 articles, making 12 records eligible for the study.

Trimethylamine N-oxide (TMAO) is a compound produced by the gut microbiome. It is created in several steps, with carnitine, choline, and betaine being the main precursor molecules (Alkader et al., 2023). The level of TMAO in the blood is influenced by factors such as diet, gut microbial flora, drug use, and liver flavin monooxygenase activity. Research has shown that elevated TMAO levels are linked to increased risk of cardiovascular disease, stroke, diabetes, and chronic kidney disease (Fig. 2) (Hodgkinson et al., 2023;). Lipopolysaccharides are a major component of the cell wall of Gram-negative bacteria, and trimethylamine N-oxide results from their activity. TMAO is produced because of the activity of lipopolysaccharides, which are found in the cell walls of certain bacteria. Elevated TMAO levels can lead to systemic inflammation, oxidative stress, and impaired lipid metabolism, due to the entry of lipopolysaccharides into the bloodstream. Both TMAO levels and lipopolysaccharides are related to the composition and metabolic activity of the gut microbiota (Blachier, 2023; Cayres et al., 2021).



Figure 2. TMAO is an important plasma metabolite that through several mechanisms can increase the risk of various condition (Thomas & Fernandez, 2021)

4. DISCUSSION

The mucin secreted by the goblet cells forms the mucus layer, which plays a protective role against bacteria reaching the epithelium. The relative number of goblet cells increases from the proximal to the distal parts of the digestive system due to the increase in the number of bacteria and the need for great mucosal protection. Changes in the microbiota with an increase in the number of mucin-degrading bacteria lead to a decrease in the thickness of the mucus layer protecting the intestinal epithelium (Knoop & Newberry, 2018).

The reduced thickness of the mucus layer, or its absence, provides the possibility of direct contact of the luminal contents with the apical part of the enterocytes. This is a necessary condition

for the action of gluten as a stimulator of zonulin synthesis alone (Cayres et al., 2021), or in combination with α -amylase trypsin inhibitors (ATI) (Leccioli et al., 2017). Apart from their action on enterocytes, these inhibitors are equally strong activators of macrophages, monocytes, and dendritic cells as lipopolysaccharides (LPS) (Leccioli et al., 2017). Direct contact with the apical surface of enterocytes is also sufficient for some bacteria such as *Escherichia coli* or *Salmonella typhi* to stimulate zonulin secretion. The other major cause of increased zonulin secretion is enterotoxins released by some bacteria (Sturgeon & Fasano, 2016).

Goblet cells in the large intestine have the largest relative number compared to the rest of the gastrointestinal tract (about 20%), and the mucin secreted by them forms the double layer, inner-dense and closely connected to the epithelium and outer-loose, which is colonized by various bacteria and can be used by them as a food source (Blachier, 2023). Short-chain fatty acids produced by the microbiota during the degradation of hard-to-degrade polysaccharides directly modify the tight junctions between enterocytes by strengthening them (Zhang, 2022), and stimulate mucin synthesis (Ashok, Patni, Fatima, Lamis, & Siddiqui, 2022). In addition to being the main food source for colonocytes, short-chain fatty acids also regulate the expression of the genes for the synthesis of several antimicrobial peptides – β -defensins, DEFA8, TUB, REG3G, including intestinal alkaline phosphatase (IAP) (Hodgkinson et al., 2023).

Elevated blood lipopolysaccharides (endotoxemia) are a major cause of low-grade systemic inflammation. Endotoxemia may be the result of impaired synthesis and secretion of IAP, which is a major part of the mucosal defense system, directly neutralizing various bacterial products with a proinflammatory effect such as lipopolysaccharides, lipoteichoic acid, ATP, flagellin, etc. (Fawley & Gourlay, 2016). On the other hand, endotoxemia can be exacerbated by increased dietary intake of fructose or alcohol, as well as stress (Malo et al., 2022).

In a low-fibre diet, the same polysaccharide-degrading bacteria use the mucus layer for their nutritional needs, leading to a decrease in the thickness, and an increase in the possibility of contact and passage of immune-active metabolites and/or bacteria through the intestinal epithelium.

5. CONCLUSIONS

Scientists are interested in understanding the connection between TMAO and inflammatory processes. Studies have shown a close link between TMAO and inflammation, suggesting that inflammation may play a critical role in the negative effects of TMAO. Therefore, it is important to conduct studies to investigate the intracellular concentrations of TMAO and explore its potential as an early biomarker or a target for disease prevention in humans. Further research is necessary to determine whether regulating TMAO levels could be an effective intervention for chronic diseases.

ACKNOWLEDGMENTS: This work has been supported by Medical University – Plovdiv (№ HO-06/2023).

REFERENCES

- Alkader, D. A. A., et al. (2023). Exploring the role of gut microbiota in autoimmune thyroid disorders: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*, 14(October), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1238146>
- Ashok, T., et al. (2022). Celiac disease and autoimmune thyroid disease: The two peas in a pod. *Cureus*, 14(6), 6–14. <https://doi.org/10.7759/cureus.26243>
- Blachier, F. (2023). *Metabolism of alimentary compounds by the intestinal microbiota and health*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-26322-4>
- Cayres, L. C., et al. (2021). Detection of alterations in the gut microbiota and intestinal permeability in patients with Hashimoto thyroiditis. *Frontiers in Immunology*, 12(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.579140>
- Fawley, J., & Gourlay, D. M. (2016). Intestinal alkaline phosphatase: A summary of its role in clinical disease. *Journal of Surgical Research*, 202(1), 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2015.12.008>
- Hodgkinson, K., et al. (2023). Butyrate's role in human health and the current progress towards its clinical application to treat gastrointestinal disease. *Clinical Nutrition*, 42(2), 61–75.

<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.10.024>

Knoop, K. A., & Newberry, R. D. (2018). Goblet cells: Multifaceted players in immunity at mucosal surfaces. *Mucosal Immunology*, *11*(6), 1551–1557. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0039-y>

Leccioli, V., et al. (2017). A new proposal for the pathogenic mechanism of non-coeliac/non-allergic gluten/wheat sensitivity: Piecing together the puzzle of recent scientific evidence. *Nutrients*, *9*(11), 1203. <https://doi.org/10.3390/nu9111203>

Malo, J., et al. (2022). Intestinal alkaline phosphatase deficiency increases the risk of diabetes. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, *10*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2021-002643>

Sturgeon, C., & Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, *4*(4), 1–19. <https://doi.org/10.1080/21688370.2016.1251384>

Thomas, M. S., & Fernandez, M. L. (2021). Trimethylamine N-oxide (TMAO), diet and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports*, *23*(4), 12. <https://doi.org/10.1007/s11883-021-00910-x>

Zhang, P. (2022). Influence of foods and nutrition on the gut microbiome and implications for intestinal health. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(17). <https://doi.org/10.3390/ijms23179588>

RESEARCH ADVANCES OF POLYMERS AS MATERIALS FOR THE ACCELERATION OF BONE HEALING

Nadezhda Kadreva¹, Nadia Penkova¹, Pepa Atanassova¹, Bissera Pilicheva²

¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

² Department of Pharmaceutical Sciences,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv

НАПРЕДЪК В ИЗСЛЕДВАНИЯТА НА ПОЛИМЕРИТЕ КАТО МАТЕРИАЛИ ЗА УСКОРЯВАНЕ НА ЗАЗДРАВЯВАНЕТО НА КОСТИТЕ

Надежда Кадрева¹, Надя Пенкова¹, Пепа Атанасова¹, Бисера Пиличева²

¹ Катедра „Анатомия, хистология и ембриология“,
Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив

² Катедра „Фармацевтични науки“,
Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив

Abstract: Polymers are biocompatible materials that can be used in bone tissue engineering. Polymers used in tissue engineering can be classified as natural and synthetic polymer materials. Polymeric materials are extensively utilized in numerous industries due to their versatility, abundant sources, and molecular weight distribution variance. Polymer scaffolds are one of the most widely used approaches for bone tissue engineering because they provide a three-dimensional structure that can support the growth and differentiation of bone cells. They have excellent mechanical properties that is their main value for bone tissue engineering methodologies which can help support loads and prevent deformation of the scaffold. Furthermore, among other materials, natural and synthetic polymers are being studied as local drug delivery systems due to their excellent biocompatibility. They can also help reduce the inflammatory response and scar tissue formation. In addition, the fine-tuned biodegradability of these composite scaffolds ensured their gradual replacement with native tissues over time. Most common polymer molecule carriers are polyester, polysaccharide, and PDA. Their most common application is as carriers for macro and nanomolecules as they easily bind non-specific cells with negative charges to the protein. They can carry peptides, vaccines, growth factors, antigens, proteins and other macromolecular drugs. Their properties can be used in the treatment of bone diseases, fractures and researched as bone replacement materials.

Keywords: polymers, bone tissue engineering, polymer scaffolds, bone healing

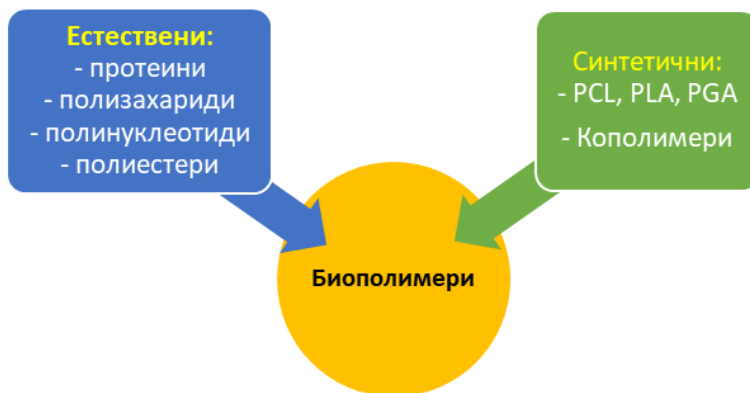
ВЪВЕДЕНИЕ

Интересът към биоматериалите и тяхното приложение като костовъзстановителни материали се повишава с развитието на хирургията в денталната медицина, ортопедията, неврохирургията, офталмологията, кардиохирургията и общата хирургия като дисциплини, към които има потребност и необходимост от разработването на биосъвместими материали за заместване на нежизнеспособни или загубени тъкани. Заради комплексната си структура, метаболитните изисквания и разнообразните функции настоящите възможности за реконструкция на костта са ограничени в способността си да възстановяват дефекти. В настоящите години се търсят методи за разработване на биоматериали, способни да

възстановят или заместят обширни костни дефекти чрез импланти тип “foreign body implants” (ортопедични, хирургични, стоматологични импланти), тъканновъстановителни материали или комбинация от двете. Автотрансплантацията или трансфер на автоложна тъкан от донорна към приемна ложа е настоящия „златен стандарт“ за костна реконструкция (аугментация) поради високата успеваемост на процедурите, в които тя се използва, в сравнение с използването на нейните алтернативи. Недостатъците ѝ са най-вече свързани с ограниченото ѝ количество, необходимостта от второ (донорно) оперативно поле и свързаните с него усложнения и ограничения (Н. Попов и кол., 2012). В редица случаи тези недостатъци са причина за търсене на алтернативи.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Обективна класификация на биополимерите за сега не е разработена, тъй като тя е в зависимост от биосъвместимостта им, проложението, химичната структура, биоразградимостта им, механичните характеристики, активност в тъканите, технологията на производство и биологични характеристики (Khan et al., 2023). Изискванията към тези биоматериали нарастват с развитието на натотехнологиите, материалознанието и тъканното инженерство (Zhu et al., 2021; Tabata et al., 2009). Като отделен клас биоматериали биополимерите притежават добри характеристики за локално приложение в живите тъкани. На фигура. 1 са представени две групи деривати на биополимерите.



Фигура 1. Биополимерите, спрямо химичната си природа се разделят на две големи групи – естествени, и синтетични (Кадрева, 2024).

Естествените биополимери могат да се класифицират като протеини (колаген, коприна, желатин, кератин и др.), полизахариди (целулоза, декстран, хитин и др.), полинуклеотиди (ДНК, РНК), полиестери. Имат по-добра биопоносимост от живите тъкани в сравнение със синтетичните им аналози (PCL – poly-ε-caprolactone, PLA – poly Lactic acid, PGA – poly Glycolic acid) и техни кополимери (PLGA – poly Lactic-co-Glycolic acid), но по-малка механична стабилност и по-кратко време на разграждане в екстрацелуларното пространство. Освен изброените предимства, синтетичните биополимери отчитат по-добри резултати и като носители (познати в литературата като „scaffolds“ или „биомембрани“) на растежни фактори, различни видове вещества, молекули и йони както и лекарствени вещества.

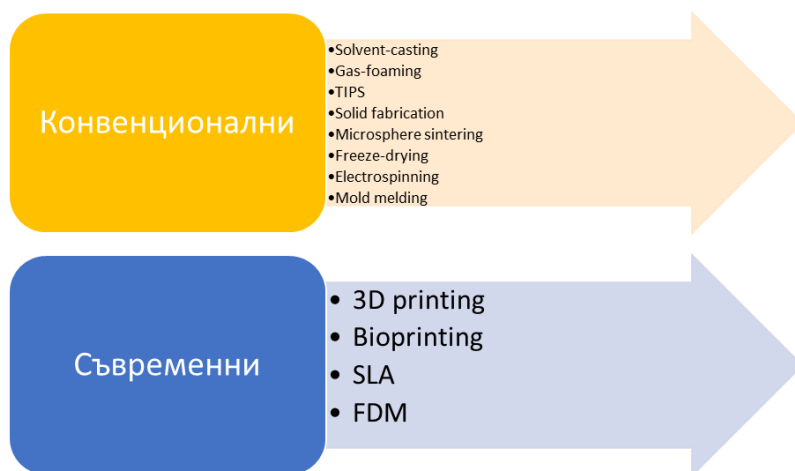
В зависимост от технологията на производство и приложението им те се разделят на няколко групи, описани на фигура. 2.

Използването на комбинации от съотношения на различни молекулни концентрации на полимерите, би довело до получаването на желани свойства на полимера, спрямо нуждите на матрицата (Pişkin et al., 2009).



Фигура 2. Биополимерите, спрямо технологията на производство и приложението им се разделят на няколко приложими форми.

Методите за получаване на полимерните матрици са различни техники, с които могат да се постигнат свойства на материала, които максимално да се доближават до изискванията за биоматериалите. Методите за получаване са две групи – конвенционални и напреднали техники. Към конвенционалните спадат – salt-leaching solvent-casting, gas-foaming process, thermally induced phase separation, solid free-form fabrication technique, microsphere sintering, emulsion freeze-drying method, electrospinning techniques, freeze drying, mold melding. Към напредналите техники, които се използват и в тъканното инженерство спадат 3D printing, bioprinting, stereolithography (SLA), selective laser sintering (SLA) и fused deposition modeling (FDM). От различните методи се получават няколко вида матрици (scaffolds) с различни характеристики – нанофиброзни матрици (nanofiber scaffolds), матрици на базата на хидрогели (hydrogels), матрици на базата на микросфери (microsphere-based Scaffolds), 3D принтирани матрици и др. (Chocholata et al., 2019; Adel et al., 2022).



Фигура 3. Техники за получаване на биополимери матрици (Кадрева, 2024).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биополимерите показват обещаващо бъдещо приложение като костозаместващ материал, който би могъл да подобри терапевтичния процес при редица социално-значими заболявания и лечение на обширни костни дефекти, което би се отразило благоприятно на качеството на живот на пациентите. Необходими са още проучвания за изясняване на механизма на действие на биополимерите в живите тъкани, на методите за включването им в матрици за костна регенерация и ефекта им върху костната тъкан.

REFERENCES

Adel, I. M., ElMeligy, M. F., & Elkasabgy, N. A. (2022). Conventional and recent trends of scaffolds fabrication: A superior mode for tissue engineering. *Pharmaceutics*, 14(2), 306. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020306>

Chocholata, P., Kulda, V., & Babuska, V. (2019). Fabrication of scaffolds for bone-tissue regeneration. *Materials*, 12(4), 568. <https://doi.org/10.3390/ma12040568>

Khan, M. U. A., Aslam, M. A., Abdullah, M. F. B., Hasan, A., Shah, S. A., & Stojanović, G. M. (2023). Recent perspective of polymeric biomaterial in tissue engineering—a review. *Materials Today Chemistry*, 34, 101818. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2023.101818>

Pişkin, E., İsoğlu, İ. A., Bölgen, N., Vargel, İ., Griffiths, S., Çavuşoğlu, T., Korkusuz, P., Güzel, E., & Cartmell, S. (2009). In vivo performance of simvastatin-loaded electrospun spiral-wound polycaprolactone scaffolds in reconstruction of cranial bone defects in the rat model. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 90(4), 1137–1151. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32157>

Tabata, Y. (2009). Biomaterial technology for tissue engineering applications. *Journal of the Royal Society Interface*, 6(Suppl 3), S311–S324. <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0448.focus>

Zhu, T., Jiang, M., Zhang, M., Cui, L., Yang, X., Wang, X., Liu, G., Ding, J., & Chen, X. (2022). Biofunctionalized composite scaffold to potentiate osteoconduction, angiogenesis, and favorable metabolic microenvironment for osteonecrosis therapy. *Bioactive Materials*, 9, 446–460. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.08.005>

FOLLOW-UP OF PATIENTS WITH IGA NEPHROPATHY AND SGLT2 INHIBITORS – OUR VIEW

I. Erkanyan^{1,2}, E. Tilkiyan^{1,2}, E. Kumchev^{1,2}, H. Atanasov², G. Krалева³

¹Second Department of Internal Medicine, Medical University of Plovdiv

²Nephrology Clinic, UMHAT "Kaspela" – Plovdiv

³Student in Medical University of Plovdiv

Abstract: Worldwide, IgA nephropathy /IgAN/ is the most common primary glomerulonephritis with heterogeneous clinical and pathomorphological manifestations. It has an important epidemiological significance, due to the fact that in some cases it leads to the end stage of CKD. Multiple mechanisms have been implicated in the pathogenesis of IgAN, including immune, genetic, environmental, and other factors. The current understanding of the treatment of IgAN includes a wide range of drugs that target different stages of the pathogenesis of the disease. In addition to immunomodulatory therapy, nephroprotective treatment with RAAS blockers and SGLT2 inhibitors, which have a proven effect in reducing proteinuria and slowing the progression of CKD, is also widely used. The aim of the study was to follow the effect of SGLT2 inhibitor administration in patients with IgAN. 17 patients were studied – 13 men and 4 women with histologically proven IgAN, who took Dapagliflozin /Forxiga/ for a period of 5 to 15 months / average 10.1 months /. The values of serum creatinine, urea, uric acid, glomerular filtration rate, proteinuria level were monitored. The results were compared with a control group of IgAN patients not treated with Dapagliflozin. A trend towards a decrease in proteinuria at the end of the period and stabilization of the level of glomerular filtration was reported compared to the control group. An insignificant decrease in the values uric acid were noticed. SGLT2 inhibitors may find application in the complex treatment of IgAN also in patients without diabetes mellitus.

Keywords: IgAN, Dapagliflozin, CKD

INTRODUCTION

Immunoglobulin A nephropathy (IgAN) is a chronic mesangioproliferative glomerulonephritis that is identified by diffuse mesangial deposition of immunoglobulin A. Renal damage in IgAN is a consequence of deposition of galactose-deficient immunoglobulin A1(IgA1) in the glomerular mesangium, leading to activation of mesangial cells with subsequent proinflammatory cytokines release and activation of the complement system. This disease is characterized by heterogeneous pathomorphological and clinical manifestations and often leads to chronic kidney disease, which in some cases necessitates the initiation of kidney replacement treatment, therefore has massive social and economic impact. The main determinants of renal function and damage are glomerular filtration rate (GFR) and proteinuria. The primary goals of treatment of IgAN are to induce remission and avert the onset of complications. Managing IgAN focuses on two main directions- to reduce the deposition of IgA1 and slow down the progression of CKD. This is achieved by conservative and immunomodulatory treatment.

Conservative therapy in IgAN plays crucial role in managing IgAN by reducing proteinuria and slowing the rate of renal function decline. Regardless of the initial damaging factor leading to the development of CKD, glomerular hypertension and subsequent hyperfiltration occurs. Given the proven effects on glomerular hemodynamics, RAAS inhibitors occupy a central place in the conservative treatment of IgAN and CKD in general. In addition to RAAS inhibition, Dapagliflozin (Forxiga), a sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, has proven to be effective in reducing glomerular hypertension and hyperfiltration, thus reducing proteinuria and rate of GFR decline.

METHODS AND MATERIALS

In the Clinic of Nephrology of UMHAT „Kaspela“, we conducted a retrospective study for a period of 6-12 months (approximately 9 months) on the effects of dapagliflozin added to standard immunosuppressive and conservative therapy with RAAS inhibition in patients with histologically verified IgAN. The levels of eGFR and proteinuria were measured in the beginning, in the 3rd, 6th and 12th month after the start of the treatment. We used the CKD EPI formula to estimate the glomerular filtration and 24h proteinuria. The study cohort included 17 patients – 13 men and 4 women. Only 2 of them had Diabetes type 2. None of the patients reported any side effects of the treatment.

RESULTS

During the study period there was a trend towards a decrease in proteinuria, as well as a stabilization of GFR after a non-significant decrease at the third month of therapy. In addition to those, there was drop in arterial blood pressure, a decrease in serum uric acid levels, as well as an increase in hematocrit. Based on the intake of RAAS inhibition the patients were divided into 2 groups – receiving (12 patients) and not receiving (5 patients), and no significant difference was noted, maintaining the trend for a significant decrease in proteinuria and stabilization of GFR.

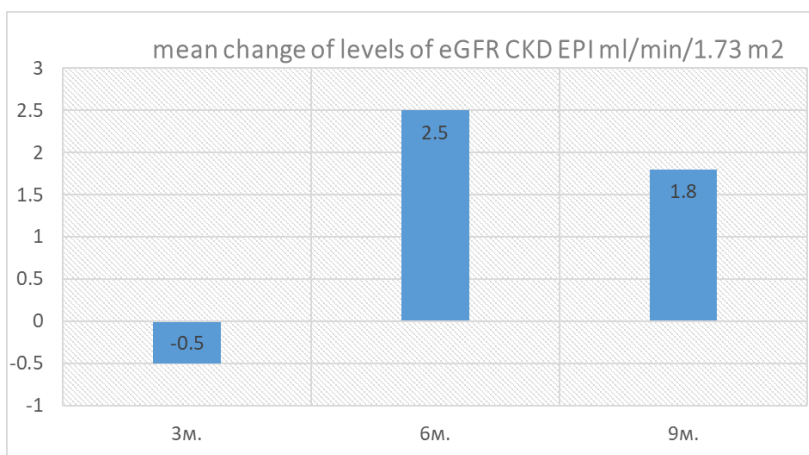


Figure 1. The blue bars represent the change in mean GFR across the cohort at month three, month six, and month nine. There was a non-significant decrease in mean GFR for the cohort at month three and stabilization of GFR at months six and nine.



Figure 2. Graphically presented follow-up of proteinuria in patients with IgAN treated with dapagliflozin. Blue bars show the absolute value of proteinuria in g/L; Orange line shows percentage decrease of proteinuria compared to control at the beginning of the period

CONCLUSIONS

Dapagliflozin:

- significantly reduces the risk of permanent deterioration of renal function, CKD, or death from a renal or CV cause in all CKD patients;
- prolongs the time to/prevents the onset of end-stage renal disease;
- improves overall survival, significantly reduces all-cause mortality, and reduces the risk of death from CV causes or CHF;
- has a favorable safety profile in patients with CKD, with no significant adverse effects;
- the cardio- and nephroprotective effects are also preserved in patients on different therapeutic regimens without an increased risk of ADR.

REFERENCES

Heatsink, H. J. L., et al. (2020). *The New England Journal of Medicine*, 383(15), 1436–1446.

Jongs, N., Greene, T., Chertow, G. M., McMurray, J. J., Langkilde, A. M., Correa-Rotter, R., ... & Heerspink, H. J. (2021). Effect of dapagliflozin on urinary albumin excretion in patients with chronic kidney disease with and without type 2 diabetes: a prespecified analysis from the DAPA-CKD trial. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 9(11), 755-766.

McMurray, J. J., Wheeler, D. C., Stefánsson, B. V., Jongs, N., Postmus, D., Correa-Rotter, R., ... & DAPA-CKD Trial Committees and Investigators. (2021). Effects of dapagliflozin in patients with kidney disease, with and without heart failure. *Heart Failure*, 9(11), 807-820.

McEwan, M., et al. (2021, April 12–16). *AMCP Annual Meeting* (Poster ID 976324).

Vart, P., Butt, J. H., Jongs, N., Schechter, M., Chertow, G. M., Wheeler, D. C., ... & Heerspink, H. J. (2024). Efficacy and safety of dapagliflozin in patients with chronic kidney disease across the spectrum of frailty. *The Journals of Gerontology: Series A*, 79(2), glad181. <https://doi.org/10.1093/gerona/glad181>

Pollack, R., Raz, I., Wiviott, S. D., Goodrich, E. L., Murphy, S. A., Yanuv, I., ... & Cahn, A. (2023). Efficacy and safety of dapagliflozin by baseline insulin regimen and dose: post hoc analyses from DECLARE-TIMI 58. *Diabetes care*, 46(1), 156-164. <https://doi.org/10.2337/dc22-1318>

SEPARATION OF ETHANOL BY NANOFILTRATION OF RED WINE MAVRUD

V. Prodanov, M. Dencheva-Zarkova, J. Genova

Institute of solid-state physics, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

Abstract: Nanofiltration is an effective method for retaining and concentrating ethanol and bioactive substances in real systems. This study focuses on nanofiltration experiments with Mavrud red dry wine using a MaxiMem – PS Prozesstechnik GmbH membrane filtration system equipped with an Alfa Laval NF99HF polyester membrane (MWCO 200 Da). The experiments were conducted in concentration mode of the filtration system, with cooling provided by a Lauda Alpha RA8 thermostat, maintaining an operating temperature of 17-19°C. The operational parameters included transmembrane pressures of 10, 20, 30, 40, and 50 bar, and a tangential flow rate of 1.2 l/min. The study aims to study the influence of these parameters on the concentration of alcohol in the wine. By varying these parameters, the optimal conditions for nanofiltration that maximize alcohol content reduction were determined. In addition to analyzing the chemical composition of the filtered wine, the study also includes experimental research on changes in the volumetric morphology of the polyester membrane caused by nanofiltration. This involved examining how the membrane's structure and performance were affected by the filtration conditions.

Keywords: Nanofiltration, dealcoholization, red wine, polyester membrane, optimal working conditions

1. INTRODUCTION

Membrane assisted filtration techniques have emerged as a mainstream technology since the early 1990s. Endowed with numerous advantages to its credits, such as high efficiency, compact and modular design, easy operation and less energy input, membrane technology has become one of the most important industrial separation techniques to be applied expansively to various sectors including the food industry, especially in the wine industry (Charcosset, 2021; Nath et al., 2018). Nanofiltration has found numerous applications in winemaking industry as an effective separation technology for wine concentration, partial dealcoholization or chemical composition correction (Ivić et al., 2021).

Recent years have witnessed an increased demand for reduced alcohol beverages because of health-related and social concerns. Wine is one of the most widely consumed alcoholic drinks, and it contributes to reducing the risk of cardiovascular diseases (Lipnizki, 2010, Cordova et al., 2005). Lowering the alcoholic degree of wine would reduce the risk related to the consumption of alcohol without altering its cardioprotective properties (Lecour et al., 2006).

Moderating the ethanol content of wine either for concentration (higher ethanol rejection is favorable) or dealcoholization (low ethanol rejection). The capability of the membrane to preserve the quality of the wine depends on the degree of dealcoholization, the membrane material and characteristics (flux and rejection behavior), the use of multi-stage processes.

Nanofiltration has the potential for implementation both in the production of low-alcohol (7% alcohol) and of dealcoholized wines (<0.5% alcohol), especially in combination with reverse osmosis. Typically, tight membranes (150-300 Da MWCO) are used with regard to alcohol rejection and reduced loss of other valuable compounds (Nath et al., 2018).

The study's focus is the dealcoholization process, aimed to reduce the ethanol content preserving the organoleptic properties of wine.

2. METHODS AND MATERIALS

The present investigation is focused on separation of ethanol from dry red wine Mavrud during experiments on nanofiltration in concentration mode. Separation ability of the membrane relative to the ethanol is studied. A laboratory membrane filtration unit, (MaxiMem, Prozesstechnik GmbH) with a rectangular flat-sheet membrane of 215 cm² active area was used, Fig. 1.

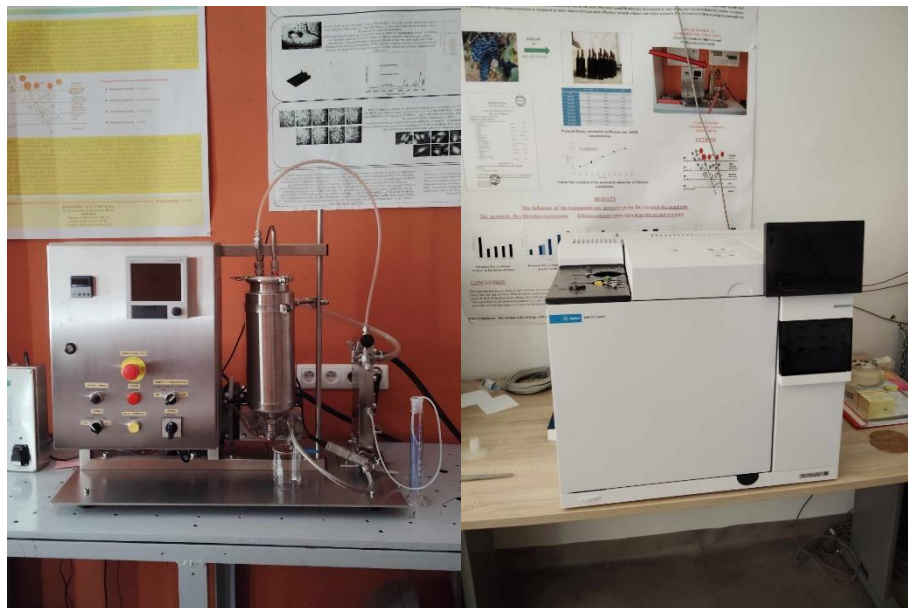


Figure 1. MaxiMem membrane filtration unit (left) and Agilent CG (right)

The experimental conditions for operating pressure, temperature, permeate flux, were precisely controlled and recorded. In the present experiment temperature regime with cooling is applied using the thermostatic cooling bath LAUDA Alpha RA 8 and the experiment was done at 17° C and 19 °C. The membrane Alfa Laval NF 99HF (thin film composite polyester with MWCO 200 Da) was subjected to previous adaptation with the solvent until constant flux. Cross-flow velocity of 1.2 l/min and transmembrane pressure of 10 to 50 bar was used as set of experimental conditions. The initial feed volume is 750 ml and final permeate volume - 380 ml. Samples for alcohol analysis were taken after every 180 ml permeated volume. A cumulative average permeate and final retentate sample were also taken.

Dry red wine Mavrud vintage 2020 was provided by the Bulgarian wine cellar, Harmanli, Bulgaria and was used in preliminary set of experiments on nanofiltration. The red wine composition before nanofiltration is certified as follows: Specific gravity - 1.0495; Alcohol - 13.0 vol.% EtOH; Sugar - 0.99 g/l; Total dry extract - 29 g/l; Total acidity - 4.58 g/l, Citric acid - less than 1.0 g/l; Volatile acidity - 0.41 g/l; Free SO₂ - 30.99 mg/l; Total SO₂ - 91.0 mg/l; Metals harmful to health - Iron - 0.01mg/l.

The data analysis for the calibration procedure was carried out using Agilent CG Software. Gas Chromatography sampler parameters for analysis of ethanol analysis were as follows: Inlet temperature 250°C; Injection mode Split; Oven temperature 40°C; Front SS Intel H2 heater 220 °C; Septum purge flow 3 ml/min; Pressure 12,063 psi; Split ratio 10:1; Split flow 14 ml/min; Column flow 1,4 ml/min; Linear velocity 34,536 cm/sec; Front detector FID heater 240 °C; Makeup N2 flow 15ml/min, H₂ flow (Combined) 35ml/min. The calibration was performed with model ethanol samples in the range of 2-20 vol%. with R²=0,998. As internal standard n-propanol was used.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The graphs on Fig. 2. show how the ethanol content in the respective samples change at different transmembrane pressures, at 19°C and 17°C respectively. The optimal temperature for nanofiltration (17°C) that maximize alcohol content reduction was determined. At 17°C, experiments were done at 30 and 40 bars, as those parameters were established to be optimal.

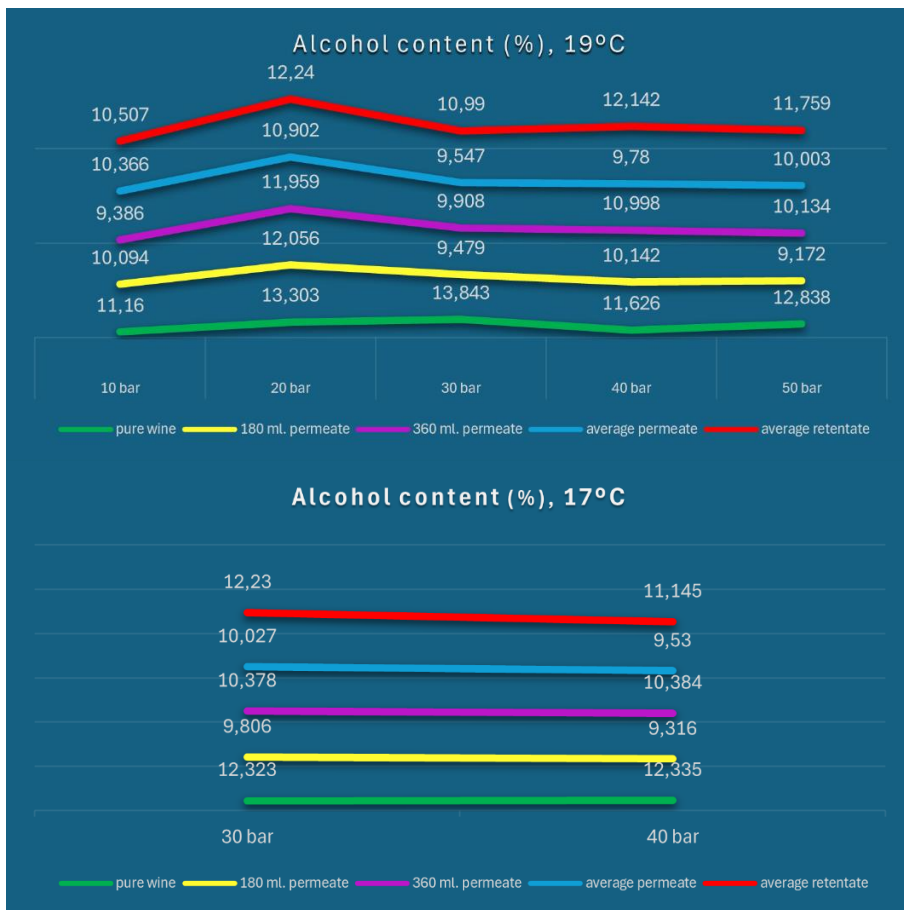


Figure 2. Concentration of ethanol in wine filtrates for various transmembrane pressures at 19°C (up) and for the optimal transmembrane pressure (30 and 40 bars) at 17°C (down)

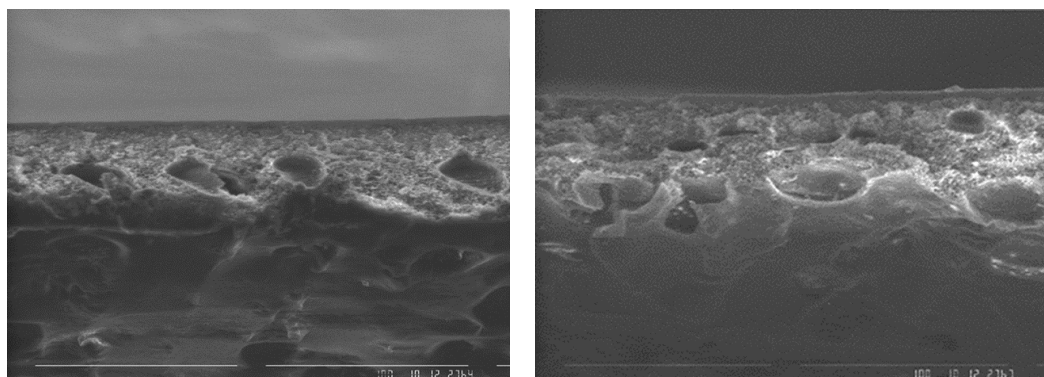


Figure 3. SEM images of the membrane before (left) and after (right) filtration, acquired via scanning electron microscope JEOL SEM T-200 in SEI mode.

The SEM images show that as a result of nanofiltration, the Alfa Laval NF99HF membrane's pores become expanded and deformed.

4. CONCLUSIONS

The results of the research show that the Alfa Laval NF99HF membrane is suitable for dealcoholization of wine, with the retention of ethanol being about 3 vol.%, with high preservation of the valuable bioactive substances in the composition of the wine. The optimal parameters for dealcoholization were established: 40 bar pressure and a temperature of 17 °C. It was shown that as a result of nanofiltration, changes in the morphology of the membrane were observed - expansion and deformation of the pores.

ACKNOWLEDGMENTS: This work was financially supported by the National Science Fund of Bulgaria (project № KP-06-N47/1 – 26.11.2020).

REFERENCES

Charcosset, C. (2021). Classical and recent applications of membrane processes in the food industry. *Food Engineering Reviews*, 13(2), 322–343.

Cordova, A. C., Jackson, L. S., Berke-Schlessel, D. W., & Sumpio, B. E. (2005). The cardiovascular protective effect of red wine. *Journal of the American College of Surgeons*, 200(3), 428–439.

Ivić, I., Kopjar, M., Obhodaš, J., Vinković, A., Pichler, D., Mesić, J., & Pichler, A. (2021). Concentration with nanofiltration of red wine Cabernet Sauvignon produced from conventionally and ecologically grown grapes: Effect on volatile compounds and chemical composition. *Membranes*, 11(5), 320.

Lecour, S., Blackhurst, D., Marais, D., & Opie, L. (2006). Lowering the degree of alcohol in red wine does not alter its cardioprotective effect. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 40, 997–998.

Lipnizki, F. (2010). Membrane technology: Membranes for food applications (Vol. 3). Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Nath, K., Dave, H. K., & Patel, T. M. (2018). Revisiting the recent applications of nanofiltration in food processing industries: Progress and prognosis. *Trends in Food Science & Technology*, 73, 12–24.

**БИОЛОГИЧЕН ПОТЕНЦИАЛ НА БАЛКАНСКИЯ ЕНДЕМИЧЕН ВИД
MICROMERIA FRIVALDSZKYANA (DEGEN) VELEN (LAMIACEAE)**

Кристина Ставракева

**Катедра по фармакология, токсикология и фармакотерапия,
Фармацевтичен факултет, Медицински Университет – Пловдив**

**BIOLOGICAL POTENTIAL OF THE BALKAN ENDEMIC SPECIES
MICROMERIA FRIVALDSZKYANA (DEGEN) VELEN (LAMIACEAE)**

Kristina Stavrakeva

**Department of Pharmacology, toxicology and pharmacotherapy,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv**

Abstract: Introduction. Phytopreparations are broadly applicable since they appear to be a safer and more favourable alternative to traditional syntetic drugs in both prophylaxis and therapeutics. The Lamiaceae family is a large herbal family, widely known for its great variety of curative effects. It includes the genus *Micromeria* Bentham, which is characterised with an antirheumatic, antiseptic, antioxidant, gastroprotective, hepatoprotective, anti-inflammatory and central nervous system stimulating activity. Agents from the genus are often used in folk medicine in the treatment of cardiovascular and respiratory diseases as well as skin infections. *Micromeria frivaldszkyana* (MF) is a Bulgarian endemic species, registered in Appendix 3 of the Biological Diversity Act and the Red Data Book of the Republic of Bulgaria as endangered. The scientific data referring to *Micromeria frivaldszkyana* is scarce due to its rare occurrence.

Phytochemical composition. Recent detailed analysis shows that *Micromeria frivaldszkyana* is rich in carbohydrates (mostly glucose), organic acids, polyphenols and flavonoids. It consists of a high level of rosmarinic acid, which is a caffeic acid ester, with antinociceptive, antidepressive, anxiolytic, neuroprotective and antiepileptic activity. *Micromeria frivaldszkyana* also contains a large amount of hesperidin - a flavonoid, abundant in citrus fruits, with possible antiviral, analgesic, hypoglycaemic and anticoagulant effects.

Aim. This study presents a concise review about the phytochemical composition and therapeutic potential of *Micromeria frivaldszkyana* and the biological effects of its main compounds.

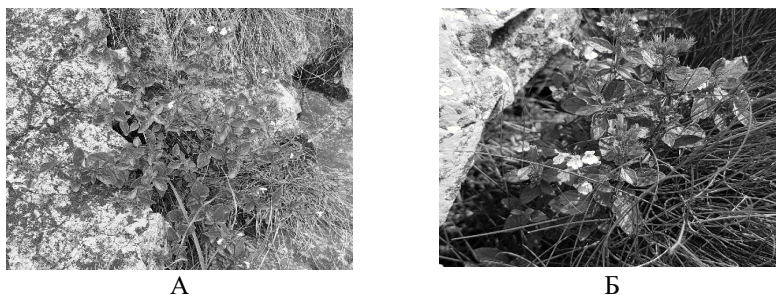
Keywords: *Micromeria frivaldszkyana*, phytochemical composition, endemic species, biological potential

ВЪВЕДЕНИЕ

Семейство Lamiaceae включва голям брой растения, които са показали висок терапевтичен потенциал. Таксономично семейството се разделя на няколко подсемейства, като едно от най-големите е Nepetoideae (Pedersen, 2000). Родът *Micromeria Bentham* също се отнася към това подсемейство и е представен от около 70 вида, от които 21 се срещат в Европа. Видове от род *Micromeria* са показали антиревматично, антисептично, антимикробно, антиоксидантно, гастропротективно, хепатопротективно, противовъзпалително, антихолинестеразно, стимулиращо ЦНС и общо тонизиращо действие (Tabanca et al., 2001). Представители на род *Micromeria* се използват в народната медицина за лечение на сърдечни заболявания, респираторни заболявания (астма), главоболие, рани и кожни инфекции (Mladenova et al., 2021).

Micromeria frivaldszkyana (Degen) Velen. многогодишно тревисто растение,

разпространено предимно в скалистите райони на Централна и Източна Стара Планина в България. Видът е ендемично за България растение, включено в Червената книга на Република България в категорията „застрашени растения” (Peev, 2015). По тази причина данните в достъпната литература за вида са ограничени.



А

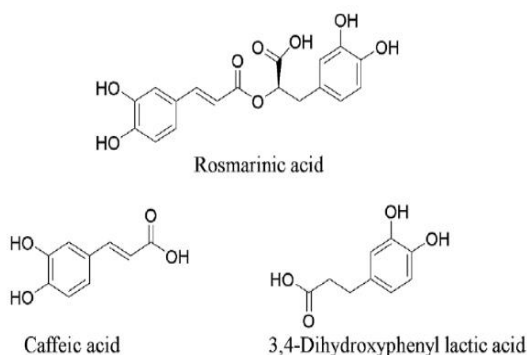
Б

Фигура 1. *Micromeria frivaldszkyana*.

А: Общ изглед в натуралния му хабитат; Б: Общ изглед с цветя

ФИТОХИМИЧЕН СЪСТАВ

Тънкослойна хроматография на метанолов екстракт от растението показва наличието на рутин, кверцетин, нарингин, хлорогенова и розмаринова киселина, кемпферол 3-рутинозид и кверцетин 3-рутинозид (Vukelić, 2015). Нови изследвания разкриват по-детайлна информация за фитохимичния състав на растението. В надземните части на *Micromeria frivaldszkyana* е установено съдържанието на въглехидрати (от които най-голям дял има глюкозата), органични киселини и полифеноли. От органичните киселини най-високо е съдържанието на хининова киселина, следвана от лимонена и сукцинова киселина. *Micromeria frivaldszkyana* се отличава с много високо съдържание на розмаринова киселина ($2040.1 \pm 15.76 \text{ mg}/100 \text{ g}$). Други фенолни киселини с високо съдържание са ваниловата, кафеената и салициловата киселина (Mladenova et al. 2021). Розмариновата киселина (РК) е водоразтворим естер на кафеената киселина и 3,4-дихидроксифенил млечната киселина (фиг. 2). Тя се съдържа в по-големи количества в представителите на сем. Lamiaceae и най-вече в розмарина (*Rosmarinus officinalis*), откъдето произлиза и наименованието ѝ.

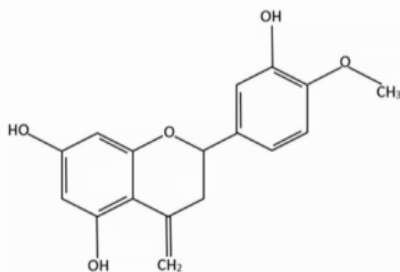


Фигура 2. Химична структура на розмариновата киселина и нейните прекурсори кафеена киселина и 3,4-дихидроксифенил млечна киселина.

Розмариновата киселина се отличава с антиоксидантно, противовъзпалително, невропротективно действие (Rocha et al., 2015; Elufioye et al., 2019; Ghasemzadeh Rahbardar & Hosseinzadeh, 2020). Литературните данни еднозначно показват антидепресантното действие на розмариновата киселина in vivo (Takeda et al., 2002; Sasaki et al., 2013). Съществуват данни за антиепилептично действие на РК при гризачи (Grigoletto et al., 2016). Розмариновата киселина (РК) проявява антиноцицептивно действие при абдоминален констрикторен тест с оцетна киселина, тест гореща плоча и формалинов тест при мишки. Установено е значително

понижаване на отока на задна лапа на мишки, предизвикан от инжектиране на карагенан (Boonyarikpunchai et al., 2014). Розмариновата киселина е показала хепатопротективно действие при модел на липополизахарид-индуцирана хепатотоксичност при мишки (Osakabe et al., 2002). Розмариновата киселина понижава тежестта на чернодробното увреждане, предизвикано от тетрахлорометан при мишки (Domitrović et al., 2013). Сходни резултати са получени и при друг модел на чернодробна фиброза, предизвикана чрез приложение на тиаоацетамид (El-Lakkany et al., 2017).

Флавоноидите са голяма група фенолни съединения, съдържащи се в голям брой нисши и висши растения. Флавоноидите притежават разнообразни биологични активности, което ги превръща в обект на интензивни изследвания. В *Micromeria frivaldszkyana* са доказани хесперидин, епикатехин, кемпферол, кверцетин и апигенин, като хесперидинът е в най-голямо количество (Mladenova et al. 2021).



Фигура 3. Химична структура на хесперидин

Хесперидинът (фиг. 3) е флавоноид, съдържащ се по-голямо количество в citrusовите плодове (лимон, портокал, лайм) и притежаващ антиоксидантен, противовъзпалителен, аналгетичен, противотуморен, противовирусен, антикоагулантен, хипогликемичен ефект (Tabeshpour et al., 2020). За хесперидинът е установено хепатопротективно действие при модел на хепатотоксичност, индуцирана с LPS при мишки, както и при етанол-индуцирана хепатотоксичност (Kawaguchi et al., 2004). Редица автори докладват хепатопротективното му действие и при модел на чернодробно увреждане, предизвикано от тетрахлорометан (Chen et al., 2013; AbdulazizAhmeedahRabee et al., 2018; Perez-Vargas et al., 2005), както и при модел на парацетамол-индуцирана токсичност при гризачи (Ahmad et al., 2012).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Видът *Micromeria frivaldszkyana* се отличава с богато съдържание на розмаринова киселина и хесперидин, които се характеризират с изразена антиоксидантна, противовъзпалителна и хепатопротективна активност. Изследванията върху фитохимичния състав на растението са основа за разкриване и изучаване на биологичния му потенциал.

ЛИТЕРАТУРА

AbdulazizAhmeedahRabee, A., & Bennisir, H. A. (2018). Hesperidin an antioxidant flavonoid prevents carbon tetrachloride-induced hepatic toxicity in male albino rats. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 5, 127–132.

Ahmad, S. T., Arjumand, W., Nafees, S., Seth, A., Ali, N., Rashid, S., et al. (2012). Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in Wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis, and inflammation. *Toxicology Letters*, 208(2), 149–161.

Boonyarikpunchai, W., Sukrong, S., & Towiwat, P. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 51, 1087–1090.

Chen, S. Y., Chyau, C. C., Chu, C. C., Chen, Y. H., Chen, T. H., & Duh, P. D. (2013). Hepatoprotection using sweet orange peel and its bioactive compound, hesperidin, for CCl₄-induced liver injury in vivo. *Journal of Functional Foods*, 5, 1591–1600.

Domitrović, R., Skoda, M., Vasiljev Marchesi, V., Cvijanović, O., Pernjak Pugel, E., & Stefan, M. B. (2013). Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon

tetrachloride-intoxicated mice. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 370–378.

El-Lakkany, N. M., El-Maadawy, W. H., Seif El-Din, S. H., Hammam, O. A., Mohamed, S. H., Ezzat, S. M., et al. (2020). Rosmarinic acid attenuates hepatic fibrogenesis via suppression of hepatic stellate cell activation/proliferation and induction of apoptosis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10, 444–453.

Elufioye, T. O., & Habtemariam, S. (2019). Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108600.

Ghasemzadeh Rahbardar, M., & Hosseinzadeh, H. (2020). Effects of rosmarinic acid on nervous system disorders: An updated review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393, 1779–1795.

Grigoletto, J., Oliveira, C. V., Grauncke, A. C., Souza, T. L., Souto, N. S., Freitas, M. L., et al. (2016). Rosmarinic acid is anticonvulsant against seizures induced by pentylenetetrazol and pilocarpine in mice. *Epilepsy & Behavior*, 62, 27–34.

Kawaguchi, K., Kikuchi, S., Hasunuma, R., Maruyama, H., Yoshikawa, T., & Kumazawa, Y. (2004). A citrus flavonoid hesperidin suppresses infection-induced endotoxin shock in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 679–683.

Mladenova, T., Stoyanov, P., Denev, P., Dimitrova, S., Katsarova, M., Teneva, D., et al. (2021). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the Balkan endemic *Micromeria frivaldszkyana* (Degen) Velen. (Lamiaceae). *Plants*, 10, 710.

Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., Sanbongi, C., Kato, Y., Osawa, T., et al. (2002). Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 798–806.

Pedersen, J. A. (2000). Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 229–253.

Peev, D. (2015). *Red Data Book of the Republic of Bulgaria, Volume 1, Plants and Fungi*. Sofia, Bulgaria: BAS & MoEW.

Perez-Vargas, J. E., Pilkhwal, S., Kuhad, A., & Chopra, K. (2005). Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacology*, 5(2), 1–8.

Rocha, J., Eduardo-Figueira, M., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., Bronze, R., et al. (2015). Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 116, 398–413.

Sasaki, K., El Omri, A., Kondo, S., Han, J., & Isoda, H. (2013). *Rosmarinus officinalis* polyphenols produce antidepressant-like effect through monoaminergic and cholinergic functions modulation. *Behavioural Brain Research*, 1, 86–94.

Tabanca, N., Kirimer, N., Demirci, B., Demirci, F., & Baser, K. H. C. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4300–4303.

Tabeshpour, J., Hosseinzadeh, H., Hashemzaei, M., & Karimi, G. (2020). A review of the hepatoprotective effects of hesperidin, a flavanone glycoside in citrus fruits, against natural and chemical toxicities. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28, 305–317.

Takeda, H., Tsuji, M., Matsumiya, T., & Kubo, M. (2002). Identification of rosmarinic acid as a novel antidepressive substance in the leaves of *Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo (*Perillae Herba*). *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 22, 15–22.

Vukelić, D. (2015). *Phytochemical characterization of polyphenols from Micromeria frivaldszkyana* (Deg.) Vel. (Lamiaceae). MSc Thesis, University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Zagreb.

**АНАЛИЗ НА ДИАГНОСТИЧНИТЕ И ТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ
ПРИ ПАЦИЕНТИ С АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТОНИЯ ЧРЕЗ
МЕТОДИТЕ ЗА ИЗМЕРВАНЕ НА ЛЕКАРСТВЕНАТА
ИЗПОЛЗВАЕМОСТ И РАЦИОНАЛНАТА ЛЕКАРСТВЕНА
УПОТРЕБА НА МАКРОРАВНИЩЕ В БЪЛГАРИЯ –
СИСТЕМАТИЧЕН ПРЕГЛЕД**

**Стефка Стоянова¹, Николай Начев¹, Емануил Йорданов¹,
Иван Груев², Ива Първова³, Емил Христов¹**

¹ Факултет по химия и фармация,

Софийски университет „Св. Климент Охридски“

² Национална многопрофилна транспортна болница „Цар Борис III“

**³ Клиника по ревматология, Катедра по вътрешни болести,
Медицински университет – София**

Резюме: *Цел:* Да определим честотата и значимостта на научни публикации, посветени на методологията на СЗО за лекарствената използваемост и рационалната лекарствена употреба като средство за оценка на ефективността на лечението на пациенти с есенциална артериална хипертония.

Материали и методи: Извършихме ретроспективен систематичен преглед на научни публикации от специализирана научна литература, чрез търсене по предварително зададени ключови думи. Търсенето се осъществи в база-данни MEDLINE и Централна медицинска библиотека към Медицински университет – София за периода от януари 1990 г. до декември 2020 г. За 30-годишния период открихме 154 научни публикации. Статиите подбрахме в съответствие с препоръките на Cochrane Collaboration и Ръководството за предпочитани елементи за докладване на систематични прегледи и мета-анализи (PRISMA). В заключителния анализ са включени 3 статии, които напълно отговарят на предварително зададените критерии.

Резултати и обсъждане: Артериалната хипертония е социалнозначимо заболяване, което, ако не се мониторира и лекува съобразно индивидуалните нужди на пациента, може да доведе до сърдечни, мозъчни и бъбречни увреждания. Въпреки плетората от научни публикации, анализиращи артериалната хипертония, за обследвания от нас период от 30 години, открихме едва 3 статии, посветени на необходимостта от проучване на лекарствената използваемост и рационалната лекарствена употреба при лечение на есенциална хипертония в реалната клинична практика. Липсата на представителни проучвания на количествените и качествените измерители на лекарственото потребление е сериозен проблем пред системата на здравеопазването.

Ключови думи: есенциална артериална хипертония, лекарствена използваемост, рационална лекарствена употреба, дефинирана дневна доза (DDD), DDD/1000

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Световната здравна организация (СЗО) дефинира лекарствената използваемост още през 1977 година като „маркетинг, разпространение, предписване и употреба на лекарствени продукти сред обществото със специален акцент върху произтичащите от това медицински, социални и икономически последици“ (WHO, 2003). От друга страна, параметрите на

лекарствената използваемост дават възможност да се определи и рационалната лекарствена употреба, която налага пациентът да получава лекарствен продукт, подходящ за неговите медицински нужди, в дози, които да посрещнат неговите индивидуални потребности за достатъчен период от време и на възможно най-ниска цена както за него, така и за обществото (WHO, 2001). За да могат да бъдат сравнявани различни терапии, без значение времеви период, в който са приемани или държавите, в които са предписвани, СЗО създава синхронизиран показател – дефинирана дневна доза (DDD). DDD е средната поддържаща доза от лекарствен продукт, предписан за лечение на възрастни пациенти по основното терапевтично показание. Анализването на рационалната лекарствена употреба дава възможност да се оцени качеството и ефективността на системата за профилактика и ранно откриване на заболяването, програмите за превенция и здравословен начин на живот, спазването на препоръките на наличните и валидни фармакотерапевтични ръководства в реалната клинична практика.

Артериалната хипертония (АХ) е хронична незаразна болест и се дефинира като измерено в лекарски кабинет систолно артериално налягане ≥ 140 mmHg и/или диастолно артериално налягане ≥ 90 mmHg. Дефинирани са два основни вида артериална хипертония – първична и вторична. А в зависимост от наличието и степента на увреждане на прицелните органи, според класификацията на СЗО, артериалната хипертония преминава през три стадия: I стадий – без органични увреждания; II стадий – леки органични увреждания – хипертрофия на лявата сърдечна камера, начална ретинопатия, наличие на белтък в урината, незначително повишен креатинин; III стадий – тежки органични увреждания – сърдечна недостатъчност, мозъчен инсулт, хипертонична енцефалопатия, бъбречна недостатъчност (Stoyanova PhD thesis, 2023).

Според СЗО около 1,28 милиарда души по света имат хипертония, като около 2/3 от тях живеят в страни с ниски или средни доходи. Статистическите данни сочат, че по-малко от половината възрастни пациенти с хипертония са диагностицирани и се лекуват, като от тях приблизително 1 на всеки 5 души е с контролирана хипертония (WHO, 2023). Поради увеличаващия се брой хора с наднормено тегло, уседнал начин на живот и прекомерна употреба на алкохол и цигари, още в началото на 21-ви век СЗО алармира за причинно-следствена връзка със световната епидемия от нарастващи случаи на сърдечносъдови заболявания. Въпреки, че смъртността при хипертоничните болести е предотвратима чрез въвеждането на добри програми за превенция и профилактика, в България през 2021 г. сърдечносъдовите болести водят до 54,5 % от всички смъртни случаи (ЕС, 2023). В световен мащаб артериалната хипертония остава водеща причина за преждевременна смърт (WHO, 2023).

Иницирането на лечение при пациенти, които са диагностицирани с артериална хипертония има за цел да понижи и да поддържа артериалното налягане до таргетните стойности (120-130 mmHg за систолно артериално налягане и/или 70-80 mmHg за диастолното артериално налягане) за пациентите на възраст до 65 години. За пациентите над 65-годишна възраст и особено тези над 80 години се допускат и малко по-високи стойности на АН.

Европейското кардиологично дружество (European Society of Cardiology – ESC) съвместно с Европейското дружество по хипертония (European Society of Hypertension – ESH) разработват препоръки за поведение при артериална хипертония. Нефармакологичната терапия включва промяна и/или изключване на т.нар. модифицируеми рискови фактори (начин на живот, консумация на готварска сол, алкохол и тютюнопушене), която при тежките форми на АХ се съчетава с фармакологична терапия. При избор на лекарствени продукти се използва стъпаловиден подход – препоръчва се лечението да започне с комбиниран лекарствен продукт (АСЕ-инхибитор или АРБ с калциев антагонист или диуретик), като при непостигане на контрол на артериалното налягане, се преминава към лекарствен продукт, съдържащ 3 активни вещества. Бета-блокери могат да се използват на всяка стъпка от терапията при наличие на съпътстващи заболявания като ИБС, СН, предсърдно мъждене или при жени, планиращи бременност. Когато артериалното налягане не може да се контролира по посочения механизъм, се прибегва към друг клас

антихипертензивни лекарствени продукти (бета-блокери, α -блокери, централнодействащи ЛП, минералкортикоидни рецепторни блокери), (Authors/Task Force Members, 2018).

2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Систематичният преглед е обобщение на медицинската литература, което позволява да се синтезират резултати от множество първични проучвания и свежда до минимум отклоненията и случайните грешки при обработването им. Ръководството за предпочитани елементи за докладване на систематични прегледи и мета-анализи (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines) включва насоки за минимален набор от елементи за докладване в систематични прегледи и мета-анализи. PRISMA може да се прилага както при обобщение на рандомизирани клинични изпитвания, така и при докладване на систематични прегледи от друг тип изпитвания (Moher, 2010).

Взимайки предвид предимствата на този вид оценка на проучванията, проведохме систематичен преглед на научни публикации, който извършихме в съответствие с препоръките на Cochrane Collaboration и PRISMA. Изготвихме протокол на изследването в съответствие с PRISMA 2009 Checklist, с предварително определени – тема, дизайн, стратегия за търсене, включващи и изключващи критерии, методи за събиране на данни, анализ на данни и статистическа оценка. Не сме регистрирали протокола в International prospective register of systematic reviews (PROSPERO), тъй като се ограничаваме до систематичен преглед на научни публикации (Hutton, 2015).

Темата на систематичния преглед е анализ на диагностичните и терапевтични стратегии при пациенти с артериална хипертония чрез методите за измерване на лекарствената използваемост и рационалната лекарствена употреба на макроравнище в България. Дизайн на проучването: ретроспективен анализ. Стратегия за търсене: проведохме активно издирване на научни публикации по следните ключови думи – есенциална артериална хипертония, лекарствена използваемост, рационална лекарствена употреба, дефинирана дневна доза (DDD), DDD/1000. Период на проучването и видове бази данни: търсенето на научни публикации бе проведено в международни и национални бази данни – MEDLINE и Централна медицинска библиотека – МУ-София, за периода от януари 1990 г. до декември 2020 г. Открихме общо 154 научни публикации. Оценявани резултати и критерии за включване: анализирахме само научни публикации, съдържащи съобщения за есенциална хипертония. Критериите за включване на научните публикации в анализите, са следните – научната статия да съдържа данни за есенциална артериална хипертония, лекарствена използваемост, рационална лекарствена употреба, пациентите да провеждат лечение с разрешени за употреба в България антихипертензивни лекарствени продукти.

3. РЕЗУЛТАТИ

Подборът на анализирани научни публикации, проведен в съответствие със стратегията за търсене, е представен като PRISMA flow-diagram (Фигура 1).

Търсенето на научни публикации в литературата ограничихме до текстове, публикувани на английски и български език. При така поставено условие и предварително заложените ключови думи открихме общо 154 научни статии. Скринирахме откритите 154 заглавия и резюмета, последвано от търсене на пълните текстове на статиите. Изключихме 151 статии, тъй като не съдържат данни за есенциална артериална хипертония, лекарствена използваемост, рационална лекарствена употреба, дефинирана дневна доза. Само 3 научни публикации бяха избрани за извличане на данни и включване в систематичния преглед.

4. ОБСЪЖДАНЕ

През 2002 година авторски колектив Girerd X. и сътрудници, представя проучване, което оценява стратегията за лечение на антихипертензивни пациенти с неуспех от предписана монотерапия. Пациентите, които взимат участие в проучването, са с АН > 140/90 mmHg и са разделени в две групи – едната е лекувана с АСЕ-инхибитор, АРБ или бета-блокери, а другата – с калциев антагонист или тиазиден диуретик. Ако 3 месеца след началото, пациентите са постигнали АН < 140/90 mmHg, се счита, че поставената цел е постигната.

Резултатите показват, че месец след иницирането на антихипертензивна терапия, 40% от пациентите постигат оптимално ниво на артериалното налягане, 52% с неконтролирано ниво нямат нежелани лекарствени реакции, а други 8% с неконтролирано ниво докладват проява на НЛР. Три месеца след началото на лечението 84% от пациентите постигат таргетното АН, на 52% се предписва фиксирана комбинация (Girerd, 2002).



Фигура 1. Преглед на процеса на търсене – PRISMA блок-схема

Няколко години по-късно, Mankadavath и сътрудници, представят проспективен преглед на лекарствената употреба на антихипертензивни лекарства при хоспитализирани пациенти с диагностицирана есенциална хипертония в област Малабар, Индия. Артериалната хипертония се счита за един от най-разпространените здравни проблеми, както в развитите страни, така и в страните от Третия свят. Авторите посочват, че изборът за лечение на хипертонията, се променя в кратки интервали, което се дължи на редица фактори – ефективност, нежелани лекарствени реакции, както и разходи за лекарствените продукти. Авторите подчертават необходимостта от анализ на лекарствената употреба, за да се определи дали тя е рационална, ефективна и в съответствие с актуалните международни и национални препоръки за лечение на есенциална хипертония. Резултатите от проведен анализ показват, че най-често предписваните класове антихипертензивни лекарства са АРБ, калциеви антагонисти и бета-блокери. 32% от пациентите получават един лекарствен продукт за нормализиране на артериалното налягане, а останалите 68% са с назначена комбинирана терапия. Авторите считат, че за поддържане на оптимални нива на артериалното налягане, е необходимо строго придържане към утвърдените терапевтични ръководства, а за индикатор дали те се прилагат – регулярното провеждане на фармакоепидемиологични проучвания на лекарствената употреба (Mankadavath, 2015).

През 2015 година е публикуван научен труд, анализиращ инициращата антихипертензивна терапия в България. Негова цел е да се оцени каква е водещата терапевтичната стратегия за започване на лечение на нелекувани до момента хипертоници

(Raev, 2015). Авторът достига до заключението, че първоначалната терапия на АХ в България, започва години след диагностицирането, когато вече има развити тъканно-органични увреждания. Практиката показва, че на национално равнище, най-често лечението започва с двойна комбинация от бета-блокери с АРБ или АСЕ-инхибитор и бета-блокери (Raev, 2015).

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въпреки наличието на голям обем от научна литература на тема есенциална артериална хипертония, извършеният от нас анализ показва, че липсват публикационни данни относно фармакоепидемиологията на артериалната хипертония, както на национално равнище, така и в международен аспект. От всички открити статии за избрания 30-годишен период, едва 3 отговарят на заложените критерии. И в 3 статии авторските колективи възприемат концепцията за измерване на лекарствената използваемост като ключова за подобряване качеството на живот на пациентите, тъй като това дава възможност на предписващите да определят дали терапията е в съответствие с валидните фармакотерапевтични ръководства и дали е ефективна по отношение нормализиране на артериалното налягане. Авторите правят сравнение между ефективността от назначена монотерапия и предписан комбиниран лекарствен продукт, демонстрирайки по-високо ниво на контрол на артериалното налягане при избор на лекарствен продукт, съдържащ повече от едно активно вещество. И макар тези заключения да следват добрите практики за лечение на артериална хипертония на ESH и ESC, данните от реалната клинична практика в България показват девиации в предписването, които са обект на анализ в друго наше проучване (Nachev, 2022; Stoyanova, 2023).

ЛИТЕРАТУРА

World Health Organization (WHO). (2003). *Introduction to drug utilization research*. Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/8280820396>

World Health Organization (WHO). (2001). *How to develop and implement a national drug policy* (2nd ed.). Retrieved from <https://www.who.int/publications-detail-redirect/924154547X>

Stoyanova, S. (2023). *PhD thesis – Analysis of diagnostic and therapeutic strategies in patients with arterial hypertension by the methods of measuring drug utilization and rational drug use at the macro level in Bulgaria*.

World Health Organization (WHO). (2023). *Hypertension*. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>

European Commission (EC). (2023). *State of Health in the EU. Bulgaria – Country Health Profile 2023*. Retrieved from https://read.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/2023_12bffa71-bg#page1

Authors/Task Force Members. (2018). ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 39(33), 3021–3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D., & The PRISMA Group. (2010). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *International Journal of Surgery*, 8(5), 336–341. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2010.02.007>

Hutton, B., Salanti, G., Caldwell, D., et al. (2015). The PRISMA extension statement for reporting of systematic reviews incorporating network meta-analyses of health care interventions: Checklist and explanations. *Annals of Internal Medicine*, 162(11), 777–784. <https://doi.org/10.7326/M14-2385>

Girerd, X., Hanon, O., Babici, D., et al. (2002). Rational choice for second antihypertensive agent after failure of the first monotherapy: Therapeutic strategy. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*, 95(7–8), 723–726.

Mankadavath, A., Chandrasekhar, D., Thomas, T., et al. (2015). A prospective drug use evaluation of antihypertensive drugs in in-patients of a tertiary referral care hospital. *Journal of Basic & Clinical Physiology & Pharmacology*, 26(3), 295–300.

Raev, D., & Barkalova, D. (2015). Инициална терапия на артериалната хипертония в България - резултати от национален, проспективен, наблюдационен регистър. *Bulgarian Cardiology*, 21(1), 30–35.

Nachev, N., Stoyanova, S., Rangelov, A., Yordanov, E., Hristov, E., Parvova, I., & Petkova, V. (2022). Retrospective analysis of drug utilization and rational drug use in the treatment of uncomplicated essential arterial hypertension in Bulgaria. *Journal of Generic Medicines*, 18(2), 88–98.

Stoyanova, S., Yordanov, E., Petrova, L., & Hristov, E. (2023). Evaluation of the pharmacotherapeutic approaches for treatment of arterial hypertension by measuring the drug utilization. *Archives of the Balkan Medical Union*, Abstract book, p. 38.

TREATMENT OF DIABETES MELLITUS WITH BIOLOGICAL MEDICINAL PRODUCTS – THE NEW REALITY

Darin Todorov¹, Iva Parvova², Dzhansu Ilyaz¹,

Nikolay Nachev¹, Stefka Stoyanova¹

¹ Faculty of Chemistry and Pharmacy,

Sofia University "St. Kliment Ohridski"

² Clinic of Rheumatology, Department of Internal Medicine,
Medical University of Sofia

Abstract: Diabetes mellitus is one of the most frequently represented health problems worldwide. About 8% percent of the world's population aged 20-79 years is affected, with about 90% of patients having diabetes mellitus type 2 and about 10% having diabetes mellitus type 1. In type 1 due to autoaggression from the immune system, there is destruction of the pancreatic beta cells with loss of insulin secretion. Although the demographic distribution, type 1 diabetes is usually diagnosed in pediatric patients and young adults. *Aim:* To analyze the new therapeutic strategies, to comparatively evaluate the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of biological medicinal products for the treatment of type 1 diabetes mellitus. *Materials and Methods:* We conducted a systematic review of scientific publications, content analysis and documentary analysis. *Results and Discussion:* In recent years, there have been sufficient studies that products containing monoclonal antibodies might have pathogenetic relevance in the treatment of diabetes mellitus type 1. Is the autoaggression and beta cell destruction preventable and treatable? In November 2022, the FDA launched the world's first monoclonal antibody for the treatment of diabetes mellitus type 1, Teplizumab, a humanized anti-CD3 monoclonal antibody that binds to certain cells of the immune system, slows progression, inactivates immune cells that attack insulin-producing cells, while mitigating the immune response. Are we on the verge of a new therapeutic revolution...?

Keywords: diabetes mellitus, biological medicinal products, monoclonal antibodies, insulin

1. INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is recognized as one of the most significant problems worldwide - nearly half a billion people (about 8% of the world's population) are affected. According to the International Diabetes Federation (IDF), in 2017 the disease affected around half a billion people worldwide, or 8.8% of the population aged between 20 and 79 years, with around 90% of patients suffering from type 2 DM and around 10% having type 1 DM.

DM is a metabolic disease characterized by hyperglycemia that results from impaired insulin secretion, insulin action, or both together. The rise in blood glucose levels is due to absolute or relative insulin deficiency. Chronic hyperglycemia leads to subsequent complications of various organs, mainly affecting the retina, peripheral nerves, kidneys, small and large blood vessels, and four classic complications of diabetes mellitus are formed - microangiopathy, diabetic nephropathy, diabetic polyneuropathy, and macroangiopathy. The etiological classification of diabetes mellitus is widely accepted – Table 1.

Type 1 DM is characterized by an absolute deficiency of insulin secretion or its reduced efficiency (or both). It is due to destruction of the beta cells of the pancreas. Statistically, the most significant cause after which the disease manifests itself is illness from a viral infection. Demographics suggest that it occurs in patients in the pediatric population, but occasionally in adults. Treatment of type 1 DM requires insulin without fail.

Table 1. Classification of diabetes mellitus

Diabetes mellitus type 1	Presence of β – cell destruction of the islands of Langerhans of the pancreas, leading to absolute insulin deficiency: - Autoimmune; - Idiopathic.
Diabetes mellitus type 2	Result of progressive insulin secretory defect on the background of insulin resistance.
Other specific types – due to other causes	Other endocrine diseases, pancreatic diseases, influence of medicinal products and chemical compounds, infections, diabetes during pregnancy, genetic defects.

Type 2 DM is characterized in that insulin, despite its high levels, does not work effectively. This is due to tissue resistance, at the postreceptor cell level, to the action of insulin. Resistance leads to compensatory hyperglycemia. About 80% of patients are obese, which is a leading cause of insulin resistance. Treatment with a series of drugs, such as corticosteroids, nonselective beta-blockers, and thiazide diuretics, may be involved in the manifestation of the disease.

The clinical picture of DM manifests with the three P's syndrome: polyuria, polydipsia and polyphagia. Patients with type 1 DM exhibit easy fatigability, gastrointestinal disturbances and general weakness. In type 2 DM, dry skin, pruritus, difficult-to-heal genitourinary infections, numbness of lower extremities, tingling, and oral candidiasis are seen.

The diagnosis of DM is made by 4 methods:

1. Two consecutive fasting blood glucose measurements above 7 mmol/L.
2. Two consecutive fasting blood glucose measurements above 11 mmol/L; 2.
3. Oral glucose tolerance test - the patient drinks 75 g of glucose dissolved in 250 ml of water, then a measurement is taken on the 2nd hour of intake. A result of 11 mmol/L is cause for diagnosis of DM.
4. Glycated hemoglobin (HbA1c) values - values above 6.5% are cause for diagnosis of DM.

Regular monitoring of blood glucose concentration is crucial for good glycemic control of the disease. Existing methodologies are: 1) Home self-monitoring of blood glucose (test strips using glucometers) to assess fasting glycaemia and postprandial urine testing for glucose and ketone bodies; 2) Testing of glycated hemoglobin (HbA1c).

2. METHODS AND MATERIALS

We conducted a retrospective review of scientific publications, publicly available databases, regulatory documents, and validated guidelines. The aim of the study is to show the latest trends and guidelines for the treatment of type 1 DM with drugs containing monoclonal antibodies.

3. DISCUSSION

Recent treatment strategies for type 1 DM include the use of the medicinal product Teplizumab, which is being marketed for the first time in the United States in 2022. Teplizumab targets a CD3 monoclonal antibody with a molecular weight of approximately 150 kilodaltons (kDa) that is expressed by a recombinant Chinese hamster ovary cell line. Teplizumab binds to CD3 (a T lymphocyte cell surface antigen) and delays the onset of stage 3 type 1 diabetes in adult and pediatric patients aged 8 years and older with stage 2 type 1 diabetes. The mechanism may involve partial agonist signaling and inactivation of autoreactive T lymphocytes on pancreatic beta cells. Teplizumab leads to an increase in the proportion of regulatory T cells and exhausted CD8+ T cells in peripheral blood.

The route of administration of Teplizumab is intravenously as an infusion for at least 30 min. Therapy should be continued for at least 14 consecutive days, with the dose calculated on a body surface area basis as follows:

Day 1: 65 mcg/m²
Day 2: 125 mcg/m²
Day 3: 250 mcg/m²
Day 4: 500 mcg/m²
Day 5 to 14: 1030 mcg/m²

Clinical studies have shown that Teplizumab binds to CD3 molecules on the surface of CD4+ and CD8+ T cells, with the Teplizumab/CD3 complex being internalized from the T cell surface. Pharmacodynamic effects include lymphopenia in the absence of T-cell depletion on day 5 of dosing, during a 14-day course of treatment. The exposure-response relationship of Teplizumab and the time course of the pharmacodynamic response for safety and efficacy have not been fully characterized.

One of the most severely manifested adverse drug reactions in Teplizumab-treated patients is cytokine release syndrome (CRS). In clinical trials, CRS was reported in 5% of Teplizumab-treated patients, compared to 0.8% of control-treated patients, during the treatment period and up to 28 days after the last administration of study drug. Manifestations of CRS in Teplizumab-treated patients included fever, nausea, fatigue, headache, myalgia, arthralgia, elevated alanine aminotransferase (ALT), elevated aspartate aminotransferase (AST), and elevated total bilirubin. These manifestations usually appear during the first 5 days of treatment.

Bacterial and viral infections have been reported in patients treated with Teplizumab. In clinical trials, patients treated with Teplizumab had a higher rate of serious infections (3.5%) compared to patients treated with the control group (2%), including gastroenteritis, cellulitis, pneumonia, abscess, sepsis. Teplizumab use is not recommended in patients with an active serious infection or chronic infection other than localized skin infections.

In clinical trials, 78% of patients treated with Teplizumab developed lymphopenia compared to 11% of patients in the control group. In most patients who developed lymphopenia, lymphocyte levels recovered after the fifth day of treatment and returned to pre-treatment values within two weeks of completing treatment and without dose interruption. Severe lymphopenia (<500 cells per mcL) lasting 1 week or longer occurred in 0.9% of patients treated with Teplizumab, and 0.5% of patients discontinued treatment permanently due to lymphopenia.

The requirements for the use of Teplizumab in certain special patient groups (pregnant, breastfeeding, elderly) have not been formulated due to a lack of a sufficient data set. Use in children has been established as safe, for patients 8 years of age and older. Adverse drug reactions occurring in this population are in concordant pathology and frequency with those in adult patients.

4. CONCLUSIONS

Being diagnosed with type 1 diabetes means a drastic change in patients' lifestyles. The need for compulsory daily insulin administration several times can adversely affect the psyche of some patients. Delaying the first manifestations of type 1 DM symptoms is a major step in medicine. Despite the large array of adverse drug reactions, Teplizumab has shown promising results in the treatment of type 1 DM. Are we one step away from being able to 'cure' type 1 DM and one step away from a new therapeutic revolution...?

REFERENCES

- Yordanov, E., Hristov, E., Parvova, I., Petkova, V., & Andreevska, K.** (2020). Diagnostic and prognostic value of glycated hemoglobin (HbA1c) in patients with diabetes mellitus and thalassemia. *Acta Medica Bulgarica*, 47(3), 12–16. <https://doi.org/10.2478/amb-2020-0027>
- Herold, K. C., Gitelman, S., Greenbaum, C., Puck, J., Hagopian, W., Gottlieb, P., Sayre, P., Bianchine, P., Wong, E., Seyfert-Margolis, V., Bourcier, K., & Bluestone, J. A.** (2009). Treatment of patients with new onset type 1 diabetes with a single course of anti-CD3 mAb Teplizumab preserves insulin production for up to 5 years. *Clinical Immunology*, 132(2), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.04.007>
- Sherry, N., Hagopian, W., Ludvigsson, J., Jain, S. M., Wahlen, J., Ferry, R. J., Jr, Bode, B., Aronoff, S., Holland, C., Carlin, D., King, K. L., Wilder, R. L., Pillemer, S., Bonvini, E., Johnson, S., Stein, K. E., Koenig, S., Herold, K. C., & Daifotis, A. G.** (2011). Teplizumab for

treatment of type 1 diabetes (Protégé study): 1-year results from a randomized, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 378(9790), 487–497. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60931-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60931-8)

Heidari, E., Shafiee, A., Noorian, S., Rafiei, M. A., Abbasi, M., Amini, M. J., Safari, O., Aghamahdi, F., & Bakhtiyari, M. (2024). Efficacy of teplizumab for treatment of type 1 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 40(4), e3806. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3806>

Weiskorn, J., & Danne, T. (2024). Moving from insulin substitution to the treatment of the underlying autoimmune disease in type 1 diabetes. *Hormone Research in Paediatrics*. <https://doi.org/10.1159/000539120>

Grando Alves, G., Cunha, L., Henkes Machado, R., & Lins de Menezes, V. (2024). Safety and efficacy of teplizumab in the treatment of type 1 diabetes mellitus: An updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes, Obesity & Metabolism*. <https://doi.org/10.1111/dom.15581>

Bombaci, B., Passanisi, S., Pecoraro, M., Sorrenti, L., Papa, M., Salzano, G., & Lombardo, F. (2024). Use of teplizumab in children and adolescents at risk of type 1 diabetes: Perspectives of parents and caregivers from an Italian Pediatric Diabetes Center. *Acta Diabetologica*, 61(5), 635–642. <https://doi.org/10.1007/s00592-024-02245-w>

Thakkar, S., Chopra, A., Nagendra, L., Kalra, S., & Bhattacharya, S. (2023). Teplizumab in type 1 diabetes mellitus: An updated review. *TouchREVIEWS in Endocrinology*, 19(2), 22–30. <https://doi.org/10.17925/EE.2023.19.2.7>

НУТРИВИЖИЛАНС – ПРОСЛЕДЯВАНЕ БЕЗОПАСНОСТТА НА ХРАНИТЕЛНИТЕ ДОБАВКИ В ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ

Катерина Славчева¹, Радиана Стайнова²,
Евелина Гавазова², Даниела Кафалова²

¹ Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив

² Катедра по организация и икономика на фармацията,
Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив

NUTRIVIGILANCE OF FOOD SUPPLEMENTS IN THE EUROPEAN UNION

Katerina Slavcheva¹, Radiana Staynova²,
Evelina Gavazova², Daniela Kafalova²

¹ Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv

² Department of Organization and Economics of Pharmacy,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Plovdiv

Abstract: In European Union (EU) legislation, there is no established harmonization regarding the requirements of food supplement composition, pre-marketing obligations, and post-marketing surveillance. In addition, no obligatory pre-marketing safety studies are conducted since the safety of the product is the responsibility of the manufacturer. Although the European Directive 2002/46/EC defines food supplements, the regulation of these products varies considerably from country to country. For example, some countries do not impose pre-marketing obligations under European directives, while others have established notification or authorization systems. Although food supplements are marketed under Regulation (EC) No. 432/2012, there are no mandatory pre-marketing efficacy studies for these products. Our study aims to describe and compare the existing national vigilance systems for reporting on the safety of food supplements in the EU. Additionally, we attempt to highlight the need for a European harmonized nutravigilance system. Of the 27 member states of the EU, 10 of them have implemented their own national food supplement adverse effects reporting systems (Belgium, Croatia, Czech Republic, Denmark, France, Hungary, Italy, Portugal, Slovenia, and Sweden). One of the first European countries to establish a national nutravigilance system was France. Between its launch in 2009 and the end of 2022, the French agency received 7,946 reports. Having a national nutravigilance system could help increase consumer safety by quickly identifying possible adverse effects associated with the consumption of food supplements. Gathering and analyzing the data on adverse events reported by health professionals (physicians, pharmacists, dietitians, etc.), consumers, manufacturers, or distributors will increase awareness and ensure the distribution of safe food supplements.

Keywords: food supplements, nutravigilance, adverse effects, EU

ВЪВЕДЕНИЕ

Няма общовалидна дефиниция за понятието „нутривижиланс“, но най-общо можем да го определим като термин, който се използва за описване мониторинга на нежеланите ефекти, свързани с употребата на хранителни добавки (ХД), функционални храни и други нутрицевтици (Luthra & Toklu, 2023). Това включва систематично събиране, анализ и оценка на информацията за нежеланите ефекти, свързани с употребата на тези продукти.

Нутриживиланс играе ключова роля за осигуряване на безопасност и ефикасност и е жизненоважен компонент на всяка цялостна стратегия за обществено здраве (Luthra & Toklu, 2023; Malve & Bhalerao, 2023) .

През последните години се наблюдава ръст в пазара на ХД (Ćwieląg-Drabek et al., 2020). Една от причините за това е погрешната представа, че ХД не крият никакви рискове за здравето на хората. Много често потребителите се доверяват изцяло на информацията представена в рекламните кампании и не търсят консултация с медицински специалист. За това допринася и широката достъпност на ХД и възможността за закупуването им от онлайн магазини (Malve & Fernandes, 2023). Все по-често ХД се използват с цел превенция и профилактика на различни хронични заболявания (Balkanska-Mitkova et al., 2022). В някои определени случаи употребата на ХД може да е препоръчителна и необходима. Въпреки това прекомерната и неконтролирана употреба, превишаването на препоръчания прием, както и потенциалните взаимодействия с лекарствени продукти, могат да представляват сериозни заплаха за здравето и дори да доведат до токсични ефекти (Korfali et al., 2013).

В Европейския съюз (ЕС) хранителните добавки се регулират като храни. Хармонизираното законодателство на ЕС регламентира витамините и минералите, както и веществата, използвани като техни източници, които могат да се използват при производството на ХД. За съставки, различни от витамини и минерали, Европейската комисия е установила хармонизирани правила за защита на потребителите срещу потенциални рискове за здравето и поддържа списък с вещества, за които е известно или се предполага, че имат неблагоприятни ефекти върху здравето и чиято употреба следователно се контролира. Тъй като ХД се считат за храни, отговорността на производителя, вносителя, или дистрибутора е да гарантира, че пуснатата на пазара ХД е безопасна (EFSA, 2018).

Европейското законодателство не задължава провеждането на проучвания за безопасност преди пускането на пазара на дадена ХД, но отговорност на производителя е да се увери, че ХД е безопасна. При определени условия обаче ХД, често възприемани като безопасни, могат да изложат потребителите на рискове. Броят на нежеланите ефекти, свързани с употребата на ХД, не е известен (Vo Van Regnault, 2022). Предполага се, че само 1% от тях са съобщавани (Binns et al., 2018; Vo Van Regnault, 2022).

Процесът на проследяване на безопасността на ХД се сблъсква с редица проблеми в Европа, където свободното движение на стоки през границите може да позволи на ХД, които са одобрени в една страна, да навлязат на пазара в друга страна, където не са били оценени. С други думи, когато някои отделни страни членки могат да имат механизми за оценка на ХД и уведомяване на потребителите преди пускане на пазара, ЕС не предоставя специфично законодателство в областта на проследяване безопасността на ХД. Събирането на данни от ЕС и хармонизирането на практиките за нутривижиланс са необходими от гледна точка на опазване на общественото здраве (Luthra & Toklu, 2023).

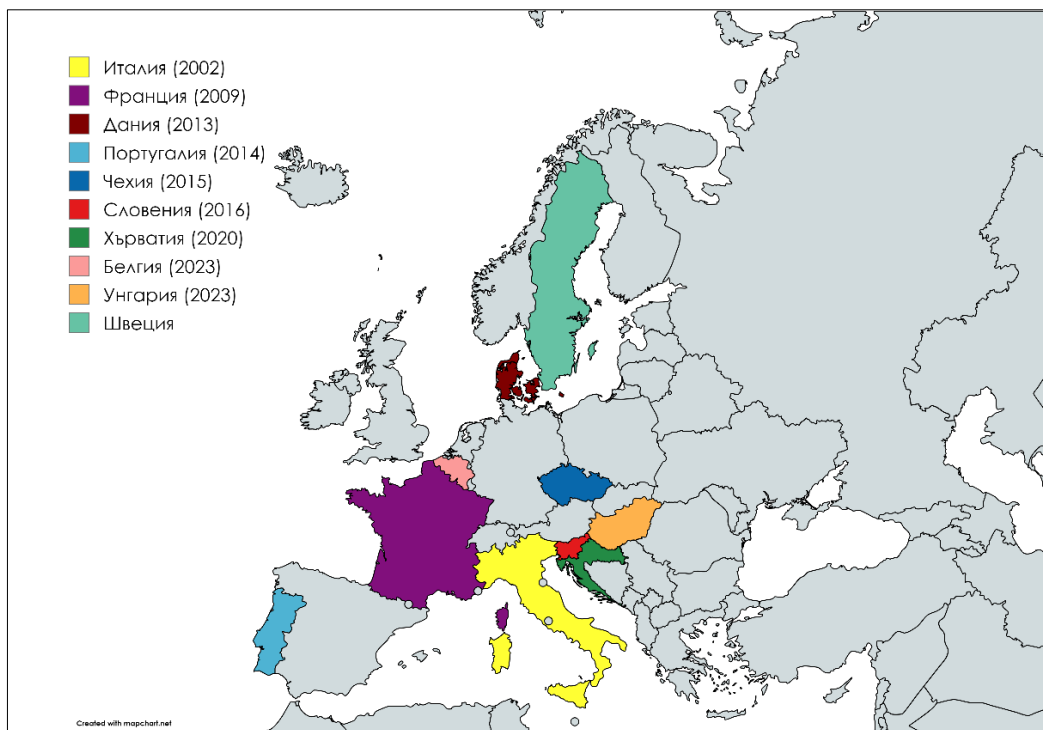
Целта на настоящото проучване е да се анализират и сравняват наличните национални системи за докладване на нежелани ефекти от употребата на хранителни добавки в страните от ЕС.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За целите на проучването е проведен документален и контент анализ на информацията включена в официалните уеб-страници на националните компетентни органи в областта на храните, в частност ХД, на държавите-членки на ЕС както и на конкретното национално законодателство. Информацията касаеща регулацията на безопасността на ХД и наличието на национална система за докладване на нежелани ефекти свързани с употребата на ХД в конкретната страна-членка, е извлечена и допълнително анализирана.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

От 27-те държави-членки на ЕС, десет от тях (Италия, Франция, Дания, Португалия, Чехия, Словения, Хърватия, Белгия, Унгария и Швеция) са въвели собствени национални системи за докладване на нежелани ефекти от употребата на ХД (Фиг. 1, Табл. 1).



Фигура 1. Страни-членки на ЕС, в които има въведена национална нутривижиланс система за докладване на нежелани ефекти от употребата на ХД

В някои страни чрез тези системи могат да се докладват само нежелани ефекти от употребата на ХД (напр. Унгария), а в други като Белгия и Франция докладването включва и функционални храни, диетични храни за специални медицински цели и др.

Първата страна-членка на ЕС, която въвежда национална нутривижиланс система е Италия през 2002 г. Според доклад на Italian Phytovigilance System в периода от 2002 г. до юни 2020 г. в базата данни са постъпили 1480 съобщения, свързани с ХД. В 30% от съобщенията са докладвани сериозни реакции, включващи животозастрашаващи събития, хоспитализация и дори смъртни случаи (Vo Van Regnault et al., 2022).

Една от най-добре функциониращите нутривижиланс системи в ЕС е тази на Франция. Тя е въведена през 2009 г. и се координира от Френската агенция за храни, околна среда, здравословни и безопасни условия на труд (ANSES). От старта си през 2009 г до края на 2022 г. в ANSES са постъпили 7 946 доклада. Медицински специалисти (лекари, фармацевти, диетолози и др.), потребители, производители и дистрибутори се призовават да докладват за всякакви нежелани ефекти, свързани с употребата на ХД. Нежеланите реакции могат да бъдат съобщени чрез онлайн портала за докладване на нежелани събития на Министерството на труда, здравеопазването и солидарността (<https://sante.gouv.fr/soins-etmaladies/signalement-sante-gouv-fr/>) или директно чрез попълване на онлайн формуляр на уеб сайта на ANSES (<https://www.nutrivigilance-anses.fr/>) (ANSES, 2022).

Португалската нутривижиланс система е въведена през 2014 г. от съответния национален компетентен орган - Генерална дирекция по храните и ветеринарните въпроси (DGAV) към Министерството на земеделието. От 2014 г. до средата на 2020 г. в DGAV са постъпили 136 доклада, от които 7 случая са свързани със сериозни неблагоприятни ефекти. Съобщенията са подадени от производители на ХД (59%), фармацевти (28%) потребители (7%) и лекари (5%) (Vo Van Regnault et al., 2022).

От най-скоро (2023 г.) функционират нутривижиланс системите на Унгария и Белгия. Унгарската система се поддържа от Унгарската асоциация на производителите и дистрибуторите на хранителни добавки.

Таблица 1. Информация относно националните компетентните органи и нутривижиланс системите в съответните държави членки на ЕС

Държава-членка на ЕС	Компетентен орган в областта на регулация на храните и ХД	Система за докладване на нежелани реакции от ХД
Белгия	SPF Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement Service Denrées alimentaires, Aliments pour Animaux et Autres Produits de Consommation https://www.health.belgium.be/fr	https://www.health.belgium.be/en/general-information-0
Хърватия	Ministry of Health https://zdravlje.gov.hr/	https://www.hzjz.hr/nutrivigilancija/
Чехия	Ministry of Health, Department of Public Health Protection https://www.mzcr.cz/	https://nutrivigilance.szu.cz/hlaseni.html
Дания	Danish Veterinary and Food Administration Chemistry and Food Quality Division https://en.foedevarestyrelsen.dk/	https://virk.dk/myndigheder/stat/FVST/selvbetjening/Indberetning af bivirkninger relate ret til indtag af kosttilskud/
Франция	Direction Générale de la Concurrence, Consommation et Répression des Fraudes https://www.economie.gouv.fr	https://www.nutrivigilance-anses.fr или https://sante.gouv.fr/soins-etmaladies/signalement-sante-gouv-fr/
Унгария	Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet (National Institute for Food and Nutrition Science) https://ogyei.gov.hu/	https://nutrivigilancia.hu/
Италия	Ministero della Salute DSVET DGSAN https://www.salute.gov.it/portale/home.html	https://www.vigierbe.it/
Португалия	DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária https://www.dgav.pt/	https://www.dgav.pt/faq/cont_eudo/alimentacao/alimentacao-humana/seguranca-alimentos/suplementos-alimentares/
Словения	Ministry of Health of Republic of Slovenia Sector for Food Safety https://www.gov.si/	https://nijz.si/moje-okolje/varnost-zivil/nutrivigilancia/
Швеция	Livsmedelsverket (Swedish Food Agency) https://www.livsmedelsverket.se/en	https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/kosttillskott/rapportering-av-biverkningar-av-kosttillskott

Към настоящия момент в България няма въведена национална нутриживиланс система. Регулаторният контрол върху ХД се осъществява от Българска агенция по безопасност на храните (БАБХ). С промяната в Закона за храните през 2020 г. ХД в България се пускат на пазара само след регистрация в БАБХ, с което контролът върху ХД беше засилен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Създаването на хармонизирана и координирана европейска нутривижиланс система би позволило на лицата, вземащи решения, да прилагат мерки за управление на риска при употребата на ХД, когато е необходимо (напр. регулаторни промени, ограничения за използване, изтегляне от пазара и т.н.) и да въведат и/или променят съществуващите регулаторни изисквания на европейско или национално ниво. Събирането и анализирането на данни за нежелани събития и ефекти, докладвани от медицински специалисти, потребители, производители или дистрибутори, ще повиши осведомеността и ще гарантира разпространението на безопасни ХД. Въвеждането на хармонизирана европейска нутривижиланс система за откриване и изследване на неблагоприятните ефекти от ХД би улеснило и сътрудничеството между държавите-членки на ЕС, което от своя страна ще увеличи научните познания в областта и ще има съществен принос за опазване на общественото здраве.

ЛИТЕРАТУРА

- ANSES.** (2022). *Nutrivigilance 2022 Activity Report*. Retrieved from <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES-RA2022-Nutrivigilance-EN.pdf>
- Balkanska-Mitkova, A., Yaneva, A., Kondeva-Burdina, M., & Dimitrova, M.** (2022). Pharmacists' attitudes to dispensing food supplements to chronically ill patients: A pilot survey among community pharmacies in Bulgaria. *Pharmacia*, 69, 589–593. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e85471>
- Binns, C. W., Lee, M. K., & Lee, A. H.** (2018). Problems and prospects: Public health regulation of dietary supplements. *Annual Review of Public Health*, 39, 403–420. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040617-013638>
- Ćwieliąg-Drabek, M., Piekut, A., Szymala, I., Oleksiuk, K., Razzaghi, M., Osmala, W., Jabłońska, K., & Dziubanek, G.** (2020). Health risks from consumption of medicinal plant dietary supplements. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3535–3544. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1636>
- European Food Safety Authority (EFSA).** (2018). *Food supplements*. Retrieved from <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-supplements>
- Korfali, S. I., Hawi, T., & Mroueh, M.** (2013). Evaluation of heavy metals content in dietary supplements in Lebanon. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-10>
- Luthra, V. R., & Toklu, H. Z.** (2023). Nutrivigilance: The road less traveled. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1274810. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1274810>
- Malve, H., & Bhalerao, P.** (2023). Past, present, and likely future of nutraceuticals in India: Evolving role of pharmaceutical physicians. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 15(2), 68–74. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_96_23
- Malve, H., & Fernandes, M.** (2023). Nutrivigilance - The need of the hour. *Indian Journal of Pharmacology*, 55(1), 62–63. https://doi.org/10.4103/ijp.ijp_772_22
- Vo Van Regnault, G., Costa, M. C., Adanić Pajić, A., Bico, A. P., Bischofova, S., Blaznik, U., Menniti-Ippolito, F., Pilegaard, K., Rodrigues, C., & Margaritis, I.** (2022). The need for European harmonization of nutrivigilance in a public health perspective: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(29), 8230–8246. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1926904>

ПРИРОДНИ ФИТОСТЕРОИДИ – ОТ ФАРМАКОЛОГИЧНАТА ПОЛЗА ДО ЗЛОУПОТРЕБАТА В СПОРТА - МИНИ ОБЗОР

Красимир Стефанов¹, Беркай Хасан¹,
Мариана Кацарова², Стела Димитрова²

¹ Студент, Фармацевтичен факултет,
Медицински университет – Пловдив

² Катедра по биоорганична химия, Фармацевтичен факултет,
Медицински университет – Пловдив

Abstract: Phytosteroids are plant steroids that occur naturally in various types of plants and have a similar structure to cholesterol. Some of the well-known phytosteroids are digoxin, digitoxin, and compounds that are currently under investigation: 20-hydroxyecdysterone, turkisterone, polypodinB, ayugasteroneC. They are found in many plants such as spinach, black sedge, leuzea, serratula, sweet fern and etc. *Serratula coronata* and *Rhaponticum carthamoides* (*Leuzea*) are widespread in China, Siberia and central Asia and well known to the local population for centuries. They are used for their anti-inflammatory effect, in wounds, bronchitis, tuberculosis, etc. Nowadays, many studies focus on the extracts of these plants containing 20-hydroxyecdysterone, turkisterone, polypodinB. The pharmacological effects studied are in the field of dermatology, oncology, cardiology, as well as their action as adaptogens. It is known and proven that they also have an anabolic effect, due to the presence of phytosteroids. Anabolic action is also being studied in animals, with the aim of introducing phytosteroid mixtures and using them in feed, for faster weight gain and to reduce the use of antibiotics. In the past, *Leuzea* was widely used by Soviet athletes, precisely because of its adaptogenic and anabolic effects. From 2020, 20-hydroxyecdysterone enters the monitoring program of the World Anti-Doping Agency. *Leuzea* is available as tablets, capsules, liquid dosage forms, and extracts derived from it as 20-hydroxyecdysterone and turkisterone, in the form of dietary supplements promoted as natural steroids.

Serratula is successfully cultivated in Bulgaria, which is a prerequisite for future research and application possibilities as food and feed additives.

Keywords: *Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata*, 20-hydroxyecdysterone, doping

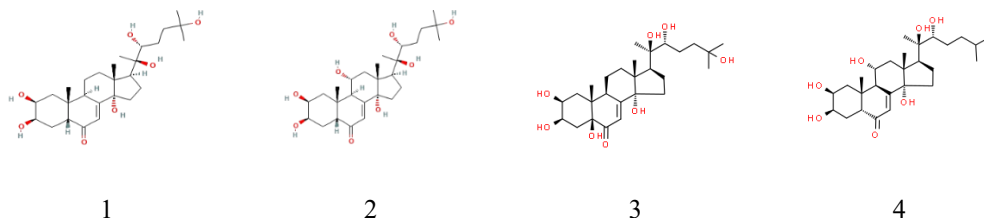
ВЪВЕДЕНИЕ

В настоящето много проучвания и изследвания са насочени към изучаването на лечебните растения, с цел анализ на състава им, разработка на лекарствени продукти, откриването на нови биологично активни вещества и действия. Народната медицина е широко застъпена в редица индустриално развити страни като Китай, Япония, Южна Корея и др., като тя е официално призната, интегрирана в здравната система и се практикува паралелно със съвременната медицина.

Фитостероидите са клас растителни стероиди (сърдечни гликозиди, екдизони, стероли и др.), като те имат подобна структура на холестерола и са разпространени в различни видове растения: спанак, сератула, левзея, черен кукуряк, горицвет и др. Растителните стероиди имат разнообразни действия – анаболно, адаптогенно, тонизиращо, противовъзпалително, ранозаздравяващо и други (Кръстева, 2023). *Serratula coronata* и *Rhaponticum carthamoides* (левзея) са с ареал Русия, Китай и Централна Азия, където са познати на местното население и се използват от векове. Днес много изследвания са фокусирани върху 20-

хидроксидксистерона (20-ХЕ), туркестерон, полиподин В, аюгастерон С (фигура 1).

Успешно в България е култивирана *S. coronata*, което дава предпоставки за бъдещи изследвания и намиране на начини за нейното приложение.



Фигура 1. Структури на 20-хидроксидксистерон – 1, туркестерон – 2, полиподин В – 3, аюгастерон С – 4

БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ

В последните години, поради засиления интерес към екстрактите, съдържащи фитоекдистероиди и по-специално от *S. coronata* и *R. carthamoides*, се откриват нови ефекти и се дават предпоставки за приложението им в областта на кардиологията, онкологията, дерматологията и др.

1. Анаболен ефект

През 2015 година се прави проучване за анаболното действие на екдистероидите, като фокусът е най-вече върху 20-хидроксиекдистерона. Ефектът на 20-ХЕ се сравнява с действието на анаболни вещества като метандиенон, дихидротестостерон и естрадиендион. 20-ХЕ оказва по-силен хипертрофичен ефект върху мускулните влакна на солеус мускула при мишки, в сравнение с метандиенон и естрадиендион и по-изразено увеличава диаметъра на миофибрите в сравнение с дихидротестостерона, приложени в една и съща доза. От 2020 година 20-ХЕ влиза в програмата за мониторинг на забранените вещества от Световната антидопингова агенция (WADA) (Parr, 2015). За спортистите, хранителният режим и хранителните добавки са от изключително значение, като преди са били широко използвани екдистероидите, заради техните желани ефекти, най-често 20-ХЕ и туркестерон. Включването на 20-ХЕ в мониторинга на WADA, показва че контролът и регулацията над хранителните добавки, съдържащи го, е увеличен и потреблението от професионалните атлети е ограничено. Решението на WADA, от една страна е и противоречиво, понеже много храни като спанак, киноа, както и други, се разглеждат като „супер храни“ и са с добра хранителна стойност и се включват в много хранителни режими и диети (Todorova, 2024).

Стероидният ефект е изследван и при патета от вида "Agidel 34". Използван е екстракт, съдържащ смес от екдистероиди, извлечен от сока на *S. coronata L* в доза 1.0 mg/L питейна вода. Установява се, че се увеличава устойчивостта на патетата, дневното наддаване и живото им тегло, както и това на трупа. Същевременно разходите за фураж намаляват, печалбите се покачват и са алтернатива на антибиотиците (Khaziev, 2019).

Roumanille и екип изследват острите и хроничните ефекти от упражненията за съпротива, съчетани с добавки от *R. carthamoides* и *Rhodiola rosea* върху протеиновия синтез, мускулния фенотип и физическата работоспособност. *R. carthamoides* и *R. rosea* са известни адаптогени, но до момента не е било изследвано комбинираното им действие при упражнения със съпротивление. Установява се, че приложението на *R. carthamoides* самостоятелно или в комбинация с *R. rosea*, след упражненията със съпротива, може синергично да подобри протеиновия синтез, мускулния фенотип и физическото представяне (Roumanille, 2020).

2. Анксиолитичен и антидепресивен ефект

През 2019 година, Кандиларов и екип изследват действието на две билкови комбинации – Antistress I и Antistress II, съдържащи в различни съотношения сухи екстракти от *S. coronata*, *Hypericum perforatum*, *Valeriana officinalis*, *Crataegus monogyna* и *Melissa officinalis*. Сухите екстракти са стандартизирани и химиячният им състав е определен чрез HPLC (Katsarova, 2016). Сравнява се действието на двете комбинации при мишки и се установява, че Antistress II показва по-силен анксиолитичен ефект и антидепресивен, в

сравнение с Antistress I. Наблюдава се и подобряване на паметта за разпознаване от Antistress II, като това се дължи до голяма степен на екстракта от *S.coronata*. В нея се съдържа 20-ХЕ, който подобрява когнитивните функции (Kandilarov, 2019).

Анксиолитичният и антидепресивният ефект се дължат на потенцираното действие на билковите комбинации, като намаляват нивата на възпалителните цитокини като TNF- α , IL-6, а Antistress I също понижава нивата на противовъзпалителния цитокин IL-10 (Kandilarov, 2023).

3. Дерматология

Проучване от 2022 година доказва ефективността на кремове, съдържащи екстракти от *S.coronata*, срещу лезиите по лактите и колената на пациенти с псориазис. Нейното действие е сравнено с лекарствени форми съдържащи и салицилова киселина. Действието на всеки крем се измерва по различни критерии: рН, хидратация на кожата, размер на псориазисните лезии и др. Пациентите прилагат кремове два пъти дневно, за период от 6 седмици и в края на изследването се наблюдава намаляване на площта на лезиите и лющенето (Kroma, 2022).

Същият екип през 2023 прави проучване за състава на екстракта от *S.coronata* чрез различни хроматографски методи и открива, че 20-ХЕ доминира в сместа от екдистероиди. Кремове са химически стабилни и микробиологично безопасни за хората. Техният ефект се дължи на добрата трансдермална пенетрация на 20-ХЕ и може да се използват за различни възпалителни кожни заболявания (Kroma, 2023).

4. Кардиология

В народната медицина на Китай, *R.carthamoides* се използва за лечението на различни сърдечно-съдови заболявания и през 2022 г. се проучва това действие, с цел разбиране на механизма *in vitro* и *in vivo*. Предизвиква се миокардна исхемия при мишки, чрез подкожно инжектиране на изопротеренол и им се дава в продължение на 14 дни различни дози *R. carthamoides*, а на 13^{тия} или 14^{тия} отново се инжектират. Позитивните ефекти на *R.carthamoides* се потвърждават от ЕКГ, измерване на кръвното налягане и изследване на миокардните ензими. Резултатите показват, че *R.carthamoides* регулира енергийния метаболизъм и оксидативния стрес чрез сигналния път SIRT6 / Nrf2 и има защитна роля при увреждания на миокарда (Zihan, 2022).

5. Противотуморна активност

Проучена е биологичната активност на три екдизона: 20-ХЕ, аюгастерон С и полиподин В, които са изолирани от *S.coronata* и се наблюдава действието им върху ракови клетки на гърдата и техния жизнен цикъл. Нито едно от съединенията не влияе на жизнеспособността на нетуморогенните клетки, докато 20-хидроксиекдизон и аюгастерон С значително инхибират жизнеспособността на раковите клетки. Интересното е, че 20-хидроксиекдизон демонстрира проапоптотична активност и индуцира автофагия, но са необходими допълнителни изследвания, за да се оцени проапоптотичната активност на 20-хидроксиекдизона в различни ракови клетъчни линии и да се изясни възможността му да влияе върху канцерогенните процеси *in vivo* (Romaniuk-Drapała, 2021).

Проведено е и проучване оценяващо генотоксичността и цитотоксичността на екстракт от корен на *R.carthamoides* върху ракови клетки при хората – левкемични и белодробни. Установено е, че значително инхибира клетъчната жизнеспособност в зависимост от използваната концентрация и левкемичните клетки са по-чувствителни към екстракта в сравнение с белодробните. Ефектът се дължи на ДНК лезии в митохондриите (Skala, 2018).

6. Антиадипогенна активност

Todorova и екип откриват, че екстракт от корена на *R.carthamoides* проявява и антиадипогенна активност. Полученият екстракт се анализира чрез нов и валидиран метод – НРТЛС, за да се определят фитоекдистероидите. Потвърждава се наличието на 20-ХЕ, понастерон А и туркестерон. Установено е, че 20-ХЕ и туркестеронът значително намаляват натрупването на липиди в човешки адипоцити, но са необходими допълнителни проучвания (Todorova, 2023).

7. Комбинация от *R.carthamoides* и *Vaccinium oxycoccus*

Проучено е действието, при продължителен прием на комбинация от екстракти от левзея и червена боровинка (*Vaccinium oxycoccus*) върху здрави и с предизвикан метаболитен синдром мишки. След 4-седмичен ежедневен прием на билковата комбинация се извършва тест за глюкозен толеранс, хистология на вътрешните органи и биохимично изследване, както и изследване на бялата и кафявата мастна тъкан, за да се разбере дали се предотвратява затлъстяването при мишките с метаболитен синдром. В здравите индивиди се увеличава чувствителността на тъканите към глюкоза и се увеличава концентрацията на протеини (анаболен ефект). В патологичните индивиди влияе положително върху биохимичните показатели (ALT, AST, HDL), а при мишките с генетично обусловено затлъстяване допринася за намаляване на размера на адипоцитите, което води до предотвратяване на затлъстяването (Khalikova, 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последните години все повече се изследват и проучват ползите от фитоекдистероидите (20-хидроксистерон, туркестерон и др.) и се откриват нови, неподозирани ефекти досега, които са приложими в областта на дерматологията, кардиологията, онкологията и т.н.

В България успешно е култивирана *S.coronata* и това дава основите за провеждането на допълнителни изследвания, с цел нейното включване в хранителни добавки и фуражи за животните.

REFERENCES

- Kandilarov, I., Gardjeva, P., Georgieva-Kotetarova, M., Zlatanova, H., Vilmosh, N., Kostadinova, I., Katsarova, M., Atliev, K., & Dimitrova, S. (2023). Effect of plant extracts combinations on TNF- α , IL-6 and IL-10 levels in serum of rats exposed to acute and chronic stress. *Plants*, 12, 3049. <https://doi.org/10.3390/plants12173049>
- Kandilarov, I., Zlatanova, H., Delev, D., Kostadinova, I., Katsarova, M., Dimitrova, S., Lukanov, L., & Sadakov, F. (2017). Anxiolytic effect and acute toxicity of two novel combinations of plant extracts - Antistress I and Antistress II on rats. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(1), 39–47. ISSN: 0975-5160.
- Kandilarov, I., Zlatanova, H., Georgieva-Kotetarova, M., Kostadinova, I., Katsarova, M., Dimitrova, S., Lukanov, L., & Sadakov, F. (2018). Antidepressant effect and recognition memory improvement of two novel plant extract combinations - Antistress I and Antistress II on rats subjected to a model of mild chronic stress. *Folia Medica (Plovdiv)*, 60(1), 110–116. <https://doi.org/10.1515/folmed-2017-0073>
- Katsarova, M., Dimitrova, S., Lukanov, L., & Sadakov, F. (2017). Determination of phenolic acids, flavonoids, terpenes, and ecdysteroids in medicinal plant extracts and food supplements. *Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences*, 70(7).
- Khalikova, D., An'kov, S., Zhukova, N., Tolstikova, T., Popov, S., & Saiko, A. (2023). Effect of the composition of Leuzea and cranberry meal extracts on metabolic processes in norm and pathology. *Pharmaceuticals*, 16, 768. <https://doi.org/10.3390/ph16050768>
- Khaziev, D., Galina, C., Gadiev, R., Valitov, F., Gumarova, G., & Galyautdinov, I. (2020). Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings. *Research in Veterinary Science*, 128, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012>
- Kroma, A., Feliczak-Guzik, A., Pawlacyk, M., Osmalek, T., Urbańska, M., Micek, I., Nawrot, J., & Gornowicz-Porowska, J. (2023). Analysis of cosmetic products containing *Serratula coronata* herb extract. *Cosmetics*, 10, 18. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10010018>
- Kroma, A., Pawlacyk, M., Feliczak-Guzik, A., Urbańska, M., Jenerowicz, D., Seraszek-Jaros, A., Kikowska, M., & Gornowicz-Porowska, J. (2022). Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* L. for psoriatic skincare. *Molecules*, 27, 3471. <https://doi.org/10.3390/molecules27113471>
- Parr, M. K., Botrè, F., Naß, A., Hengevoss, J., Diel, P., & Wolber, G. (2015). Ecdysteroids: A novel class of anabolic agents? *Biology of Sport*, 32(2), 169–173.

<https://doi.org/10.5604/20831862.1144420>

Romaniuk-Drapala, A., Lisiak, N., Toton, E., Matysiak, A., Nawrot, J., Nowak, G., Kaczmarek, M., Rybczynska, M., & Rubis, B. (2021). Proapoptotic and proautophagic activity of 20-hydroxyecdysone in breast cancer cells in vitro. *Chemico-Biological Interactions*, 342, 109479. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109479>

Roumanille, R., Vernus, B., Brioché, T., Descossy, V., Tran Van Ba, C., Campredon, S., Philippe, A., Delobel, P., Bertrand-Gaday, C., Chopard, A., Bonniou, A., Py, G., & Fañça-Berthon, P. (2020). Acute and chronic effects of *Rhaponticum carthamoides* and *Rhodiola rosea* extracts supplementation coupled to resistance exercise on muscle protein synthesis and mechanical power in rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 22, 34060. <https://doi.org/10.1186/s12970-020-00390-5>

Skala, E., Synowiec, E., Kowalczyk, T., Śliwiński, T., & Sitarek, P. (2018). *Rhaponticum carthamoides* transformed root extract has potent anticancer activity in human leukemia and lung adenocarcinoma cell lines. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 8, 8198652. <https://doi.org/10.1155/2018/8198652>

Todorova, V., Ivanova, S., Chakarov, D., Kraev, K., & Ivanov, K. (2024). Ecdysterone and turkesterone: Compounds with prominent potential in sport and healthy nutrition. *Nutrients*, 16, 1382. <https://doi.org/10.3390/nu16091382>

Todorova, V., Savova, M. S., Ivanova, S., Ivanov, K., & Georgiev, M. I. (2023). Anti-adipogenic activity of *Rhaponticum carthamoides* and its secondary metabolites. *Nutrients*, 15, 3061. <https://doi.org/10.3390/nu15133061>

Zheng, Z., Xian, Y., Jin, Z., Yao, F., Liu, Y., Deng, Y., Wang, B., Chen, D., Yang, J., Ren, L., & Lin, R. (2022). *Rhaponticum carthamoides* improved energy metabolism and oxidative stress through the SIRT6/Nrf2 pathway to ameliorate myocardial injury. *Phytomedicine*, 105, 154197. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154197>

Кръстева, И. (2023). *Енциклопедия – лечебни растения*. Книгомания. ISBN 978-619-195-356-1.

РЕГУЛАТОРНИ АСПЕКТИ ПРИ ПЛАНИРАНЕ И ПРОВЕЖДАНЕ НА КЛИНИЧНИ ИЗПИТВАНИЯ НА ЛЕКАРСТВЕНИ ПРОДУКТИ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ЗАХАРЕН ДИАБЕТ

Лора Петрова, Калина Андреевска, Емил Христов
УНАЛ „Социална фармация“, Факултет по химия и фармация,
Софийски университет „Св. Климент Охридски“

REGULATORY ASPECTS OF PLANNING AND CONDUCTING CLINICAL TRIALS OF MEDICINAL PRODUCTS FOR TREATMENT OF DIABETES MELLITUS

Lora Petrova, Kalina Andreevska, Emil Hristov
Laboratory of “Social Pharmacy”, Faculty of Chemistry and Pharmacy,
Sofia University “St. Kliment Ohridski”

Abstract: Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease with complex pathogenesis characterized by hyperglycemia resulting from impaired insulin secretion, increased insulin resistance, or a combination of both. Chronic hyperglycemia is associated with serious long-term complications including damage and dysfunction of various organs - kidneys, eyes, heart, blood vessels, nerves. Developing medicinal products with low risk of hypoglycemia is a major challenge. Aim: To analyze the current regulatory framework at EU level for the development of new medicinal products for treatment of diabetes mellitus.

Materials and methods: We conducted content and documentary analysis of the guidelines, issued by the European Medicines Agency (EMA) and scientific organizations.

Results and discussion: Patients enrolled in clinical trials should be representative of the target population in terms of demographic characteristics, ethnicity, comorbidities (including cardiovascular disease), duration and severity of diabetes. The primary efficacy endpoint is the change in glycated hemoglobin (HbA1c) level after 6 months of a randomized trial. Short- and long-term effects of the investigational product on serum lipids, body weight, blood pressure and heart rate should be documented. Parallel-group, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trials are recommended. The effect of the investigational product on the development of macro - and microvascular complications, a determination of its safety with respect to the development of hypoglycemia and its cardiovascular safety profile should be carefully studied.

Conclusion: Having uniform requirements and knowing them ensures the marketing of safe and efficient medicinal products for the treatment of diabetes mellitus.

Keywords: diabetes mellitus, clinical trial, glycated hemoglobin

ВЪВЕДЕНИЕ

Здравната, социалната и икономическа тежест, причинена от захарен диабет тип 2 и свързаните с него усложнения, представлява голямо предизвикателство за здравните системи в световен мащаб. През последните две десетилетия бяха въведени много възможности за лечение на диабет тип 2 и общото качество на живот на пациентите се подобри. Въпреки това, поради хетерогенността на етиологията и свързаните със заболяването усложнения, поддържането на добър гликемичен контрол все още е предизвикателство. Рандомизираните клинични изпитвания (RCT) са в основата на медицина, основана на доказателства. Преди

създаването на Европейската агенция по лекарствата (ЕМА) през 1995 г. единствените глюкозопонижаващи лекарствени продукти, разрешени за употреба в държавите - членки на ЕС, са били инсулини, бигваниди, сулфонилурейни продукти и алфа-глюкозидазни инхибитори. Следните нови класове глюкозопонижаващи лекарствени продукти са разрешени за употреба от 2005 г. насам: GLP-1 (глюкагон - подобен пептид-1) рецепторни агонисти, DPP-4 (дипептидил-пептидаза - 4) инхибитори, SGLT-2 (натриево - глюкозен ко - транспортер 2) инхибитори и дългодействащ GIP (глюкозозависим инсулинотропен полипептид) /GLP-1 рецепторен агонист (Blind et. al., 2018).

По-доброто разбиране на специфичните изисквания при провеждане на клиничните изпитвания на лекарствени продукти за лечение на захарен диабет тип 2 (ЗДТ2) е важно за идентифициране на пренебрегваните области на изследване, което от своя страна ще подобри възможността за превръщане на резултатите в ползи на пациентите. В световен мащаб са проведени голям брой клинични изпитвания за подобряване на лечението на диабет тип 2 (Long et. al., 2021). Според базата данни за клинични изпитвания European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Database (EudraCT) броят на клиничните изпитвания за захарен диабет тип 2 е 1738, от които приключили са 1294, а активно действащи в момента са 310 (EudraCT, 2024).

Съгласно Регламент (ЕС) 536/2014 клинично изпитване (КИ) на лекарствени продукти (ЛП) върху хора може да се извършва с цел да се открият или проверят клиничните, фармакологичните или други фармакодинамични последици от един или повече лекарствени продукти, да се установят нежеланите реакции спрямо един или повече от тях или да се изследват абсорбцията, разпределението, метаболизма и екскрецията им с цел установяване на безопасността и/или ефикасността им. Клинично изпитване може да бъде провеждано само ако правата, безопасността, достойнството и благосъстоянието на участниците са защитени съгласно Декларацията от Хелзинки. Всички КИ на ЛП върху хора се планират, провеждат и докладват в съответствие с правилата за Добра клинична практика и Европейското регулаторно право. Добра клинична практика означава набор от подробни етични и научни изисквания за качество при планирането, провеждането, изпълнението, мониторинга, одита, регистрирането, анализа и докладването на клиничните изпитвания. Протоколът на клинично изпитване описва целите, дизайна, методологията, статистическите съображения и организацията на клиничното изпитване. Изпитван лекарствен продукт представлява лекарствен продукт, който се изпитва или се използва като референтен, включително като плацебо в рамките на клиничното изпитване. Допълнителен лекарствен продукт означава лекарствен продукт, използван за нуждите на клинично изпитване, както е описано в протокола, но не като изпитван лекарствен продукт (Regulation (EU) 536/2014). Целта на настоящото проучване е да се анализира настоящата регулаторна рамка на ниво ЕС за разработване на нови лекарствени продукти за лечение на захарен диабет.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проведохме документален анализ и анализ на съдържанието на ръководствата за провеждане на клинични изпитвания на лекарствени продукти за лечение на захарен диабет тип 2 на ЕМА (Guideline on clinical investigation of medicinal products in the treatment or prevention of diabetes mellitus; Reflection paper on data required in confirmatory studies of medicinal products for the treatment of type 2 diabetes).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Пациентите, включени в клинични изпитвания, трябва да са представителни за целевата популация по отношение на демографски данни, етнически произход, съпътстващи заболявания (включително сърдечно - съдови заболявания), както и продължителност и тежест на диабета. В идеалния случай групите за лечение трябва да са достатъчно балансираны по отношение на възраст, пол, индекс на телесна маса, тежест и продължителност на заболяването. Рандомизацията е предпочитана, но има случаи, в които е желателна стратификация, особено по отношение на съществуващия метаболитен контрол (напр. нива на гликиран хемоглобин (HbA1c) $\leq 8\%$ срещу $> 8\%$) и терапия на захарния диабет

преди започване на изпитването (напр. само спазване на диета, монотерапия или комбинирана терапия). Лечението на пациенти с диабет тип 2 има за цел както да намали нивата на HbA1c до целева стойност, така и да минимизира риска от развитие на микро- и макроаскуларни усложнения. Въпреки че основната цел на потвърдителните изпитвания с лекарствени продукти за лечение на диабет е да се демонстрира благоприятният им ефект върху контрола на кръвната захар, важно е да се разгледат и ефектите на продукта върху сърдечно-съдовите рискови фактори. Целите на проучването трябва да бъдат прецизни. Определена част от пациентите няма да се придържат към рандомизираното лечение поради непоносимост или липса на ефикасност. Затова е важно тези събития да се разглеждат проспективно и да се вземат предвид при определянето на ефекта от лечението.

Гликираният хемоглобин (HbA1c) е най-широко приетата мярка за цялостен, дългосрочен гликемичен контрол при пациенти с диабет. Той отразява средната концентрация на глюкоза през последните 2-3 месеца. Известно е, че намаляването на нивата на HbA1c редуцира дългосрочния риск от развитие на микроаскуларни усложнения. Следователно HbA1c е подходяща първична крайна точка в клинични изпитвания. Първична цел е оценка на ефекта от терапията въз основа на разликата в нивото на HbA1c спрямо изходното ниво в края на изпитването между изпитвания продукт и контролата (EMA, 2012; EMA, 2023).

Трябва да се отрази действителното придържане към лечението, като се вземат предвид и случаи на прекъсване на терапията и прием на допълнителни лекарствени продукти. Тъй като не се очаква пациентите да имат полза след прекратяване на лечението (напр. поради нежелани събития), ефектът от него трябва да се оцени въз основа на данни, отразяващи придържане към лечението, както е наблюдавано в клиничното изпитване. При въвеждане на други лекарствени продукти в терапията по време на клиничното изпитване, които ще повлияят на стойностите на HbA1c, се усложнява оценката на ефекта на изпитвания продукт в сравнение с плацебо или активна контрола. Поради това ефектът от лечението може да бъде оценен при допускане, че не са въведени лекарствени продукти за спешни състояния или други, които ще повлияят на стойностите на HbA1c (хипотетичен сценарий).

Ефектът от изпитвания продукт следва да се оцени допълнително чрез анализ на разликата в дела на пациентите, които са достигнали абсолютна стойност на HbA1c, например $\leq 7\%$ и/или $6,5\%$ в края на изпитването без използване на допълнителна терапия при спешни състояния и които продължават да се придържат към лечението. Предварително определени, комбинирани крайни точки, напр. такива, които отразяват процента на пациентите, постигнали целева стойност на HbA1c без наличие на хипогликемия, могат да бъдат информативни като вторични крайни точки за продукти, целящи понижаване на риска от хипогликемия. Задължително трябва да се използва утвърден референтен метод за измерване на нивото на HbA1c (EMA, 2023).

Промените в плазмената глюкоза на гладно са приемлива вторична крайна точка за ефикасност. Параметрите, базирани на плазмената глюкоза, могат да се използват като първични крайни точки в краткосрочни изпитвания (с продължителност под 8 седмици), където използването на HbA1c е по-малко подходящо.

Серумният фруктозамин и намаляването на постпрандиалната хипергликемия също може да се използват като крайни точки в краткосрочни изпитвания. Намаляването на дела пациенти, които са получили спешна терапия и/или са се оттеглили от изпитването в сравнение с плацебо, може да се използва за подкрепа на доказване на ефикасност. Насърчаване се използването на устройства, позволяващи продължително глюкозно мониториране. Подобряването на инсулиновата чувствителност и функцията на бета-клетките понастоящем не са валидирани като сурогатни маркери за намаляване на микро- и макроаскуларните усложнения, но могат да бъдат оценени като вторични крайни точки. Инсулиновата чувствителност и функцията на бета-клетките трябва да се оценяват чрез използване на валидирани методи.

При пациенти с диабет тип 2, лекувани с инсулин, намаляване на инсулиновата доза, придружено от клинично значима редукция на телесното тегло или намаляване на хипогликемичните епизоди, може да се счита за подходяща мярка за ефикасност в

допълнение към намаляването на нивата на HbA1c.

Краткосрочни и дългосрочни ефекти на изпитвания продукт върху серумните липиди (LDL и HDL холестерол, триглицериди), телесното тегло и обиколката на талията, както и кръвното налягане и сърдечната честота също трябва да бъдат документирани. За предпочитане е изпитваният лекарствен продукт за лечение на захарен диабет да показва неутрален или благоприятен ефект върху факторите, свързани със сърдечно-съдовия риск. Всяко специфично твърдение относно подобряването на сърдечно - съдовите рискови фактори изисква доказателства за ефикасност и трябва да бъде с документирана клинична значимост. Хипертриглицеридемията, която е често срещана при пациенти с диабет тип 2, може да се подобри при добър гликемичен контрол.

Дългосрочните усложнения на захарен диабет включват макроваскуларни (коронарни, мозъчно-съдови и периферни съдови заболявания) и микроваскуларни усложнения (ретинопатия, нефропатия и невропатия). Благоприятният ефект на изпитвания лекарствен продукт върху развитието на усложнения в целевата популация може да бъде оценен правилно само в дългосрочни контролирани клинични изпитвания. Ако са установени статистически благоприятни ефекти върху микро - и/или макроваскуларните усложнения в (част от) целевата популация, такива данни могат да бъдат включени в раздел 5.1 от Кратката характеристика на продукта. Това би пояснило, че лечението, освен че подобрява гликемичния контрол, има и документиран ефект върху развитието на дългосрочни усложнения. Важно е и включването на резултати, получени въз основа на доклади на пациентите относно оценка на тежестта на терапията, тяхното удовлетворение, въздействието върху ежедневието им живот и контрола на диабета. В този случай е важно използваните въпросници или скали за оценка да са валидирани за използване при пациенти с диабет (ЕМА, 2018; ЕМА, 2023).

Включват се данни относно фармакокинетиката и фармакодинамиката на изпитвания ЛП; изисквания за показания за монотерапия; данни от потвърдителни изпитвания; особености при възрастни пациенти, деца и юноши; информация за възраст и група за изпитване; оценка на ефикасността и безопасността на лекарствения продукт; данни за поява на хипогликемия; за сърдечно-съдова безопасност и имуногенност.

Въпреки че първоначалните фармакокинетични изследвания могат да бъдат проведени при здрави доброволци, важно е тези изследвания да бъдат извършени при всички групи пациенти, за които е предназначен изпитвания продукт (включително деца и пациенти в напреднала възраст). Трябва да се вземе предвид, че фактори като забавено изпразване на стомаха или променена бъбречна функция, може да се очаква да усложнят значително абсорбцията и разпределението на лекарствения продукт. Механизмът на действие на изпитвания продукт трябва да бъде оценен и обсъден. Ако има фармакологично активни метаболити, причината за терапевтични и/или токсични ефекти следва да се обсъди. Досието на продукта трябва да съдържа изпитвания за определяне на дозата, за да се обоснове дозата (ите), използвана(и) в потвърдителни клинични изпитвания. Препоръчва се провеждането на паралелно - групови, двойно - слепи, плацебо-контролирани изпитвания за монотерапия.

При изпитвания с промяна на дозата трябва да се изследват поне 3 дози с обща фаза на лечение от най-малко 8 седмици. Показателите, базирани на плазмена глюкоза, трябва да бъдат основен критерий за оценка при изпитвания с промяна на дозата с продължителност от 8 до 12 седмици. Серумният фруктозамин също може да се използва като крайна точка в краткосрочни изпитвания (ЕМА, 2023).

Въпреки това HbA1c винаги трябва да бъде основен критерий за оценка при изпитвания с промяна на дозата с продължителност ≥ 12 седмици. Препоръчва се провеждането на паралелно – групови, рандомизирани, двойно - слепи, плацебо-контролирани изпитвания с активен компаратор.

Потвърдителните изпитвания трябва да имат за цел да демонстрират: превъзходство на изпитвания продукт над плацебо в поне едно изпитване за монотерапия с продължителност не по-малко от 3 месеца, което може да бъде изпитване във фаза II с промяна на дозата, използващо HbA1c като първична крайна точка, или включване на плацебо за 3 месеца в началото на активно контролирано изпитване.

Препоръчва се да бъде представено поне едно активно контролирано изпитване заедно със заявлението за разрешение за употреба. Дори привидно малки промени в нивата на HbA1c са доказани като клинично значими по отношение на намаляване на риска от развитие на дългосрочни усложнения. Като цяло 0,3 % (3 mmol/mol) се счита за приемлива граница. Потвърдителните изпитвания (с изключение на изпитванията за монотерапия, контролирани с плацебо) обикновено са с продължителност 6 месеца, но поне едно изпитване, за предпочитане активно контролирано, трябва да покаже поддържане на ефекта в продължение на поне 12 месеца. Първичната крайна точка трябва да бъде HbA1c, а вторичните крайни точки трябва да включват други показатели за гликемичен контрол, както и ефекта върху сърдечно-съдовите рискови фактори.

Препоръчва се т. нар. период на отмиване при пациенти, които преди това са приемали лекарствени продукти за лечение на захарен диабет, които няма бъдат използвани в изпитването. В случай на изпитвания с продължителност > 3 месеца може да не е необходим период на отмиване. Извършва се анализ на подгрупи за пациенти, които не са били на фармакологична терапия преди изпитването и съответно такива, които са били на глюкозопонижаваща терапия. Дозата на лекарствените продукти (изпитван лекарствен продукт) трябва да се поддържа стабилна, освен ако не е необходимо адаптирането ѝ от съображения за безопасност (напр. хипогликемия). Всички промени в дозата и причините, които ги налагат, трябва да бъдат документирани.

Винаги се изисква сравнение на изпитвания продукт с плацебо в условията на монотерапия, за да се оцени действителният глюкозопонижаващ ефект и профил на безопасност на изпитвания продукт независимо от това дали разрешението за употреба е предназначено за монотерапия или за допълнителна терапия. Плацебо-контролирана монотерапия с продължителност над три месеца трябва да се запази за пациенти, които са били наскоро диагностицирани. Използването на плацебо за повече от 6 месеца обикновено не се препоръчва. За предпочитане е участниците в тези изпитвания да имат сравнително нисък начален HbA1c. В протоколите на изпитването трябва да бъде предвидено, че пациентите ще имат нужда и от терапия при спешни състояния, която е въведена по предварително определен алгоритъм, ако техният гликемичен контрол постоянно се влошава над предварително зададената цел или се оттеглят от проучването (EMA, 2022; EMA, 2023).

Съществуват много възможни терапевтични комбинации от лекарствени продукти за лечение на диабет. Изборът кои от тях да се изпитват трябва да се направи въз основа на препоръките за лечение на диабет, предоставени от научните дружества (напр. European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA), International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD)), както и въз основа на свързаната с тях с безопасност. Комбинации, за които са налице специфични проблеми с безопасността (напр. хипогликемия въз основа на механизма на действие), трябва да бъдат изследвани. Резултати от проучвания за комбинирана терапия се отразяват в раздел 5.1 от Кратката характеристика на продукта. Изпитванията за комбинирана терапия трябва да се провеждат спрямо плацебо или активна контрола. Подходящи са за пациенти, които не постигат терапевтичните цели само с монотерапия при максималната поносима или препоръчителна доза. За тези групи пациенти анализите трябва да бъдат стратифицирани на базата на предишна глюкозопонижаваща терапия. Необходимо е да се подберат пациенти със стабилна доза лекарствени продукти през последните 8 до 12 седмици, предшествващи изпитването, за да се гарантира, че е постигнат максимален ефект от предишната терапия и че HbA1c е стабилизирани на изходно ниво. За някои продукти може да са необходими повече от 12 седмици, за да достигнат максималния си ефект. Трябва да се избягва адаптиране на дозата на фоновата терапия (с установено глюкозопонижаващо средство) по време на изпитването, освен ако това не е необходимо от съображения за безопасност.

Инсулин се въвежда най-често в терапията при пациенти, при които не е постигнат добър гликемичен контрол с другите класове лекарствени продукти за лечение на захарен диабет. В този случай употребата на някои от предишните глюкозопонижаващи терапии може да бъде преустановена. Въпреки това пациентите, които вече са на инсулинова терапия, също може да се възползват от добавянето на друг глюкозопонижаващ продукт. Данните за

безопасността в резултат на комбинирана терапия на изпитвания лекарствен продукт с инсулин трябва да бъдат документирани.

Необходимо е да бъде оценено дали има демографски, генетични и метаболитни (напр. C- пептид или друг показател за функцията на бета-клетките) фактори, които могат да повлияят на отговора към даден глюкозопонижаващ лекарствен продукт при участниците в изпитването. Тези фактори следва да бъдат идентифицирани проспективно. По отношение на характеристиките на изпитваната популация - следва да се включат значителен брой пациенти от страни от ЕС или от страни с начин на живот и грижи за контрол на захарен диабет, които са подобни на установените в държавите-членки на ЕС.

При възрастни хора е важно да се определи дали фармакокинетичното поведение на лекарствения продукт при тази популация е различно от това при по-младите пациенти. Безопасността на изпитвания продукт, особено появата на хипогликемия, е въпрос, който поражда загриженост при хората в напреднала възраст. Поради това трябва да бъдат представени данни за различни възрастови групи (65-74; 75-84 и 85+ години), за да се оцени съответствие на ефекта от лечението и профила на безопасност при тези пациенти с негерiatricните пациенти. В зависимост от данните може да се наложи провеждането на специфични изпитвания за ефикасността и безопасността при тази възрастова популация (EMA, 2023).

Разпространението на диабет тип 2 при деца и юноши се увеличава в световен мащаб успоредно с увеличаването на затлъстяващото население. Поради важните потенциални различия между децата/юношите и възрастните в няколко аспекта на заболяването (напр. по-бързо намаляване на функцията на бета-клетките) и потенциални опасения за безопасността (въз основа на механизма на действие на изпитвания продукт), специфични за педиатричната популация (напр. пубертетно развитие, растеж, развитие на костите, неврокогнитивно развитие), като цяло се препоръчва да се провеждат отделни педиатрични изпитвания, оценяващи ефикасността и безопасността на изпитвания продукт. Въпреки това екстраполацията на данни за ефикасността при млади възрастни към юноши и/или деца може да бъде възможна в ограничена степен, ако е подходящо обоснована. Данните за безопасност също могат да бъдат екстраполирани до известна степен, но е възможно да се наложи да се проследи безопасността в дългосрочен план. Понастоящем честотата и разпространението на диабет тип 2 е много ниска при деца на възраст ≤ 10 години. Средната възраст на развитие на диабет тип 2 при деца е 13-14 години. Следователно се препоръчва изпитванията да се провеждат при пациенти на възраст от 10 до 18 години.

Промяната в нивото на HbA1c от изходно ниво за поне 12 седмици може да бъде подходяща първична крайна точка, но продължителността на изпитването и крайната точка винаги трябва да бъдат обосновани по отношение на класа на продукта (неговият механизъм на действие) и целта на изпитването. Препоръчително е да се осигури общо най-малко 12 месеца експозиция на изпитвания продукт преди издаване на разрешение за употреба при педиатрична популация. Всички пациенти по време на клиничното изпитване е необходимо да спазват подходяща диета и индивидуален хранителен режим, както и да бъдат физически активни.

За лекарствени продукти с нов механизъм на действие се препоръчват изпитвания при деца/юноши да се започват едва след като са налични достатъчно данни за безопасност и ефикасност от изпитвания при възрастни. Ако са налице значителни опасения за безопасността на даден лекарствен продукт въз основа на данни от изпитвания при възрастни пациенти, тогава не се препоръчва да се започват клинични изпитвания, включващи педиатрична популация, преди да е натрупан достатъчно опит с употребата при възрастни след пускането на пазара.

Появата на нежелани събития трябва да бъде внимателно проследена за изпитвания лекарствен продукт. Следва да се положат специални усилия, за да се документират потенциални нежелани събития, които биха могли да бъдат свързани с механизма на действие и фармакодинамичните свойства на изпитвания клас продукти. Това може да включва възможно влияние върху имунния статус, тумор индуциращи ефекти и инфекции/възпаления (напр. панкреатит). По отношение на чернодробната функция трябва да се обърне специално

внимание на повишени активности на чернодробните ензими, които се наблюдават по-често при захарен диабет тип 2. Проследяването трябва да бъде внимателно, за да се разграничат лекарствено индуцираните ефекти върху чернодробната функция от спонтанни промени в активността на чернодробните ензими, наблюдавани при захарен диабет. Почти винаги се проявяват фармакодинамични взаимодействия с други глюкозопонижаващи продукти. Могат да се наблюдават и други ефекти като напр. адитивни токсични. Поради това задължително данните за безопасност трябва да бъдат проучени в условията на монотерапия (EMA, 2023).

Страхът от хипогликемия често е значителна пречка за постигане на гликемичните цели и поради това се насърчава разработването на антидиабетни лекарствени продукти, които са с нисък риск от хипогликемия, както и на лекарствени продукти, които могат да бъдат подходящи като допълнителна терапия към други глюкозопонижаващи продукти (особено инсулин). Определенията за хипогликемия в отделните протоколи на изпитването трябва да бъдат стандартизирани. Един от препоръчителните подходи за подобно стандартизиране е да се използва класификацията, публикувана от Международната група за изследване на хипогликемията, според която: тежка хипогликемия е събитие, изискващо намесата на друго лице за активно прилагане на въглехидрати, глюкагон или други реанимационни действия. Тези епизоди могат да бъдат свързани с неврогликопения, което да предизвика припадък или кома. В тези случаи често е невъзможно да се извърши измерване на нивата на плазмената глюкоза. При клинично значима хипогликемия нивото на плазмената глюкоза е по-ниско от 3,0 mmol/l и води до тежка дисфункция на централната нервна система, която се наблюдава рядко, но е с особена важност при деца/юноши и при хора в напреднала възраст (IHSG, 2017). Следва да се предостави подробен анализ на хипогликемичните епизоди, отбелязани в хода на клиничното изпитване (напр. анализ, стратифициран по възраст: ≤ 65 години, 65-74 години; 75-84 години и 85+ години, време на поява на епизодите във връзка с експозиция на изпитвания продукт, дневно разпределение и за всеки хипогликемичен епизод: време на поява, доза на лекарствения продукт, време след последния прием на лекарствения продукт, продължителност, време след хранене, тежест, изход от хипогликемията). Измервания на стойностите на кръвната захар през нощта трябва да се обмислят за лекарствени продукти, които са склонни да предизвикват хипогликемия. Препоръчва се използването на устройства за продължително глюкозно мониториране, които предоставят по - пълна информация за нивата на кръвна захар през нощта след прием на изпитвания лекарствен продукт.

Необходимо е охарактеризиране и на профила на сърдечно - съдова безопасност на изпитвания продукт. Това се отнася по - специално за лекарствени продукти с нов механизъм на действие или продукти, принадлежащи към лекарствен клас, за който профилът на сърдечно-съдовата безопасност все още не е установен. Ако изпитваният продукт е протеин, трябва да се обърне внимание на наличието на антилекарствени антители. По отношение на общите аспекти на оценката на имуногенност, се прави препратка към ръководството „Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins“ (EMA, 2023 ; EMA, 2022; EMA, 2016; Van der Schueren et. al., 2024).

В клиничната практика гликемичните цели са индивидуални и се определят от множество фактори, включително възраст на пациента, съпътстващи заболявания, продължителност на живота и риск от хипогликемия. Общата цел на лечението е да се постигнат индивидуализираните цели за гликемичен контрол и да се избегнат хипогликемични събития. Хипогликемия, причинена от употребата на инсулин и сулфонилурейни продукти може да доведе до значителна, повтаряща се и инвалидизираща заболяемост и смъртност при пациентите с диабет. Пациентите със захарен диабет тип 2 често имат и други съпътстващи заболявания (напр. хронично бъбречно заболяване, сърдечно-съдови заболявания). Затова при тях е изключително важно да се оцени безопасността на изпитвания продукт и ефикасността му за подобряване на гликемичния контрол, както и влиянието му върху придружаващи заболявания.

HbA1c е валидирана сурогатна крайна точка за намаляване на риска от микроваскуларни усложнения. Нивата на HbA1c трябва да се измерят след най-малко 12 седмици стабилно дозиране на изпитвания продукт.

Под егидата на International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) изискванията за провеждане на клинични изпитвания на ЕМА и Food and Drug Administration (FDA) са напълно хармонизирани. Установихме, че за повечето клинични изпитвания първичната крайна точка за ефикасност трябва да бъде промяната спрямо изходното ниво на HbA1c след 6 месеца рандомизирана терапия с допълнителна оценка на промяната спрямо изходното ниво на HbA1c на 12 месеца, за да се оцени дългосрочната устойчивост на глюкозопонижаващия ефект (EMA, 2023; Van der Schueren et. al., 2024).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличието на единни изисквания за провеждането на клинични изпитвания и тяхното познаване гарантира пускането на пазара на безопасни и ефикасни лекарствени продукти за лечение на захарен диабет.

ЛИТЕРАТУРА

Blind, E., Janssen, H., Dunder, K., & de Graeff, P. A. (2018). The European Medicines Agency's approval of new medicines for type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20(9), 2059–2063. <https://doi.org/10.1111/dom.13349>

European Medicines Agency (EMA). (2012). Guideline on clinical investigation of medicinal products in the treatment or prevention of diabetes mellitus. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicinal-products-treatment-or-prevention-diabetes-mellitus-revision-1_en.pdf

European Medicines Agency (EMA). (2016). Reflection paper on assessment of cardiovascular safety profile of medicinal products. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-assessment-cardiovascular-safety-profile-medicinal-products_en.pdf

European Medicines Agency (EMA). (2018). Draft guideline on clinical investigation of medicinal products in the treatment or prevention of diabetes mellitus - Revision 2. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-clinical-investigation-medicinal-products-treatment-or-prevention-diabetes-mellitus-revision-2_en.pdf

European Medicines Agency (EMA). (2022). Reflection paper on data required in confirmatory studies of medicinal products for the treatment of type 2 diabetes. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-required-confirmatory-studies-medicinal-products-treatment-type-2-diabetes-revision-2_en.pdf

European Medicines Agency (EMA). (2023). Guideline on clinical investigation of medicinal products in the treatment or prevention of diabetes mellitus. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicinal-products-treatment-or-prevention-diabetes-mellitus-revision-2_en.pdf

European Parliament, Council of the European Union. (2014). Regulation (EU) 536/2014 of the European Parliament and of the Council of 16 April 2014 on clinical trials on medicinal products for human use, and repealing Directive 2001/20/EC. *Official Journal of the European Union*, L158, 1–76. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0536>

European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Database (EudraCT). (2024). Available from: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=diabetes+mellitus+type+2>

International Hypoglycaemia Study Group (IHSG). (2017). Glucose concentrations of less than 3.0 mmol/L (54 mg/dL) should be reported in clinical trials: A joint position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 40(1), 155–157. <https://doi.org/10.2337/dc16-2215>

Long, J., Liang, R., Zheng, Q., Yuan, G., Xin, Z., Chen, X., Lai, F., & Liu, Y. (2021). Overview of clinical trials on type 2 diabetes mellitus: A comprehensive analysis of the ClinicalTrials.gov database. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 367–377. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S288065>

Van der Schueren, B., Vrijlandt, P., Thomson, A., Janssen, H., & Dunder, K. (2024). New guideline of the European Medicines Agency (EMA) on the clinical investigation of medicinal products in the treatment and prevention of diabetes mellitus. *Diabetologia*, 1–4. <https://doi.org/10.1007/s00125-024-06162-z>

СЪВРЕМЕННИ ТЕРАПЕВТИЧНИ ПОДХОДИ ЗА ЛЕЧЕНИЕ НА ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП 2

Лора Петрова, Калина Андреевска, Джансу Иляз, Емил Христов
УНАЛ „Социална фармация“, Факултет по химия и фармация,
Софийски университет „Св. Климент Охридски“

RECENT THERAPEUTIC APPROACHES FOR THE TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Lora Petrova, Kalina Andreevska, Dzhansu Ilyaz, Emil Hristov
Laboratory of “Social Pharmacy”, Faculty of Chemistry and Pharmacy,
Sofia University “St. Kliment Ohridski”

Abstract: The treatment of type 2 diabetes mellitus is complex. Glycemic control is the main focus in combination with achieving target values of blood pressure, serum lipids and body weight. Key approaches include lifestyle modification and appropriately selected pharmacological therapy.

Aim: Analysis of current therapeutic approaches for the treatment of type 2 diabetes mellitus. **Materials and methods:** We conducted documentary and content analysis of the European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA) and national pharmacotherapy guidelines for treatment of diabetes mellitus.

Results and discussion: Different groups of medicinal products have been introduced into clinical practice for treatment of type 2 diabetes, with glycated haemoglobin (HbA1c) being the leading criterion for selection of glucose-lowering therapy. Metformin is traditionally recommended as first-line therapy in type 2 diabetes due to its high efficacy in lowering HbA1c, minimal risk of hypoglycemia and good safety profile. Comparative meta-analyses have shown that the addition of an oral glucose-lowering product from the new classes to Metformin therapy lowers HbA1c by 0.7-1.0%, and the inclusion of a GLP-1 receptor agonist or Tirzepatide, results in HbA1c lowering up to $\geq 2\%$. For patients with type 2 diabetes and established atherosclerotic cardiovascular disease, heart failure, or chronic kidney disease, the use of an SGLT2 inhibitor or GLP-1 receptor agonist with proven cardiovascular benefit is recommended.

Conclusion: The treatment of type 2 diabetes involves a holistic, patient-centered approach including management of blood glucose levels, control of body weight and cardiovascular risk factors, cardiorenal protection, and delay in the development of complications.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, glycated hemoglobin, SGLT2 inhibitor, GLP-1 receptor agonist

ВЪВЕДЕНИЕ

Захарният диабет е метаболитно заболяване, което се характеризира с хипергликемия, резултат от нарушена инсулинова секреция, нарушено инсулиново действие или комбинация от двете. В световен мащаб диабетът се счита за един от най-значимите здравни проблеми. Според данни на Международната диабетна федерация (IDF) около 540 млн. души по света страдат от захарен диабет. Прогнозите на IDF са, че до 2045 г. приблизително 783 милиона души ще живеят с диабет, което представлява ръст от 46 % (IDF, 2021). В България има около 519 300 души с това заболяване, което представлява 9.9 % от населението на възраст между 20 и 79 години (NCP, 2023). Класификацията на захарен диабет се основава на етиологията на заболяването. Диабет тип 2 е резултат от неавтоимунна прогресивна загуба на адекватна

β -клетъчна секреция на инсулин, често на фона на инсулинова резистентност и метаболитен синдром. Обхваща лица, които обикновено имат относителен (а не абсолютен) инсулинов дефицит и периферна инсулинова резистентност. Диабет тип 2 представлява около 90 % от всички случаи на диабет (Tankova, 2013).

Захарен диабет се диагностицира въз основа на критерии за стойността на плазмена глюкоза на гладно (FPG \geq 7,0 mmol/L), стойността на плазмена глюкоза (PG) на 2-я час в хода на орален глюкозо-толерантен тест (OGTT) със 75 g глюкоза (2-h PG \geq 11,1 mmol/L) или ниво на гликиран хемоглобин (HbA1c \geq 6,5%) (ElSayed et al., 2023). Основните аспекти на грижа за пациентите с диабет включват насърчаване на здравословно хранене, физическа активност и психологическа подкрепа, както и контрол на теглото, консултиране относно спиране на тютюнопушенето и ограничаване на консумацията на алкохол. Това често се предоставя в контекста на обучението и подкрепата за самоконтрол на диабета (DSMES). Увеличаващият се брой интервенции за понижаване на глюкозата – от поведенчески до фармакологични, използване на различни устройства и хирургически методи и нарастващата информация за ползите и рисковете от тях предоставят повече възможности за хората с диабет, но усложняват вземането на решение за избор на терапия (Davies et al., 2022).

Целта на настоящето проучване е да представим и анализираме съвременните терапевтични подходи за лечение на захарен диабет тип 2 в международен аспект и на национално ниво.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проведен е документален анализ и анализ на съдържанието на ръководствата за лечение на захарен диабет на Европейска асоциация за изучаване на диабета (EASD), Американската диабетна асоциация (ADA), Националното фармако-терапевтично ръководство по ендокринология и болести на обмяната и на препоръките за добра клинична практика при захарен диабет. За да се идентифицират по-нови доказателства, беше извършено търсене в PubMed за проведени рандомизирани клинични изпитвания, систематични прегледи и мета-анализи, публикувани на английски език в периода 2018 г. - 2023 г.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Становището на Американската диабетна асоциация (ADA) и Европейската асоциация за изучаване на диабета (EASD) за лечение на хипергликемия при пациентите със захарен диабет тип 2 определя подходящия терапевтичен подход и последователност за включване на наличните глюкозопонижаващи лекарствени продукти, вземайки предвид дългосрочните резултати, предимствата и недостатъците на всеки един от тях. Препоръчва се холистичен, ориентиран към индивидуалния пациент подход, отчитащ сложността на контрола на диабет тип 2 и съпътстващите го микро- и макроваскуларни усложнения. При избора на фармакологична терапия за възрастни пациенти следва да се вземат предвид ефикасността на лекарствения продукт за постигане на добър гликемичен контрол при диабет тип 2, ефектът му при съпътстващи сърдечно – съдови и бъбречни заболявания, риск от развитие на хипогликемия, потенциална редуция на телесното тегло, риск от нежелани реакции и поносимост, разходи за терапията и достъпност. Постигането на добър гликемичен контрол води до значително и трайно намаляване на появата и прогресията на микроваскуларни усложнения. Целева стойност за нивото на HbA1c за повечето възрастни пациенти е около 7% или по-малко. Периодично трябва да се извършва преоценка на фармакологичния терапевтичен план (например на всеки 3-6 месеца) и да се коригира при необходимост. При възрастни пациенти първоначално може да се обмисли назначаването на комбинирана терапия с цел да се съкрати времето за постигане на индивидуалните терапевтични цели, като задължително се препоръчат и промени в начина на живота (Davies et al., 2022). Промяната в начина на живот, включваща физическа активност и подходящ хранителен режим, е от изключително голямо значение в лечението на захарен диабет тип 2. Всички пациенти трябва да бъдат обучени относно преоценка на стила им на живот още при поставяне на диагнозата на заболяването. Необходимо е и периодично реобучение, интегрирано в цялостния терапевтичен подход. При пациенти с наднормено тегло и диабет тип 2 е необходима умерена

редукция на теглото (5 %), за да се постигнат благоприятни резултати по отношение на гликемичния контрол. Препоръките относно хранителния режим трябва да са индивидуални и пациентите да бъдат насърчавани да консумират здравословни храни, съобразени с техните предпочитания. Приемът на въглехидрати, базиран на изчисление на хлебни единици, е ключов момент за постигане на добър гликемичен контрол. Моделът на диабетната чиния е често използван визуален подход за предоставяне на основни насоки за планиране на храненето при пациенти със захарен диабет. Съгласно него половината от чинията трябва да заемат зеленчуци, една четвърт протеини, а останалата една четвърт - въглехидрати. Препоръчва се включване в диетата на пълнозърнести храни, ядки, семена, безкостурени зеленчуци, плодове, бобови растения и нискомаслени млечни продукти и свеждане до минимум на консумацията на месо, подсладени със захар напитки, сладкиши. Медицинската хранителна терапия при пациенти с диабет е свързана с абсолютни намаления на нивата на HbA1c от 0,3-2,0 %. Препоръчва се поне 150 минути умерено интензивна физическа активност седмично, като не трябва да има повече от 2 последователни дни без активност. Рисковете, свързани с консумацията на алкохол, включват хипогликемия и/или забавена хипогликемия (особено при пациенти, които са на инсулинова терапия), увеличаване на теглото и хипергликемия (за пациенти, които консумират прекомерни количества). Обучението и подкрепата за самоконтрол на диабета (DSMES) се свързва с подобрени познания за заболяването, по-ниски нива на HbA1c, по-ниско телесно тегло и подобрено качество на живот. (Davies et al., 2022; Tankova, 2012; Tankova, 2015; BSE, 2019; ElSayed et al., 2023).

Таблица 1. Терапевтични класове лекарствени продукти за лечение на захарен диабет тип 2 (NCPR, 2023).

Терапевтичен клас	INN	Дневна доза
Сулфонилурейни продукти	Glibenclamide	2.5 - 20 mg
	Gliclazide	80 - 320 mg
	Glipizide	2.5 - 30 mg
	Glimepiride	1 - 8 mg
Меглитиниди	Repaglinide	0.5 - 16 mg
Бигваниди	Metformin	500 - 3000 mg
Алфа-глюкозидазни инхибитори	Acarbose	50 - 300 mg
Тиазолидиндиони	Pioglitazone	15 - 45 mg
DPP-4 инхибитори	Sitagliptin	25 -100 mg
	Vildagliptin	50 - 100 mg
	Saxagliptin	2.5 - 5 mg
	Linagliptin	5 mg
SGLT-2 инхибитори	Dapagliflozin	10 mg
	Empagliflozin	10 - 25 mg
	Canagliflozin	100 – 300 mg
	Ertugliflozin	5 – 15 mg
GLP-1 рецепторни агонисти	Exenatide	10 - 20 µg
	Lixisenatide	10 - 20 µg
	Liraglutide	0.6 - 1.8 mg
	Dulaglutide	1.5 mg/седмично
	Semaglutide	0.5 mg - 1.0 mg/седмично 3 mg /7 mg/14 mg/веднъж дневно
GLP-1/ GIP рецепторни агонисти	Tirzepatide	5 mg/10 mg/15 mg/ седмично

Използваните класове лекарствени продукти за лечение на диабет тип 2 (таблица 1) са: бигваниди, сулфонилурейни продукти, меглитиниди, алфа- глюкозидазни инхибитори, тиазолидиндиони, DPP-4 (дипептидил-пептидаза - 4) инхибитори, SGLT-2 (натриево-глюкозен ко-транспортър 2) инхибитори, GLP-1 (глюкагон-подобен пептид-1) рецепторни

агонисти, дългодействащ GLP-1/GIP (глюкозозависим инсулинотропен полипептид) рецепторен агонист (NCPR, 2023).

Metformin традиционно се препоръчва като първа линия глюкозопонижаваща терапия за контрол на диабет тип 2 поради високата си ефикасност относно понижаване на HbA1c, минимален риск от хипогликемия, когато се използва като монотерапия, неутралност по отношение на теглото с потенциал за умерена загуба на тегло, добър профил на безопасност и ниска цена. Въпреки това се приема, че други подходи може да са подходящи. Metformin не трябва да се използва при пациенти с изчислената скорост на гломерулна филтрация (eGFR) < 30 ml/min на 1,73 m² и трябва да се обмисли намаляване на дозата, когато eGFR е < 45 ml/min на 1,73 m². Употребата му е противопоказана при сърдечна, бъбречна и чернодробна недостатъчност, както и при остър стадий на инфаркт на миокарда. Нежеланите реакции при приема му са стомашно-чревни нарушения като диария, гадене, повръщане, метален вкус в устата (Davies et. al., 2022; NCPR, 2023).

Сулфонилурейните продукти (СУП) имат висока глюкозопонижаваща ефикасност, като предимство е, че са евтини и достъпни. Употребата им е свързана с повишен риск от хипогликемия, която е по-силно изразена при дългодействащите продукти – Glibenclamide > Glipizide > Glimепiride > Gliclazide. (NCPR, 2023). Тяхната употреба се свързва и с увеличаване на теглото. Неблагоприятните резултати относно сърдечно-съдовата им безопасност в обсервационни проучвания пораждат загриженост.

Тиазолидинионите (TZD) повишават инсулиновата чувствителност и са с висока глюкозопонижаваща ефикасност. Употребата им не е свързана с риск от хипогликемия и те имат по-дългосрочен ефект върху нивата на кръвната захар в сравнение със СУП. Възможни нежелани реакции на TZD са задържане на течности и застойна сърдечна недостатъчност, увеличаване на теглото и повишен риск от костни фрактури, които могат да бъдат намалени чрез използване на по-ниски дози и комбиниране на терапия на тиазолидинион с SGLT2i и GLP-1 рецепторен агонист. Благоприятни ефекти върху неалкохолен стеатохепатит (NASH) и върху липидните показатели са наблюдавани при употребата на Pioglitazone. Употребата им е противопоказана при сърдечна недостатъчност (Davies et. al., 2022).

Несулфонилурейните инсулинови секретagoзи или така известните меглитиниди стимулират секрецията на инсулин от β-клетките на панкреаса. Максимални нива на инсулин се достигат до 1 час след прием на меглитинид и ефектът продължава в рамките на 3 часа. Меглитинидите не увеличават риска от нежелана хипогликемия през нощта и между храненията и късна хиперинсулинемия за разлика от сулфонилуреите (Tankova, 2013).

α-глюкозидазните инхибитори подобряват гликемичния контрол чрез намаляване на постпрандиалната хипергликемия и могат да осигурят специфични ползи при диета с високо въглехидратно хранене. Употребата им не е свързана с риск от хипогликемия. Противопоказани са при креатининов клирънс под 25 ml/min /1,73 m² (Davies et al., 2022; NCPR, 2023).

Инхибиторите на дипептидил пептидаза-4 (DPP-4i) инхибират ензимното инактивиране на ендогенните инкретинови хормони – GLP-1 и GIP, което води до зависимо от глюкозата освобождаване на инсулин и намаляване на секрецията на глюкагон. Те имат умерена глюкозопонижаваща ефикасност и неутрален ефект върху теглото и се понасят добре с минимален риск от хипогликемия. Резултати от проучвания, оценяващи сърдечно – съдовия риск, доказват безопасността на следните DPP-4i – Saxagliptin, Alogliptin, Sitagliptin и Linagliptin. Намаляване на риска от прогресиране на албуминурия се наблюдава при Linagliptin. При Saxagliptin е установен повишен риск от хронична сърдечна недостатъчност и има редки съобщения за артралгия и реакции на свръхчувствителност.

SGLT2 инхибиторите намаляват реабсорбцията на глюкоза от гломерулния филтрат чрез блокиране на SGLT2 рецептора, като по този начин се понижава високата концентрация на глюкоза в плазмата. Те имат средна до висока гликемична ефикасност, но при пациенти с понижена скорост на гломерулна филтрация (eGFR) тя намалява. В клинични изпитвания е потвърдена и тяхната ефикасност за намаляване на риска от големи неблагоприятни сърдечно-съдови събития (MACE), инфаркт на миокарда, хоспитализация поради сърдечна недостатъчност (HNF) и подобряване на бъбречните усложнения при пациенти с установен/

висок риск от сърдечно - съдово заболяване (ССЗ). Употребата им е свързана с повишен риск от генитални микотични инфекции, за които се съобщава, че обикновено са леки и лечими. SGLT2 инхибиторите може да увеличат риска от диабетна кетоацидоза (DKA), но честотата е ниска – от 0,1–0,6%, с много ниски нива при сърдечна недостатъчност (CH) и хронична бъбречна недостатъчност (ХБН) (Davies et al., 2022; NCP, 2023).

GLP-1 рецепторните агонисти увеличават глюкозо-зависимата секреция на инсулин и потискат секрецията на глюкагон, забавят изпразването на стомаха, намаляват апетита, енергийния прием и телесното тегло. Освен подобряването на нивата на HbA1c при възрастни с диабет тип 2, някои GLP-1 рецепторни агонисти също са одобрени за намаляване на риска от MACE (Dulaglutide, Liraglutide и подкожен Semaglutide), както и за редукция на телесното тегло (подкожен Liraglutide, титриран до 3,0 mg веднъж дневно; подкожен Semaglutide, титриран до 2,4 mg веднъж седмично). GLP-1 рецепторните агонисти обичайно се прилагат подкожно, но има и един разрешен за употреба перорален GLP-1 рецепторен агонист (Semaglutide). Най-честите нежелани реакции при този клас са стомашно-чревни нарушения (гадене, повръщане и диария). Препоръчва се постепенно титриране на дозата. Резултатите показват, че няма увеличен риск от развитие на остър панкреатит, карцином на панкреаса и медуларен карцином на щитовидната жлеза при употребата им. Те са противопоказани при пациенти с фамилна анамнеза за медуларен карцином на щитовидната жлеза или множествена ендокринна неоплазия тип 2. Усложненията на диабетна ретинопатия, наблюдавани по време на клиничното изпитване SUSTAIN 6, изглежда се дължат на бързото намаляване на нивата на HbA1c при пациенти с предшестваща диабетна ретинопатия. GLP-1 RA също се свързват с по-висок риск от заболявания на жлъчния мехур и жлъчните пътища.

През септември 2022 г. е разрешен за употреба Tirzepatide – **дългодействащ GIP и GLP-1 рецепторен агонист** за подкожно приложение веднъж седмично. В клинични изпитвания фаза III Tirzepatide демонстрира висока ефикасност за намаляване на нивата на HbA1c спрямо плацебо, подкожен Semaglutide 1,0 mg седмично, Insulin degludec и Insulin glargine. Намаляването на нивата на HbA1c е с -1,91%, 1,93% и 2,11% с Tirzepatide съответно 5, 10 и 15 mg, като се наблюдава и редукция на телесното тегло със 7-9,5 kg. Въз основа на мета-анализи, Tirzepatide превъзхожда другите глюкозопонижаващи класове, включително дългодействащи GLP-1 агонисти, но употребата му се свързва с повишен риск от стомашно-чревни нарушения като гадене. Краткосрочни данни от рандомизирани клинични изпитвания предполагат, че Tirzepatide не повишава риска от MACE, но въпреки това, достоверни данни за неговата дългосрочна сърдечно-съдова безопасност ще бъдат налични след приключване на изпитването SURPASS-CVOT (Davies et al., 2022).

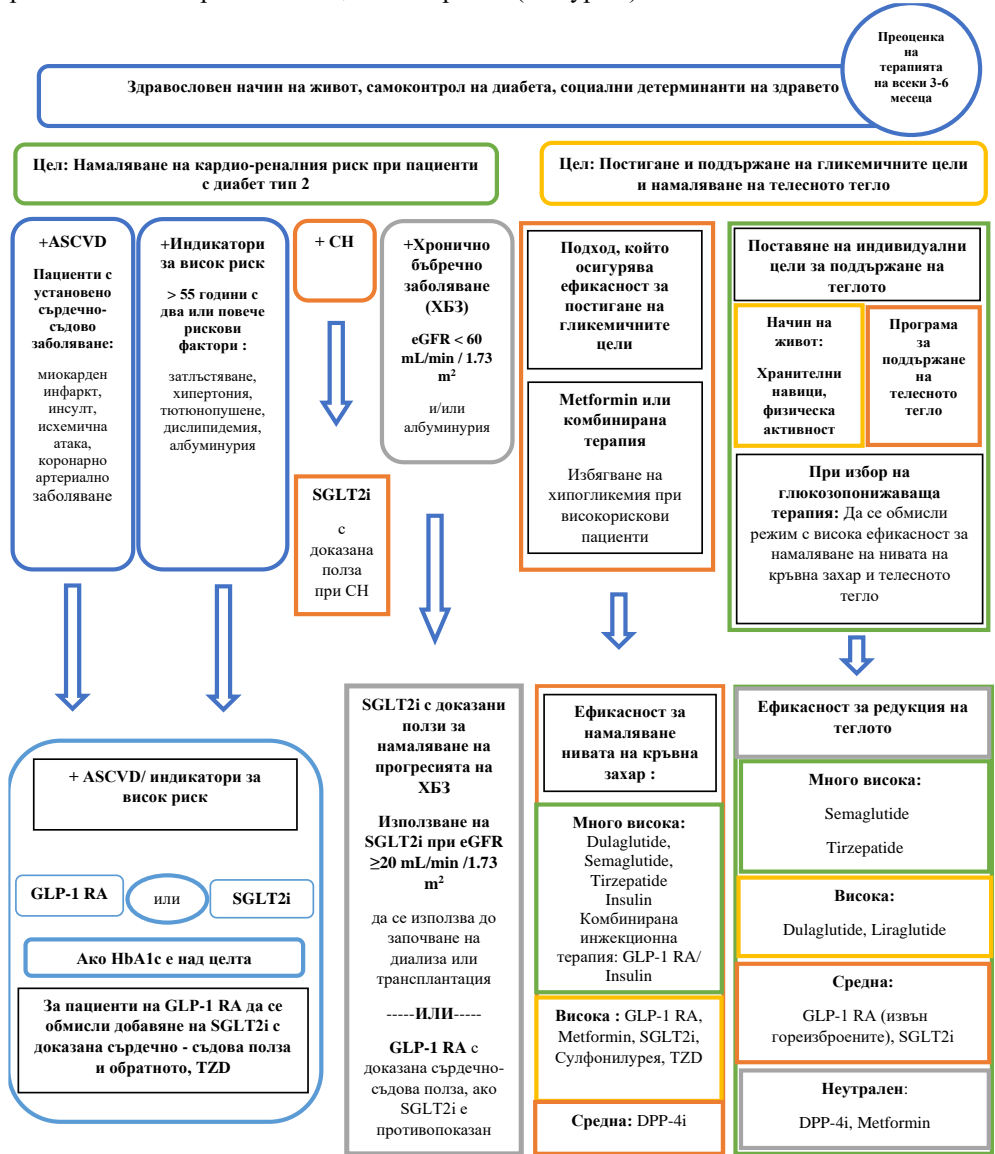
Глюкозопонижаваща терапия при възрастни пациенти със съпътстващи заболявания

При възрастни с диабет тип 2 с установен или висок риск от атеросклеротично сърдечно - съдово заболяване (ASCVD), сърдечна недостатъчност (CH) и/или хронично бъбречно заболяване (ХБЗ), планът за лечение трябва да включва лекарствен продукт с доказани сърдечно - съдови и бъбречни ползи като инхибитори на натриево-глюкозен котранспортер 2 [SGLT2i] и/или глюкагон-подобен пептид 1 рецепторни агонисти [GLP-1 RA]). SGLT2 инхибиторите и GLP-1 рецепторните агонисти се свързват с по-нисък риск от хипогликемия, а при пациенти с ASCVD, CH и ХБЗ се наблюдава повишен риск от хипогликемия. Систематични прегледи демонстрират, че най-голямо намаление на нивото на HbA1c има при употребата на инсулин, GLP-1 рецепторни агонисти (особено Semaglutide) и дългодействащия GIP/GLP-1 рецепторен агонист Tirzepatide. При възрастни с наличие на CH (с намалена или запазена фракция на изтласкване), се препоръчва употребата на SGLT2 инхибитор.

При възрастни със захарен диабет тип 2, които имат хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) с потвърдена оценена скорост на гломерулна филтрация [eGFR] от 20-60 ml/min на 1,73 m² и/или албинурия, трябва да се използва SGLT2 инхибитор за забавяне на прогресията на ХБЗ. Гликемичните ползи от SGLT2 инхибиторите намаляват при eGFR <45 ml/min на 1,73 m².

При възрастни с напреднало хронично бъбречно заболяване (eGFR <30 ml/min на 1,73

m2) при избора на терапия се предпочита GLP-1 RA поради по-ниския риск от хипогликемия и за намаляване на сърдечно - съдовите нежелани събития. Много висока ефикасност за понижаване на нивата на HbA1c се наблюдава след прилагането на GLP-1 рецепторните агонисти Dulaglutide (висока доза) и Semaglutide, дългодействащия глюкозозависим инсулинотропен полипептид (GIP) и GLP-1 RA Tirzepatide, инсулин, комбинирана перорална терапия и комбинирана инжекционна терапия (Фигура 1).



Фигура 1. Избор на глюкозопонижаваща терапия при пациенти с диабет тип 2.

Съвременните терапевтични подходи включват поетапно добавяне на други класове лекарствени продукти към Metformin с цел контрол на HbA1c. Когато HbA1c е ≥ 1,5 % е над индивидуалната цел, при много пациенти ще е необходима двойна комбинирана терапия, за да се постигне и поддържа добър контрол на HbA1c.

Резултатите от сравнителни мета-анализи показват, че всеки нов клас перорални глюкозопонижаващи продукти, добавени към първоначалната терапия с Metformin, обикновено понижава HbA1c с около 0,7-1,0%, а ако се добави GLP-1 RA или дългодействащия GIP и GLP-1 рецепторен агонист Tirzepatide, се очаква понижение на HbA1c

с 1 до $\geq 2\%$ (ADA, 2024).

Въвеждане на инсулин в терапията

При възрастни с диабет тип 2 трябва да се обмисли въвеждане на инсулин в терапията, ако има данни за продължаващ катаболизъм (напр. неочаквана загуба на тегло), ако са налице симптоми на хипергликемия или когато нивата на HbA1c или кръвната захар са много високи (т.е. HbA1c $> 10\%$ или кръвна глюкоза $\geq 16,7$ mmol/L).

Вместо инсулин се предпочита употребата на GLP-1 рецепторен агонист, включително двоен глюкозозависим инсулинотропен полипептид (GIP) и GLP-1 RA. Дозата на инсулина трябва да бъде коригирана при добавяне на GLP-1 RA или двоен GIP и GLP-1 RA. За да се сведе до минимум рискът от хипогликемия при започване на инсулинова терапия, трябва да се преоцени необходимостта от продължаване на употребата на лекарствени продукти, свързани с висок риск от хипогликемия, като сулфонилурейни продукти. Предпочита се употребата на базален инсулин. Началните дози могат да се изчислят въз основа на телесното тегло (0,1-0,2 единици/kg/ден) и степента на хипергликемия, като при необходимост се прилага индивидуално титриране в продължение на дни до седмици.

Целеви стойности на нивата на глюкозата на гладно е възможно да се постигнат с човешки NPH инсулин или дългодействащ инсулинов аналог. В клинични изпитвания е доказано, че дългодействащите базални аналози (U-100 glargine или detemir) намаляват риска от хипогликемия от второ ниво и нощна хипогликемия в сравнение с NPH инсулин. Базалните инсулини обикновено се прилагат преди лягане, но с по-новите инсулинови аналози е възможна по-голяма гъвкавост във времето на инжектиране на инсулин (т.е. по всяко време на деня). Ако HbA1c е над прицелното ниво е необходимо да се добави инсулин преди хранене – предпочитаният режим е базално-болусен, при който се добавя бързодействащ инсулин / аналог към базалния инсулин. При нива на HbA1c под 6,5% трябва незабавно да се спре или намали дозата на лекарствените продукти, свързани с повишен риск от хипогликемия. Налични са две комбинации с фиксирано съотношение на GLP-1 RA и аналози на базален инсулин: Insulin degludec и Liraglutide (IDegLira) и Insulin glargine с Lixisenatide (iGlarLixi). Комбинацията от базален инсулин с GLP-1 RA води до по-голяма ефикасност за понижаване на нивото на HbA1c, по-малко наддаване на тегло и по-ниски нива на хипогликемия, отколкото при интензифицирани инсулинови схеми, както и по-добра стомашно-чревна поносимост, отколкото използването им самостоятелно (ADA, 2024; NCPD, 2023).

В мета-анализ на 453 проучвания, оценяващи глюкозопонижаващата ефикасност на девет лекарствени класа, значително намаляване на HbA1c се установява при инсулинови схеми и употреба на GLP-1 RA.

Мрежови мета-анализи, сравняващи ефикасността на лекарствените продукти относно редукия на телесното тегло и кръвното налягане, показват, че тя е най-значима при приложение на подкожен Semaglutide, последван от другите GLP-1 рецепторни агонисти и SGLT2 инхибитори, като при тези класове се наблюдава и понижаване на кръвното налягане. Дългодействащият GIP и GLP-1 RA Tirzepatide се свързва с по-добър контрол на нивата на HbA1c, като по отношение на редукията на теглото е по-ефикасен от Semaglutide 1 mg.

Докато двойните мета-анализи и изпитвания за сърдечно-съдовите резултати (CVOTs) позволяват изводи за цялостната ефикасност и безопасност на новите глюкозопонижаващи терапии, нито един от тях не сравнява директно SGLT2i с GLP-1 RA. Въпреки това, сравнителната ефективност на тези два класа лекарствени продукти е оценена в три скоростни мрежови мета-анализи, които установяват, че при пациенти с диабет тип 2, SGLT2i превъзхождат GLP-1 RA при намаляване на хоспитализациите поради сърдечна недостатъчност и повлияване на бъбречни усложнения, докато GLP-1 RA изглеждат по-ефективни за намаляване на риска от инсулт. Няма значими различия между двата класа лекарствени продукти по отношение на нивата на смъртност и други сърдечно-съдови ползи (ADA, 2024).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Налични са разнообразни съвременни терапевтични възможности за лечение на захарен диабет тип 2, които винаги трябва да бъдат прилагани в рамките на подход, в центъра

на който е пациентът. Всички решения относно лечението трябва да се вземат, когато е възможно, съвместно с пациента и да са съобразени с неговите предпочитания, нужди и ценности. Гликемичните цели и глюкозолонижаващата терапия трябва да са индивидуализирани. Хранителният режим, физическата активност и обучението остават основата на всеки терапевтичен подход. Метформин е оптималното средство на първи избор освен в случаите с налични противопоказания. Комбинирана терапия с добавяне на един или два перорални или инжекционни лекарствени продукта е оправдана, като целта е да се сведат до минимум нежеланите лекарствени реакции. Много пациенти ще имат нужда от инсулинова терапия, самостоятелно или в комбинация с други лекарствени продукти, за да се поддържа гликемичният контрол. Придържането към назначената терапия и постоянството при осигуряването на фармакологични и поведенчески интервенции за поддържане на сърдечно-бъбречното здраве, намаляване на сърдечно-съдовия риск и постигане на индивидуалните цели относно гликемичния контрол и тегло ще предотврати развитието на усложнения и ще оптимизира качеството на живот на пациентите с диабет тип 2. Включването в терапията на GLP-1 рецепторните агонисти и SGLT2 инхибиторите осигурява допълнителни ползи за високорискови пациенти с атеросклеротично сърдечно – съдово заболяване, сърдечна недостатъчност или хронично бъбречно заболяване и представлява важен напредък в лечението, насочено към намаляване на прогресията и тежестта на диабета и неговите усложнения.

ЛИТЕРАТУРА

American Diabetes Association (ADA). (2024). 9. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of care in diabetes-2024. *Diabetes Care*, 47(Supplement 1), S158–S178. <https://doi.org/10.2337/dc24-S009>

Bulgarian Society of Endocrinology (BSE). (2019). *Recommendations for good clinical practice in diabetes mellitus*. Retrieved from <https://endo-bg.com/wp-content/uploads/2019/10/endo-zaharen-diabet-2019.pdf>

Davies, M. J., Aroda, V. R., Collins, B. S., Gabbay, R. A., Green, J., Maruthur, N. M., Rosas, S. E., Prato, S. D., Mathieu, C., Mingrone, G., Rossing, P., Tankova, T., Tsapas, A., & Buse, J. B. (2022). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2022: A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, 45(11), 2753–2786. <https://doi.org/10.2337/dci22-0034>

ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Gaglia, J. L., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. L., Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., Stanton, R. C., & Gabbay, R. A. (2023). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of care in diabetes 2023. *Diabetes Care*, 46, S19–S40. <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>

ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. L., Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., Stanton, R. C., Young-Hyman, D., & Gabbay, R. A. (2023). 5. Facilitating positive health behaviors and well-being to improve health outcomes: Standards of care in diabetes-2023. *Diabetes Care*, 46(Supplement 1), S68–S96. <https://doi.org/10.2337/dc23-S005>

International Diabetes Federation (IDF). (2021). *IDF Diabetes Atlas 10th edition*. Retrieved from <https://diabetesatlas.org/data/en/>

National Council on Prices and Reimbursement (NCPR). (2023). *Pharmacotherapeutic guideline for endocrinology and metabolic diseases*. Retrieved from https://www.ncpr.bg/images/Naredbi_za_priemane_na_FTR/03.12.2019/Naredba_16_ot_2019_FTR_en_dokrinologia_priturka_compressed.pdf

Tankova, T. (2012). Current guidelines for the management of hyperglycemia in type 2 diabetes. *Endocrinologia*, XVII (2), 64–77. Retrieved from <https://endo-bg.com/savremenni-preporaki-za-kontrol-na-hiperglikemiyata-pri-zaharen-diabet-tip-2/>

Tankova, T. (2013). *Diabetes mellitus*. Paradigma. ISBN 978-954-326-201-4

Tankova, T. (2015). Current guidelines for the management of hyperglycemia in type 2 diabetes - 2015. *Endocrinologia*, XX (1), 43–51. Retrieved from <https://endo-bg.com/savremenni-preporaki-za-kontrol-na-hiperglikemiyata-pri-zaharen-diabet-tip-2-2015/>

HISTOLOGICAL REACTION OF THE PULP ON THE 90TH DAY AFTER DIRECT VITAL PULP CAPPING WITH DIFFERENT MATERIALS AND PREPARATION BY Er: YAG DENTAL LASER

Vesela Stefanova, Mariela Tsanova-Stamatova, Kostadin Zhekov

Department of Operative Dentistry and Endodontics,
Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* The true state of the dental pulp can be determined only histologically, but for obvious reasons this is impossible after vital pulp capping in humans.

Aim: To study and compare the connective tissue histological reaction of the pulp on the 90th day after direct vital pulp capping with different materials and preparation by Er: YAG dental laser.

Material and Methods: The study was carried out on three clinically healthy dogs. The preparations were done on premolars and molars of both jaws distributed in four groups. Cavities are prepared by using the Er: YAG dental laser and settings for Caries Removal – Deep Cavities HT and tips $d=0.8\text{mm}$, $l=17\text{mm}$. Communications with the pulp $\leq 1\text{ mm}$ were done. The cavities with Dycal, MTA and hemostatic sponge (without pulp capping agent) are sealed with glass ionomer cement, and those with Biodentine are filled with it. The histomorphological analysis was performed using Olympus BX 51 light microscope with a built-in camera.

Results: On the 90th day in the samples without pulp capping material there are traces of necrosis; in those with calcium-hydroxide calcium metaplasia is found; for MTA the rate of the healing process is slower, less developed but well filled blood vessels are observed. Data are found for normalization of the structure of the dental pulp in the teeth on which Biodentine has been placed.

Conclusion: Histomorphological evidence of healing process after direct pulp capping in an experiment with animals by forming a dentine bridge are found on the third month in the teeth prepared with Er: YAG dental laser and tricalcium silicate cement (Biodentine).

Keywords: Er: YAG dental laser, direct vital pulp capping, Dycal, MTA, Biodentine

1. INTRODUCTION

The true state of the dental pulp can be determined only histologically, but for obvious reasons this is impossible after pulp capping treatment in humans. In scientific literature, there is data on several conducted research on experimental animals in order to prove the effect of different lasers in vital pulp therapy and in particular direct pulp capping. In 1985 Melcer et al. (Melcer et al., 1985) published results that CO₂ the laser induces the formation of cell-free newly formed dentin changes in pulp tissue after irradiation of dental cavities in dogs and primates. Two years later, the same researchers (Melcer et al., 1987) used CO₂ laser to treat exposed pulp tissue, thereby achieving hemostasis again on canine and primate teeth. The procedure is performed on dentin exposure with an energy of $2 \times 10^3\text{ J/cm}^2$, then the first cellular layers of the pulp show thinning and cellularity degeneration. After three months, a new formation is observed mineralized dentin with a thickness of about $300\ \mu\text{m}$, resulting in the most possibly from stimulation of the odontoblasts or from the production of others pulp cells. When an energy of 10^3 J/cm^2 was applied, within the one month, partial pulp necrosis was detected along with signs of inflammation and almost constant regeneration and formation of $200\ \mu\text{m}$ thick dentin bridge. The ones presented by Suzuki et al. (Suzuki et al., 2005) research results of direct pulp plating in rats show that CO₂ laser radiation (0.5 W for 3 sec) can be used for bacterial field decontamination. However, the group of CO₂ lasers show a very irregular fibrous dentinal matrix near the denatured and carbonized tissues without being conclusively proven reparative dentin formed. According to Anic et al. CO₂ lasers are the most well

to be used at 1W for less than 1 sec, under anesthesia and air cooling during pulp tissue irradiation (Anić et al., 1996).

The aim is to study and compare the connective tissue histological reaction of the pulp on the 90th day after direct vital pulp capping with different materials and preparation by Er: YAG dental laser.

2. METHODS AND MATERIALS

The study was carried out on three dogs aged one year and a half and weight 20-25 kg and permanent dentition. The experimental animals were clinically healthy, without dental and periodontal diseases. The preparations were carried out in general twenty-four premolars and molars of both jaws distributed in four groups. During the period of the experiment, the dogs were fed a complete, easily digestible diet and raised under same conditions. General anesthesia was used during the treatments which occurs after 15 minutes and lasts 30-60 minutes. Cavities 3-5 mm are prepared on the vestibulo-gingival surfaces of the teeth, by using the Er: YAG dental laser and factory device settings for working with deep carious defects (Caries Removal – Deep Cavities HT, Non-Contact, 250 mJ, 30 Hz, water spray 8) and new sapphire tips d=0.8mm, l=17mm. It is being created communication with the pulp, not exceeding 1 mm, as a sign of this the occurrence of light bleeding was accepted. After rinsing with 0.9% sodium chloride solution and drying with dry sterile cotton the materials were applied randomly. They are prepared and implemented according to the manufacturers' instructions. Cavities with Dycal, MTA and hemostatic sponge (without pulp covering agent) are sealed with glass ionomer cement, and those with Biodentine are completely filled with it. After 14, 30 and 90-day follow-up animals were euthanized at random principle after general anesthesia with Thiopental-sodium (10-20 mg/kg) through administration of Evtanazin (5% solution of magnesium sulfate) 1 ml/kg intravenously. This was followed by fixation of the resected jaws in a 10% neutral solution buffered formalin for 30 days, running water wash, preparation of sections of the prepared teeth, about 5 mm thick and placed in decalcifying solution. To protect fibrous structures from swelling, after decalcification preparations are placed for 24 hours in a 5% solution of Na₂SO₄. After thorough washing in running water, the samples were included in paraffin blocks. Histological serial sections were prepared with thickness 5 micrometers and after deparaffinization were stained with hematoxylin-eosin. The histomorphological analysis was performed using an Olympus BX 51 light microscope with a built-in camera. During the observation, the change in the odontoblastic zone was considered, the presence of an inflammatory reaction, blood-vascular changes, and the formation of a dentine bridge.

3. RESULTS

The postoperative period for the animals included in the experiment passed without complications. All fillings were present. The permanent premolars and molars of dogs were chosen because of their morphological similarity to those of man. They are made of enamel, dentin and cement, and their dental pulp is in a pulp cavity divided into pulp chamber and root canals in which it is located respectively crown and root pulp. Dogs possess similar to that of human circulation and innervation in this area. For these reasons their teeth turn out to be the most suitable for carrying out the present one histological experiment.

Microscopically, the prepared cavities are clean and smooth, dentine walls with a normal structure of hard dental tissues, the dentinal tubules are well visible, unfortunately in the process of decalcification and preparation some of the placed materials were lost and cannot always be observed. On the third month, data for the normalization of the structure of the dental pulp in the teeth on which Biodentine has been placed is observed. Normal odontoblasts are found in regularly arranged rows with normal nuclei. The subodontoblastic zone in the crown part of the pulp in proximity to the preparations has a well-developed capillary system (Figure 1).

In the samples without pulp capping material there are traces of necrosis. The normal elements of the pulpodentine complex are not detected. There are no young blood vessels, although the blood circulation is partially preserved, especially in the root part of the pulp (Figure 2). In the samples with pulp capping material MTA, the rate of the healing process is slower, less developed blood vessels, but well filled (Figure 3).



Figure 1. Biodentine, (x10), dentine bridge.

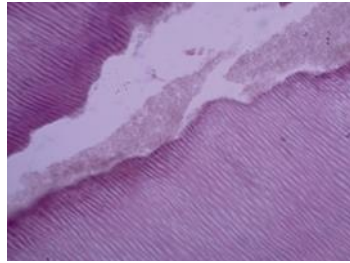


Figure 2. Without pulp capping agent (x40).

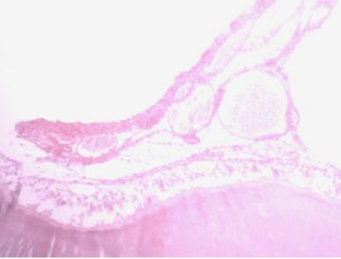


Figure 3. MTA (x40), healthy pulp.

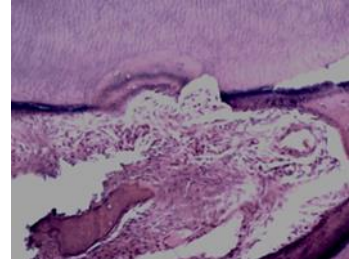


Figure 4. Calcium-hydroxide (x20), calcifications.

Despite histological evidence of the presence of a healthy pulp with normal blood network on day 90 in the samples with calcium-hydroxide, signs of calcium metaplasia are found (Figure 4). We believe that it plays a major role in the late histological changes of the calcium ion, which is the bioactive ingredient of the material, and several mechanisms lead to pulp recovery (Hilton, 2009). It's less and less significant of the fact that the preparations were not made with rotary tools. Data on a true healing process in the samples from the third month was found in those obturated with Biodentine. The formed dentine bridge is made of dentine canals, under which several rows of odontoblasts are observed, organized in well pronounced odontoblastic zone (Figure 1). Below it histological evidence of a healthy pulp with a normal vascular network is seen.

4. DISCUSSION

There is published data on histological experiments evaluation of the pulp after pulp capping of rat and cat teeth (Damaschke et al., 2010). After preparation with an Er: YAG dental laser (200 mJ/pulse, 5 Hz, 15 sec) Hasheminia et al. (Hasheminia et al, 2010), apply calcium hydroxide and MTA on mechanically exposed canine pulp in cats, found no pulp inflammation and invasion of neutrophilic granulocytes, dilated capillaries during the first one or two weeks of the experiment, which also coincides with our finding in dogs. They also did not detect reparative dentin in this early stage after treatment. In the study with cats, it was also proven that the better result when combining MTA and Er: YAG laser compared to conventional methods. Jayawardena et al. (Jayawardena et al., 2001) prove the recovery pulp capacity by demonstrating formed dentine bridges after pulp exposure with Er: YAG laser (150 mJ/ pulse, 10 pulses) in rats. Reparative dentin formation was noted in canine teeth 4 days after Er: YAG laser exposure by Widgor et al. (Widgor et al., 1993). Keller and Hibst (Keller & Hibst, 1991) present data on newly formed calcified dentin at the sixth and eighth week after Er: YAG laser radiation (150-300 mJ/pulse, 50 pulses) in canine dental pulp. However, based on their experience, the authors do not recommend using these parameters at people in clinical practice. An Er,Cr:YSGG laser (25 mJ/pulse, 0.5 W, 20 Hz) was used by Toomarian (Toomarian et al., 2008) in dental pulpotomy in dogs and found no data of clinical, pathological or radiological changes. Based on the research of Tsanova and Tomov (Tsanova & Tomov, 2010) in which it is proved the absence of a smeared layer after laser preparation of dentine and open dentin canals and give possibility of showing a stronger bioactive potential of the calcium ion from pulpcapping agents. It can be stated that despite the undeniable qualities of the Er:YAG dental laser before rotary instruments, namely the lack of thermal and mechanical damage to the pulp during the preparation itself and reducing the amount of bacteria in the operative field (Afkhami et al., 2023;

Huang et al., 2023), as the most important in the context of successful biological treatment, the convalescent process in the late stages of development depends mostly on the physico-chemical and bioactive potential of the pulp capping agent.

5. CONCLUSIONS

Histomorphological evidence of healing process after direct pulp capping in an experiment with experimental animals by forming a dentine bridge are found on the third month in the teeth prepared with Er: YAG dental laser and pulp capping agent tricalcium silicate cement (Biodentine).

ACKNOWLEDGMENTS: Medical University of Plovdiv Scientific Project №23/22.06.2012.

REFERENCES

Afkhami, F., Rostami, G., Xu, C., Walsh, L. J., & Peters, O. A. (2023). The application of lasers in vital pulp therapy: A review of histological effects. *Lasers in Medical Science*, 38(1), 215.

Anić, I., Tachibana, H., Masumoto, K., & Qi, P. (1996). Permeability, morphologic, and temperature changes of canal dentine walls induced by Nd:YAG, CO₂, and argon lasers. *International Endodontic Journal*, 29, 13–22.

Dammaschke, T., Wolff, P., Sagheri, D., Stratmann, U., & Schäfer, E. (2010). Mineral trioxide aggregate for direct pulp capping: A histologic comparison with calcium hydroxide in rat molars. *Quintessence International*, 41(2), 20–30.

Hasheminia, S. M., Feizi, G., Razavi, S. M., Feizianfard, M., Gutknecht, N., & Mir, M. (2010). A comparative study of three treatment methods of direct pulp capping in canine teeth of cats: A histologic evaluation. *Lasers in Medical Science*, 25(1), 9–15.

Hilton, T. J. (2009). Keys to clinical success with pulp capping: A review of the literature. *Operative Dentistry*, 34(5), 615–625.

Huang, Q., Li, Z., Lyu, P., Zhou, X., & Fan, Y. (2023). Current applications and future directions of lasers in endodontics: A narrative review. *Bioengineering (Basel)*, 10(3), 296.

Jayawardena, J. A., Kato, J., Moriya, K., & Takagi, Y. (2001). Pulpal response to exposure with Er:YAG laser. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 91, 222–229.

Keller, U., & Hibst, R. (1991). Tooth pulp reaction following Er:YAG laser application. *Proceedings of SPIE*, 1424, 127–133.

Melcer, J., Chaumette, M. T., & Melcer, F. (1987). Dental pulp exposed to the CO₂ laser beam. *Lasers in Surgery and Medicine*, 7, 347–352.

Melcer, J., Chaumette, M. T., Melcer, F., Zeboulon, S., Hasson, R., Merard, R., et al. (1985). Preliminary report on the effect of the CO₂ laser beam on the dental pulp of the *Macaca mulatta* primate and the beagle dog. *Journal of Endodontics*, 11, 1–5.

Suzuki, M., Katsumi, A., Watanabe, R., Shirono, M., & Katoh, Y. (2005). Effects of an experimentally developed adhesive resin system and CO₂ laser irradiation on direct pulp capping. *Operative Dentistry*, 30, 702–718.

Toomarian, L., Fekrazad, R., Sharifi, D., Baghaei, M., Rahimi, H., & Eslami, B. (2008). Histopathological evaluation of pulpotomy with Er,Cr:YSGG laser vs formocresol. *Lasers in Medical Science*, 23, 443–450.

Tsanova, S., & Tomov, G. (2010). Morphological changes in hard dental tissues prepared by Er:YAG laser (LiteTouch, Syneron), Carisolv, and rotary instruments: A scanning electron microscopy evaluation. *Folia Medica*, 52(3), 46–55.

Wigdor, H., Abt, E., Ashrafi, S., & Walsh, J. T., Jr. (1993). The effect of lasers on dental hard tissues. *Journal of the American Dental Association*, 124, 65–70.

FEMTOSECOND LASER IRRADIATION OF DENTAL COMPOSITE MATERIAL

Dragomir Vassilev^{1,2}, Vesela Stefanova³, Kostadin Zhekov³,
Todor Petrov^{1,4}, Lyubomir Stoychev¹

¹ Institute of Solid State Physics, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

² Faculty of Physics, Sofia University “St. Kliment Ohridski”

³ Department of Operative Dentistry and Endodontics,

Faculty of Dental Medicine, Medical University of Plovdiv

⁴ Department of Applied Physics, Faculty of Applied Mathematics and Informatics, Technical University of Sofia

Abstract: Composite materials are widely used for dental fillings because they can mimic the original color and texture of the patient’s tooth. Femtosecond laser technology is still in research. Aim: To study the interactions of femtosecond laser radiation and dental composite surface. A sample of Clearfil Majesty Esthetic opaque OA3 (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan) was used, with dimensions 8x11x1 mm, light cured with standard clinical light source. Laser - Pharos model Ph2-10-1000-02-H0-B (Light Conversion UAB, Lithuania), with an automated harmonic generator was applied as a laser source. The composite polymer sample was treated with the 1030 nm laser wavelength at 100 kHz repetition rate. We processed an area of 0.5 x 0.5 mm using a scanner intelliSCAN se 14 (SCANLAB GmbH), equipped with an F-Theta, at different settings – number of cycles drawn, number of hatches in a cycle and step, at different laser pulse energies. The effects of the treatment were observed with the help of a confocal microscope ZEISS LSM 900. Digital images of x10 magnification were obtained as well as 3D profiles. The 3D profiles measurements show that the depth of the treated areas increases linearly with the applied pulse energy while keeping all other parameters fixed for given processing preset. The same linear correlation is observed when varying the number of cycles which were performed for given preset. Further studies of different regimes of the femtosecond laser will be performed to understand the optimal parameters for processing of dental composite materials.

Keywords: Femtosecond laser, composite material, confocal microscope

1. INTRODUCTION

Human teeth are an important part of the human body, and their maintenance and repair are of great importance. Since teeth cannot regenerate after damage, various fillings have been created to repair them. Fillings in the past made of alloys and metals have been replaced nowadays by composite materials created from silicon dioxide and polymer resins. They have better qualities, and they are better for overall human health (Rangreez, 2019). The aim of our research is to study the interaction of laser irradiation with a commercial composite polymer and find the most appropriate laser parameter for its treatment. With the help of the femtosecond laser, scanner and microscope, we were able to find the best settings for optimal processing.

2. METHODS AND MATERIALS

The commercial composite polymer used in the study was Clearfil Majesty Esthetic opaque OA3 (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan). The test sample has dimensions of 8x11x1 mm (width/length/thickness), which was pre-irradiated with a standard clinical light source with wavelength 450 nm for 60 seconds. The femtosecond laser is a Pharos model Ph2-10-1000-02-H0-

B (Light Conversion UAB, Lithuania) with an automatic harmonic generator operating at three wavelengths 1030 nm (10 W), 515 nm (5.9 W), 343 nm (2.9 W). For the study, we used the fundamental wavelength at 1030 nm with a pulse length of 170 fs, due to the widespread use of lasers operating at this wavelength. The output powers of the laser radiation at the given wavelength is finely attenuated by internal power control, giving the possibility to set the appropriate value of power densities on the treated areas.

Scanner IntelliSCAN se 14 (SCANLAB GmbH), equipped with an F-Theta lens with focal length of 150 mm, was used in combination with the laser. It deflects the laser beam so that areas can be irradiated, or images can be created on the surface of the studied material. It was used with a combination of different settings - number of cycles of a preset image drawn, number of hatches in a cycle and step between marking lines, which are particularly important for conducting the experiment. The interactions of the laser light with the material were observed and processed using a confocal microscope ZEISS ZenBlue LSM 900 with Airyscan 2 (with resolution - lateral (XY) down to 120 nm, axial (Z) 350 nm), creating 2D and 3D images.

3. RESULTS

Using the laser configuration: 1030 nm, 100 kHz, 10 W, 100 μJ (at 100%) in combination with the scanner, we processed 56 areas each with dimensions 0.5x0.5 mm with the different combinations of the settings: number of drawn cycles – 1 & 10, number of hatches in a cycle - 1 & 2, and step between the marking lines - 10 μm & 25 μm , - at different laser pulse energies: 2 μJ , 4 μJ , 6 μJ , 8 μJ , 10 μJ , 15 μJ , 20 μJ , respectively 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 15%, 20% of the total energy. Figure 1 shows the sample of the composite material after laser irradiation.

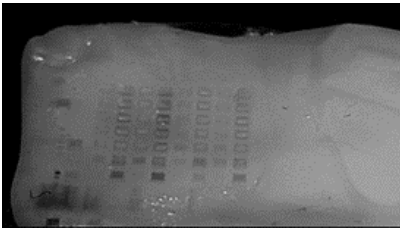


Figure 1. The composite after the irradiation

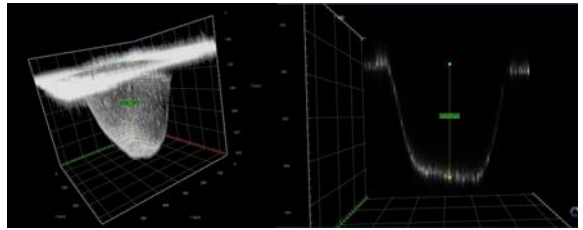
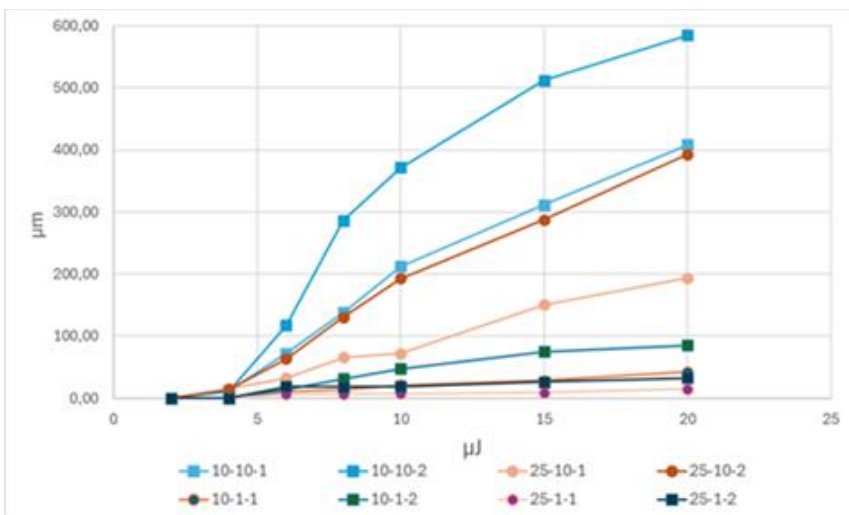


Figure 2. Methods of measuring the depth of the reaction – XY plane and 3D



Graph 1. Dependence of the depths of the treated areas from the different laser and scanner parameters

As seen in Table 1 and Graph 1 there is a linear dependence of the depth from both number of hatches and the number of cycles. Due to the difficulty of correctly measuring the depth at low energies, we can assume that the results are linear despite the initial skew in the plot. Linear dependence is also found with increasing the energy and the step. We find that the change in the number of cycles from 1 to 10 is increasing the depth about 10 times and about 7.5 times, respectively at 25 μm and 10 μm step. Also comparing the change in the number of hatches from 1 to 2 shows that this increases the depth around 2 times (1 cycle), 1,5 times (10 cycles, 10 step) and 2 times (10 cycles, 25 step).

Table 1. Measured depths of the treated zones

Step (μm)	Cycle (N°)	Hatch (N°)	2 μJ	4 μJ	6 μJ	8 μJ	10 μJ	15 μJ	20 μJ
10	1	1	0,00	0,00	11,09	14,17	20,96	28,78	42,34
10	10	1	0,00	12,03	72,05	138,20	212,38	311,71	408,43
10	1	2	0,00	0,00	14,13	31,45	47,44	75,07	85,39
10	10	2	0,00	11,11	117,48	286,32	371,45	511,89	584,77
25	1	1	0,00	0,00	6,43	6,82	7,44	9,38	14,91
25	10	1	0,00	15,67	32,55	65,74	71,88	150,90	193,73
25	1	2	0,00	0,00	18,74	18,10	18,94	26,41	32,41
25	10	2	0,00	14,52	63,38	130,82	193,21	287,50	392,80

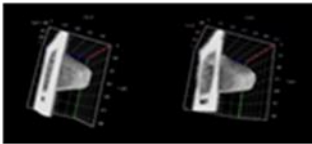


Figure 3. Comparison between treatments 10/10/2 15% and 20%



Figure 4. Comparison between treatments 10/10/1 8% and 20%

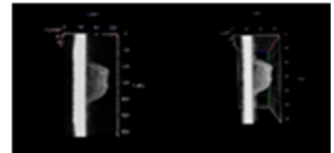


Figure 5. Comparison between treatments 25/10/2 10% and 20%



Figure 6. Comparison between treatments 25/10/1 20% and 10%

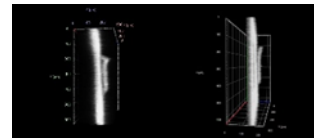


Figure 7. Comparison between treatments 10/1/1 20% and 10%

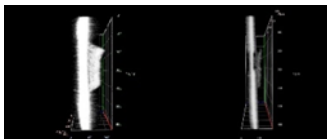


Figure 8. Comparison between treatments 10/1/2 20% and 10%

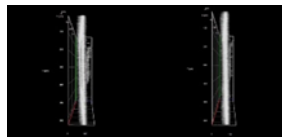


Figure 9. Comparison between treatments 25/1/2 20% and 8%

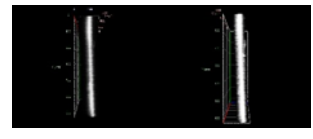


Figure 10. Comparison between treatments 25/1/1 8% and 20%

4. DISCUSSION

From the obtained results, we understand that when irradiated with 2% of our laser configuration, no reaction with the material occurs. A weak reaction occurs only from 4 to 6%, and the maximum energy that should be used should be up to 20%, because at higher energies the material is burnt and excessively damaged. The graph shows some similarities in the results at different settings. Since the software has fine tuning, it will be interesting to see what can be achieved to improve the experiments in the future. Other authors investigate the effects of femtosecond laser on hard dental tissues (Lagunov, 2022; Rapp, 2023). It is the first time to study the interaction of the femtosecond laser and that dental composite material.

5. CONCLUSIONS

For rough treatment the higher energies are more appropriate, while for precise removal of material lower energies ($6\mu\text{J} - 8\mu\text{J}$) should be applied. Further studies of different regimes of the scanner settings will be performed in order to better understand the optimal parameters for processing of dental polymer, as well as other polymers with application in dental medicine. The effects of treatment of the Clearfil dental polymer with other laser wavelengths will be done to find the most suitable for processing.

ACKNOWLEDGMENTS: This work was financially supported by the Bulgarian National Science Fund under project Grant No: KP-06-N78/8 (14.12.2023) and ELI “Extreme Light” (Extreme Light Infrastructure BG) D01-401 (18.12.2020) BG05M2OP001-1.001-0008.

REFERENCES

- Lagunov, V. L., Rybachuk, M., Itthagarun, A., et al.** (2022). Importance of choosing the right parameters: Modification of dental enamel and dentin by an ultra-fast femtosecond laser irradiation: A systematic review. *Optics and Laser Technology*, 155, 108439.
- Rangreez, T. A., & Mobin, R.** (2019). Polymer composites for dental fillings. *Woodhead Publishing*, 205–224.
- Rapp, L., Madden, S., Brand, J., Maximova, K., Walsh, L. J., Spallek, H., Zuaiter, O., Habeb, A., Hirst, T. R., & Rode, A. V.** (2023). Investigation of laser wavelength effect on the ablation of enamel and dentin using femtosecond laser pulses. *Scientific Reports*, 13, 20156.

PULP AND ROOT DENTICLES-OBSTACLES FOR SUCCESSFUL ENDODONTIC TREATMENT: A CASE REPORT

Zdravka Harizanova¹, Ferihan Popova¹, Marieta Peycheva²

**¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv**

**² Department of Neurology, Faculty of Medicine,
Medical University of Plovdiv**

Abstract: Denticles are defined as calcified masses that can be detected in the coronal or, less frequently, radicular pulp cavity of any deciduous or permanent teeth. They can be found in healthy or impacted teeth and may hinder the access to the root canal or its apex thus worsening the outcome of the endodontic treatment. Incidence of pulpal calcification in older patients is recorded to be ten times higher than in young patients. Pulp canal obliteration occurs commonly following traumatic injuries to teeth. However, we report a case of pulpitis in a 16-year-old boy with no relevant medical history of recent trauma with a few denticles in the pulp chamber and the roots of the left first maxillary molar. The pulp cavity was prepared and the denticles were removed. We conducted endodontic treatment using ultrasonic tips and ProTaper rotary file. The removal of pulpal calcifications from the pulp chamber is a difficult and time-consuming process, which requires skill and right equipment and magnification devices. Also, the knowledge of the denticle distribution can help dentists in the clinical treatment. However, a small number of studies regarding pulp or radicular stones in young patients have been published. Hence, we believe that our case report will be useful for dental practitioners in their endodontic treatment.

Keywords: denticles, root canal treatment, pulpal calcification, pulpitis

INTRODUCTION

Successful endodontic treatment requires accurate location, cleaning, shaping and obturation of the whole root canal system (Hammad et al., 2009). Pulp calcifications present difficulties in endodontic treatment, the orifices might be blocked which hinders the pulp access and increases the risk of instrumental breakage (Hsieh C.Y et al., 2018). Denticles are calcified deposits which can be found in the coronal or root part of the pulp, in permanent or deciduous dentition (Langeland et al., 1974, Rodakowska, 2011). Pulp canal obliteration occurs most commonly after traumatic injuries to the teeth. Denticles can be found in young patients with no relevant history of trauma very rarely as it is in the following case report.

CASE REPORT

A 16-year-old, generally healthy boy visited the dental practice with long-lasting pain from cold, characteristic of acute pulpitis. The pain was in the maxillary left jaw. The clinical examination of the upper first molar (16) revealed an obturation on its medio-occlusal surface and pain on vertical percussion as long as to thermal stimuli. Periapical dental X-ray was taken (Fig. 1).



Figure 1

Based on the symptoms and radiography, irreversible pulpitis with vital pulp was diagnosed. After isolating the tooth with a rubber dam and injecting an anesthesia with 4 % articain hydrochloride, the obturation was removed, the pulp was revealed, and the dental cavity was prepared. After the pulpal roof was removed, the presence of pulp stone blocking the vestibular canals was confirmed. With the use of an ultrasonic tip the denticle were removed and the pulp was prepared (Fig. 2, Fig. 3).

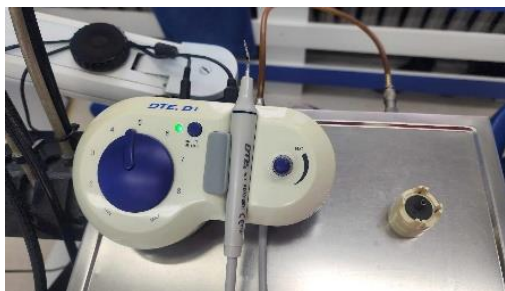


Figure 2



Figure 3

Then access to all canal orifices was established, all canals were cleaned and shaped to full length using an apex locator with rotary files (Fig. 4, Fig. 5).



Figure 4



Figure 5

The root canal treatment was held during three subsequent visits. The canals were prepared chemo-mechanically by step-back technique using 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl 20 ml) and 15 % EDTA (10 ml) solutions and then filled with the thermal method of gutta-percha (Fig. 6).

The canal orifices were secured with a flowable, colored composite material. Control X-ray was performed, all canals appeared properly filled and the patient was referred to for final restoration (Fig. 7).



Figure 6



Figure 7

RESULTS

During the treatment, the pulp stone was removed, allowing access to all the canal orifices and preparing them to their full length (MV-19.5 mm, DV- 19.7 mm, P- 23.6 mm). Obturation of the entire canal system was performed and control X-ray was taken.

DISCUSSION

Pulpal calcifications appear radiographically as dense, radiopaque masses. However, if their diameter is smaller than 200 μm , they can not be detected using dental radiography (Pietrzycka et al., 2020). Not many studies describing the denticle location have been published. According to some researchers pulp stones occurred in the pulp chambers of 69.4 % of the cases and only in 3.5 % of the cases they were found in the canals (Syrynnska et al., 2010). According to the database pulp stones are more common in maxillary teeth. This is in accordance with our case. On the other hand, more cases in the literature are reported in adult teeth of after trauma of the tooth (Hsieh, 2018). However, we detected a pulp stone in the pulp chamber of a young boy with no relevant history of trauma blocking both vestibular orifices.

Denticles may be caused by the differentiation of secondary fibroblasts into hard tissue producing cells by the fibroblasts (Bargholz et al., 2007). Another reason is the apoptosis of odontoblasts and fibroblasts and accumulation of hydroxyapatite crystals which leads to formation of tertiary dentin, dental atrophy and the tooth chamber reduction. Dental inflammation also causes formation of denticles (Barańska-Gachowska, 2011). Furthermore, pulp stones accompany different diseases such as renal pathology, dental dysplasia, dentinogenesis imperfections, enamel pearls, taurodontism (Zdziemborska, 2011).

Denticles can be classified due to their structure to genuine and alleged. Genuine pulp stones are like dentin, have some regular dentinal tubules and are located usually in the apical foramina (Kmieć, 2006). The alleged denticles are not like the dentin, formed by dead or calcified pulp cells. Denticles can be classified also according to their position to the dentin to free, adjacent and intradentinal denticles (Barańska-Gachowska, 2011). Denticles can be compact, scattered, fibrous, radial and lamellar according to their dimensions (Bargholz et al., 2007).

CONCLUSION

Denticles are pulp degeneration which can worsen the endodontic treatment outcome, and their removal is obligatory to perform successful treatment. It is a complex and difficult procedure which requires knowledge of dental anatomy, its pulp cavity and root canal system, professional operation skills and appropriate equipment. Such preparation will help clinicians to avoid complications such as perforation or instrument breakage.

REFERENCES

- Barańska-Gachowska, M.** (2011). *Endodoncja wieku rozwojowego i dojrzałego*. Lublin, Poland: Czelej Press. pp. 41–42.
- Barańska-Gachowska, M.** (2011). *Endodoncja wieku rozwojowego i dojrzałego*. Lublin, Poland: Czelej Press. pp. 41–42.
- Bargholz, C., Hor, D., & Zirkel, Ch.** (2007). *Endodoncja*. Wrocław, Poland: Elsevier Urban & Partner Press. pp. 19–20.
- Hammad, M., Qualtrough, A., & Silikas, H.** (2009). Evaluation of root canal obturation: A three-dimensional in vitro study. *Journal of Endodontics*, 35(4), 541–544.
- Hsieh, C. Y.** (2018). The prevalence and distribution of radiopaque, calcified pulp stones: A cone-beam computed tomography study in a northern Taiwanese population. *Journal of Dental Sciences*, 13(2), 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2017.06.005>
- Hsieh, C. Y., Wu, Y. C., Su, C. C., Chung, M. P., Huang, R. Y., Ting, P. Y., Lai, C. K., Chang, K. S., Tsai, Y. W. C., & Shieh, Y. S.** (2018). The prevalence and distribution of radiopaque, calcified pulp stones: A cone-beam computed tomography study in a northern Taiwanese population. *Journal of Dental Sciences*, 13(2), 138–144.
- Kmieć, Z.** (2006). *Histologia i Cytofizjologia Zęba i Jamy Ustnej*. Wrocław, Poland: Elsevier Urban & Partner Press. pp. 72–73.

Langeland, K., Rodrigues, H., & Dowden, W. (1974). Periodontal disease, bacteria, and pulpal histopathology. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 37(2), 257–270. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90421-6](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90421-6)

Pietrzycka, K., & Pawlicka, H. (2020). Clinical aspects of pulp stones: A case report series. *Dental and Medical Problems*, 57(2), 213–220. <https://doi.org/10.17219/dmp/117944>

Rodakowska, E. (2011). Not to be forgotten: Denticles. Case reports and review of the literature. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 57(3), 77–81.

Syryńska, M. (2010). Prevalence and location of denticles on panoramic radiographs. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 56(2), 55–57.

Zdziemborska, A., Fidecki, M., Jadkowska, E., & Poszwińska, M. (2011). Obliteracja zapalna o charakterze zębiniaka wypełniającego światło komory zęba trzonowego stałego – trudności w leczeniu. *Mag Stomat*, 5, 32–36.

**AREA OF RESIDUAL GUTTA-PERCHA EVALUATION AFTER
RETREATMENT OF ROOT CANALS FILLED BY HYDRAULIC
CONDENSATION OF GUTTA-PERCHA AND BIOCERAMIC SEALER:
AN IN VITRO STUDY**

Kostadin Zhekov, Vesela Stefanova

**Department of Operative Dentistry and Endodontics,
Faculty of Dental Medicine, Medical University of Plovdiv**

Abstract: Introduction. Endodontic retreatment requires thorough removal of the existing root canal filling materials.

The AIM of the present research is to evaluate the area of residual gutta-percha, after preparation of root canals, previously filled with hydraulic condensation technique of gutta-percha and BioRoot RCS sealer.

Materials and methods. For this in vitro study samples of 12 mm have been obtained from single rooted human extracted teeth (n=50). The root canals have been prepared and obturated with hydraulic condensation technique and BioRoot RCS sealer with matching gutta-percha points. In group 1 only Pro Taper Retreatment (PTR) files are used. In group 2 ultrasonic tips are used in conjunction with PTR files. In group 3 the Self Adjusting File (SAF) is used in conjunction with PTR files. In group 4 after PTR files, chloroform is added during the preparation with SAF for one minute, and in group 5 - 40% citric acid is used instead of chloroform. Digital optical microscopy and ImageJ® software is used to measure the area of residual gutta-percha for each third of the root canal.

Results. In the coronal third, residual gutta-percha was absent in most experimental groups, while in the apical third, the highest amount was found in the SAF group without the addition of solvent or chelator. No significant differences were found in between the experimental groups (p>0.05).

Conclusion. Gutta-percha cannot be fully removed from the root canal in the course of endodontic retreatment after hydraulic condensation of gutta-percha and BioRoot RCS sealer.

Keywords: gutta-percha, endodontic retreatment, hydraulic condensation, BioRoot RCS, bioceramic sealer

1. INTRODUCTION

Endodontic retreatment is a critical procedure in restorative dentistry, often necessitated by persistent or recurrent periapical infections due to incomplete debridement or inadequate sealing during the initial treatment (Zhekov, 2020). The success of retreatment hinges on the complete removal of previous filling materials, predominantly gutta-percha and endodontic sealers (Torabinejad, 2009). Gutta-percha, due to its semi-solid properties, and endodontic sealers, which provide a hermetic seal, are standard in contemporary obturations. However, their removal poses a significant challenge (Peters, 2004; Zhekov, 2024).

The objective of this study is to evaluate the efficacy of various endodontic retreatment techniques in removing residual gutta-percha from root canals previously filled using the hydraulic condensation technique with BioRoot RCS sealer.

2. METHODS AND MATERIALS

Sample Preparation

Fifty extracted human teeth (n=50) were selected for this in vitro study. Inclusion criteria: freshly extracted human lower premolars without caries, with single, straight root canals and a curvature of less than 5 degrees, selected after preliminary radiography. Exclusion criteria: teeth with previous endodontic treatment, calcifications in the root canal system, dental caries, and external and/or internal resorption. The teeth were extracted for orthodontic reasons from young patients aged 18 to 42 years, who remained anonymous. The coronal part of each tooth was removed using a diamond separator to obtain samples with a length of 12 mm. Root canals were prepared initially with a #10 K-file, followed by the PathFile system for glide path preparation, and finally shaped with the ProTaperGold (PTG) F2 system. Irrigation was performed with 2.5% sodium hypochlorite (Cloraxid) after each insertion and removal of the endodontic instrument. The final irrigation included sequential application of 2.5% sodium hypochlorite and 15% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution. Each solution was activated using passive ultrasonic irrigation (PUI) for 30 seconds, with a #25 ultrasonic file held strictly passive in the center of the root canal lumen. Drying was accomplished using sterile calibrated F2 paper points from the ProTaperGold system. Root canals were obturated using the hydraulic condensation technique with BioRoot RCS bioceramic sealer and calibrated F2 gutta-percha points (PTG).

Experimental Groups

All previously obturated root canals using hydraulic condensation with bioceramic sealer and gutta-percha were subjected to secondary preparation (i.e., endodontic retreatment) using different approaches. The samples were divided into five experimental groups (n=10 per group) according to the retreatment technique and additional treatment applied to remove the canal filling material:

Group 1: ProTaper Retreatment (PTR) files only.

Group 2: PTR files combined with ultrasonic tips (ProUltra 6, 7, 8).

Group 3: PTR files combined with Self Adjusting File (SAF).

Group 4: PTR files followed by SAF with chloroform for one minute.

Group 5: PTR files followed by SAF with 40% citric acid (Cercamed) instead of chloroform.

For **Group 1** (n=10), preparation was completed upon reaching the apical foramen with an F3 file (PTG). Each file was discarded after being used in five root canals.

For **Group 2** (n=10), after completing the preparation of the obturated root canals, passive ultrasonic activation of the irrigating solution was performed using ProUltra Endo Tips with numbers 6, 7, and 8 (Dentsply Sirona). Solutions of 17% EDTA (for 1 min) and 2.5% sodium hypochlorite (for 2 min) were activated sequentially, with an intermediate irrigation using saline solution during solution replacement in the root canal. Finally, the root canals were dried with sterile calibrated paper points.

For **Group 3** (n=10), after reaching the working length with an F3 file, additional preparation was performed using the SAF system file (ReDent Nova, Ra'anana, Israel). Initially, the glide path was checked. The SAF file requires a pre-prepared glide path up to size 20.02 for straight canals and 20.04 for curved root canals. Before mounting it on the endomotor, an attempt was made to reach the working length by passive insertion of the file. If it did not reach the working length, the glide path was adjusted. If it reached the working length by passive insertion, no further adjustments were needed, and the file was mounted on the endomotor. Finally, the root canal was rinsed with saline solution and dried using a paper point.

For **Group 4** (n=10), the SAF system preparation was combined with the use of a chloroform solvent. After 2 minutes of work with the SAF file under continuous irrigation with 2.5% sodium hypochlorite and sequential removal of the irrigant by rinsing with saline solution, the root canal was dried using a paper point. Then a drop of chloroform was introduced into the root canal, and the SAF file was reintroduced. The peristaltic pump was turned off, and simultaneous irrigation was stopped. The movements, speed, and amplitude of the SAF file work were analogous to those in Group 3, with the only difference being the absence of simultaneous irrigation. The working time of the SAF file in the presence of chloroform was 1 minute per root canal. After the specified time, the root canal was rinsed with saline solution and dried using a paper point.

For **Group 5** (n=10), the method was identical to that of Group 4, with the only difference being the type of solvent used. In this group, a 40% citric acid solution (40% Citric Acid, CerKamed) was used instead of chloroform.

Measurement of Residual Gutta-Percha

To prepare the samples for optical microscopy, the samples needed to be split longitudinally to expose the root canal without disrupting the position and quantity of the residual material. Longitudinal grooves were made on the buccal and lingual surfaces of the samples using a 0.2 mm thick diamond disc, taking care not to penetrate the root canal. A straight spatula was then inserted into these grooves and twisted to split the tooth into two longitudinal halves.

Each half of the sample (n=100) was photographed using a Sony Alpha 7 digital camera mounted on a Flexion Advanced microscope (CJ-Optik, Germany). The images from each sample were processed using the ImageJ software. ImageJ has a tool for manually outlining the region of interest (ROI), which then automatically calculates its area. The numerical values of the area occupied by the canal filling material in the root canal were summed to obtain a total value for each sample. The residual root canal filling material was recorded for the entire canal (n=20 per group) and for each third of the canal separately. The area of residual material was calculated for the entire canal within each group and for each third within the same group. Additionally, the area for each third was calculated across the different groups. The obtained average values were used for statistical analysis.

The data were subjected to statistical processing using ANOVA and Pairwise Comparison analysis by SPSS software v26.

3. RESULTS

The results demonstrated that residual gutta-percha was present in all samples, regardless of the retreatment technique used. The extent of residual material varied significantly between different techniques and sections of the root canals (Table 1). No significant differences were found in between the groups and coronal, middle and apical parts of the root canals (p>0.05).

Table 1. Average Area of Residual Gutta-Percha in mm²

PART\GROUP	GROUP 1	GROUP 2	GROUP 3	GROUP 4	GROUP 5
CORONAL	0,1585	0	0,0551	0	0
MIDDLE	1,1360	0,39325	0,4172	0	0
APICAL	0,24045	0,2227	0,36853	0,0658	0,1320

4. DISCUSSION

The study demonstrates that digital optical microscopy is a valuable tool for evaluating residual gutta-percha in root canals in in-vitro research after retreatment preparation procedures.

Coronal Third

In the coronal third, most experimental groups exhibited minimal to no residual gutta-percha. Absence of gutta-percha was observed in the ultrasonic group and the groups involving SAF system with chloroform or chelator. This can be attributed to the easier access and larger diameter of the canal, which facilitates more effective mechanical removal (Agrafioti, 2015; Keleş, 2014; Marinova-Takorova, 2018).

Middle Third

In the middle third, the area of residual gutta-percha was slightly larger than in the coronal third but still relatively low for all groups. The combination of PTR files and additional techniques (SAF system with chloroform or chelator) showed improved effectiveness in removal compared to the use of PTR files alone (Marinova-Takorova, 2018; De Siqueira Zuolo, 2016).

Apical Third

The apical third posed the greatest challenge, with the highest amount of residual gutta-percha. None of tested systems for preparation and removal of root filling material exhibited absolute removal in the apical part. Particularly, the group using SAF without a solvent or chelator displayed the most significant amount of residual material, which marks this system the least effective. The addition of solvents like chloroform or chelators like citric acid enhanced gutta-percha removal, although not completely (Solomonov, 2012).

Comparative Analysis

- **PTR Files Only:** Effective in the coronal and middle thirds, but less effective in the apical third.
- **Ultrasonic Tips + PTR:** Improved removal in the coronal and middle thirds, but moderate in the apical third.
- **SAF + PTR:** Better than PTR files alone, but still mostly challenged in the apical third.
- **SAF + Chloroform:** Moderately effective in all thirds, especially in the apical third.
- **SAF + Citric Acid:** Enhanced effectiveness, comparable to chloroform, suggesting that chelators can be a viable alternative to solvents.

5. CONCLUSIONS

Complete removal of gutta-percha after preparation of root canals previously filled with hydraulic condensation technique of gutta-percha and BioRoot RCS sealer remains challenging. The coronal third allows for more thorough cleaning, while the apical third consistently shows the highest amount of residual material. The use of solvents and chelators improves removal efficiency, particularly in the apical third. Future research should focus on refining these techniques and exploring new materials and methods to achieve complete removal of endodontic filling materials.

ACKNOWLEDGMENTS: This study is funded by the “Doctoral and Postdoctoral Program” project line #DPDP-11/2019 of the Medical University of Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria.

REFERENCES

- Zhekov, K., & Stefanova, V.** (2020). Healing of chronic apical periodontitis using novel bioceramic sealer Bioroot Rcs. *Journal of IMAB*, 26(2), 3081–3086.
- Torabinejad, M., Corr, R., Handysides, R., & Shabahang, S.** (2009). Outcomes of nonsurgical retreatment and endodontic surgery: A systematic review. *Journal of Endodontics*, 35(7), 930–937.
- Peters, O. A.** (2004). Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: A review. *Journal of Endodontics*, 30(8), 559–567.
- Zhekov, K., & Stefanova, V.** (2024). Optimizing non-surgical endodontic retreatment: A 3D CBCT quantification of root canal bioceramic filling material removal. *Open Dentistry Journal*, 18, e18742106300149.
- Agrafioti, A., Koursoumis, A. D., & Kontakiotis, E. G.** (2015). Re-establishing apical patency after obturation with gutta-percha and two novel calcium silicate-based sealers. *European Journal of Dentistry*, 9(4), 457–461.
- Keleş, A., Şimşek, N., Alçın, H., Ahmetoğlu, F., & Yologlu, S.** (2014). Retreatment of flat-oval root canals with a self-adjusting file: An SEM study. *Dental Materials Journal*, 33(6), 786–791.
- Marinova-Takorova, M., Radeva, E., Kisjova, I., & Naseva, E.** (2018). Effectiveness of different retreatment techniques in the removal of gutta-percha cones and bioceramic-based root canal sealer in the different parts of the root canal. *Journal of Medical Dental Practice*, 5(1), 713–723.
- De Siqueira Zuolo, A., Zuolo, M. L., Da Silveira Bueno, C. E., Chu, R., & Cunha, R. S.** (2016). Evaluation of the efficacy of TRUShape and Reciproc file systems in the removal of root filling material: An ex vivo micro-computed tomographic study. *Journal of Endodontics*, 42(2), 315–319.
- Solomonov, M., Paqué, F., Kaya, S., Adgüzel, Ö., Kfir, A., & Yigit-Özer, S.** (2012). Self-adjusting files in retreatment: A high-resolution micro-computed tomography study. *Journal of Endodontics*, 38(9), 1283–1287.

ИНФОРМИРАНост НА ДЕНТАЛНИТЕ СПЕЦИАЛИСТИ ОТНОСНО ВЛИЯНИЕТО НА ПРОТЕЗНИТЕ АДХЕЗИВИ ВЪРХУ ГОВОРНАТА ФУНКЦИЯ

Маджед Хусеин

Частен дентален кабинет – Пловдив

Abstract: Restoration with total dentures in patients with severely atrophied alveolar ridges is not always associated with satisfaction, even when the dentures are flawlessly fabricated. Patients mainly complain of problems with the retention and stability of the prosthesis, difficulty in chewing and speech disturbances. The purpose of the present study was to investigate the level of awareness of dental practitioners regarding the impact of full denture adhesives on the retention and patients' speech. Units of observation are 369 dentists in our country. The survey was conducted for 5 months, and the dentists participating in it are from 70 settlements (67 – cities and 3 – villages). Their participation in the study is random, without prior selection, which determines the representativeness of the sample. The results of the present study show that 93.40% of dental professionals indicate that overall satisfaction is significantly higher when applying adhesives in patients with alveolar ridge atrophy with conventional full dentures for the purpose of retention and stability, which in turn leads to improvements in speech and masticatory function, as well as a sense of physical and psychological comfort. There is a need for greater awareness among dental practitioners regarding the use of denture adhesives. Practitioners may keep themselves updated on new materials by taking continuing education courses, thus enhancing the level of care for prosthodontics patients.

Keywords: adhesives, speech function, total dentures

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Загубата на зъби засяга световното население и има психологически последици и последици по отношение качеството на живот, особено при възрастните хора (Ettinger, 1987; Leao, 1996; Nazari, 2015). Някои от тях са свързани с проблеми със самооценката, социалното взаимодействие и психологическото здраве (Davis, 2000). Загубата на зъби засяга и стоматогнатната система. Естетиката, говорната функция и дъвкателната сила и ефективност намаляват, което води до общи здравословни проблеми на пациента.

Адекватната цялостна протезна терапия допринася за подобряване на състоянието на оралното здраве на субекта, но когато пациентът има силно резорбирани алвеоларни гребени или няма подходящи невромоторни умения, може да се прибегне до използването на протезни адхезиви, защото задържането на протезите има ключова роля при определяне удовлетвореността му (Kelsey, 1997; Sato, 2003; Polyzois, 2014). Много често обаче те са обект на спорове – пациентите смятат, че предложението за използване на адхезиви е свързано с некачествено изработени протези, а денталните лекари смятат, че употребата на адхезиви е лоша атестация за уменията им.

Пациентите изглежда лесно приемат използването на адхезиви за протези след като комфортът и удовлетворението им се увеличава (Kulak, 2005; Papadiochou, 2015; Bekiroglu, 2012). Някои дори смятат използването им като част от лечението. Професионалистите обаче са по-колебливи. Стоматологичната общност смята, че злоупотребата с адхезиви може да увеличи вертикалния размер на оклузията, че продължителната им употреба може да маскира промени в тъканите, които могат да бъдат вредни за останалата кост, също така, че протезните адхезиви не са необходими при добре поставени протези (Grasso, 2004). Някои мнения се смятат за митове, други за истина, но противоречията все още съществуват между

зъболекарите. Използването на адхезиви се рекламира като помощно средство за избягване на неудобни ситуации по време например на говорене или хранене и пациентите обикновено разчитат на използването им, въпреки че са информирани от зъболекарите си, че добре поставената протеза не изисква подобно стабилизиране (Kelsey, 1997, Adisman, 1989; Ahila, 2011).

Противоречивите мнения при денталните специалисти относно използването на протезни адхезиви е донякъде индикация за недостатъчна информация и познания от тяхна страна по отношение ролята и целеобразността от използването на протезни адхезиви, както и за употребата на меки ребазиращи материали (Hristov, 2017).

Лекарите по дентална медицина трябва да бъдат добре запознати с функциите на протезните адхезиви (Apostolov, 2020; Adisman, 1989; Ahila, 2011):

- Повишават времето на престой на протезите в устната кухина;
- Повишават максималната сила на захапката за задръжното действие;
- Подобряват говорната функция и звуковата артикулация;
- Осигуряват комфорт, сигурност и самоувереност на пациента;
- Скъсяват адаптационния период към новите протези;
- Не позволяват на храната да попада между лигавицата и протезата;
- Намаляват развитието на *Candida* култури;
- Намаляват ускорената резорбция на подлежащите тъкани;

Познавайки добре функциите им лекарите по дентална медицина могат да предприемат конкретни и ефективни действия за тяхното прилагане в практиката си. Безспорно повечето от функциите на адхезивите се осъзнават навреме от лекуващите и се пристъпва към тяхното приложение в клиничната практика. Връзката на говорната функция на пациентите и техните протези обаче обикновено е малко подценявана от специалистите, поради необходимостта от по-специфични познания в тази област. Затова концентрирахме вниманието си към информираността на лекарите по дентална медицина относно връзката адхезиви за цели протези и говорна функция на пациентите.

Целта на настоящото изследване бе да се установи степента на информираност на лекарите по дентална медицина относно влиянието на адхезивите за цели протези върху говора.

2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

С цел установяване информираността на лекарите по дентална медицина (ЛДМ) относно измененията на говорната функция при пациенти с цели протези при прилагане на протезни адхезиви бе направено анкетно проучване сред 369 лекари по дентална медицина у нас в продължение на 5 месеца. В проучването участваха лекари по дентална медицина от 70 населени места (67 града и 3 села). Участието им в проучването е на случаен принцип, без предварителен подбор, което обуславя репрезентативността на извадката.

Анкетата на ЛДМ бе съставена от 10 въпроса, включваща обща част (5 въпроса), която обследва като признаци на наблюдение пол, възраст, трудов стаж, месторабота и взета специалност на участниците. Втората част от анкетата съдържа 5 въпроса, включващи отделни фактори, свързани с говорната функция, повлияни от въздействието на протезните адхезиви – влияние на протезите: дебелина на протезите, централна оклузия и атрофия на алвеоларния гребен върху говорната функция и емоционалния и социален статус на пациентите с нарушена говорна функция.

3. РЕЗУЛТАТ И ОБСЪЖДАНЕ

Разпределението на 369-те лекари по дентална медицина, включени в изследването според социо-демографската характеристика е представено на Табл. 1.

От гледна точка на местоработата на денталните специалисти не установихме съществена разлика между тези, които практикуват в големите градове и тези, които работят в малките градове или села ($p > 0,05$).

Таблица 1. Характеристика на изследваните лекари по дентална медицина.

Показател		Лекари по дентална медицина (n=369)
Месторабота	голям град	300/ 82,90 %
	малък град и село	62/ 17,10 %
Пол	мъж	175/ 48,30 %
	жена	187/ 51,70 %
Възраст	25-35 г.	68/ 18,50 %
	35-45 г.	118/ 32,20 %
	45-55 г.	113/ 30,80 %
	над 55 г.	68/ 18,50 %
Трудов стаж	до 5 г.	42/11,40 %
	5-10 г.	54/ 14,70 %
	10-15 г.	72/ 19,60 %
	15-20 г.	88/ 23,90%
	над 20 г.	112/ 30,40 %
Специалност	без специалност	228/ 62,10 %
	обща дентална медицина	78/ 21,30 %
	протетична дентална медицина	22/ 6,00 %
	друга специалност	39/ 10,60 %

По отношение на пола, въпреки липсата на статистически значима разлика мъжете лекари по дентална медицина се определят като по-подготвени и по-информирани от жените ($p > 0,05$).

При изследването на специалистите според възрастовия показател при лекарите по дентална медицина преобладават специалистите във възрастовата група 35-45 г. (32,20 %), като множеството са практикуващите в големите градове (съответно 82,90%).

Резултатите според трудовия стаж показват, че значителната част от анкетираните са с натрупан клиничен опит, като преобладава относителният дял на лекарите по дентална медицина със стаж над 20 г. (30,40 %).

Обезпокояващ факт е, че повече от половината лекари по дентална медицина са без специалност (62,10 %) и само 6,0 % имат придобитата специалност в областта на протезирането.

Не установихме наличие на съществени разлики според пола, възрастта, трудовия стаж и наличието на специалност на ЛДМ в големите и малки градове.

Съществена разлика е намерена по отношение на възрастта на лекарите по дентална медицина и информираността им относно влиянието на снематите протезни конструкции върху говорната функция ($\chi^2=12,53$; $p < 0,05$), като е установена и слаба зависимост между възрастта на ЛДМ и информираността ($r=0,113$; $p = 0,031$). Лекарите, които са най-млади (25-35 г.) са най-малко запознати.

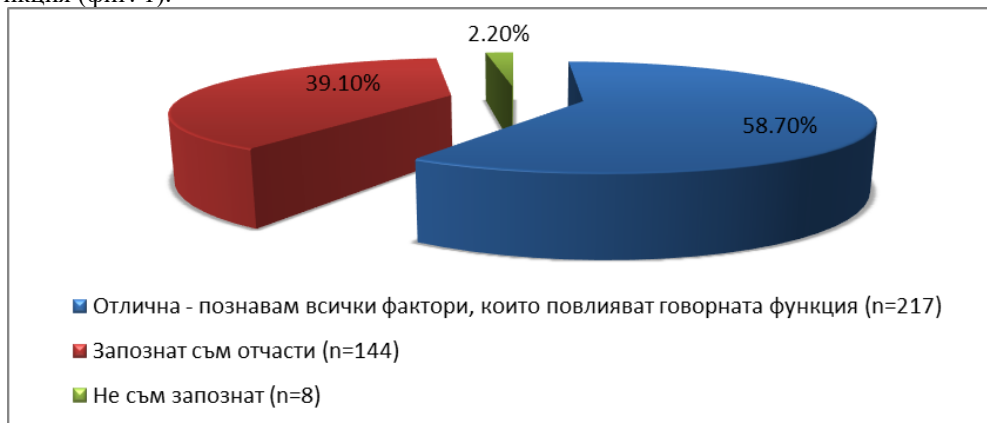
Логично би било с натрупването на трудовия стаж медицинските специалисти да са повече информирани за влиянието на снематото протезиране върху говорната функция, но резултатите от нашето изследване показват, че стажът няма връзка с информираността, а вероятно тя се дължи на други фактори, които са по-скоро индивидуални и са свързани с желанието на медицинските специалисти за допълнителна информация, която в повечето случаи се свързва с нивото на квалификацията им.

Медицинските специалисти, които имат придобитата специалност се определят като много по-информирани в сравнение с техните колеги без специалност ($\chi^2=11,58$; $p < 0,01$),

като 69,50% от ЛДМ със специалност посочват, че са отлично информирани за всичките фактори, които повлияват говорната функция.

Лекарите със специалност протетична дентална медицина са най-информирани относно влиянието на снеманото протезиране върху говорната функция ($\chi^2=17,64$; $p < 0,01$).

Малко над половината от лекарите по дентална медицина оценяват своята информираност относно влиянието на снеманите протезни конструкции върху говорната функция като отлична (58,70 %), т.е. познават всички фактори, които повлияват говорната функция (фиг. 1).



Фиг.1. Оценка на лекарите по дентална медицина за информираността им относно влиянието на снеманите протезни конструкции върху говорната функция.

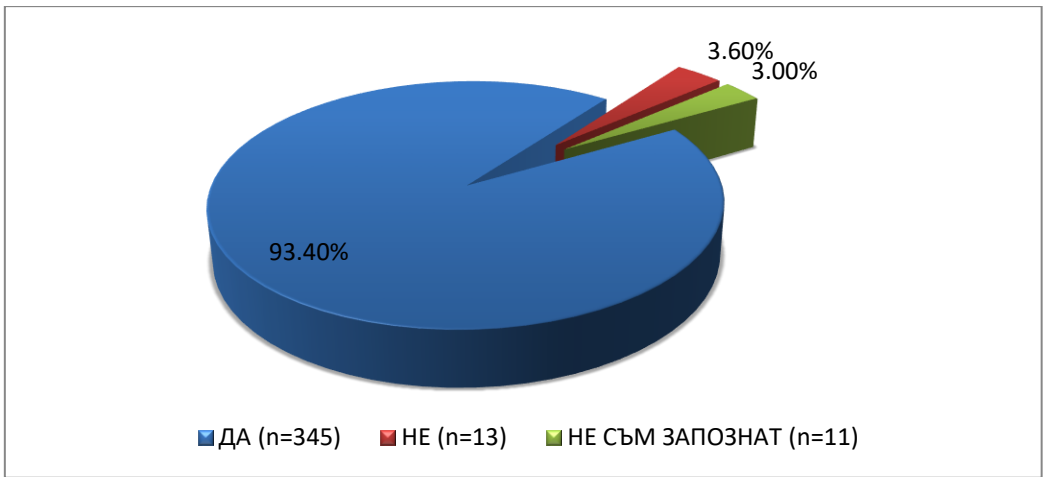
Дебелината на протезата според 84,70% от лекарите по дентална медицина има отрицателно влияние върху говорната функция. Дебелата протеза оказва отрицателно влияние върху говорната функция защото намалява обема на пространството, в което се движи езикът и по-този начин се изменя говора на пациентите. А при нанасяне на протезен адхезив с цел постигане на по-голяма устойчивост и предозиране на количеството му може да се стигне и до ограничаване обема на пространството в устната кухина и нарушаване на говорната функция. Необходимото количество при нанасяне на адхезивната паста е около 0,5–1,5 грама. Всяко превишаване на количество би нарушило действието на продукта (Kelsey, 1997).

Според 90,50 % от анкетираните дентални лекари неправилното възстановяване на централната оклузия оказва влияние върху фонетиката. В случаите при нанасяне на по-големи от необходимите количества адхезив се получава повишаване на захапката и смущения в говора (Adisman, 1989).

В протетичното лечение при силна атрофия на алвеоларния гребен се използват адхезиви за закрепване на протезата. Целта им е да задържат и стабилизират протезата, за да се подобри дъвкателната и говорната функция. Резултатите от изследването показват, че 93.40% от денталните специалисти посочват, че като цяло удовлетворението е значително по-високо, при прилагане на адхезиви при пациенти с атрофия на алвеоларния гребен с конвенционални цели протези с цел задържане и стабилност, което от своя страна води до подобрения на говорната и дъвкателна функция, както и до усещане за физически и психологически комфорт (фиг. 2.).

Според значителна част от лекарите по дентална медицина (95,10 %) възстановяването на говорната функция с протезни конструкции е от определящо значение за емоционалния и социален статус на пациентите.

При извършването на мултирегресионен стъпков анализ за определяне на основните фактори от лечението с цели протези върху психо-емоционалното състояние на пациентите установихме, че това са факторите свързани със задържането и стабилизирането на протезата – необхващането на клапанната зона на протезата ($\beta=0,190$; $p<0,001$) и използването на адхезиви при силна атрофия на алвеоларния гребен ($\beta=0,112$; $p=0,031$).



Фигура 2. Използване на адхезиви (лепила) за подобряване на говорната функция при силна атрофия на алвеоларния гребен.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В миналото адхезивите са били считани за подходящи за употреба само при лошо изработени по отношение на задържане цели протези и за протези, при които се налага ребазирание. В наши дни това мнение се промени. Доказано е, че адхезивите могат да се използват почти при всяка тотална протеза, тъй като те осигуряват функция, близка до тази на естественото съзъбие. По този начин те помагат на пациента да преодолее по-лесно загубата на естествените си зъби, да се намалят възпаленията на лигавицата и да се постигне медико-биологичен и психически ефект.

Адхезивите са полезно допълнение при протетичното лечение със зъбни протези, със специфична роля както във фазите на изработка, така и във фазите след поставяне. Само чрез допълнително обучение зъболекарите биха постигнали двойни цели за максимизиране на полезните аспекти от използването на протезни адхезиви, като същевременно минимизират злоупотребата с тях (Ahila, 2011; Polyzois, 2017; Muneer, 2013; Saini, 2023).

Необходима е още по-голяма информираност сред практикуващите лекари по дентална медицина относно ролята и индикациите за употреба на денталните адхезиви. Практикуващите могат да се информират и за нови материали, посещавайки курсове за продължаващо обучение, като по този начин повишат нивото на грижите за пациентите с необходимост от протезиране.

ЛИТЕРАТУРА

- Achila, S., Kumar, B. M., & Vasanthakumar, M.** (2011). Mystery of denture adhesives— A literature review. *SRM Journal of Dental Sciences*, 2, 112–117.
- Adisman, I. K.** (1989). The use of denture adhesive as an aid to denture treatment. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 62(6), 711–715.
- Apostolov, N., Todorov, R., Dimova-Gabrovska, M., & Peev, T.** (2020). Denture adhesives—Implementation and advantages. *Journal of IMAB—Annual Proceeding Scientific Papers*, 26(2), 3177–3182.
- Bekiroglu, N., Çiftçi, A., Bayraktar, K., Yavuz, A., & Kargul, B.** (2012). Oral complaints of denture-wearing elderly people living in two nursing homes in Istanbul, Turkey. *Oral Health and Dental Management*, 11(3), 107–115.
- Davis, D. M., Fiske, J., Scott, B., & Radford, D. R.** (2000). The emotional effects of tooth loss: A preliminary quantitative study. *British Dental Journal*, 188(9), 503–506.
- Ettinger, R. L.** (1987). Oral disease and its effect on the quality of life. *Gerodontology*, 3, 103–106.
- Grasso, J. E.** (2004). Denture adhesives. *Dental Clinics of North America*, 48(3), 721–733.

Hazari, P., Bhoyar, A., Mishra, S. K., Yadav, N. S., & Mahajan, H. (2015). A comparison of masticatory performance and efficiency of complete dentures made with high impact and flexible resins: A pilot study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 9(6), ZC29.

Hristov, I., Slavchev, D., Shopova, D., Grozev, L., & Chuchulska, B. (2017). Application of soft relining materials by dentists—A pilot study. *Journal of IMAB—Annual Proceeding Scientific Papers*, 23(4), 1721–1725.

Kelsey, C. C., Lang, B. R., & Wang, R. F. (1997). Examining patients' responses about the effectiveness of five denture adhesive pastes. *Journal of the American Dental Association*, 128(11), 1532–1538.

Kulak, Y., Özcan, M., & Arikan, A. (2005). Subjective assessment by patients of the efficiency of two denture adhesive pastes. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry*, 14(4), 248–252.

Leao, A., & Sheiham, A. (1996). The development of a socio-dental measure of dental impacts on daily living. *Community Dental Health*, 13(1), 22–26.

Muneer, M. U., Ahmed, A. R., & Kamran, M. F. (2013). Awareness of dentists and complete denture wearers towards denture adhesives. *Pakistan Oral & Dental Journal*, 33(1).

Papadiochou, S., Emmanouil, I., & Papadiochos, I. (2015). Denture adhesives: A systematic review. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 113(5), 391–397.

Polyzois, G., Lagouvardos, P., Omar, R., & Brunton, P. (2017). Attitudes of dentists toward denture adhesives: A questionnaire survey in Greece. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 118(5), 643–649.

Polyzois, G., Partalis, C., Lagouvardos, P., & Polyzois, H. (2014). Effect of adaptation time on the occlusal force at denture dislodgement with or without denture adhesive. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 111(3), 216–221.

Saini, A., Gupta, R., Gill, S., Das, D., & Singh, S. (2023). Knowledge and attitude of dental practitioners on the use of denture adhesives: A questionnaire survey.

Sato, H., Fueki, K., Sueda, S., Sato, S., Shiozaki, T., Kato, M., & Ohyama, T. (2003). A new and simple method for evaluating masticatory function using newly developed artificial test food. *Journal of Oral Rehabilitation*, 30(1), 68–73.

MODERN 3D PRINTING MATERIALS IN PROSTHETIC DENTISTRY

Mariana Dimova-Gabrovska, Yoana Brusarska

Department of Prosthetic Dentistry, Faculty of Dental Medicine,
Medical University – Sofia

Abstract: *Introduction:* In prosthetic dentistry, the rise of 3D printing builds on the clinically proven CAD/CAM technology, necessitating the development of new, suitable materials for 3D printing. In recent years, hybrid materials designed for fixed prosthetics, such as VarseoSmile Crown plus (BEGO, Germany) and CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland), have been introduced.

Aim: This study aims to create a laboratory protocol to evaluate the mechanical and physical properties of next-generation dental materials with ceramic inclusions, to clarify their characteristics and clinical applicability.

Materials and Methods: A literature review demonstrated the need for a custom protocol for testing. The study includes evaluating material adhesion with various composite cements, wear resistance, and light transmittance of 3D-printed specimens from these materials.

Results: A protocol was developed for laboratory testing of adhesive bonding, wear resistance, and light transmittance of specimens produced from VarseoSmile Crown plus and CROWNTEC.

Conclusion: Despite the growing use of additive manufacturing in dental medicine, the limited experimental research on hybrid materials for fixed permanent structures hinders objective comparative analysis of their clinical value. This study underscores the scientific need for in-depth laboratory investigations to validate next-generation dental materials and provide reliable information on their practical applications.

Keywords: 3D printing in prosthetic dentistry, materials with ceramic inclusions for additive manufacturing, additive fixed permanent structures

1. INTRODUCTION

Computer-aided design (CAD) and digital manufacturing (CAM) were developed in the 1970s. This system involves digital scanning followed by the creation of a three-dimensional digital model, which is used to manufacture actual prosthetic structures (Dimitrova et al., 2022; Tomova et al., 2023). Thanks to this technology, new possibilities for treatments and procedures in dental medicine, particularly in prosthetic dentistry, have been introduced, enhancing approaches and techniques (Yanakiev et al., 2022; Yanakiev, Kostova-Kamburova et al., 2023; Yanakiev, Velikov et al., 2023; Dimova-Gabrovska, 2023).

Based on CAD/CAM technology, which has proven itself and globally transformed the therapeutic approach and procedures in prosthetic dentistry, 3D printing has also emerged, necessitating the development of suitable new materials (Dimitrova et al., 2023; Katreva et al., 2016; Vlahova & Zlatev, 2021).

In 2020, a hybrid material for 3D printing – VarseoSmile Crown plus (BEGO, Germany) – was introduced to the dental market for the first time (Strietzel et al., 2020). Later that same year, Formlabs (Formlabs, Inc., USA), in collaboration with BEGO (Bremen, Germany), released a material under the trade name Permanent Crown Resin (Formlabs, Inc., USA) (Permanent Crown DENTAL RESIN, n.d.). In 2022, SAREMCO (Switzerland) introduced its material – CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland) (Permanent 3D Printed Crowns CROWNTEC, n.d.). These materials are designed for creating fixed permanent structures – single crowns, inlays, onlays, and veneers.

Information about their mechanical and physical properties is mainly derived from the technical specifications provided by manufacturers, while experimental research on these materials remains limited.

A review of current literature allows for the selection of certain scientific studies examining the mechanical properties of VarseoSmile Crown plus (BEGO, Bremen, Germany) and CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland) materials. In 2021, Grzebieluch et al. investigated the hardness of VarseoSmile Crown plus (BEGO, Bremen, Germany) using the Vickers hardness test. The authors divided the specimens into two groups based on printing orientation – Group A was printed vertically to the platform, while Group B was printed at a 45° angle. The study was conducted using a Vickers indenter (Shimadzu HMV-2T, Japan) with a load of 980.7 mN (HV 0.1) and a dwell time of 10 seconds, creating five indentations on random spots of the specimens. Group A reported values of 25.8 (± 0.7) HV01, and Group B reported 28.16 (± 1.42) HV01, demonstrating that material hardness varies depending on the printing layer orientation.

Abdalla Alkandari, (2019) published experimental findings on the flexural strength and modulus of elasticity for both materials. Using a three-point bending test with an Instron 5566 testing machine (Instron, USA), the study showed superior flexural strength for CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland) at 126.38 MPa compared to VarseoSmile Crown plus (BEGO, Bremen, Germany) at 91.16 MPa.

In a 2023 study, the wear resistance of single-unit crowns made of VarseoSmile Crown plus (BEGO, Bremen, Germany) was examined. Occlusal surfaces of crowns subjected to a simulated 10-year in vivo mastication, with 2.4 million chewing cycles, a load of 50 N, a lateral movement of 0.7 mm, and 12,000 thermocycles at temperatures between 5°C and 55°C, exhibited material loss of 0.275 mm (Strietzel et al., 2020).

In terms of the physical properties of VarseoSmile Crown plus (BEGO, Germany) and CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland), a literature review identified only one scientific study. In 2022, Intralawan et al., examined color change and translucency in VarseoSmile Crown Plus (BEGO, Germany) specimens. The samples were divided into three groups and immersed in 100 ml of water, coffee, and cola, respectively. Using a VITA Easyshade spectrophotometer (VITA, North America), the study observed that the material is prone to color and translucency changes.

The goal of this study is to establish a protocol for laboratory testing of the mechanical and physical properties of new-generation dental materials with ceramic inclusions.

2. METHODS AND MATERIALS

The literature review prompted the creation of an original protocol for investigating the mechanical and physical properties of new-generation materials with ceramic inclusions. The protocol's development was based on the contemporary relevance of these new materials for additive manufacturing in fixed prosthodontics and the necessity for laboratory and clinical studies to validate their application. The growth of additive manufacturing in prosthetic dentistry, which now comprises a significant portion of dental laboratory work, further supports the need for this protocol.

For their scientific experiment, approved by the Medical Science Council at MU-Sofia, the research team formulated the working hypothesis that, by analyzing the mechanical and physical properties of 3D-printed materials with ceramic inclusions, certain characteristics critical to clinical use will be identified. The team prioritized materials currently available for cementing constructions made from VarseoSmile Crown plus (BEGO, Germany) (also marketed as Permanent Crown Resin by Formlabs, USA) and CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland), focusing on their adhesive properties to dentin. Additionally, an important objective of the research team was to verify or disprove the materials' wear resistance and adequate light transmittance.

3. RESULTS

To accomplish the set objectives, the following protocol was created for laboratory testing of the mechanical and physical properties of next-generation dental materials with ceramic inclusions, VarseoSmile Crown plus (BEGO, Germany) (also known as Permanent Crown Resin by Formlabs, USA) and CROWNTEC (SAREMCO, Switzerland):

Evaluate the adhesive bond between the materials and various types of cements, and provide

a comparative analysis. For the experimental studies, test specimens made from dental composites were created. The specimens were adhesive-bonded with three types of composite cements: RelyX Unicem (3M), Variolink Esthetic DC and Monobond Plus (Ivoclar Vivadent) and Panavia V5 (Kuraray, Noritake) on dentin slices with a thickness of 2.5 mm from extracted natural teeth. The experiment was conducted using a MultiTest 2.5-i universal testing stand.

Examine and compare the wear resistance of specimens produced via 3D printing using two types of dental composites reinforced with ceramic inclusions intended for the additive manufacturing of fixed permanent constructions. For the wear resistance testing, specimens were made from composites with ceramic inclusions designed for fixed permanent structures. The testing was conducted using the “Sofia” chewing simulator (Chakalov, 2014), and due to the machine’s specifications, the test specimens were cylindrical, with an external diameter of 25 mm and a height of 9 mm. Factory-made silicon nitride (Si3N4) spheres were used as antagonists. The results were recorded by measuring the weight of the test specimens before and after the chewing simulation using a BEL ENGINEERING analytical balance (Monza, Italy).

Examine and compare the relative intensity of light passing through the details of test specimens produced via 3D printing using two types of dental composites with ceramic inclusions for the additive manufacturing of fixed permanent constructions. The materials were tested for light transmission intensity through the details of test specimens produced via 3D printing. Specimens measured 25 mm in length, 5 mm in width, and had thicknesses of 1 mm, 1.25 mm, 1.5 mm, 1.75 mm, and 2 mm in four orientations of the normal vector relative to the printing platform. Measurements were taken with an “STS-UV Miniature Spectrometer” (Ocean Optics) in the 200-600 nm range at three points on three specimens of identical parameters to ensure statistically significant results. A standard light source with a continuous spectrum in the tested range was used for measurement.

4. DISCUSSION

This research protocol offers a structured approach to examining the mechanical and physical properties of 3D-printed materials with ceramic inclusions, particularly for prosthetic dental applications. Focusing on materials like VarseoSmile Crown plus (BEGO) and CROWNTEC (SAREMCO), which are known for their applicability in permanent crowns (Permanent 3D Printed Crowns CROWNTEC, n.d.; Strietzel et al., 2020), the study evaluates essential properties for clinical use: adhesive bonding to dentin, wear resistance, and light transmittance. Adhesion testing with different cements, wear assessment using a chewing simulator, and light transmission analysis provide a comprehensive understanding of each material’s performance under realistic conditions. The protocol’s results aim to guide material selection in fixed prosthodontics, bridging laboratory findings with clinical applicability and supporting the advancement of 3D-printed ceramics in permanent dental restorations (Chakalov, 2014).

5. CONCLUSIONS

This study establishes a detailed protocol for evaluating the mechanical and physical properties of innovative 3D-printed dental materials with ceramic inclusions, specifically aimed at their application in permanent prosthetic constructions. By examining key characteristics – adhesive bonding to dentin, wear resistance, and light transmittance – with materials such as VarseoSmile Crown plus and CROWNTEC, the research provides practical insights that connect laboratory data with clinical needs in prosthetic dentistry. The results aim to support informed material selection and contribute to the safe and effective integration of 3D-printed hybrid materials in permanent dental restorations, potentially setting a standard for future studies on similar materials in this field.

ACKNOWLEDGMENTS: This research was funded by the Medical University of Sofia, Bulgaria, grant number 132/29.05.2024.

REFERENCES

Alkandari, A. (2019). *Thesis evaluation of the mechanical and physical properties of 3D-printed resin materials.*

- Chakalov, I.** (2014). *Wear resistance of dental materials: In vitro studies.*
- Dimitrova, M., Corsalini, M., Kazakova, R., Vlahova, A., Barile, G., Dell’Olio, F., Tomova, Z., Kazakov, S., & Capodiferro, S.** (2022). Color stability determination of CAD/CAM milled and 3D printed acrylic resins for denture bases: A narrative review. *Journal of Composites Science*, 6(7), 201. <https://doi.org/10.3390/jcs6070201>
- Dimitrova, M., Vlahova, A., Kalachev, Y., Zlatev, S., Kazakova, R., & Capodiferro, S.** (2023). Recent advances in 3D printing of polymers for application in prosthodontics. *Polymers*, 15(23), 4525. <https://doi.org/10.3390/polym15234525>
- Dimova-Gabrovska, M.** (2023). Modern digital technologies in dental medicine. *Journal of the Bulgarian Academy of Sciences*, 16–22.
- Grzebieluch, W., Kowalewski, P., Grygier, D., Rutkowska-Gorczyca, M., Kozakiewicz, M., & Jurczyszyn, K.** (2021). Printable and machinable dental restorative composites for CAD/CAM application—Comparison of mechanical properties, fractographic, texture, and fractal dimension analysis. *Materials*, 14(17), 4919. <https://doi.org/10.3390/ma14174919>
- Intralawan, N., Wasanapiarnpong, T., Didron, P. P., Rakmanee, T., Klaisiri, A., & Krajangta, N.** (2022). Surface discoloration of 3D printed resin-ceramic hybrid materials against various stain beverages. *Journal of International Dental and Medical Research*, 15(4). Retrieved from <http://www.jidmr.com>
- Katreva, I., Dikova, T., Abadzhiev, M., Tonchev, T., Dzhendov, D., Simov, M., Angelova, S., Pavlova, D., & Doychinova, M.** (2016). 3D-printing in contemporary prosthodontic treatment. *Scripta Scientifica Medicinae Dentalis*, 2(1), 7. <https://doi.org/10.14748/ssmd.v1i1.1446>
- Permanent 3D Printed Crowns CROWNTEC.** (n.d.). Retrieved from www.saremco.ch
- Permanent Crown Dental Resin.** (n.d.).
- Strietzel, R., Bremer Goldschlägerei, B., & Stephan Kim, D.-I.** (2020). *VarseoSmile Crown Plus Certificate of Biocompatibility.*
- Tomova, Z., Zhekov, Y., Alexandrov, G., Vlahova, A., & Vasileva, E.** (2023). Application of CAD/CAM technologies and materials for prosthetic restoration of severely damaged teeth—Clinical cases. *Australian Dental Journal*, 68(4), 294–302. <https://doi.org/10.1111/adj.12976>
- Vlahova, A., & Zlatev, S.** (2021). CAD/CAM technologies in prosthetic dental medicine.
- Yanakiev, S., Kostova-Kamburova, N., Moskova, M., Simeonov, S., & Micheva, E.** (2023). 3D printing in dental medicine and dental technician laboratory. *Health and Science*, 1–2(049–050), 182–186.
- Yanakiev, S., Velikov, S., Kostova-Kamburova, N., Moskova, M., & Micheva, E.** (2022). Attitudes of the students of the “Dental Technician” specialty at Medical College “Y. Filaretova” on the use of CAD/CAM technologies in the practice and education of dental technology: A pilot study. *Health and Science*, 3–4(047–048), 48–54.
- Yanakiev, S., Velikov, S., Kostova-Kamburova, N., Moskova, M., & Micheva, E.** (2023). Effect of the CAD/CAM education on the practical and theoretical training of dental technician students at Medical College “Yordanka Filaretova,” Sofia. *Health and Science*, 1–2(049–050), 195–200.

OPPORTUNITY FOR CRAFTING OF EXPERIMENTAL BODIES FROM POLYMER MATERIALS WITH REINFORCEMENT

Mariana Dimova-Gabrovska, Stefan Rangelov

Department of Prosthetic Dentistry, Faculty of Dental Medicine,
Medical University – Sofia

Abstract: *Introduction.* With the development of technologies and materials, the options for long-term temporary fixed prosthetics are increasing, which requires a more in-depth study of the possibilities of materials.

Aim. This study aims to present an object of industrial property - a protected utility model, representing a device for the manufacture of experimental bodies from polymer materials for crowns and veneers with the possibility of reinforcement.

Materials and Methods. According to ISO 10477:2020 test bodies for measuring the flexural strength of polymer-based materials for the fabrication of crowns and veneers in dentistry with dimensions of 2 x 2 x 25 mm are made using a steel plate matrix. CAD software SolidWorks 2016 of Dassault Systèmes, France was used for the design, which starts with the creation of a working drawing and setting the parameters of the individual elements.

Results. The goal was achieved by creating a device for making test bodies, consisting of matrix base, plates for tightening and fixing the threads, retaining screws, forming plate. It is registered as a protected subject of industrial property (utility model) in the Patent Office of the Republic of Bulgaria No. 4383 U1. An advantage of the device is the possibility of making 12 experimental bodies at the same time.

Conclusion. For the first time in Bulgaria, the in vitro mechanical properties of the dental materials used for the production of preliminary non-removable prosthetic structures and their dependence on the presence or absence of the reinforcement factor were investigated.

Keywords: device, experimental bodies, reinforcement

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Подсилването на полимерни материали за предварителни неснемаеми конструкции е описано като метод за създаване на средносрочни (1 до 6 месеца) и дългосрочни (6 месеца до 2 години) предварителни протетични конструкции (Pietrobon, 1996) за случаите, когато се налага ползването им в хода на комплексни, мултидисциплинарни лечебни планове (Kamble, 2012). Методите за изработването им са директни (клинични), индиректни (лабораторни), директно-индиректни (клинико-лабораторни) и индиректно-директни (лабораторно-клинични).

Клиничните или директни методи спестяват време и средства на клинициста и пациента. За изработването им най-често се препоръчват фабрични или индивидуални матрици (външни формообразуватели на предварителни неснемаеми конструкции), посредством които се избягва времеемкото директно моделиране на зъбните форми. Като минуси на директните методи се посочват алергизиращият потенциал на неполимеризираните материали за предварителни неснемаеми конструкции, поставени върху оралните тъкани (Миланов, 2022), термичната травма и сенсibiliзирането на препарираните зъби, ако са витални (Torabi, 2015), по-лошата маргинална адаптация на конструкциите поради нуждата от изваждане по време на гумообразната фаза от препарираните пълчета, за да се избегне блокиране в евентуални подмолни пространства, нуждата от обучение на персонала в денталната практика за изработване, финиране и полиране на конструкциите и поведението

им при функция (Myagmar, 2021). Подсилването на такива конструкции може да се осъществи посредством полиетиленови или стъклени влакна, адаптирани интраорално върху препаратите и поставени впоследствие в индивидуалната матрица, заедно с материала за предварителни неснемаеми конструкции (Hammond, 2016). Известни са и методи на фиксирани без бонд с течен композит полиетиленови или стъклени влакна върху подсушените пълчета преди поставяне на матрицата с полимера (Hamza, 2004).

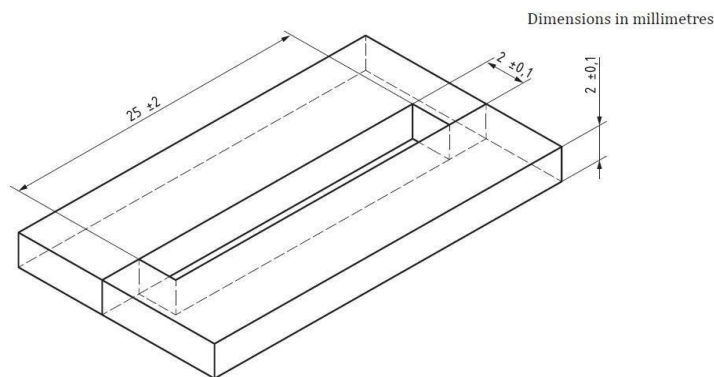
Изследването на ефекта върху механичните качества на армираните предварителни неснемаеми конструкции на различните методи за армирането им поставя акцент върху необходимостта от предварителни научни изследвания в лабораторни условия на армировките чрез опитни тела (Hamza, 2014). Такива научни сведения ще позволява оптимизиране и на клиничните методи за армиране на предварителното протезиране в ежеднезната дентална практика.

Разгледаните в литературата научни сведения позволяват да се постави работна хипотеза, според която конструирането на прибор за изработване на опитни тела от полимерни материали за ПНПК с армировка ще позволи извеждане на репрезентативни стойности за якост на огъване, максимална сила преди счупване и модул на еластичност. Обективните резултати ще създадат условия за многократна повторяемост и достоверно сравняване на материалите по заложените критерии.

Целта на разработката е да се проектира, изработи и защити с обект на индустриална собственост (полезен модел) прибор за изработване на опитни тела от полимерни материали за коронки и фасети с възможност за армировка.

2. МЕТОДИ И МАТЕРИАЛИ

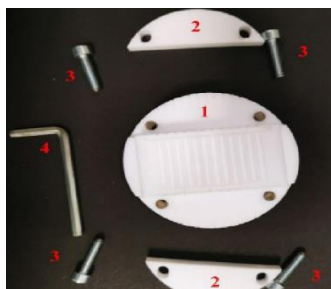
Според ISO 10477:2020 опитните тела за измерване на якост на огъване на материали на полимерна основа за изработване на коронки и фасети в денталната медицина с размери 2 x 2 x 25 mm се изработват с помощта на матрица от стоманени пластини (фиг. 1).



Фигура 1. Схема за матрица от метални пластини по ISO 10477:2020

Досега в специализираната теория и практика не са известни прибори или устройства за изработване на няколко опитни тела с позиционирани подсилващи нишки – насоките в ISO 10477:2020 са изходен материал за изготвянето на такъв прибор. За проектирането е използван CAD софтуер SolidWorks 2016 на компанията Dassault Systèmes, Франция. Проектирането на прибора стартира с изработването на работен чертеж и задаване параметрите на отделните елементи.

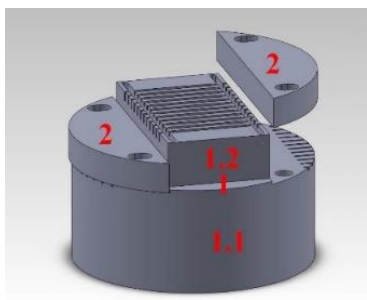
Приборът за изработване на опитни тела от материали на полимерна основа за изработване на коронки и фасети в денталната медицина с/без включена армираща нишка се състои от: матрица (1), задръжни пластини за армиращите нишки (2), прикрепящи винтове (3). Прикрепящите винтове се пристягат с шестограмен ключ $\varnothing 5$ (4) (фиг. 2).



Фигура 2. Схематизирана снимка на разглобените елементи на прибора

3. РЕЗУЛТАТИ

Проектиран е и е изработен прибор за изработване на опитни тела от полимерни материали за коронки и фасети с възможност за армировка. Задачата е решена чрез създаване на прибор за изработване на опитни тела по ISO 10477:2020, състоящ се от следните елементи – матрична основа, пластини за пристягане и фиксиране на нишките, задържащи винтове, оформяща стъклена плочка (фиг. 3).



Фигура 3. Приборът в разглобен вид



Фигура 4. Позициониране на нишките във външните каналчета при пристегнати задържащи пластини

Предимство на прибора е възможността за изработване на 12 броя опитни тела едновременно. Позиционирането на всяка от нишките в специални външни каналчета по външния ръб на основата позволява оптимално опъване на нишките преди финалното пристягане на задържащите пластини от двете страни, което фиксира нишките в позиция, позволяваща впоследствие те да са разположени в средата на опитните тела (фиг. 4).

Приборът е защитен като обект на индустриална собственост (полезен модел) в Патентното ведомство на Република България № 4383 U1 със следното название: ПРИБОР ЗА ИЗРАБОТВАНЕ НА ОПИТНИ ТЕЛА ОТ ПОЛИМЕРНИ МАТЕРИАЛИ ЗА КОРОНКИ И ФАСЕТИ С ВЪЗМОЖНОСТ ЗА АРМИРОВКА.

4. ДИСКУСИЯ

Като основно преимущество на прибора е определена възможността за точна повтораемост на изследванията при създаването на опитни образци от полимери. Различните образци могат да бъдат изработени с помощта на прибора с или без включени, армиращи нишки от различни материали. Предимство е възможността за повтораемост при изработването на стандартизирани по ISO 10477:2020 опитни тела. С помощта на прибора за първи път у нас и в международен мащаб са изследвани механичните качества на стандартизирани спрямо ISO 14077 опитни тела от материали за предварителни неснемаеми протезни конструкции с включена армираща нишка, обект на следващи научни проучвания на авторския колектив.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Съществува актуална необходимост от повишаване на механичната устойчивост на предварителните неснемаеми протезни конструкции за дългосрочна употреба. Възможностите в това отношение са свързани както с навлизането на нови материали и технологии в денталната медицина, така и с армирането на конструкциите, когато подлежат на дългосрочна употреба. Приборът за изработване на опитни тела от полимерни материали за коронки и фасети с възможност за армировка позволява изработването на опитни образци от съвременни полимерни материали със или без армиращи нишки от различно естество за целите на настоящи и бъдещи лабораторни изследвания.

ACKNOWLEDGMENTS: Това изследване е финансирано от Медицински университет в София, България, по проект Грант номер 163/03.08.2023 г.

REFERENCES

- Pietrobon, N., Lehner, C. R., & Schärer, P.** (1996). Long-term temporary dentures in crown and bridge prosthesis: The design principles, choice of material, and practical procedure. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin*, *106*(3), 236–247.
- Миланов, Н.** (2022). *Фотополимеризираща пластмаса за репаратури – клинично и експериментално проучване*. Дисертация, София.
- Torabi, K., Farjood, E., & Hamedani, S.** (2015). Rapid prototyping technologies and their applications in prosthodontics: A review of literature. *Journal of Dentistry Shiraz, Iran*, *16*(1), 1–9. PMID: 25759851; PMCID: PMC4345107.
- Myagmar, G., Lee, J., Ahn, J., Yeo, I., Yoon, H., & Han, J.** (2021). Wear of 3D printed and CAD/CAM milled interim resin materials after chewing simulation. *Journal of Advanced Prosthodontics*, *13*, 144–151. <https://doi.org/10.4047/jap.2021.13.3.144>
- Hammond, B., & Hodd, J.** (2016). Fiber-reinforced interim fixed dental prostheses: A clinical protocol. *Journal of Prosthetic Dentistry*, *116*(4), 496–500. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2016.04.002>
- Hamza, T., Rosenstiel, S., Elhosary, M., & Ibraheem, R.** (2004). The effect of fiber reinforcement on the fracture toughness and flexural strength of provisional restorative resins. *Journal of Prosthetic Dentistry*, *91*(3), 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2004.01.005>
- Hamza, T., Johnston, W., & Schricker, S.** (2014). Effect of polyhedral silsesquioxane (POSS) on the flexural strength and color of interim materials. *Journal of Prosthetic Dentistry*, *112*(2), 228–234.
- Kamble, V., Parkhedkar, R., & Mowade, T.** (2012). The effect of different fiber reinforcements on flexural strength of provisional restorative resins: An in-vitro study. *Journal of Advanced Prosthodontics*, *4*(1), 1–6. <https://doi.org/10.4047/jap.2012.4.1.1>

MANAGING AESTHETIC RESTORATION THROUGH MULTIDISCIPLINARY APPROACHES UTILIZING 3D SMILE DESIGN

Dobromira Shopova¹, Vasil Dimitrov², Maria Hristozova³,

Emiliya Simeonova⁴, Atanaska Dinkova⁵, Yana Dermendzhieva⁶

¹ Senior assistant professor at the Department of Prosthetic Dentistry, FDM, Medical University of Plovdiv

² Student 6th year Dental Medicine, FDM, Medical University of Plovdiv

³ Assistant professor at the Department of Prosthetic Dentistry, FDM, Medical University of Plovdiv

⁴ Senior assistant at the Department of Operative Dentistry and Endodontics, FDM, Medical University of Plovdiv

⁵ Senior assistant at the Department of Oral Surgery, FDM, Medical University of Plovdiv

⁶ Assistant at the Department of Periodontology and Oral Diseases, FDM, Medical University of Plovdiv

Abstract: The integration of digital workflows is becoming increasingly prevalent in modern dentistry, revolutionizing traditional approaches. Among these innovations, 3D smile design software stands out for its ability to leverage specific photos and digital analysis. This technology enables clinicians to pre-plan treatment outcomes, considering individual facial characteristics and patient preferences, thus streamlining communication among clinicians, dental laboratories, and patients. This study aims to underscore the advantages of incorporating 3D smile design into non-removable esthetic restorations within a multidisciplinary framework. **Materials and Methods:** A patient presenting with partial edentulism, and anterior maxillary dental crown defects underwent comprehensive multidisciplinary treatment, encompassing periodontal, surgical, therapeutic, and prosthetic interventions. Intraoral scans of the maxillary and mandibular arches were obtained using an OVO scanner (3Disc), while facial scans were acquired utilizing the Bellus 3D Facial Scanner (3Shape). Data were processed using 3Shape design software. **Results:** After a well-conducted initial periodontal therapy, a gingivectomy was performed, removing the overgrown gingiva around the available tooth structures in the maxillary front region. This allowed endodontic treatment and the construction of dental structures. A digital model of the future aesthetic construction was created. Working models were printed, from which silicone keys were removed in order to perform a precise preparation, on which a temporary structure was again made using a silicone impression. Electrocautery re-correction of the gingiva was required, guided by digital planning, with the goal of improved harmony and esthetics. The final structure was made of metal-ceramic. **Conclusion:** Utilization of 3D smile design enhances teamwork and elevates the quality of prosthetic rehabilitation with aesthetic considerations, fostering seamless communication within a multidisciplinary treatment paradigm.

Keywords: 3D smile design, aesthetics, multidisciplinary approach

1. INTRODUCTION

The digitization of the work process is increasingly successfully finding its place in modern dentistry. What is 3D Digital Smile Design? – this is software that is based on specific photos and digital analysis. Through it, the preliminary planning of the final result is achieved, which is tailored

to the facial features and individual characteristics of the patient (Jafri, 2020; Mangano, 2016; Haidar, 2023). Surgical manipulations for the correction of hypertrophied tissues can be laser gingivectomy and gingivoplasty, as well as electrocautery. However, in order to retain the result, a strict analysis of the causes is necessary - oral hygiene, drug therapy, etc. (Shankar, 2013; Prato, 1995; Saaq, 2012).

The aim of this poster is to demonstrate the advantage of using 3D digital smile design in esthetic restorations with fixed constructs when approached in a multidisciplinary manner.

2. METHODS AND MATERIALS

It concerns a 62-year-old patient with partial edentulousness (Kennedy type 4) (only tooth 12 is missing - lateral incisor on the right) and a defect of the dental crowns in the area of the front of the upper jaw. Clinically, there was hypertrophied gingiva and extensive crown defects in the maxillary anterior region from the first premolar on the right to the lateral incisor on the left. Radiologically, healthy root structures of the respective teeth are observed, there are no pathological periapical changes/minimal periapical changes in the form of fibrous periodontitis (fig. 1 and 2).



Figure 1. Initial situation.



Figure 2. Panoramic radiograph.

Performing an intraoral scan of the upper and lower jaw with the OVO (3Disc) scanner. A facial scan using Facial scanner Bellus 3D (3Shape) was also applied. The information was processed with 3Shape design software, on which a digital model of the future aesthetic construction was created.

3. RESULTS

The first step was well-conducted periodontal therapy, which included patient motivation and education to maintain adequate oral hygiene, and professional plaque and calculus removal (supra- and subgingival). The second step was surgical treatment - gingivectomy using Er:YAG and gingivoplasty of the hypertrophied crown around teeth 13,11,21,22 was performed in order to lengthen the clinical crowns of the corresponding teeth (fig. 3 and 4).



Figure 3. Er:YAG gingivectomy.



Figure 4. Periodontal bandage.

This allowed the therapeutic procedures to be carried out, which were as follows: teeth 13, 11, 21, 22 were re-treated with non-surgical endodontic treatment due to the consideration that the old root canal filling agent had been exposed to saliva contamination for a period of about 1.5 years. After the endodontic treatment, Teeth 21,22 were restored by cementing a fiber post and building with a composite in the form of dental stumps. Due to the more extensive defects of teeth 13,11 –

were restored using cast metal pin abutments. Tooth 14 was devitalized due to the need for pin construction – a fiber pin was cemented in the vestibular canal with the double-polymerizing composite cement Panavia (fig. 5).



Figure 5. Restored frontal teeth.

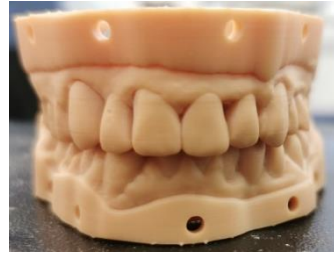


Figure 6. Printed working models.

Working models were printed from the created preliminary design (fig. 6), from which silicone keys were removed in order to perform a precise knife-edge preparation (fig. 7). Then, again from a silicone impression taken from the printed model, a temporary bridge structure was fabricated in clinical conditions (fig. 9). Since the prosthetic structures are placed only in the frontal region, the height of the occlusion was not changed. Electrocautery re-correction of the gingiva was required, guided by digital planning, with the aim of improved harmony and esthetics (fig. 8). It was made a metal-ceramic bridge and it was cemented with glass-ionomer cement (fig. 10).



Figure 7. Preparation junction with a silicone key.



Figure 8. Electrocautery re-correction.



Figure 9. Temporary bridge.



Figure 10. Final metal-ceramic bridge.

4. DISCUSSION

Gingivectomy is a known method for shaping and changing the shape and volume of the soft tissues in the oral cavity. This procedure is often used for aesthetic and functional improvements to a patient's smile and dentition. Guided soft tissue reconstruction can be achieved by properly shaping the temporary constructs and exposing them long enough in the patient's mouth. Temporary structures play a key role in the healing and adaptation process of soft tissues, allowing the dental professional to model and adjust their shape and volume until desired results are achieved (Shankar, 2013).

In case of insufficient visible hard dental tissues, orthodontic extrusion can also be applied. This technique involves gradually moving the teeth through orthodontic appliances, allowing them

to be extracted to a more suitable position in the dental arch. Orthodontic extrusion helps not only to improve aesthetics, but also to provide sufficient space for future restorations and improve the function of the dentition (González-Martín, 2020).

In order to maintain the obtained clinical result, the active participation of the patient in the care of the soft tissues around the teeth is of particular importance. Regular hygiene and careful maintenance of the teeth and gums are essential to prevent infections and inflammation that could compromise the results of gingivectomy and other dental procedures. The patient should be informed and motivated to follow the instructions of their dental professional regarding hygiene and oral care (Nyvad, 2015).

From a prosthetic perspective, esthetics and function are the most important components. Prosthetic structures must meet high aesthetic requirements, striving to reproduce the natural appearance of the teeth and to fit harmoniously into the patient's smile. At the same time, they must also provide functionality, which includes comfort in chewing and speaking. But apart from them, it is necessary that the constructions are placo-non-retentive. This means that the surfaces of the prostheses must be designed and treated in such a way that they do not retain plaque and are easily kept clean. In this way, the soft tissues are kept in clinical health, inflammation and infection are prevented, and the aesthetic effect is improved. Regular check-ups with the dental professional are also essential to maintain the health of the soft tissues and the longevity of the results achieved (Abad-Coronel, 2022).

5. CONCLUSIONS

3D smile design facilitates and improves the quality of teamwork in prosthetic rehabilitation with esthetic structures, significantly improves communication in a multidisciplinary approach.

ACKNOWLEDGMENTS: The software processing was performed in the CAD/CAM Center of Dental Medicine at the Research Institute, Medical University - Plovdiv, Bulgaria.

REFERENCES

- Jafri, Z., Ahmad, N., Sawai, M., Sultan, N., & Bhardwaj, A.** (2020). Digital Smile Design- An innovative tool in aesthetic dentistry. *Journal of oral biology and craniofacial research*, 10(2), 194-198.
- Mangano, F., Shibli, J. A., & Fortin, T.** (2016). Digital dentistry: new materials and techniques. *Int J Dent*, 2016, 5261247.
- Haidar, Z. S.** (2023). Digital dentistry: past, present, and future. *Digital Medicine and Healthcare Technology*, (16).
- Shankar, B. S., Ramadevi, T., Neetha, M. S., Reddy, P. S. K., Saritha, G., & Reddy, J. M.** (2013). Chronic inflammatory gingival overgrowths: laser gingivectomy & gingivoplasty. *Journal of international oral health: JIOH*, 5(1), 83.
- Prato, G. P., Clauser, C., & Cortellini, P.** (1995). Periodontal plastic and mucogingival surgery. *Periodontology 2000*, 9(1), 90-105.
- Saaq, M., Zaib, S., & Ahmad, S.** (2012). Electrocautery burns: experience with three cases and review of literature. *Annals of burns and fire disasters*, 25(4), 203.
- González-Martín, O., Solano-Hernandez, B., Torres, A., González-Martín, S., & Avila-Ortiz, G.** (2020). Orthodontic Extrusion: Guidelines for Contemporary Clinical Practice. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 40(5).
- Nyvad, B.** (2015). The role of oral hygiene. *Dental caries, the disease and its clinical management*, 171-176.
- Abad-Coronel, C., Manosalvas, J. V., Sarmiento, C. P., Esquivel, J., Loi, I., & Pradiés, G.** (2022). Clinical outcomes of the biologically oriented preparation technique (BOPT) in fixed dental prostheses: A systematic review. *The Journal of Prosthetic Dentistry*.

EXPRESSION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE HORMONE RECEPTORS IN ENDOMETRIAL POLYPS IN PRE- AND POST-MENOPAUSE WOMEN - A LITERATURE REVIEW

**Krum Vladov^{1,2}, Ekaterina Uchikova^{1,2}, Veselin Belovezhdov³,
Gita Yamakova-Vladova^{1,2}, Kamen Yamakov^{1,2},
Maria Koleva-Ivanova³, Nikoleta Parahuleva-Rogacheva^{1,2}**

¹ Clinic of Obstetrics and Gynecology,

St. George University Hospital, Plovdiv

² Department of Obstetrics and Gynecology,

Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

³ Department of General and Clinical Pathology,

Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

Keywords: endometrial polyp, etiopathogenesis, estrogen and progesterone receptors

INTRODUCTION

Endometrial polyps are the most common benign neoplasms of the endometrium. They are diagnosed at all ages, with the highest frequency in perimenopausal women, most often between 40 and 49 years old. Endometrial polyps can be asymptomatic, but in most cases, they are the leading cause of abnormal uterine bleeding. In recent years, data has accumulated that classifies endometrial polyps as preneoplastic diseases of the uterine body with varying frequency of their malignant potential in women in pre – and postmenopausal with genital bleeding (Nijkang et al., 2019).

A thorough understanding of the hormonal theory as part of the etiopathogenesis of endometrial polyps will reveal new horizons in their diagnosis, treatment, and prevention. The literature review presents modern theories about the origin and development of endometrial polyps related to the expression of estrogen and progesterone receptors.

The aim of this study is to evaluate the literature. Presenting a review considering: expression of estrogen and progesterone hormonal receptors in endometrial polyps.

RESOURCES AND METHODS

A literature search of PubMed data base was conducted. More than 37 publications were found for the last 35 years, which reflect the interest of researchers over the years and the relevance of the problem today.

RESULTS AND DISCUSSION

An analysis was performed for the period 1990-2024 by filtering seven open access publications included in the literature review.

In 1953, Scott published an article titled “*The Elusive Endometrial Polyp*” and concluded that “the endometrial polyp remains an enigma as it relates to frequency, bleeding potential, and the possibility of malignant transformation.” To this day, the exact causes of the appearance of endometrial polyps are not known, but there is accumulated knowledge from studies that prove the leading role of the increased expression of estrogen and progesterone hormone receptors in the etiology and pathogenesis of these benign neoplasms (Nijkang et al., 2019).

Estrogen and progesterone are essential hormones for the maintenance and functioning of the endometrium. Their effects are mediated by specific nuclear receptor proteins, ER-alpha, ER-beta,

PR-A and PR-B, which are present in endometrial stromal and epithelial gland cells. Five studies have investigated the distribution of ER and PR in polyp tissue (McGurgan et al., 2006). McGurgan and Gul (Gul et al., 2010) compared polyps from premenopausal and postmenopausal women without hormone treatment. Both demonstrated that ER and PR expression differed in polyps from these two groups. Cohen and McGurgan investigated the effect of tamoxifen treatment on polyps in postmenopausal women. Both observed that glandular ER expression was lower in tamoxifen polyps and concluded that this may be due to the weak estrogen-like effect of tamoxifen (Cohen et al., 1997).

Only one study evaluating ERs and PRs according to patient age was found. The immunohistochemical reactivity of postmenopausal endometrium was studied by Koshiyama et al. (Koshiyama et al., 1996). using monoclonal antibodies against ER and PR in 33 postmenopausal patients. The endometrium was thicker in patients who had been postmenopausal for up to 10 years than in patients who had been postmenopausal for more than 10 years. The mean age of patients with ER-positive reactivity in the glands was significantly lower than that of patients with ER-negative reactivity. Furthermore, the endometrial thickness of patients with ER- or PR-positive reactivity in the glands was significantly greater than that of patients with ER- or PR-negative reactivity (Koshiyama et al., 1996).

The pathogenesis of endometrial polyps remains poorly understood, and few studies have investigated their association with obesity. Armando Antunes et al. 2010 conducted a study to evaluate the effect of obesity on the expression of hormone receptors, Ki67, Bcl-2 and Cox-2 in benign endometrial polyps. Obesity has been shown to be associated with PR and Cox-2/Bcl-2 expression in the glandular endometrial compartments of postmenopausal women (Pinheiro et al., 2014).

In the study by Anderson Pinheiro et al. 2014, the high levels of ER expression found in polyps were similar to those seen in other studies. The comparison of ER expression revealed no differences in outcomes between obese and non-obese, premenopausal and postmenopausal women. This finding is in agreement with a study by Belisário et al., based on 35 cases of polyps and atrophic endometrial tissue samples from postmenopausal women. The authors also failed to find an association between ER expression in polyps and BMI. The authors suggest that elevated serum estrogen levels observed in obese women are able to reduce ER expression in atrophic endometrium but not in endometrial polyps (Pinheiro et al., 2014; Belisário et al., 2006).

CONCLUSION

The etiology and pathogenesis of endometrial polyps are still a matter of debate. The literature review outlines the current aspects and the leading role of the expression of estrogen and progesterone steroid receptors in the pathogenesis of endometrial polyps, the causes of their formation in obese women and the main pathophysiological mechanisms of hormone receptors.

REFERENCES

- Belisário, M. S., Vassallo, J., Andrade, L. A., Alvarenga, M., Pinto, G. A., & Monteiro, I. M.** (2006). The expression of the hormone receptors in the endometrium and endometrial polyps in postmenopausal women and its relationship to body mass index. *Maturitas*, 53(1), 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2005.03.013>
- Cohen, I., Beyth, Y., Altaras, M. M., Shapira, J., Tepper, R., Cardoba, M., Yigael, D., Figer, A., Fishman, A., & Berenhein, J.** (1997). Estrogen and progesterone receptor expression in postmenopausal tamoxifen-exposed endometrial pathologies. *Gynecologic Oncology*, 67(1), 8–15. <https://doi.org/10.1006/gyno.1997.4831>
- Gul, A., Ugur, M., Iskender, C., Zulfikaroglu, E., & Ozaksit, G.** (2010). Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps and its relationship to clinical parameters. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 281(3), 479–483. <https://doi.org/10.1007/s00404-009-1142-9>
- Koshiyama, M., Yoshida, M., Takemura, M., Yura, Y., Matsushita, K., Hayashi, M., Tauchi, K., Konishi, I., & Mori, T.** (1996). Immunohistochemical analysis of distribution of estrogen receptors and progesterone receptors in the postmenopausal endometrium. *Acta Obstetrica*

et Gynecologica Scandinavica, 75(8), 702–706. <https://doi.org/10.3109/00016349609065730>

McGurgan, P., Taylor, L. J., Duffy, S. R., & O'Donovan, P. J. (2006). Are endometrial polyps from pre-menopausal women similar to post-menopausal women? An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from pre- and post-menopausal women. *Maturitas*, 54(3), 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2005.12.003>

Nijkang, N. P., Anderson, L., Markham, R., & Manconi, F. (2019). Endometrial polyps: Pathogenesis, sequelae, and treatment. *SAGE Open Medicine*, 7, 2050312119848247. <https://doi.org/10.1177/2050312119848247>

Pinheiro, A., Antunes, A., Jr, Andrade, L., De Brot, L., Pinto-Neto, A. M., & Costa-Paiva, L. (2014). Expression of hormone receptors, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in benign endometrial polyps and their association with obesity. *Molecular Medicine Reports*, 9(6), 2335–2341. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2125>

SIMULATION-BASED TRAINING IN OBSTETRICS AT THE MEDICAL SIMULATION TRAINING CENTER OF MU PLOVDIV AS A BASIS FOR RESEARCH PROJECT ACTIVITY

K. Vladov^{1,2}, M. Sandeva^{3,4}, E. Uchikova^{1,2}, Yu. Yanakiev⁵, K. Yamakov^{1,2}, M. Vlahova^{1,2}, P. Petleskova^{1,2}, S. Tufkova^{4,6}, M. Vladimirova³, Z. Nikolova³

**¹ Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv**

**² Clinic of Obstetrics and Gynecology,
St. George University Hospital, Plovdiv**

**³ Department of Midwifery Care,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv**

⁴ Medical simulation training center, Medical University of Plovdiv

⁵ Department of Psychology, University of Plovdiv Paisii Hilendarski

⁶ Clinic of Clinical Toxicology, St. George University Hospital, Plovdiv

Abstract: In 2017, an innovative and high-tech educational structure, the Medical Simulation Training Center, was opened at MU Plovdiv, the only training base in Eastern Europe recognized and accredited by the American College of Surgery. The material and technical support of the center includes a wide range of modern simulators, which serve for the training of students and the additional qualification of interns, specialists, and health specialists in various clinical interventional disciplines, including in the field of midwifery. The role of simulation-based training in improving the management of obstetric emergencies associated with a high incidence of maternal and neonatal morbidity and mortality worldwide and in our country is leading. Failures in stress-related emergency settings in clinical settings lead to a number of adverse consequences. Studies show that obstetric emergencies associated with high levels of stress have an impact on obstetric gynecological teams. As a result, symptoms of depression, post-traumatic stress disorder, and loss of professional confidence can occur, leading to self-doubt, isolation, defensive medicine practice, and fear. Levels of stress induced by emergency obstetric pathology in simulation conditions relative to a real clinical setting are the subject of an inter-university research project. Its main purpose is the assessment, prevention, control, and preparation of models of behavior and stress management in obstetric emergencies.

Keywords: simulation training, obstetric emergencies, stress

INTRODUCTION

In 2017, an innovative and high-tech educational structure, the Medical Simulation Training Center (MSTC), was opened at MU Plovdiv, which is the only training base in Eastern Europe recognized and accredited by the American College of Surgery. A wide range of modern simulators serve for the training of students and the additional qualification of interns, specialists and health professionals in various clinical interventional disciplines, including in the field of obstetrics, the subjects of which are pregnancy, childbirth, and the postpartum period. A key point is that obstetricians and midwives take care of two patients at the same time: the mother and the baby. Emergency obstetric situations during pregnancy and childbirth are associated with an increased incidence of maternal and neonatal morbidity and mortality worldwide and in our country (Medical University of Plovdiv, 2024).

These unexpected and unpreventable events induce stress. The World Health Organization defines stress as any type of change that causes physical, emotional, or psychological strain. Stress is the body's reaction to anything that requires attention or action. A high level of stress is associated with impaired performance and results and could provoke errors that threaten patient safety (Stress, 2022).

The levels of stress induced by emergency obstetric pathology, in the conditions of simulation referred to as a real clinical environment, are the subject of an inter-university research project of MU Plovdiv and PU "Paisii Hilendarski". The main goal is to assess the level of stress, provide guidelines for its prevention and control, and prepare models of behavior and stress management in emergency obstetric conditions related to life-threatening complications for both the mother and the fetus.

DISCUSSION

The term simulation refers to a situation in which an artificial representation of real-world conditions is created to achieve educational goals – learning through experience. Interest in simulation midwifery revived in the late twentieth century. With the advent of modern obstetric simulation, medical education and patient safety are enhanced, thanks to team training and the increased complexity of scenarios, allowing for a multidisciplinary approach and knowledge of critical care (Medical University of Plovdiv, 2024).

Obstetric emergencies are characterized by their unpredictable nature. About 95% of all maternal deaths occurred in low- and lower-middle-income countries in 2020, with the main causes being bleeding after childbirth (postpartum hemorrhage), infections after childbirth or abortion, and high blood pressure with proteinuria at the time of pregnancy (preeclampsia and eclampsia). Other emergency conditions are shoulder dystocia - the impossibility of delivery of the shoulder girdle of the fetus; cardiac arrest in the course of amniotic embolism; prolapse of the umbilical cord; intrauterine asphyxia of the fetus; etc. (Reynolds et al., 2011; Draycott et al., 2008)

It is clear from these examples that obstetric simulation training is versatile and adaptable to a wide range of scenarios. It can be modified and adapted to specific conditions. Emergency obstetric simulations provide a safe space for trainees to reflect on their management and practice skills (Reynolds et al., 2011; Siassakos & Fox et al., 2011).

The MSTC is equipped with a modern high-tech simulator, the VICTORIA S2200 from the manufacturer Gaumard, which is an established manufacturer of simulators in the field of healthcare worldwide with over 75 years of experience and sales in more than 70 countries. The simulator has over 60 characteristics, general and specific, providing the possibility of computer-controlled descent of the fetus with basic rotations, programming of normal and breech birth, shoulder dystocia, instrument-assisted birth, caesarean section, and intra- and postpartum bleeding. Through it, a full-term newborn with realistic dimensions and weight is born with a programmable heart, breathing sounds, crying, cyanosis, and movement. With the help of VICTORIA, it is also possible to simulate a multi-layer fourth-degree episiotomy with hemorrhages and rupture of the vagina, as well as cervical tears. Programmable uterine stiffness allows the simulation of postpartum hemorrhage as well as the placement of a balloon tamponade (Gaumard® Scientific, 2024).

Each of the described obstetric situations is associated with different levels of stress for different specialists: obstetrician-gynecologist, midwife, and neonatologist. Studies show that obstetric emergencies associated with high levels of stress have an impact on obstetrician-gynecologists and midwives. As a result, symptoms of depression, post-traumatic stress disorder, and loss of professional confidence can occur, leading to self-doubt, isolation, defensive medicine practice, and fear (Reynolds et al., 2011; Siassakos & Fox et al., 2011; Siassakos & Bristowe et al., 2011).

Severe pathology leading to an obstetric emergency is associated with critical events that can lead to maternal and neonatal morbidity and mortality. In this regard, they are often the subject of clinical and simulation training in order to reduce the morbidity and mortality resulting from maternity care (Draycott et al., 2008; Siassakos & Fox et al., 2011; Siassakos & Bristowe et al., 2011).

Several authors have shown evidence for the efficacy of simulation training in obstetric

management. Reynolds et al. observed an improvement in self-perceived knowledge and skills following participation in a 1-day obstetric emergency simulation course (Reynolds et al., 2011; Siassakos & Bristowe et al., 2011).

However, since obstetric emergencies are rare and therefore more difficult to learn, simulation-based medical training is considered an excellent supplement to the traditional learning model. On the other hand, a high level of stress is associated not only with disturbances in productivity and results but also with an increase in motivation to learn (Siassakos & Bristowe et al., 2011).

The introduction of simulation-based training in emergency obstetric conditions would lead to lower levels of stress, greater confidence and speed of decision-making by the medical team, and hence to improved results and the outcome of the treatment carried out. From 2022 until now, MSTC, the Department of Obstetrics and Gynecology, together with the Department of Midwifery Care from the MU Plovdiv with the help of the Department of Psychology at the PU "Paisii Hilendarski", is developing a research project that aims to study the levels of stress in medical teams during obstetric emergencies in clinical and simulation environments and to develop guidelines for its prevention and control, as well as for the adequate management and behavior of the team in emergency conditions.

CONCLUSION

In conclusion, the study of stress levels in medical teams during obstetric emergencies in a clinical and simulation environment is the basis for the development of guidelines for its prevention, control, and adequate management and behavior in emergency conditions.

Studying the leading stressors and implementing strategies to reduce their intensity can improve the satisfaction of health care professionals and students in training in the specialty, as well as promote quality and safe care for the mother and newborn in the obstetric emergency setting.

REFERENCES

Reynolds, A., Ayres-de-Campos, D., & Lobo, M. (2011). Self-perceived impact of simulation-based training on the management of real-life obstetrical emergencies. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 159(1), 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2011.07.022>

Gaumard® Scientific. (n.d.). VICTORIA® S2200 - Advanced Obstetric Patient Simulator. Retrieved from <https://www.gaumard.com/s2200-victoria-childbirth-simulator>

Draycott, T. J., Crofts, J. F., Ash, J. P., Wilson, L. V., Yard, E., Sibanda, T., & Whitelaw, A. (2008). Improving neonatal outcome through practical shoulder dystocia training. *Obstetrics and Gynecology*, 112(1), 14–20. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31817bbc61>

Siassakos, D., Fox, R., Crofts, J. F., Hunt, L. P., Winter, C., & Draycott, T. J. (2011). The management of a simulated emergency: Better teamwork, better performance. *Resuscitation*, 82(2), 203–206. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2010.10.029>

Siassakos, D., Bristowe, K., Draycott, T. J., Angouri, J., Hambly, H., Winter, C., Crofts, J. F., Hunt, L. P., & Fox, R. (2011). Clinical efficiency in a simulated emergency and relationship to team behaviours: A multisite cross-sectional study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 118(5), 596–607. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2010.02843.x>

Stress. (2022, June 17). Retrieved from <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/stress>

Medical University of Plovdiv. (2024, May 27). Retrieved from <https://mu-plovdiv.bg/en/about-us/centres/simulation-centre/general-information/>

TUMOR MICROENVIRONMENT – A NEW TARGET FOR ONCOLOGICAL THERAPY

S. Chilova¹, G. Raycheva^{2,3}, I. Nenova^{2,3}

¹ Clinical laboratory, UMHAT “St. George”, Plovdiv

² Clinic of medical oncology, UMHAT “St. George”, Plovdiv

³ Department of clinical oncology, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* In recent decades, new methods for tumor control based on impacting the tumor microenvironment have been introduced and used alongside the traditional methods for treatment in oncology.

Goal: To present a modern scientific concept of the tumor microenvironment and the opportunities for therapeutic influence.

Methods: The literature review includes medical literature published in scientific journals in refereed and indexed medical journals in world-renowned databases.

Results and discussion: Tumor microenvironment as a “normal” cell microenvironment is a complex cell group of cells and intercellular substance. The cell content is presented by endothelial cells, smooth muscle cells, pericytes, macrophages, fibroblasts, adipocytes, osteogenic precursors and immune cells. In contrast with the tumor cells, stromal cells have genetic stability. Structural proteins, cytokines, chemokines, enzymes and signal molecules are located in the extracellular matrix. Each of these elements has a specific and multifaceted role in the oncogenesis. In their evolution, tumors can modify this microenvironment. Complex interactions are performed via direct cell contact between tumor and stromal cells or molecule signals.

Conclusion: Modern understanding of the tumor microenvironment is based on molecular biology and genetics. Modern technologies offer new treatment opportunities among which the key role belongs to immunotherapy and gene therapy. In oncology, angiogenic inhibitors, checkpoint inhibitors, and anti-inflammatory cytokine inhibitors are successfully incorporated and used alongside traditional antitumor agents.

Keywords: tumor microenvironment, immunotherapy, gene therapy

Introduction

In recent decades, new methods for tumor control have been implemented alongside conventional oncology therapy. Targeting tumor microenvironment (TME) plays a key role in these modern therapeutic approaches.

Goal

The aim of this project is to outline the innovative scientific concept of TME and its impact on treatment strategies.

Methods

The literature review includes medical literature published in scientific journals in refereed and indexed medical journals in world-renowned databases. The search was limited to articles that were published in English in the electronic databases between 2010 and 2023.

Results and discussion

The term TME has been redefined multiple times as its understanding has evolved via the works of Virchow and Hanahan. (Ming-Zhu Jin, 2020)

Components of TME

1. *cells* - endothelial cells, smooth muscle cells, pericytes, fibroblasts, leucocytes, glial cells,

immune cells, fat cells; 2. *extracellular matrix* - including structural proteins and signaling molecules; 3. *structural and functional complexes* - bone marrow niche, endothelial niche, hypoxic niche, acidic niche. TME is either in the vicinity or at a distance from the primary malignancy.

Characteristics of TME

Stromal cells are genetically stable with reduced risk of therapeutic resistance. Infection, inflammation and impaired immune responses are a known cause of cancer. This allows the application of anti-inflammatory and immunomodulatory drugs, cardiovascular, antibiotics, antiviral either alone or in combination with cytostatic or targeted therapies. (Grivennikov 2010)

TME has diverse capacities to induce both beneficial and adverse consequences for oncogenesis and this is the challenge for the treatment.

The tumor impacts the TME and turns it into a submissive accomplice. (Borros 2020).

TME can cause therapeutical resistance in oncology. (Salemme 2023)

Interactions between tumor cells and TME influence tumor initiation, progression and patient's prognosis. This abnormal interplay consists of cell-cell contact and active molecular crosstalk.

The surveys on the TME are possible thanks to modern technologies: single Cell RNA sequencing, multi-omics (transcriptomics, proteomics, metabolomics, and microbiome).

Cells of TME and their role

Macrophages (TAMs) release VEGF, EGF, MMP2, IL - 8 and proteases such as cysteine cathepsins (key factors for tumor progression and therapeutic resistance). (Quail, 2013)

Macrophages have two polarization states M1 and M2. "Classically-activated" M1 macrophages produce proinflammatory cytokines and have antitumorigenic functions. "Alternatively-activated" M2 macrophages provide an antiinflammatory response and have protumorigenic functions.

The switching between tumor suppression and tumor promotion is not clearly understood yet. The significance of hypoxia in the growing tumor should be taken into consideration.

Cancer - associated fibroblasts (CAFs) have undergone a phenotype change which put them in a state of constant activity and gave them protumorigenic functions. They are unable to apoptosis. (Xing 2010) CAFs remodel extracellular matrix by direct cell - cell contact and secretion of regulatory molecules and extracellular vesicles. An example of direct cell - cell contact is cooperative tumor invasion, which is a result of an active adhesion between N - cadherin of CAFs and E - cadherin on cancer cells. (Zhang, 2013)

The tumor vasculature

Tumor vessels do not have normal architectonics. They often have arteriovenous shunts and are connected with an increased secretion of vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF is secreted by the tumor cells directly and by fibroblasts and inflammatory cells in the stroma. Abnormal tumor vessels, accompanied by intensive metabolism, increase tissue hypoxia and Hypoxia-inducible factors (HIFs, cellular transcription factors), resulting to neovascularisation. Cytostatics' penetration in tumor vasculature is difficult.

Growth factors, secreted by stromal cells are: (Hanchen, 2007)

- Transforming growth factor- beta (TGF- b) - an immunosuppressive factor and growth inhibitor; it stimulates tumor proliferation and metastasis.
- Matrix metalloproteinases (MMPs) by stromal fibroblasts and macrophages; they hydrolyze proteins /collagen, laminin, elastin, fibrinogen, fibronectin, and vitronectin/. There are tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) (Whatcott,2011)
- Hypoxia - inducible factors (HIFs) – key for neovascularization, survival, and tumor spread. Hypoxia is a typical characteristic of the tumors. It is a result of cellular overgrowth, abnormal metabolism and deformed vasculature. Identification of hypoxic gene signatures associated with tumor progression and treatment resistance is a new trend (Zhuang, 2023).

Vasoendothelial niche (VEN) is a part of any vascularized tissue and consists of endothelial cells, hemodynamic factors, matrix proteins, pericytes, parenchymal and stromal cells of corresponding tissue. It can stimulate angiogenesis, immunosuppression, inflammation and

permeability enhancement. This ability is very important for metastasizing tumors with abnormal metabolism. Therapeutically modified, VEN would become inhabitable for tumor cells (Lei Z, 2022).

Bone marrow (BM) niche is a special case of VEN (Chiara, 2023). It consists of mesenchymal stromal cells (MSCs), endothelial cells, osteoblastic cells, nerves from the sympathetic nervous system and accessory cells (macrophages, megakaryocytes, and T cells). BM niche participates in normal hematopoiesis, manifestation and progression of myeloid malignancies (Tomasoni, 2023).

The term VEN has moved from ecology to oncology. Metastatic tumors are known to prefer special niches. (Quail, 2013) Endothelial cells play a key role not only as a regulatory barrier between blood and tissues but also as a humoral substances' deliverers. Endothelial cells choose to differentiate into hematopoietic stem cells, endothelial or mesenchymal stem cells. VEN reacts to this process by secretion of platelet derived growth factor (PDGF) and nitric oxide, release of inflammatory factors, VEGF, epidermal growth factor, alternations in tight junction proteins. VEN changes in a specific way in different tumors. For example, tight junctions that connect the endothelial cells and are a physiological barrier for VEN, change in colorectal cancer. VEN cells secrete adhesion molecules (integrin family, selectin family, immunoglobulin superfamily, and cadherin family) that regulate cell-to-cell adhesion, cell-to-matrix adhesion. Hypoxia changes VEN into a typical for tumors *hypoxic niche*. Endothelial cells are considered to be genetically stable. However, some mutations in VEN cells have been discovered. VEN cells with JAK2V617F mutations are typical of myeloproliferative malignancies. Endothelial cells are a potential target for therapy in oncology.

Some authors have introduced terms defining the different subtypes of TME: mechanical (intracellular neurofilaments, extracellular actin and fibrin fibers); metabolic (increased metabolism of glucose, lipid, glutamine typical for cancers), innervation (neurotransmitters and neuropeptides) (Ming-Zhu Jin, 2020).

Opportunities for therapeutic impact on TME

- Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for treatment of cancer - associated inflammation. Aspirin was recommended to prevent colorectal cancer in 2015.
- Checkpoint inhibitors (Meng L 2024)

Examples of checkpoint proteins include PD-1/PD-L1 and CTLA-4/B7-1/B7-2. Inhibitors of programmed death ligand 1 (PD-L1) on tumor cells and programmed death 1 (PD-1) on normal cells are of clinical importance for T - cell antitumor response stimulation. FDA approved anti – PD – 1 antibodies such as Pembrolizumab, Nivolumab and Atezolizumab are used in the therapy of lung cancer, metastatic renal cancer, metastatic melanoma and refractory Hodgkin's lymphoma.

T – cell antitumor response induction demands co- stimulation of CD28 on the T – cell surface and B7 molecules on antigen presenting cells' surface. CTLA-4 is a CD28 homologue that has higher affinity to B7. It blocks T – cell co- stimulation. Ipilimumab, an antibody against human CTLA-4, is suitable for metastatic melanoma. Thanks to the similar mechanisms of actions a simultaneous application of CTLA-4 and PD-1 checkpoint inhibitors has become a practice.

- Small molecules targeting FAP, VDR and PDGFR in CAFs with resulting chemotherapy response enhancement; (Xiao Y, 2021)

The surface targets of CAF include FAP (fibroblast activation protein, a serine protease expressed on activated CAFs), vitamin D receptor (VDR) and platelet-derived growth factor receptor (PDGFR), both of which can be targeted by small molecule inhibitors (multikinase inhibitors – Sorafenib, Sunitinib).

Small molecule inhibitors inhibit FAP activity and cause in experimental models selective cell death of fibroblasts, pericytes, and endothelial cells. The same activity is typical for antibody-conjugated toxin and cell-based immunotherapies (Bremnes R, 2011).

- Antiangiogenic therapy (inhibition of VEGF and VEGFR) for drug delivery and efficacy enhancement by creating a more mature and functional vasculature: monoclonal antibodies such as Bevacizumab, Ramucirumab, Aflibercept и small molecules Axitinib, Regorafenib (Pitt, 2016; Ahmed 2008)
- New areas of development include highly selective MMPs inhibitors and hypoxia – targeted therapy (blockage of sHIF-1 and HIF-1 target genes) (Zhuang Y, 2023)

- Immunomodulatory Treg as a target:

CD4+CD25+ FOXP3+ regulatory T (Treg) cells prepare the so called premetastatic niche. Low continuous ('metronomic') doses of cyclophosphamide (CTX), as an example, promote tumor immunity by selectively targeting and eliminating Tregs. Similar effect can be attributed to Gemcitabine, Paclitaxel, Arsenic trioxide, Sunitinib.

- Gene therapy is one of the most promising cancer treatment strategies (Wan 2021). Gene therapy products include : Matrix-degrading enzymes; Bispecific antibodies targeting FAP; Monovalent antibodies such as anti-CTLA-4 and anti-PD-L1 antibodies; Soluble VEGFR receptor to block the VEGF/VEGFR.
- Some authors recommend combined effect on multiple types of TME including conventional (NSAID) and specific agents. More than 200 non – cancer drugs (cardiovascular, antibiotics, antiviral, antipsychotics) have shown off-label antitumor effects. The most popular such drugs are Aspirin, Celecoxib, β -adrenergic antagonist, Metformin, and Statin (Swartz 2012; Pottier 2015).

Conclusion

The tumor microenvironment is a constantly evolving term. Modern understanding of the TME is based on molecular biology and genetics. Familiarization with its components enhances their potential as a target for upcoming and experimental drugs. Modern technologies offer new treatment opportunities among which the crucial role belongs to immunotherapy and gene therapy.

References

Jin, M.-Z., & Jin, W.-L. (2020). The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 166. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00280-x>

Grivennikov, S. I., Greten, F. R., & Karin, M. (2010). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 140(6), 883–899. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.025>

Arneth, B. (2020). Tumor microenvironment. *Medicina*, 56(1), 15. <https://doi.org/10.3390/medicina56010015>

Salemme, V., Centonze, G., Avalle, L., et al. (2023). The role of tumor microenvironment in drug resistance: Emerging technologies to unravel breast cancer heterogeneity. *Frontiers in Oncology*, 13, 1170264. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1170264>

Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2013). Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nature Medicine*, 19(11), 1423–1437. <https://doi.org/10.1038/nm.3394>

Xing, F., Saidou, J., & Watabe, K. (2010). Cancer-associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. *Frontiers in Bioscience*, 15, 166–179. <https://doi.org/10.2741/3613>

Zhang, J., & Liu, J. (2013). Tumor stroma as targets for cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 137(2), 200–215. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.10.003>

ПРЕДРАЗПОЛАГАЩИ СЪРДЕЧНИ СЪСТОЯНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОЗЕН ЕНДОКАРДИТ: 17-ГОДИШЕН РЕТРОСПЕКТИВЕН АНАЛИЗ

Иван Кучмов¹, Бистра Добрева-Яцева^{1,2}, Ралица Райчева³,
Петър Николов², Мария Токмакова²

¹ Кардиологична клиника, УМБАЛ "Св. Георги" ЕАД-Пловдив

² Секция Кардиология, Първа Катедра по Вътрешни болести,
Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив

³ Катедра по социална медицина и обществено здраве,
Факултет по Обществено здраве, Медицински университет – Пловдив

PREDISPOSING CARDIAC CONDITIONS IN INFECTIVE ENDOCARDITIS – A 17-YEAR, SINGLE-CENTER, RETROSPECTIVE ANALYSIS

Ivan Kuchmov¹, Bistra Dobрева-Yatseva^{1,2}, Ralitsa Raycheva³,
Petar Nikolov², Maryia Tokmakova²

¹ Cardiology Clinic, UMBAL "St. George" EAD – Plovdiv

² Section of Cardiology, First Department of Internal Medicine,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

³ Department of Social Medicine and Public Health,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* Infective endocarditis (IE) is a disease whose profile has changed significantly over the past decades. The routine implantation of prosthetic valves, prosthetic materials for valve and vascular reconstruction, intracardiac devices and catheters has significantly altered the spectrum of predisposing cardiac conditions. Knowledge of these is of paramount importance for the prevention and treatment of this life-threatening disease.

Objective: We aimed to investigate the predisposing cardiac conditions for IE.

Material and Methods: The study is single center, retrospective and includes 270 patients treated at UMBAL University Hospital "St. Georgi" - EAD, Plovdiv for the period 01.2005 - 12.2021.

Results: We described predisposing cardiac conditions in 10 categories. In the largest percentage of cases with IE there is no predisposing heart disease - 44.8%. The most common predisposition is the presence of a prosthetic heart valve - 28.2%, followed by cases of persistent IE - 7.4%; congenital heart defects - bicuspid aortic valve and mitral valve prolapse together - 7.1%; degenerative heart disease - 5.6%. Rheumatic heart disease was found in only 4%; intracardiac striae in 2.2%.

Discussion: Almost half of the cases had no known valvular disease and were therefore not subject to prophylaxis according to current treatment guidelines. About 1/3 of the patients had prosthetic IE, in which the diagnosis is difficult and often delayed, the treatment is long and often unsuccessful, and re-prostheses are necessary. Rheumatic valvopathy is greatly reduced. A new type of IE associated with temporary and permanent intracardiac devices and catheters has emerged.

Conclusion: Knowledge of predisposing cardiac conditions is of paramount importance for

both prevention and timely diagnosis and treatment of this life-threatening disease.

Keywords: infective endocarditis, predisposing cardiac conditions, prosthetic heart valves

1. INTRODUCTION

Infective endocarditis (IE) is a disease whose profile has changed significantly over the past decades (Delgado et al., 2023; Murdoch, 2009). The routine implantation of prosthetic valves, prosthetic materials for valve and vascular reconstruction, intracardiac devices and catheters has significantly altered the spectrum of predisposing cardiac conditions. Knowledge of these is of paramount importance for the prevention and treatment of this life-threatening disease.

Objective: We aimed to investigate the predisposing cardiac conditions for IE.

2. METHODS AND MATERIALS

The study is retrospective, single-centered, including 270 patients with a diagnosis of IE, according to the modified Duke criteria (Durack et al., 1994), treated at the University Hospital "St. Georgi", in the city of Plovdiv for the period January 2005 – December 2021. The hospital capacity is 1500 beds, and the cardiology clinic is a reference center for the treatment of IE for a large part of southern Bulgaria. The medical records of treated patients with codes I33, I38, and I39 for the described period were used.

Definition and Classification of IE

The diagnosis was defined as definite IE or possible IE according to the modified Duke criteria. Surgical treatment of IE was defined as early when the surgery was done during antibiotic treatment.

Statistical Methods

Categorical variables were summarized using absolute (n) and relative (%) magnitudes. Man-Whitney test for independent samples was used to compare quantitative variables between two groups. A z-test was used to compare the relative shares of categorical variables between the studied groups. A p-value<0.05 (two-tailed test) was considered statistically significant for all tests. Statistical analysis was performed using SPSS, version 26.0 (IBM corp., NY, USA).

3. RESULTS

We described predisposing cardiac conditions in 10 categories. In the largest percentage of cases with IE there is no predisposing heart disease – 44.8%. The most common predisposition is the presence of a prosthetic heart valve – 28.2%, followed by cases of persistent IE – 7.4%; congenital heart defects – bicuspid aortic valve and mitral valve prolapse together – 7.1%; degenerative heart.

Table 1. Predisposing heart conditions.

Variables, n %	2005-2021 n=270 G0	2005-2015 n=119 G1	2016-2021 n=151 G2	p-value*
Gender man, n (%)	177 (65.6)	79 (66.4)	98 (64.9)	0.7968*
Age (years), mediana (IQR)	65 (23)	62.0 (29.0)	67 (22)	0.023 †
Time symptoms to hospitalization (days), mediana (IQR)	30 (40)	30 (46)	30 (40)	>0.05†
Risk groups, n (%)				
Low	136 (50.4)	36 (53.7)	100 (49.3)	0.5322*
Moderate	44 (16.3)	10 (14.9)	34 (16.7)	0.7291*
High	90 (33.3)	21 (31.3)	69 (34.0)	0.6844*

Table 2. Predisposing heart conditions.

Predisposing heart conditions, n (%)	2005-2021 n=270 G0	2005-2015 n=119 G1	2016-2021 n=151 G2	p-value*
Prosthetic valve	76 (28.2)	33 (27.7)	43 (28.5)	0.899*
Past IE	20 (7.4)	10 (8.4)	10 (6.6)	0.575*
Past IE prosthetic	14 (5.2)	7 (5.9)	7(4.6)	0.632*
Past IE native valves	6 (2.2)	3 (2.5)	3 (2.0)	0.782*
Rheumatic heart disease	11 (4.0)	7 (5.9)	4 (2.6)	0.172*
Congenital heart disease	2 (0.7)	1(0.8)	1 (0.7)	0.924*
Degenerative valve	19 (7.0)	8 (6.7)	11 (7.3)	0.848*
Bicuspid Ao valve	11 (4.1)	5 (4.2)	6 (4.0)	0.934*
Mitral valve prolapse	8 (3.0)	4 (3.4)	4 (2.6)	0.734*
Intact valves	123 (45.6)	51 (42.9)	72 (47.7)	0.432*

*z-test

Table 3. Predisposing cardiac conditions – a comparative analysis deceased/alive.

Variables n, %	Total n = 270 (G0)	Deceased n = 67 (G3)	Alive n = 203 (G4)	p-value
Prosthetic valve	76 (28.2)	19 (28.3)	57 (28.0)	0.949
Past IE	20 (7.4)	6 (9.0)	14 (6.9)	0.569
Past IE prosthetic	14 (5.2)	3 (4.5)	11(5.4)	0.773
Past IE native valves	6 (2.2)	3 (4.5)	3 (1.5)	0.151
Rheumatic heart disease	11 (4.0)	1 (1.5)	10 (4.9)	0.221
Congenital heart disease	2 (0.7)	1 (1.5)	1 (0.5)	0.410
Degenerative valve	19 (7.0)	7 (10.5)	12 (5.9)	0.202
Bicuspid Ao valve	11 (4.1)	4 (6.0)	7 (3.5)	0.372
Mitral valve prolapse	8 (3.0)	1 (1.5)	7 (3.5)	0.406
Intact valves	123 (45.6)	28 (41.7)	95 (46.8)	0.467

4. DISCUSSION

Predisposing cardiac conditions are an important part of the pathogenesis of IE. Their spectrum and distribution have changed significantly in recent decades, with significant differences in geographical and socioeconomic status between countries. In the past, the most common predisposing conditions were rheumatic heart disease and congenital heart disorders, which continue to be the most common in under- and medium-developed countries - India, Iran, Pakistan, Vietnam. In our results, the largest proportion of patients without previous heart disease is 45.6%. It has been shown that 30-40% of degenerative valve lesions are of unknown etiology (Horder TJ, n.d.). According to our data, the most common predisposing factor is the presence of a prosthetic heart valve - 28.2%. These data are similar to those in European and other economically developed countries, where PVIE cases are increasing. In comparison, PVIE cases in ICE-PCS were 21% (Murdoch, 2009); France - 25% (Sunder et al., 2019); Euro Heart Survey - 26% (Tornos, 2005); EURO-ENDO - 30% (Bohbot et al., 2022). Rheumatic heart disease has decreased significantly (4%). The percentage of device-related IE is increasing. A new group has emerged: device-associated IE.

5. CONCLUSIONS

Infective endocarditis is a variable disease. Knowing the predisposing conditions for the development of IE helps to make a timely diagnosis and start appropriate treatment.

REFERENCES

- Bohbot, Y., Habib, G., Laroche, C., Stöhr, E., Chirouze, C., Hernandez-Meneses, M., Melissopoulou, M., Mutlu, B., Scheggi, V., Branco, L., Olmos, C., Reyes, G., Pazdernik, M., Iung, B., Sow, R., Mirocevic, M., Lancellotti, P., & Tribouilloy, C.** (2022). Characteristics, management, and outcomes of patients with left-sided infective endocarditis complicated by heart failure: A substudy of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry. *European Journal of Heart Failure*, 24(7), 1253–1265. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2525>
- Delgado, V., Ajmone Marsan, N., De Waha, S., Bonaros, N., Brida, M., Burri, H., Caselli, S., Doenst, T., Ederhy, S., Erba, P. A., Foldager, D., Fosbøl, E. L., Kovac, J., Mestres, C. A., Miller, O. I., Miro, J. M., Pazdernik, M., Pizzi, M. N., Quintana, E., ... Borger, M. A.** (2023). 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *European Heart Journal*, 44(39), 3948–4042. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad193>
- Durack, D. T., Lukes, A. S., & Bright, D. K.** (1994). New criteria for diagnosis of infective endocarditis: Utilization of specific echocardiographic findings. *The American Journal of Medicine*, 96(3), 200–209. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(94\)90143-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(94)90143-0)
- Horder, T. J.** (1909). Infective endocarditis: With an analysis of 150 cases and with special reference to the chronic form of the disease. *Quarterly Journal of Medicine*, 2, 289–329.
- Murdoch, D. R.** (2009). Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century. *Archives of Internal Medicine*, 169(5), 463. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.603>
- Sunder, S., Grammatico-Guillon, L., Lemaignen, A., Lacasse, M., Gaborit, C., Boutoille, D., Tattevin, P., Denes, E., Guimard, T., Dupont, M., Fauchier, L., & Bernard, L.** (2019). Incidence, characteristics, and mortality of infective endocarditis in France in 2011. *PLOS ONE*, 14(10), e0223857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223857>
- Tornos, P.** (2005). Infective endocarditis in Europe: Lessons from the Euro Heart Survey. *Heart*, 91(5), 571–575. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.032128>

**ДИНАМИКА И ПРОГНОСТИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА НЯКОИ
РУТИННИ ЛАБОРАТОРНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С
ИНФЕКЦИОЗЕН ЕНДОКАРДИТ**

**Г. Трендафилов¹, Б. Добрева – Яцева^{1,2}, Р. Читак¹,
И. Кучмов¹, Р. Райчева³, М. Токмакова²**

¹ Кардиологична клиника, УМБАЛ "Св. Георги" ЕАД-Пловдив

² Секция Кардиология, Първа Катедра по Вътрешни болести,
Медицински факултет, Медицински Университет – Пловдив

³ Катедра по социална медицина и обществено здраве, Факултет по
Обществено здраве, Медицински Университет – Пловдив

**DYNAMICS AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME ROUTINE
LABORATORY INDICATORS IN PATIENTS WITH INFECTIVE
ENDOCARDITIS**

**Georgi Trendafilov¹, Bistra Dobрева-Yatseva^{1,2}, Rafiela Chitak¹,
Ivan Kuchmov¹, Ralitsa Raycheva³, Mariya Tokmakova²**

¹ Cardiology Clinic, UMHAT "St. George", Plovdiv

² Section of Cardiology, First Department of Internal Medicine,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

³ Department of Social Medicine and Public Health,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* Infective endocarditis (IE) has an increasing morbidity and high mortality despite scientific and technological advances in medicine. Early identification of high-risk patients and more aggressive treatment with early surgical intervention may improve the short- and long-term prognosis of these patients.

Objective: We aimed to investigate routine laboratory parameters and their dynamics as predictors of 30-day mortality in patients with IE.

Material and Methods: The study is single-centre, retrospective and includes 270 patients whom we divided into two groups - deceased (67) and survivors (203), treated at the UMBAL University Hospital "St. Georgi" - EAD, Plovdiv during the period 2005 - 2021. We studied the following routine laboratory parameters - hemoglobin (Hb), white blood cells (WBC), erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), creatinine (Crea). Their dynamics were followed on the first, seventh and fourteenth day.

Results: In the comparative analysis deceased - alive we found a significantly lower Hb 1st day - 97 (29) versus 107 (22) ($p=0.029$); higher WBC on day 14 th - 12.56 (12.49) versus 7.54 (4.17), ($p=0.014$). We find higher CRP day 7th - 87.5 (107.3) vs. 49 (66), ($p=0.027$) and CRP day 14th - 73 (85) vs. 39 (60), ($p=0.022$); higher Crea on day 7th - 148.5 (189) vs. 113.5 (132), ($p=0.018$) and Crea day 14th - 378 (288) vs. 123 (108), ($p=0.001$). No significant decrease in the dynamics of WBC and CRP in the deceased. In the group of survivors, a significant decrease in CRP was observed until day 14th. No significant difference between the two groups for ESR on admission and in dynamics.

Discussion: The reported CRP and WBC results in the deceased group were associated with

persistent infection and a high risk of death. Persistent infection is one of the main indications for early surgical treatment, which has been shown to improve prognosis. Worsened renal function in this group is also a negative predictor of death.

Conclusion: The use of these routine and accessible laboratory parameters can help in the clinical assessment of high-risk patients and decision making for early operative intervention.

Keywords: infective endocarditis, laboratory parameters, prognosis, surgical treatment

1. INTRODUCTION

Infective endocarditis is a disease with a poor prognosis and the profile of the disease has changed over the last few decades. Despite advances in diagnosis, including new imaging modalities, in treatment with the use of new antibiotic molecules and early surgical treatment, in-hospital mortality in IE remains high at 16-25% (Yang et al., 2022; Murdoch, 2009). Early identification of high-risk patients and more aggressive treatment with early surgical intervention can improve the short-term and the long-term prognosis of these patients.

2. METHODS AND MATERIALS

The study is retrospective, single-centered, including 270 patients with a diagnosis of IE, according to the modified Duke criteria, treated at the University Hospital "St. Georgi", in the city of Plovdiv for the period January 2005 – December 2021. The hospital capacity is 1500 beds, and the cardiology clinic is a reference center for the treatment of IE for a large part of southern Bulgaria. The medical records of treated patients with codes I33, I38, and I39 for the described period were used. The patients we have divided into two groups - deceased (67) and survivors (203). We studied the following routine laboratory parameters: hemoglobin (Hb), white blood cells (WBC), erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), creatinine (Crea). Their dynamics were followed on the first, seventh and fourteenth day.

Definition and Classification of IE

The diagnosis was defined as definite IE or possible IE according to the modified Duke criteria. Surgical treatment of IE was defined as early when the surgery was done during antibiotic treatment.

Statistical Methods

Quantitative data are presented as median and interquartile range (median (IQR)) according to the type of distribution of the variables (Kolmogorov-Smirnov test). Man-Whitney test for independent samples was used to compare quantitative variables between two groups. Friedman test – to compare the results of one and the same sample measured at three or more points at 1) time or 2) conditions. A p-value<0.05 (two-tailed test) was considered statistically significant for all tests. Statistical analysis was performed using SPSS, version 26.0 (IBM corp., NY, USA).

3. RESULTS

In the comparative analysis deceased vs. alive, we found significantly lower Hb on day 1 - 97 (29) vs. 107 (22) (p=0.029); higher WBC on day 14 – 12.56 (12.49) vs. 7.54 (4.17), (p=0.014) in the deceased vs. alive group. We found higher CRP on day 7 - 87.5 (107.3) vs 49 (66), (p=0.027) and higher CRP on day 14 – 73 (85) vs 39 (60), (p=0.022), higher Cr on day 7 – 148.5 (189) vs 113.5 (132), (p=0.018) and Cr on day 14 – 378 (288) vs 123 (108), (p=0.001). We report a lack of significant decrease in the dynamics of WBC and CRP in the deceased group. In the alive group, a significant decrease in CRP was observed until day 14. There was no significant difference between the two groups in ESR on admission and in dynamics.

4. DISCUSSION

The reported CRP and WBC results in the deceased group were associated with persistent infection and a high risk of death. Persistent infection is one of the main indications for early surgical treatment, which has been shown to improve prognosis (Delgado et al., 2023; David et al., 2007). The persistent high level of CRP was reported as of independent predictor of death (Mohan et al., 2018; Tascini et al., 2020). Renal function in this group is also a negative predictor of death (Habib Khan et al., 2015).

Table 1. Laboratory indicators 2005 - 2021.

Variable Mediana (IQR)	Deceased n = 67	Alive n = 203	Difference between groups at a given time p – value, †
Hb 1st day	97 (29)	107 (22)	→0.029†
Hb 7th day	92.5 (28)	103 (25)	→0.053†
Hb 14th day	95.5 (28)	101 (22)	→0.722†
Difference between time points in a given group, p – value f	↓ p=0.105f	↓ p=0.001f	
WBC 1st day	10.45 (4.9)	9.97 (5.81)	→0.380†
WBC 7th day	9.10 (7.66)	9.08 (5.28)	→0.814†
WBC 14th day	12.56 (12.47)	7.54 (4.17)	→0.014†
Difference between time points in a given group, p – value f	↓ p=0.074f	↓ p=0.000f	
ESR 1st day	66.0 (45.5)	65.00 (47.0)	→0.849†
ESR 7th day	68.50 (59.3)	68.00 (54)	→0.676†
ESR 14th day	55.50 (68.3)	61.50 (43.5)	→0.398†
Difference between time points in a given group, p – value f	↓ p=0.072f	↓ p=0.129f	
Fbg 1st day	4.56 (1.35)	4.82 (1.57)	→0.055†
Fbg 7th day	3.43 (3.06)	4.43 (1.7)	→0.031†
Fbg 14th day	3.6 (3.16)	4.29 (1.5)	→0.147†
Difference between time points in a given group, p – value f	↓ p=0.135f	↓ p=0.078f	
CRP 1st day	95.00 (118)	81.00 (91)	→0.180†
CRP 7th day	87.50 (107.3)	49.00 (64)	→0.027†
CRP 14th day	73 (85)	39 (60)	→0.022†
Difference between time points in a given group, p – value f	↓ p=0.640f	↓ p=0.000f	
Cr 1st day	118 (118)	101 (64)	→0.068†
Cr 7th day	148.5 (189)	113.5 (132)	→0.018†
Cr 14th day	379 (288)	123 (110)	→0.001†
Difference between time points in a given group, p – value	↓ p=0.780f	↓ p=0.016f	

f - Friedman test; †Mann-Whitney U Test; Hb-Hemoglobin; WBC – White Blood Cells; ESR – Erythrocyte Sedimentation Rate; Fbg – Fibrinogen; CRP – C reactive protein; Cr – Creatinine

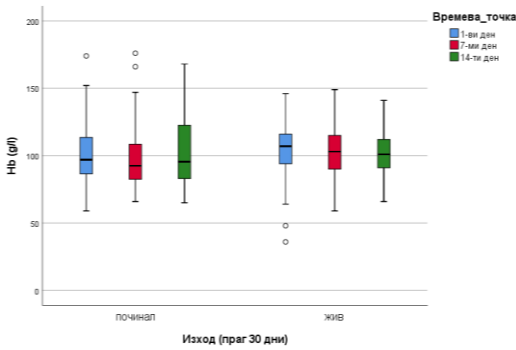


Figure 1. Comparison of Hb medians by day and between deceased and alive.

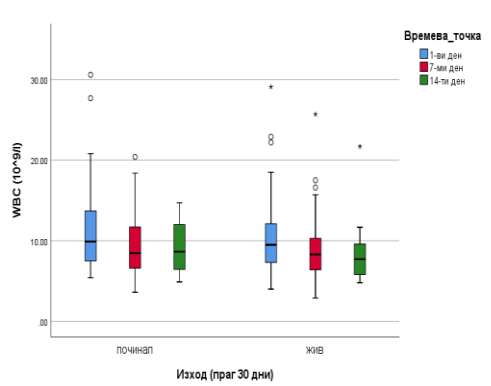


Figure 2. Comparison of WBC medians by day and between deceased and alive.

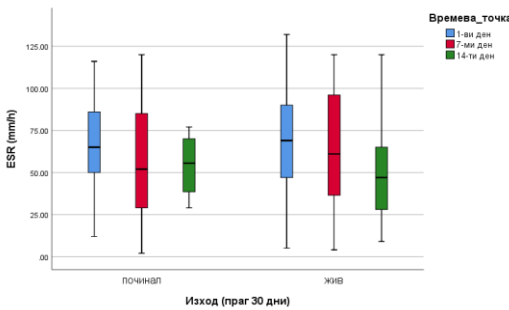


Figure 3. Comparison of ESR medians by day and between deceased and alive.

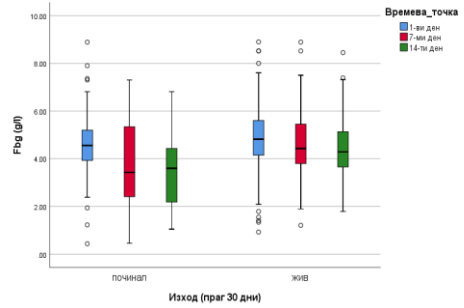


Figure 4. Comparison of Fib. medians by day and between deceased and alive.

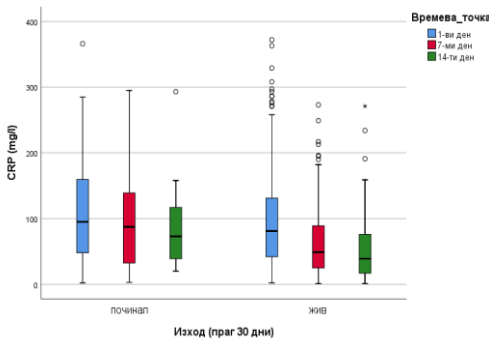


Figure 5. Comparison of CRP medians by day and between deceased and alive.

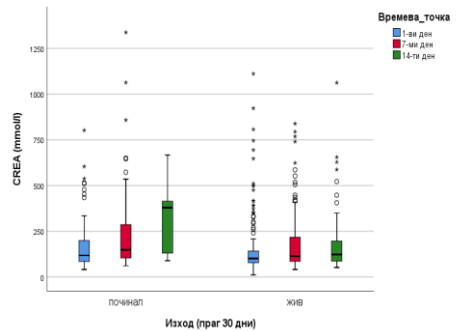


Figure 6. Comparison of Cr. medians by day and between deceased and alive.

5. CONCLUSIONS

The use of routine and accessible laboratory parameters, such as WBC, CRP and creatinine, can aid in the clinical assessment of high-risk patients with IE and in the decision for early surgical intervention.

REFERENCES

- David, T. E., Gavra, G., Feindel, C. M., Regesta, T., Armstrong, S., & Maganti, M. D. (2007). Surgical treatment of active infective endocarditis: A continued challenge. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 133(1), 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2006.08.060>
- Delgado, V., Ajmone Marsan, N., De Waha, S., Bonaros, N., Brida, M., Burri, H., Caselli, S., Doenst, T., Ederhy, S., Erba, P. A., Foldager, D., Fosbøl, E. L., Kovac, J., Mestres,

C. A., Miller, O. I., Miro, J. M., Pazdernik, M., Pizzi, M. N., Quintana, E., ... Borger, M. A. (2023). 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *European Heart Journal*, 44(39), 3948–4042. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad193>

Habib Khan, Y., Sarriff, A., Hayat Khan, A., Azreen Syazril, A., & Mallhi, T. H. (2015). Infective endocarditis and chronic kidney disease: How to deal with complications. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 22(4), 73–75.

Mohanani, S., Gopalan Nair, R., Vellani, H., C. G., S., George, B., & M. N., K. (2018). Baseline C-reactive protein levels and prognosis in patients with infective endocarditis: A prospective cohort study. *Indian Heart Journal*, 70, S43–S49. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2018.05.001>

Murdoch, D. R. (2009). Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century. *Archives of Internal Medicine*, 169(5), 463. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.603>

Tascini, C., Aimò, A., Arzilli, C., Sbrana, F., Ripoli, A., Ghiadoni, L., Bertone, C., Passino, C., Attanasio, V., Sozio, E., Taddei, E., Murri, R., Fantoni, M., Paciosi, F., Francisci, D., Pasticci, M. B., Pallotto, C., Di Caprio, G., Carozza, A., ... Emdin, M. (2020). Procalcitonin, white blood cell count, and C-reactive protein as predictors of *S. aureus* infection and mortality in infective endocarditis. *International Journal of Cardiology*, 301, 190–194. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.08.013>

Yang, X., Chen, H., Zhang, D., Shen, L., An, G., & Zhao, S. (2022). Global magnitude and temporal trend of infective endocarditis, 1990–2019: Results from the Global Burden of Disease Study. *European Journal of Preventive Cardiology*, 29(8), 1277–1286. <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwab184>

КОМОРБИДНОСТИ ПРИ ИНФЕКЦИОЗЕН ЕНДОКАРДИТ – 17 ГОДИШЕН, ЕДНОЦЕНТРОВ, РЕТРОСПЕКТИВЕН АНАЛИЗ

**Рафиела Читак¹, Бистра Добрева-Яцева^{1,2}, Ралица Райчева³,
Петър Николов², Иван Манолов², Мария Токмакова²**

¹ Кардиологична клиника, УМБАЛ "Св. Георги" ЕАД-Пловдив

² Секция Кардиология, Първа Катедра по Вътрешни болести,
Медицински факултет, Медицински Университет – Пловдив

³ Катедра по социална медицина и обществено здраве, Факултет по
Обществено здраве, Медицински Университет – Пловдив

COMORBIDITIES IN INFECTIVE ENDOCARDITIS – A 17-YEAR, SINGLE-CENTER, RETROSPECTIVE ANALYSIS

**Rafiela Chitak¹, Bistra Dobрева-Yatseva^{1,2}, Ralitsa Raycheva³,
Petar Nikolov², Ivan Manolov², Mariya Tokmakova²**

¹ Cardiology Clinic, UMHAT "St. George", Plovdiv

² Section of Cardiology, First Department of Internal Medicine,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

³ Department of Social Medicine and Public Health,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* Infective endocarditis (IE) has an increasing morbidity and a high 30-day mortality of up to 25%. One of the reasons is the changing profile of patients, who are older with more comorbidities, which is directly related to outcome.

Objective: We aimed to investigate comorbidities in patients with IE.

Material and Methods: The study is single center, retrospective and includes 270 patients treated at UMBAL University Hospital "St. Georgi" – EAD, city of Plovdiv for the period 2005-2021 (G0). The patients we divided into two groups – G1 (2005 - 2015) and G2 (2016-2021) according to the period and according to the survival – deceased G3 (67) and survived G4 (203).

Results: We describe comorbidities in 14 categories. The most common were arterial hypertension – 63.3%, chronic heart failure (CHF) – 45.9%, previous cardiac surgery – 35.2%, chronic kidney failure (CKF) – 25.9%, coronary arterial diseases (CAD) – 23.7%, diabetes mellitus – 18.9, atrial fibrillation (AF) – 18.1%, post-stroke condition – 14.8%. We found a statistically significant increase in Charlson comorbidity index (CCI) (p=0.000), CKF (p=0.001), AF (p=0.006*) and CAD (p=0.018*) in the G2 group. Between decedents and survivors, we found a significantly higher proportion of patients with high CCI (p=0.000), CKF (p=0.006), AF (p=0.033) and previous stroke (p=0.044) in the deceased group.

Discussion: Comorbidities are an important part of the IE patient profile and a predictor of disease outcome. The presence of high CCI, CKF, AF and CAD were associated with higher mortality.

Conclusions: Knowledge of comorbidities and their impact on survival is of utmost importance to identify high-risk patients with IE and to choose a more aggressive management of this life-threatening disease.

Keywords: infective endocarditis, comorbidities, mortality

INTRODUCTION

Infective endocarditis (IE) has an increasing morbidity and high 30-day mortality, up to 25% (Habib et al., 2019; Murdoch, 2009). Despite advances in diagnosis, including new imaging modalities and treatment with the use of new antibiotic molecules and early surgery. One reason is the changing profile of patients, who are older with more comorbidities, which is directly related to outcome. Identifying high-risk patients and deciding on more aggressive treatment and early surgical intervention is key to survival.

Objective: We aimed to investigate comorbidities in patients with IE.

METHODS AND MATERIALS

The study is retrospective, single-centered, including 270 patients with a diagnosis of IE, according to the modified Duke criteria (Li et al., 2000), treated at the University Hospital "St. Georgi", in the city of Plovdiv for the period January 2005 – December 2021 (G0). The hospital capacity is 1500 beds, and the cardiology clinic is a reference center for the treatment of IE for a large part of southern Bulgaria. The medical records of treated patients with codes I33, I38, and I39 for the described period were used. The patients we divided into two groups – G1 (2005-2015) and G2 (2016-2021) according to the period and according to the survival – died G3 (67) and survived G4 (203).

Definition and Classification of IE

The diagnosis was defined as definite IE or possible IE according to the modified Duke criteria (Li et al., 2000). Comorbidities were defined according to the current definitions and guidelines. Surgical treatment of IE was defined as early when the surgery was done during antibiotic treatment.

Statistical Methods

Quantitative data are presented as arithmetic mean±standard deviation (mean±SD) or median and interquartile range (median (IQR)) according to the type of distribution of the variables (Kolmogorov-Smirnov test). Categorical variables were summarized using absolute (n) and relative (%) magnitudes. Man-Whitney test for in-dependent samples was used to compare quantitative variables between two groups. A z-test was used to compare the relative shares of categorical variables between the studied groups. A p-value<0.05 (two-tailed test) was considered statistically significant for all tests. Statistical analysis was performed using SPSS, version 26.0 (IBM corp., NY, USA).

RESULTS

We found a significant increase in age in the second period, as well as a significantly higher age in the group of deceased compared to survivors.

Table 1. Distribution of patients by gender and age.

Variables	2005 - 2021 n=270 G0	2005 - 2015 n=119 G1	2016 - 2021 n=151 G2	p-value
Age (yrs.) X ± SD	60.86 ±16.83	58.13 ± 17.71	63.01± 15.84	0.023†
Mediana (IQR)	65 (23)	62.0 (29.0)	67 (22)	
Gender, man, n (%)	177 (65.6)	79 (66.4)	98 (64.9)	0.7968*

*z-test; †Mann-Whitney U Test; χ - arithmetic mean value; SD – standard deviation.

The comorbidities variable includes 14 categories and the results are shown in Table 1. and Figure 5. The data show a high percentage of comorbidities, the most common being arterial hypertension – 63.3%, followed by CHF – 45.9%, previous cardiac surgery – 35.2%, CKF – 25.9%, CHD – 23.7%, diabetes mellitus – 18.9, atrial fibrillation – 18.1%, post-stroke condition – 14.8% and other conditions in smaller percentages. Subgroup analysis showed a statistically significant increase in group G2 for CKF (p=0.001*), AF (p=0.006*) and CAD (p=0.018*). The Charlson Comorbidity Index (CCI) has a median value of 3; 3 for G0, 3; 3 for G1 and 4; 4 for G2. A statistically significant increase in CCI was seen in G2 compared to G1 (U – 12342.500; p=0.000†).

Between the deceased and survivors, we found a significantly higher proportion of patients with high CCI (p=0.000), CKF (p=0.006), AF (p=0.033) and stroke (p=0.044) in the deceased group.

Table 2. Comorbidities by periods 2005-2021, 2005-2015, 2016-2021.

Variable	2005 – 2021 n=270 G0	2005 – 2015 n=119 G1	2016 – 2021 n=151 G2	p-value
Comorbidity, n (%)				
Arterial hypertension	171 (63.3)	69 (58.0)	102 (67.5)	0.108*
Chronic Heart failure	124 (45.9)	61 (51.3)	63 (41.7)	0.279*
Previous cardiac surgery	95 (35.2)	43 (36.1)	52 (34.4)	0.772*
Chronic kidney failure	70 (25.9)	15 (12.6)	55 (36.9)	0.001*
Coronary arterial diseases	64 (23.7)	20 (16.8)	44 (29.1)	0.018*
Diabetes mellites	51 (18.9)	19 (16.0)	32 (21.2)	0.279*
Atrial fibrillation	49 (18.1)	13 (10.9)	36 (23.8)	0.006*
Past strock	40 (14.8)	16 (13.4)	24 (15.9)	0.566*
Gastrointestinal diseases	32 (11.1)	13 (10.9)	19 (12.6)	0.668*
Malignancy	30 (11.1)	11 (9.2)	19 (12.6)	0.377*
COPD	21 (7.8)	6 (5.0)	15 (10.0)	0.213*
Hemodialysis	14 (5.2)	3 (2.5)	11 (7.3)	0.077*
Chronic liver diseases	13 (4.8)	7 (5.9)	6 (4.0)	0.470*
Systematic diseases	4 (1.5)	1 (0.8)	3 (2.0)	0.416*
Charlson index, mediana (IQR)	3 (3)	3 (3)	4 (4)	0.00†

*z-test; † - Mann-Whitney U Test

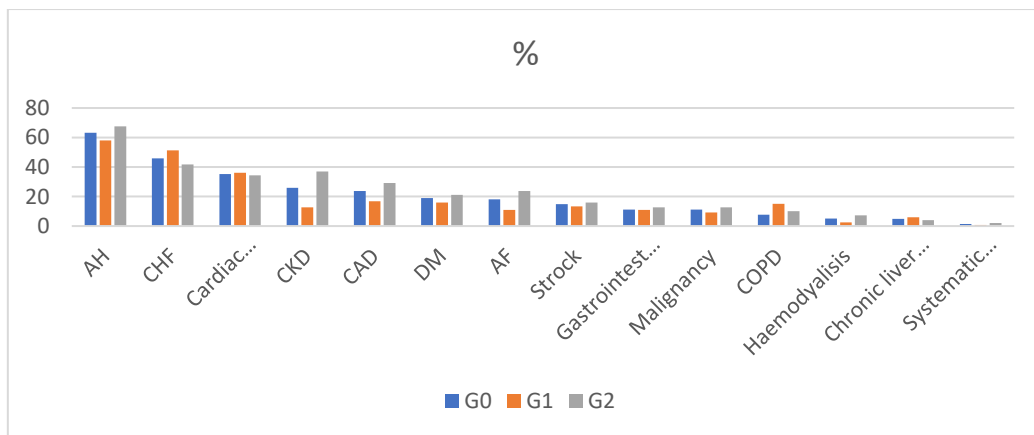


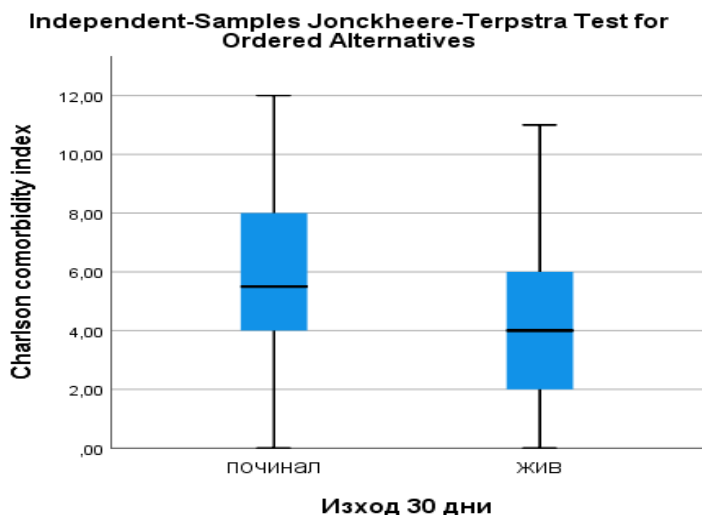
Figure 1. Comorbidity by period.

Table 3. Comorbidities – comparative characteristics between deceased and alive.

Comorbidity, n (%)	Total n = 270 (G0)	Deceased n = 67 (G3)	Alive n = 203 (G4)	p-value
Arterial hypertension	171 (63,3)	43 (64.2)	128 (63.1)	0.860*
CAD	64 (23.7)	19 (28.4)	45 (22.2)	0.302*
Past heart surgery	95 (35,2)	20 (29.9)	75 (36.9)	0.292*
Chronic heart failure	124 (45.9)	32 (47.8)	92 (45.3)	0.728*
Diabetes	51 (18.9)	11 (16.4)	40 (19.7)	0.551*
Atrial fibrillation	49 (18.1)	18 (26.9)	31 (15.3)	0.033*
COPD	21 (7.8)	5 (7.6)	16 (7.9)	0.936*
Gastro-intestinal diseases	32 (11.1)	6 (9.0)	26 (12.8)	0.580*

Malignancy	30 (11.1)	6 (9.0)	24 (11.8)	0.517*
Systemic diseases	4 (1.5)	0 (2.0)	4 (2.0)	0.247*
Chronic kidney failure	70 (25.9)	26 (38.8)	44 (21.7)	0.006*
Hemodialysis	14 (5.2)	5 (7.5)	9 (4.4)	0.332*
Liver diseases	13 (4.8)	4 (6.0)	9 (4.4)	0.6108*
Past stroke	40 (14.8)	15 (22.4)	25 (12.3)	0.044*
Charlson index, медиана (IQR)	3 (3)	4 (3)	3 (4)	0.000*

*z-test; †Mann-Whitney U Test



DISCUSSION

Increasing age in patients with IE is an important indicator closely related to increased comorbidity and survival. We found a mean age of 60.8 ± 16.8 for the whole period and a significant increase from 58.1 ± 17 in G1 to 63 ± 15 in G2. These data are consistent with data from EURO-ENDO (Habib et al., 2019), ICE-PCS (Murdoch, 2009) and other surveys from countries with high socio-economic standards (Sunder et al., 2019; Maguire et al., 2021).

We reported a wide range of comorbidities in IE. Our data are comparable to those published by EURO-ENDO (Habib et al., 2019) – for arterial hypertension 63.3% vs 48.3%; CHF 45.7% vs 23.3%; previous cardiac surgery – 35.2%, chronic renal failure 25.9% vs 17.8%; CAD - 23.9% vs 21.5%; diabetes mellitus – 18.9%; AF – 18.1% vs 26.3%; previous stroke – 14.8% vs 11.9%.

Our data showed a significant increase in CKD, CAD, AF and CCI in G1 vs G2. These indicators are also associated with increased mortality. Similarly, in EURO-ENDO, predictors of in-hospital mortality include high CCI, chronic renal failure, congestive heart failure, and brain complications (Habib et al., 2019).

CONCLUSIONS

Knowledge of comorbidities in IE and their impact on survival is of utmost importance to identify high-risk patients and to choose a more aggressive management of this life-threatening disease.

REFERENCES

Habib, G., Erba, P. A., Iung, B., Donal, E., Cosyns, B., Laroche, C., Popescu, B. A., Prendergast, B., Tornos, P., Sadeghpour, A., Oliver, L., Vaskelyte, J.-J., Sow, R., Axler, O., Maggioni, A. P., Lancellotti, P., Gale, C. P., Beleslin, B., Budaj, A., ... Uzokov, J. (2019). Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: A prospective cohort study. *European*

Heart Journal, 40(39), 3222–3232. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz620>

Li, J. S., Sexton, D. J., Mick, N., Nettles, R., Fowler, V. G., Ryan, T., Bashore, T., & Corey, G. R. (2000). Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, 30(4), 633–638. <https://doi.org/10.1086/313753>

Maguire, D. J., Arora, R. C., Hiebert, B. M., Dufault, B., & Thorleifson, M. D. (2021). The epidemiology of endocarditis in Manitoba: A retrospective study. *CJC Open*, 3(12), 1471–1481. <https://doi.org/10.1016/j.cjco.2021.07.014>

Murdoch, D. R. (2009). Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century. *Archives of Internal Medicine*, 169(5), 463. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.603>

Sunder, S., Grammatico-Guillon, L., Lemaignen, A., Lacasse, M., Gaborit, C., Boutoille, D., Tattevin, P., Denes, E., Guimard, T., Dupont, M., Fauchier, L., & Bernard, L. (2019). Incidence, characteristics, and mortality of infective endocarditis in France in 2011. *PLOS ONE*, 14(10), e0223857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223857>

**ПРИЛОЖЕНИЕ НА МЕДИКАМЕНТ-ИЗЛЪЧВАЩ БАЛОНЕН
КАТЕТЪР ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОСТЪР КОРОНАРЕН СИНДРОМ СЪС
ST-ЕЛЕВАЦИЯ**

Иван Кучмов¹, Петър Николов², Бистра Добрева-Яцева²

¹ Кардиологична клиника, УМБАЛ "Св. Георги" ЕАД-Пловдив

**² Секция Кардиология, Първа Катедра по Вътрешни болести,
Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив**

**USE OF A DRUG-ELUTING BALLOON CATHETER IN PATIENTS
WITH ST-ELEVATION ACUTE CORONARY SYNDROME**

Ivan Kuchmov¹, Petar Nikolov², Bistra Dobрева-Yatseva²

¹ Cardiology Clinic, UMHAT "St. George" EAD – Plovdiv

**² Section of Cardiology, First Department of Internal Medicine,
Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv**

Abstract: Percutaneous coronary intervention (PCI) with a drug-eluting balloon catheter (DEB) is a treatment option to optimally dilate an existing coronary stenosis and deliver an anti-proliferative drug to the vessel wall without implanting a drug-eluting stent (DES). Balloon angioplasty with DEB has comparable results to DES and is preferred to POBA (the old balloon angioplasty). Short dual antiplatelet therapy (DAPT) over a period of 4 weeks is a major advantage in terms of a revascularization strategy with DEB, which is not applicable to most of the currently used DESs. However, currently the majority of PCI end with the implantation of a DES, which allows local delivery of an anti-proliferative drug via a polymer. This results in a lower rate of in stent restenosis (ISR) compared to bare metal stents. On the other hand, DESs have suboptimal results in small calibre vessels - less than 2.8 mm – which occur in about 20-30% of patients with symptomatic coronary artery disease (CAD). Late (beyond 30 days) and very late (beyond 12 months) stent thrombosis remains an unresolved problem due to delayed stent endothelialisation. This leads to prolonged use of DAPT, which is associated with an increased risk of bleeding, complications and mortality, especially in older patients.

Keywords: Drug-eluting stent (DES), Drug-eluting balloon (DEB), in stent restenosis (ISR), acute coronary syndrome (ACS)

Acute coronary syndrome (ACS) is a continuum that passes through several phases: unstable angina, non-ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI) and ST-elevation myocardial infarction (STEMI). To reduce the risk of early or late complications, as well as mortality, the time between presenting symptoms and undergoing cardiac catheterization is essential. With regard to revascularization methods: the inflation of a DEB, the implantation of a DES, fibrinolysis or bypass surgery, studies are underway with the main aim of achieving optimal results with a minimum of side effects.

We present a clinical case of a 53-year-old male patient with STEMI under the conditions of COVID-19, successfully revascularised with DEB 2021 year. He was admitted to the Emergency Department of Saint George University Hospital, Plovdiv with typical anginal symptoms - widespread retrosternal pain radiating to the left upper limb and lasting more than 40 minutes. The pain occurs at rest. Also reports asthenodynamia and muscle and joint pain. Denies any

comorbidities, family history of CAD and smoking.

Normal physical status. Presents with rhythmic heart activity, frequency 70 beats per minute, clear tones, no additional murmurs. From the performed ECG with data of inferiolateral myocardial infarction (Fig. 1). Transthoracic echocardiography showed apical septal hypokinesia, mild mitral and tricuspid regurgitation with preserved left ventricular ejection fraction. Laboratory tests (Table 1) confirmed the diagnosis and the rapid antigen test for SARS-CoV2 showed the presence of COVID-19.

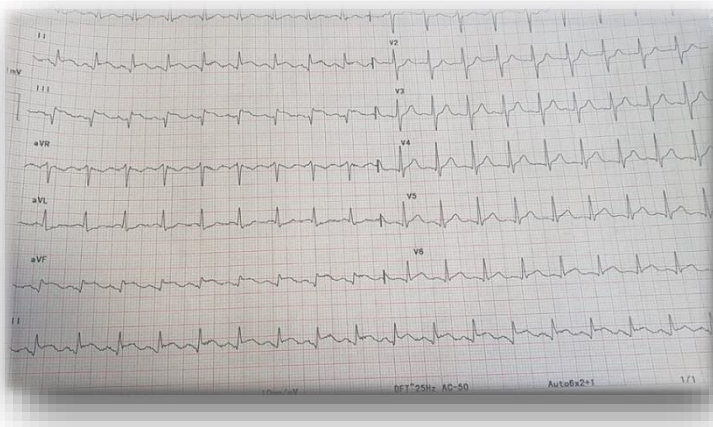


Figure 1. ECG: Inferolateral STEMI

Table 1.

Marker	Value	Range
Creatinkinase (CK)	748 U/l	25-200 U/l
Creatinkinase-MB (CK-MB)	26 U/l	0-22 U/l
Troponin I (TnI)	0,07 ng/ml	0,00-0,04 ng/ml
Total cholesterol (TC)	11.8 mmol/l	3-5,2 mmol/l
LDL-cholesterol (LDL-C)	10.3 mmol/l	1-3,9 mmol/l
HDL-cholesterol (HDL-C)	1.0 mmol/l	1,03-1,6 mmol/l
Triglyceride (TRIG)	17.1 mmol/l	0,4-1,7 mmol/l
Glucose (GLUC)	17 mmol/l	2,8-6,1 mmol/l

Coronary angiography revealed single-vessel CAD with evidence of thrombotic occlusion in a distal segment of the left anterior descending artery (LAD). After successful thromboaspiration and predilatation, the DEB was inflated. Also, Tirofiban infusion was started.

Postprocedural therapy with Aspirin 100 o/d; Ticagrelor 90mg - b/d; Ramipril - 10mg o/d; Bisoprolol – 10mg o/d; Eplerenone 25mg – o/d; Torasemide 10mg – o/d; Molsidomine 2mg – b/d; Rosuvastatin/Ezetimibe 40/10mg – o/d; Metformin 1000mg – t/d. was initiated. At three-month follow-up, the patient has no symptoms of heart failure. Achieved LDL-C target of 1.3 mmol/l and good diabetes control.

Interventional procedures for coronary artery disease have improved significantly over the years. In the majority of cases, a DES is implanted, which significantly reduces the rate of in-stent restenosis (ISR) compared to a bare metal stent (BMS) (Katz et al., 2015). However, the complications that are associated with DESs are significant – late (over 30 days) and very late (over 12 months) stent thrombosis, malposition, delayed endothelialization or ISR (Thomas & Bates, 2017; Theodoropoulos et al., 2016). Another disadvantage of DESs is that they cannot be implanted in small vessels, less than 2.8 mm in diameter (Unverdorben et al., 2013).

Several studies have shown worse outcomes in diabetic patients with implanted DES (Armstrong et al., 2014; Wang et al., 2017). DES implantation is associated with an increased

frequency of repeat revascularisation, increased mortality due to ISR and stent thrombosis. DEBs are designed to avoid these complications. The absence of a foreign body in the vessel wall makes it possible to decide whether subsequent revascularisation is necessary.

DEBs are coated with a thin layer of antiproliferative agent that is transferred to the neointimal layer of the vessel wall by inflation of the balloon. The main indication for the use of DEB is an ISR. The procedure is short - 30 to 60 seconds. It is a preferred method over the old balloon angioplasty (POBA). The lack of a clear advantage of DESs over DEBs, the safety of the procedure due to the shorter duration of DAPT and the lack of a statistically significant difference in major adverse cardiovascular events (myocardial infarction, all-cause mortality, repeat revascularization and heart failure) make DEB an alternative treatment option for patients with STEMI.

The RELEVATION (Paclitaxel-Coated Balloon Angioplasty Versus Drug-Eluting Stenting) trial (Vos et al., 2019) demonstrated the appropriate patient profile: new-onset lesion with no significant classification, less than 50% residual stenosis after balloon predilatation or thromboaspiration. Thromboaspiration per se does not reduce mortality, but is of paramount importance as optimal preparation for DEB infection. The optimal lesion for DEB treatment is a focal, non-calcified lesion causing occlusion due to a non-significant plaque rupture. RELEVATION is the first prospective, randomized clinical trial of DEB versus DES in STEMI. The study showed noninferiority of DEB to DES and demonstrated improved safety, mainly due to the shorter duration of DAPT. The DEB strategy is also being studied in other trials (Vos et al., 2019): PAPPA (Safety and feasibility of a Paclitaxel-eluting balloon angioplasty in Primary Percutaneous coronary intervention in Amsterdam) and DEB-AMI (drug eluting balloon in acute ST-segment elevation myocardial infarction): a multicentre randomized comparison of drug-eluting balloon plus bare-metal stent versus bare-metal stent versus drug-eluting stent in primary percutaneous coronary intervention). A 2018 meta-analysis of 23 clinical trials confirmed the efficacy and safety of DEBs and concluded that DEB may be considered as an alternative choice for treatment of CAD (L. Liu et al., 2018b).

With the clinical case presented, we demonstrate the possibility of using DEB in patients with STEMI, although at present DEB balloon angioplasty is mainly indicated in patients with significant ISR and those with contraindications to long-term DAPT. Data from large randomised clinical trials confirming the advantages of DEB over DES in patients with STEMI are still lacking. However, in certain cases, DEB inflation in STEMI may be the most appropriate solution for the patient.

References

- Katz, G., Harchandani, B., & Shah, B.** (2015). Drug-eluting stents: The past, present, and future. *Current Atherosclerosis Reports*, 17(3). <https://doi.org/10.1007/s11883-014-0485-2>
- Thomas, M. P., & Bates, E. R.** (2017). Update on primary PCI for patients with STEMI. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 27(2), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.06.010>
- Theodoropoulos, K., Mennuni, M. G., Dangas, G. D., Meelu, O. A., Bansilal, S., Baber, U., Sartori, S., Kovacic, J. C., Moreno, P. R., Sharma, S. K., Mehran, R., & Kini, A. S.** (2016). Resistant in-stent restenosis in the drug-eluting stent era. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 88(5), 777–785. <https://doi.org/10.1002/ccd.26559>
- Unverdorben, M., Kleber, F. X., Heuer, H., Figulla, H., Vallbracht, C., Leschke, M., Cremers, B., Hardt, S., Buerke, M., Ackermann, H., Boxberger, M., Degenhardt, R., & Scheller, B.** (2013). Treatment of small coronary arteries with a paclitaxel-coated balloon catheter in the PEPCAD I study: Are lesions clinically stable from 12 to 36 months? *EuroIntervention*, 9(5), 620–628. <https://doi.org/10.4244/eijv9i5a99>
- Armstrong, E. J., Waltenberger, J., & Rogers, J. H.** (2014). Percutaneous coronary intervention in patients with diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 8(3), 581–589. <https://doi.org/10.1177/1932296813517058>
- Wang, H., Gao, Z., Song, Y., Tang, X., Xu, J., Jiang, P., Jiang, L., Chen, J., Gao, L., Song, L., Zhang, Y., Zhao, X., Qiao, S., Yang, Y., Gao, R., Xu, B., & Yuan, J.** (2017). Impact of diabetes mellitus on percutaneous coronary intervention in Chinese patients: A large single-center

data. *Angiology*, 69(6), 540–547. <https://doi.org/10.1177/0003319717735226>

Vos, N. S., Fagel, N. D., Amoroso, G., Herrman, J. R., Patterson, M. S., Piers, L. H., Van Der Schaaf, R. J., Slagboom, T., & Vink, M. A. (2019). Paclitaxel-coated balloon angioplasty versus drug-eluting stent in acute myocardial infarction. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 12(17), 1691–1699. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2019.04.016>

Liu, L., Liu, B., Ren, J., Hui, G., Qi, C., & Wang, J. (2018). Comparison of drug-eluting balloon versus drug-eluting stent for treatment of coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovascular Disorders*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12872-018-0771-y>

**РЕВМАТОИДЕН ФАКТОР И ANTI-CCP АНТИТЕЛА – РОЛЯТА НА
ЛАБОРАТОРНИТЕ ТЕСТОВЕ ЗА ДИАГНОЗА НА БОЛЕСТТА
РЕВМАТОИДЕН АРТРИТ**

**Владимир Благоев, Яна Тодорова,
Мария Прошенска, Мария Панчовска
Специалност „Медицински лаборант“, Медицински колеж,
Медицински университет – Пловдив**

**RHEUMATOID FACTOR AND ANTI-CCP ANTIBODIES – THE ROLE
OF LABORATORY TESTS IN THE DIAGNOSIS
OF RHEUMATOID ARTHRITIS**

**Vladimir Blagoev, Yana Todorova, Mariya Proshenska, Mariya Panchovska
Speciality of Medical Laboratory Assistant, Medical College,
Medical University of Plovdiv**

Abstract: In the 1987 criteria of the American College of Rheumatology, positive rheumatoid factor was one of the seven criteria for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Later, antibodies to cyclic citrullinated peptides, which are characterized by high specificity and sensitivity, were included in the diagnostic criteria. The detection of rheumatoid factor or anti-CCP antibodies in the serum of patients with rheumatoid arthritis defines the form of rheumatoid arthritis as seropositive or seronegative. The positivity of each of these markers defines features in relation to the period of initial disease manifestation, to the clinical picture, and the degree of response to therapy, including separate groups of medications, synthetic or biological disease modifiers.

The role of laboratory tests, particularly those of rheumatoid factors and anti-CCP antibodies, is undoubtedly significant in daily medical practice, both for the diagnosis and treatment of patients with rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, diagnostic criteria, antibodies

1. ВЪВЕДЕНИЕ

1.1. Определение, етиология, патогенеза и клинична картина

Ревматоидният артрит (РА) е хронично системно автоимунно заболяване, което засяга ставите с развитие на хроничен ерозивен артрит. Като системно заболяване може да ангажира също различни органи и системи в хода на имунния възпалителен процес. Характеризира се с хронично ставно възпаление – синовиална хиперплазия и образуване на грануляционна тъкан (панус), производство на специфични автоантитела, деструкция на ставния хрущял и подлежащата кост, системни нарушения, образуване и отделяне в зоните на възпаление на ключови провъзпалителни цитокини (IL-6, IL-1, TNF- α), също на матриксни metalloпротеинази и други протеолитични ензими.

Отличителен белег на болестта РА е прогресиращото и симетрично увреждане на засегнатите стави – изразено с подуване, болка, сутрешна скованост, ограничени движения и съответни рентгенографски промени – стесняване на ставната междина, образуване на ерозии, деструкция на подлежащата кост, изразени деформации, сублуксации.

Извънставни прояви се срещат при около 40% от случаите. Системните прояви включват ангажиране на бели дробове, бъбреци, кожа, зрителен анализатор и др. (Giles, 2019).

1.2. ACR¹ класификационни критерии (1987)

В ревматологичната практика се прилагат т. нар. класификационни критерии, чиято цел е сред пациентите с артрит да се диференцират тези, при които рискът от развитите на ерозивен артрит е висок, прилагат се за диагнозата на ранен РА (ACR/EULAR² критерии 2010 г.). С най-широко клинично приложение са ACR критериите за РА от 1987 г.

За поставяне на диагнозата РА е необходимо да са изпълнени поне четири от изброените седем критерия (ACR, 1987): артрит на три или повече стави; артрит на ставите на ръцете; симетричен артрит; сутрешна скованост; ревматоидни възли; наличие на ревматоиден фактор и/или антитела срещу циклични цитрулинирани пептиди; типични за РА рентгенографски промени, описани в четири степени на тежест.

1.3. Автоантитела при РА

В диагностичен план е важна ролята на автоантителата, специфични за заболяването. Характерните за РА автоантитела могат да бъдат систематизирани в няколко основни групи: антитела срещу цитрулинирани пептиди (АСРА) в частност антитела срещу циклични цитрулинирани пептиди (anti-CCP), антитела срещу карбамилирани пептиди (anti-CarP), ревматоидни фактори (RF), антитела срещу ацетилирани пептиди, антитела срещу оксидирани пептиди anti-PAD4, anti-RA-33, anti-hnRNP A2 (de Brito Rocha, Baldo & Andrade, 2019). От тях RF и anti-CCP са включени в диагностичните критерии.

2. МЕТОДИ И МАТЕРИАЛИ

Извършен е литературен обзор на чуждестранни и български научни публикации по темата, с цел представяне на актуална информация за ролята на RF и анти-CCP антителата, като лабораторни имунологични тестове за диагностика на заболяването РА.

3. РЕЗУЛТАТИ

Установява се различната специфичност и сензитивност на RF и anti-CCP антителата в серума на болните от РА. Бяха анализирани данните относно позитивност на тези два маркера, спрямо периода на изява към началото на заболяването, особеностите в клиничната картина и степента на повлияване от терапията. Ежедневно в практиката на медицинските лаборатории, работата на лабораторните лекари и на медицинските лаборанти, биват работени тестове за anti-CCP антитела и RF. Получените резултати дават възможност за навременно започване на лечението и проследяване на ефекта от прилаганата терапия.

4. ДИСКУСИЯ

4.1. Ревматоиден фактор (RF)

Автоантителата, насочени срещу Fc фрагмента на човешкия серумен γ -глобулин, са описани за първи път през 1940 г., а през 1948 г. е открита и силната им клинична асоциация с РА. Поради тази причина са наречени ревматоидни фактори. Чувствителността им по отношение на РА варира между 60 и 90%, а специфичността – от 48 до 70%. Това се определя от данните, че RF може да бъде открит при част от болните със системен лупус еритематозус, синдром на Sjogren, системна склероза, при възрастни индивиди, при хронични инфекции, криоглобулинемия, колагенози, хронични чернодробни заболявания, вирусни заболявания – хепатит, HIV, CMV (Mc Ardle, Flatley, Pennington, et al., 2015). Съобразно наличието или отсъствието на RF, ревматоидният артрит се класифицира, като: серопозитивен или серонегативен. RF – от класове IgM, IgG и IgA, нерядко се откриват паралелно в серумите на болните, като комбинираното им изследване се отличава с висока диагностична стойност. Ролята на RF в патогенезата на РА може да обясни адитивното действие на АСРА и anti-CarP антителата, което благоприятства образуването на имунни комплекси. Появата на RF във висок титър е свързано с хиперфункция на В-клетките. Изложеното до тук добре обяснява и

¹ American College of Rheumatology – Американски колеж по ревматология

² European Alliance of Associations for Rheumatology – Европейски алианс на асоциациите по ревматология

силната корелация между титъра на RF и активността на ставното възпаление (Rao, Gurish, Marshall, et al., 2017), но показва, че деструктивната роля и мястото на RF в проинфламаторната каскада при РА са зависими от наличието на други автоантитела и появата на предшестващо синовиално възпаление. RF се открива в началото на клиничната изява на заболяването РА, значително по-често спрямо anti-CCP.

4.2. Антитела срещу цитрулинирани пептиди (АСРА) в частност антитела срещу циклични цитрулинирани пептиди (anti-CCP)

Терминът АСРА е събирателен и е въведен, за да се систематизират голям брой автоантитела, реагиращи срещу цитрулинирани собствени структури. Някои автори предлагат и обобщаващия термин цитрулини, целящ да обхване различни собствени антигени, претърпяващи вторична модификация, свързана със заместване на аргинин и цитрулин. За първи път АСРА попадат в полезрението на научната общност през 1964 г., когато посредством индиректна имунофлуоресценция в серума на болни от РА са открити автоантитела, реагиращи срещу цитоскелетния протеин кератин. Първоначално те са описани, като антиперинуклеарен фактор. Впоследствие редица други собствени структури също са идентифицирани, като таргетни за АСРА при ревматоиден артрит, като например хистони, фибриноген, виментин, фибронектин, α -енолаза, цитокератин. Въпреки своя разнороден състав, АСРА притежават висока диагностична специфичност за РА – 98%. Откриват се при около 2/3 от пациентите (Song & Kang, 2009). Антителата срещу циклични цитрулинирани пептиди (anti-CCP) могат да се появят средно около 14 години преди клиничното разгръщане на ревматоидния артрит (Willemze, Trouw, Toes, et al., 2012). Повишаването на техните нива корелира пряко с активността и тежестта на ставното засягане (Moez, John & Bhatti, 2013). АСРА могат да бъдат от клас IgM, IgG, IgA, и IgE. АСРА от клас IgM и IgA се откриват при 60% от пациентите с РА (Jonsson et al., 1998). АСРА от изотип IgG1 и IgG4 са налични при около 99% от АСРА-положителните пациенти, а АСРА от клас IgG2 и IgG3 могат да бъдат установени в серума при съответно 80% и 60% от АСРА-положителните пациенти с РА (Willemze et al., 2012). Интерес представлява фактът, че броя на изотипните специфичности на АСРА сигнификантно корелира с риска за бъдещи радиографски промени (Вах et al., 2014). Данни показват, че при хроничен пародонтит под действието на микробната флора и основно на бактерия *Porphyromonas gingivalis* се стимулира образуването на anti-CCP антитела, като част от пациентите развиват в следващ етап РА.

4.3. Лабораторни методи за определяне на RF и anti-CCP антитела

В съвременната имунологична лабораторна практика, за определянето на RF и anti-CCP антитела се прилагат т.н. имунохимични методи. Имунохимичните методи се основават на реакцията между антиген и антитяло. Те са изключително специфични за идентифициране и количествено определяне на антигени, хаптени и антитела.

Най-често прилаганите методи за определяне на RF в серум са директните имунохимични методи – имунотурбидиметрия (за количествено определяне, мерна единица IU/ml) и проба на Waaler-Rose (полезен при преценка хода на заболяването). За определяне на anti-CCP антитела в серум се прилагат предимно индиректните имунохимични методи – хемилуминисцентен имуноен анализ (CLIA), електрохемилуминисцентен имуноен анализ (ECLIA).

5. ИЗВОДИ

Позитивирането на RF при РА обичайно се установява още в първите месеци на изява на болестта. Относно anti-CCP – те бележат много висока специфичност – до 98%, обичайно се извяват до края на първата година от дебюта на РА.

Обединяването усилията на клиничните и лабораторни специалисти е от съществено значение за ранната диагностика на болестта РА и започване на адекватна терапия, която осигурява по-добро качество на живот.

ЛИТЕРАТУРА

Василев, Г. (2021). Имунорегулаторно действие на мезенхимни стволови клетки върху Т-лимфоцити на пациенти с ревматоиден артрит. Дисертационен труд. София: Медицински университет – София.

Маринов, Л. (2017). Епидемиологични и експериментални проучвания при ревматоиден артрит. Дисертационен труд. София: Медицински университет – София.

Auréal, M., Machuca-Gayet, I., & Coury, F. (2021). Rheumatoid arthritis in the view of osteoimmunology. *Biomolecules*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/biom11010048>

Вах, М., Huizinga, T., & Toes, R. (2014). The pathogenic potential of autoreactive antibodies in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, 36(3), 313–325. <https://doi.org/10.1007/s00281-014-0429-5>

de Brito Rocha, S., Baldo, D., & Andrade, L. (2019). Clinical and pathophysiologic relevance of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Advances in Rheumatology*, 59(1). <https://doi.org/10.1186/s42358-018-0042-8>

Bolyarova-Konova, T., Stefanov, L., Kolarov, Z., et al. (2022). Antibody and rheumatoid factor and the relationship between periodontitis and rheumatoid arthritis. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 75(3), 451–457. <https://doi.org/10.7546/CRABS.2022.03.16>

Fróméta, Y., Rodríguez, C., Morejón, J., et al. (2022). Work productivity in patients with early rheumatoid arthritis. *Revista Cubana de Reumatología*, 24(4).

Giles, J. (2019). Extra-articular manifestation and comorbidity in rheumatoid arthritis: Potential impact of pre-rheumatoid arthritis prevention. *Clinical Therapeutics*, 41(7), 1246–1255. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2019.04.018>

Gracanin, A., Markovic, I., Golob, M., et al. (2020). Activity in rheumatoid arthritis – our experience. *Acta Clinica Croatica*, 59(2), 312–317. <https://doi.org/10.20471/acc.2020.59.02.15>

Jonsson, T., Steinsson, K., Jonsson, H., et al. (1998). Combined elevation of IgM and rheumatoid factor has high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 18(3), 119–122. <https://doi.org/10.1007/s002960050069>

McArdle, A., Flatley, B., Pennington, S., et al. (2015). Early biomarkers of joint damage in rheumatoid and psoriatic arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0652-z>

Moez, S., John, P., & Bhatti, A. (2013). Anti-citrullinated protein antibodies: Role in pathogenesis of RA and potential as a diagnostic tool. *Rheumatology International*, 33(7), 1669–1673. <https://doi.org/10.1007/s00296-012-2635-6>

Motta, F., Bizzaro, N., Giavarina, D., et al. (2023). Rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis diagnosis and prognosis: A systematic review and meta-analysis. *RMD Open*, 9(3). <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2022-002817>

Nithyashree, R. S., & Deveswaran, R. (2020). A comprehensive review on rheumatoid arthritis. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(12), 18–32. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2020/v32i1230556>

Rao, D., Gurish, M., Marshall, J., et al. (2017). Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature*, 542(7639), 110–114. <https://doi.org/10.1038/nature20810>

Singh, P., & Stan, R. (2024). Rheumatoid arthritis autoantibodies benefit from inflammation temperatures. *International Immunopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111690>

Song, Y. W., & Kang, E. H. (2009). Autoantibodies in rheumatoid arthritis: Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies. *QJM*, 103(3), 139–146. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp165>

Willemze, A., Trouw, L., Toes, R., et al. (2012). The influence of ACPA status and characteristics on the course of RA. *Nature Reviews Rheumatology*, 8(3), 144–152. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.204>

ПОДАГРА – ЛАБОРАТОРНИ ТЕСТОВЕ ЗА ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПЕВТИЧЕН МОНИТОРИНГ

Яна Тодорова, Владимир Благоев, Мария Прошенска, Мария Панчовска
Специалност „Медицински лаборант“, Медицински колеж,
Медицински университет – Пловдив

GOUT – LABORATORY TESTS FOR DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC MONITORING

Yana Todorova, Vladimir Blagoev, Mariya Proshenska, Mariya Panchovska
Speciality of Medical Laboratory Assistant, Medical College,
Medical University of Plovdiv

Abstract: Gout is a chronic and progressive form of inflammatory arthritis. Its main characteristic is the disturbed purine metabolism, inducing hyperuricemia. The deposition of monosodium urate crystals in the tissues leads to changes in the affected joints, organs and tissues. Gout is among the earliest diseases known to mankind and perhaps the oldest known form of arthritis. Literary sources from antiquity associated gout with the intake of purine-rich foods and excessive alcohol consumption, hence its description as "the disease of kings."

In recent decades, the morbidity of gout has been on the rise due to a number of medical conditions and lifestyle factors such as: presence of primary diseases (diabetes, obesity, chronic kidney disease, etc.); taking medications used in transplant patients or for the treatment of heart failure and hypertension; traumatic conditions provoking the development of the disease.

The role of laboratory medicine in the diagnosis and control of diseases has been proven, and gout is no exception. Laboratory tests assist the attending physician in creating a personalized plan for the patient both to prevent new crises and future disability, and to improve the overall health of the patient.

Keywords: gout, arthritis, laboratory tests

1. ВЪВЕДЕНИЕ

ПодAGRATA е сред най-ранните заболявания, известни на човечеството. Литературните източници от древността я свързват с приема на богатата на пурины храна и прекомерната консумация на алкохол, откъдето идва и описанието ѝ като „болест на кралете“.

ПодAGRATA може да протича с остри ставни кризи или като хронична прогресираща форма на възпалителен артрит. Основна характеристика на заболяването е нарушението на пуринов метаболизъм, предизвикващо хиперурикемия. При здрави хора пикочната киселина се намира в разтворено състояние в кръвта и тъканните течности под формата на натриеви урати. При високи нива кристализира под форма на моносодиев урат монохидрат и се отлага в обвивката на ставата, бурсата или сухожилията като причинява възпаление. При повече от половината от пациентите с подagra се засяга палецовата става на крака, като образуват около ставата уратни кристали причиняват подуване и болка. На прякото въздействие на кристалите се дължат и промените в другите органи и системи. Настъпващите изменения се потвърждават от лабораторните изследвания и промените, обект на настоящото проучване.

През последните десетилетия заболяемостта от подagra бележи тенденция към повишение. Редица медицински състояния и фактори, свързани с начина на живот, водят до хиперурикемия. ПодAGRATA може да се развие като първична форма на болестта- с фамиленост

и вродени ензимни дефекти в обмяната на пурините или като вторична подагра, съпътстваща други първични заболявания и състояния: хемопатии, бъбречна недостатъчност, прием на определени медикаменти - аспирин, тиазидни диуретици, имunosупресори.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОД

За проучване на клинично-лабораторния профил на болестта подагра бе направен систематичен преглед на актуалните публикации в Medscape, Medline, Springer link и електронните бази данни (Science Direct, Scopus), касаещи ролята на лабораторните тестове за диагнозата на болестта и проследяване на ефекта от лечението.

3. РЕЗУЛТАТИ

Подагратата може да бъде диагностицирана въз основа на клиничните симптоми: болезнен оток с пристъпно развитие на артрит в най-често в една става или при по-голяма давност на болестта – с развитието на хронична подагрозна артропатия. Обичайно се назначават лабораторни тестове, които да потвърдят или отхвърлят диагнозата подагра (Mary Anne Dunkin, 2022). Основен лабораторен показател в диагностиката на подагра е пикочната киселина. При нива в кръвта над $416 \mu\text{mol/l}$ се достига границата на разтворимост на мононатриевия урат, което води до повишен риск от развитие на подагра и уролитиаза. Хиперурикемията е състояние на повишена пикочна киселина, но без развитие на характерните възпалителни ставни кризи, типични за болестта подагра. Доказана е съпътстващата повишена пикочна киселина в кръвта (хиперурикемия) при диабет тип 2, хипертония, ИБС, стеатоза на черния дроб. Повишената пикочна киселина се приема като самостоятелен сърдечно-съдов рисков фактор. Лабораторните изследвания при пациентите с подагра и хиперурикемия включват също: хемограма (пълна кръвна картина), възпалителни маркери (скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ), С-реактивен протеин), метаболитен панел: кръвна захар, инсулин, урея, креатинин, трансминази, липиден профил – холестерол и холестеролови фракции, триглицериди, също уринен анализ. Абсолютен диагностичен критерий за болестта подагра е идентифицирането на характерните кристали на мононатриев урат в синовиална течност или материал от тофи чрез светлинна или поляризирана микроскопия.

За диференциална диагноза на подагра могат да се извършат допълнителни тестове за антинуклеарни антитела (ANA), ревматоиден фактор (RF) и HLA тъканно типизиране, тъй като има и други форми на артрит с подобни на подагратата симптоми. Повишена пикочна киселина се установява обичайно при болестта псориазис и пациентите с псориаатичен артрит. Винаги е необходимо да се оценява бъбречната функция, поради прицелното развитие на подагрозна нефропатия при болните от подагра.

Лечението на болестта подагра е насочено към понижаване и достигане на таргетни нива на пикочна киселина в кръвта /под $350 \mu\text{mol/l}$ за мъже и под $300 \mu\text{mol/l}$ за жени/. За мониторинг с оценка ефективността на назначената терапия, регулярно се извършват лабораторни изследвания на серумната пикочна киселина, метаболитния профил на пациентите, проследява се бъбречната функция.

4. ДИСКУСИЯ

Концентрацията на пикочна киселина в кръвта показва индивидуални и колебания в зависимост от диета, пол и възраст, като зависи от баланса между хранителния прием, синтез и екскреция. Повишението е водещ диагностичен критерий за подагра. Необичайно високо серумно ниво на пикочна киселина без проява на подагрозен артрит или нефролитиаза е характерно за състоянието на хиперурикемия, което може да продължи неопределено дълго. Хиперурикемията е често срещано метаболитно нарушение, което не винаги прогресира до подагра. Важно е да се подчертае, че по време и непосредствено след подагрозен пристъп, може да се регистрират нормални стойности на пикочната киселина. По време на остри подагрозни пристъпи, серумните нива на пикочна киселина не винаги са полезен индикатор, тъй като те могат да варират от ниски до високи. Дори нормалните стойности не изключват диагнозата подагра. Необходимо е проследяване при лечение и съответно коригиране дозите

на уратопонижаващата терапия при пациенти с подагра.

По време на остра криза /подагрозен артрит/ възниква възпалителен отговор. Кристалите пикочна киселина водят до активиране на класическите и алтернативни пътища на комплемента, на неутрофили и освобождаване на голям брой провъзпалителни цитокини. Кристалите на мононатриевия урат биват фагоцитирани и инициират каскада, водеща до освобождаване на протеази, простагландини, левкотриени, образуване на свободни от кислород радикали. Острото възпаление определя повишените стойности на скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ) и С-реактивен протеин, както и реактивната левкоцитоза при изследване на хемограма (пълна кръвна картина).

Анализът на синовиалната течност при пациент с остра подагрозна криза, включва: брой левкоцити, изчисление на съотношението Ly/Neu , идентификация и анализ на кристали, оцветяване на препарат по Грам и изследване на микробиологични култури (за отхвърляне на септичен артрит), изследване на глюкоза (за отхвърляне на бактериална инфекция) и относително тегло (Judkins & Cornbleet, 1997). Кристалите мононатриев урат се идентифицират чрез светлинна или поляризационна микроскопия. Уратните кристали са двойно пречупващи светлината и игловидни. Изброените клетки в норма са под 200 клетки в милилитър (наличие на еритроцити се наблюдава при травма). Преобладаване на неутрофилите в левкоцитарната формула лимфоцити/неутрофили е показател за остро възпаление.

Ограничение на бъбречната дисфункция се развива при много от пациентите с хипертония и подагра. Поради това се проследяват т. нар. бъбречни показатели – креатинин и урея. Хиперурикемията има пряк ефект върху бъбречните кръвоносни съдове. От друга страна, натрупването на кристали пикочна киселина в бъбречния паренхим води до развитие на интерстициален нефрит, който прогресира до бъбречна недостатъчност. Развива се вторична, бъбречна хипертония. Изследването на серумния креатинин позволява да се разграничат първичните от вторичните форми на болестта (при бъбречни заболявания с ХБН).

Пикочната киселина е нормален компонент на урината. Образува соли, известни като урати и киселинни урати (амониев урат). При високо ниво на пикочна киселина в кръвта и урината могат да се образуват конкременти, т.е. уролитиаза. Доказано е, че 10% от всички камъни в бъбреците са свързани с повишена пикочна киселина. Пациентите с тофи /хроничен стадий подагра, давност на неконтролирано повишена пикочна киселина над 5 години/, често имат уролитиаза.

Проучванията през последните 10 г. промениха схващанията за ролята на пикочната киселина за здравето отвъд уролитиазата и подагратата. Асимптомната хиперурикемия може да доведе до нарушение в метаболитните процеси, причина за редица хронични заболявания. Пациентите с подагра често страдат от хиперлипидемия, инсулинова резистентност, хипертония, коронарна артериална болест и затлъстяване. Съответно се определят серумните липиди и кръвната захар при пациентите с подагра.

Доказана е положителната връзка на високите серумни нива на пикочна киселина с метаболитен синдром, което включва изследването ѝ като допълнителен маркер при скрининг на тези състояния (Magalhães et al., 2021).

Хиперурикемията е тясно свързана с развитието на диабета и неговите хронични усложнения. Още през 90-те е установена връзка между подагратата и повишения риск от инсулинова резистентност и диабет тип 2. Високите нива на пикочна киселина спомагат за инсулинова резистентност чрез индуциране на митохондриален оксидативен стрес и стеатоза (мастна дегенерация). Пикочната киселина предизвиква възпаление в мастната тъкан с намаляване на производството на адипонектин (хормон, който модулира редица метаболитни процеси, включително регулиране на глюкозата и окисление на мастни киселини).

Хиперурикемията е независим рисков фактор за исхемична болест на сърцето (Saito, 2020). Скорошни проучвания доказват, че хипоурикемията може да бъде потенциален рисков фактор за ССЗ, подобно на хиперурикемията. Ниската серумна пикочна киселина може да повиши риска от развитие на атеросклеротични заболявания поради намален антиоксидантен капацитет (Zou et al, 2022).

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ролята на лабораторната медицина за диагностиката и контрола на заболяванията е безусловна (Olver et al., 2023). Лабораторните изследвания, включващи основни лабораторни показатели като пълна кръвна картина, възпалителни маркери, пълнен метаболитен панел, анализ на урина и синовиална течност, се използват не само за диагноза на болестта подагра, но също и за контрол на ефекта от лечението, както и увредата на прицелните органи. Лабораторните изследвания подпомагат лекуващия лекар за изграждане на персонализиран подход към пациента и достигане на оптимални резултати от лечението.

ЛИТЕРАТУРА

- Coleman, L. A., & Roubenoff, R.** (2005). Gout. In *Encyclopedia of Human Nutrition* (Second Edition).
- Dunkin, M.** (2022). Testing for Gout. *Arthritis Foundation*. Retrieved from <https://www.arthritis.org/diseases/more-about/testing-for-gout>
- Gout and Diabetes.** (2023, January 25). Retrieved from <https://www.diabetes.co.uk/conditions/gout-and-diabetes.html>
- Kang, D., & Johnson, R. J.** (2020). Uric Acid Metabolism and the Kidney. In *Chronic Renal Disease* (Second Edition).
- Li, Y., Han, X., Tong, J., Wang, Y., Liu, X., Liao, Z., Jiang, M., & Zhao, H.** (2023). Analysis of Metabolites in Gout: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, *15*(14), 3143.
- Magalhães, E., Juvanhof, L., & Longo, G., et al.** (2021). Uric acid: A new marker for metabolic syndrome? Results of a population-based study with adults. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *31*(7), 2077–2080.
- Mary Anne Dunkin.** (2022, June 10). Testing for Gout. Retrieved from <https://www.arthritis.org/diseases/more-about/testing-for-gout>
- Olver, P., Bohn, M., & Adeli, K.** (2023). Central role of laboratory medicine in public health and patient care. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, *61*(4), 666–673. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1075>
- Smith, R. G.** (2009). The Diagnosis and Treatment of Gout. *Shoe String Podiatry, Ormond Beach, US Pharm*, *34*(5), 40–47.
- Keenan, R. T., & Pillinger, M. H.** (2013). Etiology and Pathogenesis of Hyperuricemia and Gout. In *Kelley's Textbook of Rheumatology* (Ninth Edition).
- Seidman, A., & Limaïem, F.** (2023). Synovial Fluid Analysis. *Bookshelf*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537114>
- Judkins, S. W., & Cornbleet, P. J.** (1997, December). Synovial Fluid Crystal Analysis. *Laboratory Medicine*, *28*(12).
- Saito, Y., Tanaka, A., Node, K., & Kobayashi, Y.** (2020). Uric acid and cardiovascular disease: A clinical review. *Journal of Cardiology*.
- Zou, Y.-W., et al.** (2022). Prevalence and influence of hypouricemia on cardiovascular diseases in patients with rheumatoid arthritis. *European Journal of Medical Research*, *27*, Article 260.

АСПЕКТИ В ДИАГНОСТИКАТА И ЛЕЧЕНИЕТО НА ДЕПРЕСИВНИ СЪСТОЯНИЯ

Н. Асипова¹, Н. Неделков¹, С. Огнянов¹, И. Първова², Е. Христов¹

¹ Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Климент Охридски“ – София

² Медицински факултет, Медицински университет – София

ASPECTS IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF DEPRESSIVE DISORDERS

Asipova N.¹, Nedelkov N.¹, Ognyanov S.¹, Parvova I.², Hristov E.¹

¹ Faculty of Chemistry and Pharmacy,

Sofia University "St. Kliment Ohridski"

² Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

Abstract: *Introduction:* Depression is a common and serious mental disorder that negatively affects the feelings, thoughts and actions of affected individuals. Depression and related mental disorders have a significant impact on all aspects of life, including school performance, work productivity, relationships with the family, social environment and friends. *Objective:* To identify, research and summarize the methods of diagnosis and treatment of depressive disorders. *Materials and methods:* We reviewed scientific publications and analyzed the aspects in the diagnosis and treatment of depression. *Results:* The most frequently applied methods for the treatment of depression are psychological and pharmacological. Between 80% and 90% of people with depression respond well to drug therapy. Psychotherapy is used to treat mild depression. For moderate to severe depression, psychotherapy is often used along with antidepressants. Antidepressants are grouped into five main pharmacological classes - tricyclic antidepressants, selective serotonin reuptake inhibitors, serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors, monoamine oxidase inhibitors, and atypical antidepressants. Electroconvulsive therapy is most often used in patients with major depressive disorder who have not responded to other treatments. *Conclusion:* To achieve optimal results in each patient, an individualized treatment approach should be used depending on the form and degree of the depressive state. Mental health is key to a fulfilling and productive life. However, many Europeans have mental health problems.

Keywords: Depression, treatment, diagnosis, mental health

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Депресията е често срещано и сериозно психично заболяване, което влияе негативно върху чувствата, мислите и действията на засегнатите индивиди. Когато се повтаря с умерена или тежка интензивност, депресията може да се превърне в сериозно здравословно състояние. Това кара засегнатите лица да изпитват страдание и да влошат функционирането си в семейството, на работа, в училище и т.н. Според данни на Световната здравна организация (СЗО), в световен мащаб около 3,8% от населението е засегнато от депресия, като се посочва, че тя е водеща причина за инвалидност и е основен фактор за глобалното бреме на болестите (WHO, 2023). Депресията причинява тежки симптоми, които засягат начина, по който човек се чувства, мисли и се справя с ежедневните дейности, като сън, хранене или работа. Това може да доведе до различни емоционални и физически проблеми и да намали способността на човек да функционира нормално. Депресията може да наруши емоционалното равновесие

на човек за продължително време и значително да влоши качеството му на живот (трудова активност, лични отношения и т.н.). Периодите на депресия могат да настъпват веднъж, два или повече пъти в живота. Депресията и свързаните с нея психични разстройства могат да имат дълбок ефект върху всички аспекти на живота, включително представянето в училище, производителността на работа, взаимоотношенията със семейството и приятелите и способността за участие в общността. Ефектите от депресията могат да бъдат дълготрайни или повтарящи се и могат драстично да повлияят на способността на човек да функционира и да живее пълноценен живот.

Симптомите на депресия могат да варират от леки до тежки и могат да включват: Тъжно или потиснато настроение; Чувство на безнадеждност или песимизъм; Чувство на раздразнителност, неудовлетвореност или безпокойство; Чувство за вина, безполезност или безпомощност; Загуба на интерес или удоволствие от хобита и дейности; Промени в апетита - загуба или наддаване на тегло, несвързани с диета; Трудност при концентриране, запомняне или вземане на решения; Проблеми със съня, трудно заспиване или твърде много сън; Загуба на енергия или повишена умора; Увеличаване на безцелната физическа активност или забавени движения или говор; Физическа болка, главоболие, спазми или храносмилателни проблеми; Затруднено мислене, концентрация или вземане на решения; Мисли за смърт или самоубийство или опити за самоубийство и др.

За да бъде поставена диагноза депресия, симптомите трябва да бъдат с продължение най-малко две седмици и да представляват промяна в предишното ниво на функциониране на човека. Според данни на Американската психиатрична асоциация, депресията засяга приблизително един на всеки 15 възрастни през дадена година и един на всеки шест души ще изпита депресия в даден момент от живота си (APA, 2020). Депресията може да засегне хора от всички възрасти, раси, етноси и полове. Тя може да възникне по всяко време, но средно за първи път се появява в края на тийнейджърските години до средата на 20-те години. Депресията се среща при деца и юноши, въпреки че децата могат да изразят повече раздразнителност, отколкото тъга. Много хронични разстройства на настроението и тревожност при възрастни започват като високи нива на тревожност в детството. Установено е, че жените са по-склонни от мъжете да изпитат депресия. Начинът, по който изразяват симптомите и поведението, което използват, за да се справят с тях, може да се различава при мъжете и жените. Повишената употреба на алкохол или наркотици може да бъде стратегия за справяне за всеки човек с депресия, но въпреки това мъжете са по-склонни да използват алкохол или наркотици, като средство, което да им помогне да се справят. Причините за появата на депресия включват сложни взаимодействия между социални, психологически и биологични фактори. Житейски събития като нещастие в детството, загуба и безработица допринасят за и могат да катализират развитието на депресия.

Има различни ВИДОВЕ ДЕПРЕСИЯ, някои от които се развиват поради специфични обстоятелства (NIMH, 2023): **Голямото депресивно разстройство** - това е най-често срещаната форма на депресия. Включва комбинация от симптоми, пречещи на съня, работата, обучението и храненето. Засегнатите лица не изпитват удоволствие от дейностите, които обикновено предизвикват такова. Наблюдава се също плачливост, чувство за безполезност, вина и суицидни мисли. Когато няколко от тези симптоми се появят по едно и също време и продължат повече от 2 седмици, се налага професионално лечение. **Устойчивото депресивно разстройство** (наричано още дистимия или дистимично разстройство) - състои се от по-леки симптоми на депресия, които продължават много по-дълго, обикновено най-малко 2 години. Устойчивото депресивно разстройство често започва в детството, юношеството или ранната зряла възраст. Индивидите с персистиращо депресивно разстройство често описват настроението си като тъжно. Симптомите причиняват значителен дистрес или затруднения в работата, социалните дейности или други важни области на функциониране. Въпреки че въздействието на персистиращото депресивно разстройство върху работата, взаимоотношенията и ежедневието може да варира в широки граници, неговите ефекти могат да бъдат толкова големи или по-големи от тези на голямото депресивно разстройство. **Биполярна депресия** (редуване на депресивни и манични епизоди) – хората с биполярно разстройство също изпитват депресивни епизоди, по време на

които се чувстват тъжни, безразлични или безнадеждни, съчетани с много ниско ниво на активност. Но човек с биполарно разстройство също изпитва манийни епизоди или необичайно приповдигнати настроения, при които може да се чувства много щастлив, раздразнителен или с повишено ниво на активност. Симптомите включват намалена нужда от сън, самонадеяност, свръх самочувствие, безпричинна еуфория. **Перинаталната депресия** е депресия, която възниква по време на или след бременност. Депресията, която започва по време на бременност, е пренатална депресия, а тази, която започва след раждането на бебето, е следродилна депресия. Симптомите могат да включват чувство на тъга, тревожност или претоварване, проблеми със съня или храненето, чувство за вина или безполезност и загуба на интерес към обичайни дейности. **Сезонното афективно разстройство** е депресия, която идва и си отива със сезоните, като симптомите обикновено започват през късната есен и началото на зимата и изчезват през пролетта и лятото. Симптомите могат да включват умора, ниска енергия, затруднена концентрация, чувство на тъга или безнадеждност и наддаване на тегло. **Депресията със симптоми на психоза** е тежка форма на депресия, при която човек изпитва симптоми на психоза, като заблуди (смушавачи, фалшиви вярвания) или халюцинации (чуване или виждане на неща, които другите не чуват или виждат). Това е сериозно психично заболяване, което се проявява, когато човек има както тежка депресия, така и психоза. **Атипична депресия** - този тип депресия се характеризира със симптоми, които обикновено не се срещат заедно, като депресивно настроение и тревожност, прекомерна сънливост, повишен апетит и наддаване на тегло. Атипичната депресия може да бъде трудна за диагностициране, тъй като нейните симптоми могат да бъдат подобни на тези при други състояния.

Депресията, особено в средна или по-напреднала възраст, може да се появи заедно с други сериозни заболявания като диабет, рак, сърдечни заболявания и болест на Паркинсон. Хората, които страдат едновременно от депресия и други заболявания са склонни да имат по-тежки симптоми и на двете заболявания. Според проучването Household Pulse Survey на Центъра за контрол и превенция на заболяванията в Съединените щати, тенденциите в симптомите на тревожност или депресивно разстройство в периода август 2020 г. – февруари 2021 г. са в съответствие с тенденциите в седмичния брой докладвани случаи на коронавирусна болест от 2019 г. (Coronavirus disease 2019 - COVID-19) и се теоретизира, че увеличението на тези показатели за психично здраве съответстват на пандемичните тенденции (Vahratian A, 2021).

2. ЦЕЛ

Да идентифицираме, проучим и обобщим методите за диагностика и лечение на депресивни състояния.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Извършихме обзор на научни публикации и анализирахме аспектите в диагностиката и лечението на депресия.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Депресията е сред най-лечимите психични разстройства. Съществуват психологически и фармакологични начини за лечение за депресия. Между 80% и 90% от хората с депресия реагират добре на лечението, като по-голямата част от пациентите получават известно облекчение на симптомите си. Депресията, дори и при най-тежките случаи, може да се лекува. Тя обикновено се лекува с лекарства, психотерапия или комбинация от двете.

Лечението е по-ефективно, когато се започне в ранен етап.

1. Психотерапия. Психотерапията самостоятелно се използва за лечение на лека депресия, а за умерена до тежка депресия тя се комбинира с антидепресанти. Установено е, че когнитивно-поведенческата терапия е ефективна при лечение на депресия. Това е форма на терапия, фокусирана върху решаването на проблеми. Тя помага на човек да разпознае своето негативно мислене и да промени както мислите, така и поведението и навиците си,

които допринасят за депресията. Психотерапията може да бъде индивидуална, но може да включва и членове на семейството или брачен партньор с цел справяне с проблемите във взаимоотношенията. Друг начин за провеждане на психотерапия е груповата терапия. Тя включва хора със сходни заболявания и може да помогне на човек да научи как другите се справят в подобни ситуации. В зависимост от тежестта на депресията, лечението чрез психотерапия може да отнеме няколко седмици или много повече.

2. Лекарствена терапия. Антидепресантите не произвеждат незабавен клиничен отговор. Необходими са 2-4 седмици за подобрене в емоционалните симптоми и 6-8 седмици до постигане на пълни антидепресантни ефекти. Повечето антидепресанти потенцират, пряко или индиректно, действията на норепинефрин и/или серотонин в мозъка. **Антидепресанти: 1) Трициклични антидепресанти (Tricyclic antidepressants – TCA)** – действат като увеличават концентрациите на два основни невромедиатора (серотонин и норепинефрин), чиято активност е потисната при депресия, в определени зони на централната нервна система. TCA са ефективни при лечение на умерена до тежка депресия и при някои пациенти с паническо разстройство. Продължителността на лечението е индивидуална, като обикновено е не по-кратка от 6 месеца. Представители от групата на TCA са Imipramine, Amitriptyline, Nortriptyline, Clomipramine и други. **2) Селективни инхибитори на обратното захващане на серотонина (Selective serotonin reuptake inhibitors - SSRIs).** Серотонинът е основен медиатор, необходим за метаболизма на хормоните на стреса. Ниските му нива в централната нервна система се свързват както с депресията, така и с ред тревожни разстройства. Редица други психиатрични разстройства също реагират благоприятно на SSRIs, включително obsесивно-компулсивно разстройство, паническо разстройство, генерализирано тревожно разстройство, посттравматично стресово разстройство, социално тревожно разстройство, предменструално дисфорично разстройство. Като предимства могат да се отбележат лесно дозиране, сравнително добра поносимост и ниска токсичност. Представители от тази група са Citalopram, Escitalopram, Fluoxetine, Fluvoxamine, Sertraline, Paroxetine. **3) Инхибитори на обратното захващане на серотонин и норадреналин (Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors - SNRIs).** Те са широко разпространени, имат висока ефективност и по-малко нежелани ефекти в сравнение с останалите антидепресанти. Могат да бъдат ефективни при лечение на депресия при пациенти, при които SSRIs са неефективни. Освен за лечение на депресия се използват още в терапията на безпокойство, паническо разстройство, перименопаузални симптоми, невропатична болка и други. Инхибитори на обратното захващане на серотонин и норадреналин са Venlafaxine, Desvenlafaxine, Duloxetine. **4) Инхибитори на моноаминоксидазата (MAO инхибитори).** MAO инхибиторите инактивират ензима моноаминоксидаза, което позволява повишаване нивата на допамин, адреналин, норадреналин и серотонин в нервната система, чрез което оказват силен антидепресивен ефект. MAO инхибиторите са показани за пациенти с депресия, които не реагират или са алергични към TCA или които изпитват силна тревожност. Тези лекарства също са полезни и при лечението на фобийни състояния. MAO инхибиторите са използвани при лечение на атипичната депресия, при която са налице симптоми на тревожност, паника, фобии, повишена склонност към сън. В този клас лекарства влизат Phenelzine, Tranylcypromine, Isocarboxazid, Selegiline, Moclobemide. **5) Атипични антидепресанти** - Те са смесена група от лекарства, които действат по различни механизми. Примери за такива лекарства са Bupropion, Mirtazapine, Nefazodone, Trazodone. Бупропион е инхибитор на обратното захващане на допамин и норепинефрин. Миртазапин подобрява невротрансмисията на серотонин и норепинефрин чрез механизми, свързани със способността му да блокира пресинаптичните алфа-2 рецептори. Нефазодон и тразодон са слаби инхибитори на обратното захващане на серотонина. Въпреки различните си механизми на действие, всички лекарства от тази група оказват антидепресивен ефект.

Изборът на лекарство се базира върху преобладаващите симптоми, отговора на пациента към антидепресанта, както и спрямо страничните ефекти. От изключително важно значение при лечението на конкретните пациенти е индивидуализиране на дозата, която позволява достатъчна продължителност на действие на лекарството. Лечението на депресия

обхваща остра фаза, продължителна фаза и поддържаща фаза. Прекратяването на терапията се осъществява плавно и с постепенно понижаване на дозата за намаляване на рисковете от развитие на синдром на отнемане. Внезапното преустановяване на лечението крие рискове от поява на тревожност, гадене, безсъние, грипopodobни прояви и други.

3. Електроконвулсивна терапия. Някои от пациентите, диагностицирани с депресия, могат да изпитат фармакорезистентна депресия, която се появява, когато човек не се подобри след като е опитал поне два типа антидепресанти. Ако лекарствата и психотерапията не намаляват симптомите на депресия или има необходимост от бързо облекчаване на симптомите, терапията за мозъчна стимулация може да бъде опция за лечение. Електроконвулсивна терапия най-често се прилага при пациенти с тежка голяма депресия, които не са се повлияли от други лечения. Тя включва кратка електрическа стимулация на мозъка, докато пациентът е под анестезия. Терапиите за мозъчна стимулация действат чрез активиране или инхибиране на мозъка с електричество. Електричеството се подава директно чрез електроди, имплантирани в мозъка, или индиректно чрез електроди, поставени върху скалпа. Въпреки че терапиите за стимулиране на мозъка се използват по-рядко от лекарствата и психотерапията, те могат да играят важна роля при лечението на психични разстройства при хора, които не реагират на други методи за лечение.

Самопомощ и справяне. Има редица мерки от общ характер, които могат да бъдат приложени, за да намалят симптомите на депресия. За много хора редовните упражнения помагат за подобряване на настроението. Получаването на достатъчно качествен сън, здравословното хранене и избягването на алкохол също могат да помогнат за намаляване на симптомите на депресия.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Депресията е често срещано и сериозно психично заболяване, което влияе негативно върху чувствата, мислите и действията на засегнатите лица. Тя причинява тежки симптоми, които засягат начина, по който човек се чувства, мисли и се справя с ежедневните дейности. Това може да доведе до различни емоционални и физически проблеми и да намали способността на човек да извършва нормалните си ежедневни дейности. Основните методи за диагностика и лечение на депресивни състояния включват психотерапия, лекарствена терапия и електроконвулсивна терапия. Мозъчната стимулация е съвременен метод, който се използва при лечение на фармакорезистентна депресия, но все още не е достатъчно широко застъпен. За постигане на оптимални резултати при всеки пациент трябва да се използва индивидуализиран подход на лечение в зависимост от формата и степента на депресивното състояние. Психичното здраве е от ключово значение за пълноценен и продуктивен живот. Въпреки това много европейци имат проблеми с психичното здраве. Страните от Европейския съюз, в това число и България, работят за подобряване на психичното здраве на населението.

ЛИТЕРАТУРА

American Psychiatric Association. (2020, October). What is depression? Physician Review: Felix Torres, M.D., MBA, DFAPA. Retrieved from <https://www.psychiatry.org/patients-families/depression/what-is-depression>

Clark, M., Finkel, R., Rey, J., Whalen, K., & Harvey, R. (2011). *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology* (5th ed.).

Karrouri, R., Hammami, Z., Benjelloun, R., & Otheman, Y. (2021, November). Major depressive disorder: Validated treatments and future challenges. *World Journal of Clinical Cases*, 9(31), 9350–9367. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i31.9350>

Markowitz, J. C., Wright, J. H., Peeters, F., Thase, M. E., Kocsis, J. H., & Sudak, D. M. (2022). The neglected role of psychotherapy for treatment-resistant depression. *American Journal of Psychiatry*, 179, 90–93. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2021.21050535>

National Institute of Mental Health. (2023, September). Depression. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. Retrieved from <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/depression>

Purebl, G., Schnitzspahn, K., & Zsák, É. (2023, November). Overcoming treatment gaps in the management of depression with non-pharmacological adjunctive strategies. *Frontiers in Psychiatry*, *14*, 1268194. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2023.1268194>

Ruberto, V. L., Jha, M. K., & Murrough, J. W. (2020, June). Pharmacological treatments for patients with treatment-resistant depression. *Pharmaceuticals (Basel)*, *13*(6), 116. <https://doi.org/10.3390/ph13060116>

Vahratian, A., Blumberg, S. J., Terlizzi, E. P., & Schiller, J. S. (2021, April 1). Symptoms of anxiety or depressive disorder and use of mental health care among adults during the COVID-19 pandemic — United States, August 2020–February 2021. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, *70*, 490–494. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7013e2>

Voineskos, D., Daskalakis, Z. J., & Blumberger, D. M. (2020). Management of treatment-resistant depression: Challenges and strategies. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *16*, 221–234. <https://doi.org/10.2147/NDT.S198774>

World Health Organization. (2023, March 31). Depressive disorder (depression). Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>

КЛИНИЧНА ОЦЕНКА НА КОГНИТИВНИТЕ ФУНКЦИИ И СЪНЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С РАННА ПАРКИНСОНОВА БОЛЕСТ

Виктор Каралийски^{1,2}, Анастасия Тренова^{1,2}, Лъчезар Трайков^{3,4},
Мария Петрова^{3,4}, Кирил Терзийски⁵, Тодор Георгиев⁵

¹ Катедра по Неврология, Медицински университет – Пловдив

² Отделение по Неврология, УМБАЛ “Каспела” – Пловдив,

³ Катедра по Неврология, Медицински университет – София

⁴ Отделение по Неврология, УМБАЛ “Александровска“, София

⁵ Катедра по Патофизиология, Медицински университет – Пловдив

CLINICAL ASSESSMENT OF COGNITIVE FUNCTIONS AND SLEEP IN PATIENTS WITH EARLY PARKINSON'S DISEASE

Victor Karaliyski^{1,2}, Anastasiya Trenova^{1,2}, Latchezar Traykov^{3,4},
Mariya Petrova^{3,4}, Kiril Terziyski⁵, Todor Georgiev⁵

¹ Department of Neurology, Medical University of Plovdiv

² Department of Neurology, UMHAT “Kaspela” – Plovdiv

³ Department of Neurology, Medical University of Sofia

⁴ Department of Neurology, University Hospital Alexandrovskia

⁵ Pathophysiology Department, Medical University of Plovdiv

Abstract: *Introduction:* Cognitive decline and sleep dysfunctions are among non-motor features, significantly contributing to the disability of patients with Parkinson's disease (PD).

Aim: To evaluate the cognitive functions and sleep in newly diagnosed, treatment naïve patients with early PD.

Materials and methods: The study comprised 30 newly diagnosed patients with PD according to the Movement Disorder Society – Parkinson's Disease criteria. Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) was used to determine the severity of motor impairment. Cognitive functions were assessed by Montreal Cognitive Assessment (MOCA) and Mini Mental State Examination (MMSE) tests. Sleep disturbances were evaluated by Parkinson's disease sleep scale (PDSS-2).

Results: More than 2/3 of the patients showed abnormally low score on cognitive tests (93,3% on MOCA and 76,7% on MMSE). Moderate negative correlation was found between MOCA score and the age of the patients ($r_{xy} = 0,513$, $p = 0,004$), between MOCA score and the age at the disease onset ($r_{xy} = 0,489$, $p = 0,006$), and between MOCA score and UPDRS-total ($r_{xy} = 0,407$, $p = 0,025$). According to PDSS-2 53,3% of the patients had sleep disturbances. Individual assessment of sleep disorders based on PDSS-2, shows the highest score on the third item – staying asleep (mean $1,33 \pm$), followed by second (specifically difficulty initiating sleep/insomnia) and eight one (nocturia) (mean $1,13 \pm$). Strong positive correlation was found between UPDRS-total and PDSS-2 score ($r_{xy} = 0,598$, $p < 0,0001$).

Conclusion: The presented study shows a significant incidence of cognitive impairment and sleep disturbances in patients with early PD. Patients' age and age at disease onset are factors associated with an increased risk of cognitive decline. Sleep quality and nocturia are the most common sleep disturbances in these patients. Higher degree of motor deficit is associated with more severe cognitive impairment and sleep disturbances.

Keywords: cognitive decline, early Parkinson’s disease, sleep abnormalities

INTRODUCTION

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease. It is characterized by motor (tremor, rigidity, bradykinesia and postural instability) and non-motor (cognitive decline, sleep disturbances, depression, psychosis, autonomic disorders) symptoms. Cognitive deficit occurs up to six times more often in individuals with PD compared to the healthy population (Aarsland, 2021). Mild cognitive impairment can be found in about 20% of PD cases at diagnosis (Goldman, 2020). In the course of the disease, it can affect up to 60% (2) of patients. Dementia is diagnosed in 30 to 40% of patients with PD, and can reach 80% with increasing age and duration of the disease (Goldman, 2020; Chandler, 2021). Among the various non-motor symptoms in PD, sleep disturbances, including daytime sleepiness, insomnia, restless legs syndrome, and rapid eye movement (REM) sleep behavior disorder (RBD), impact over 90% of PD patients with rates increasing during the course of the disease (Stefano, 2011; Lama, 2017).

AIM

To assess cognitive function and sleep disturbances in newly diagnosed, treatment naïve patients with early PD.

MATERIALS AND METHODS

Patients: The study included 30 patients selected by the Expert Committee for diagnosis and treatment of PD at UMHAT “Kaspela”, by the following criteria:

Inclusion criteria:

1. Age 40-80 years;
2. Newly diagnosed patients with Parkinson's disease according to the MDS-PD criteria;
3. Written informed consent to participate in the study.

Exclusion criteria:

1. Patients with decompensated heart, lung, kidney, endocrine or liver diseases;
2. Patients with sleep apnea;
3. Patients with mental diseases (schizophrenia, bipolar affective disorder);
4. Pregnancy;
5. Patients abusing alcohol, narcotic substances and medications;
6. Patient subjected to anti-PD treatment.
7. Inability to declare informed consent.

Methods:

1. Clinical methods: medical history, assessment of neurological status, determination of the degree of disability using the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS).
2. Neuropsychological tests to study the state of cognitive functions:
 - Montreal Cognitive Assessment (MOCA),
 - The Mini-Mental State Exam (MMSE).
3. Test to study sleep disturbances – Parkinson’s disease sleep scale (PDSS-2).
4. Statistical methods.

RESULTS

Thirty newly diagnosed according to MDS-PD criteria treatment naïve patient were included in the study. Demographic and clinical characteristics of the study cohort are presented in Table 1.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the studied contingent

Characteristics	Patients
Sex (number/%)	
women	20/66,7%
men	10/33,3%
Age	
mean ± SD	69,00±7,51

(years)	
Age at onset of complaints	
mean ± SD	67,80±7,07
(years)	
Duration of the complaints before diagnosis	
mean ± SD	14,7±11,0
(months)	
Total UPDRS score	
mean ± SD	38,7±15,31
(points)	

Results of the cognitive tests MOCA and MMSE are presented in Table 2.

Table 2. Cognitive assessment

Test	Mean±SD	minimum	maximum
MOCA	20,37±3,98	11	28
MMSE	25,23±2,82	18	29

Only 6.7% of our patients (n=2) demonstrated normal score on MOCA. The remaining 93.3% (n=28) had varying degrees of cognitive deficit. According to MMSE test, 23.3% (n=7) showed normal results, and 76.7% (n=23) had an abnormally low score. The distribution of patients according to the severity of cognitive deficit assessed by MMSE is presented in Figure 1.

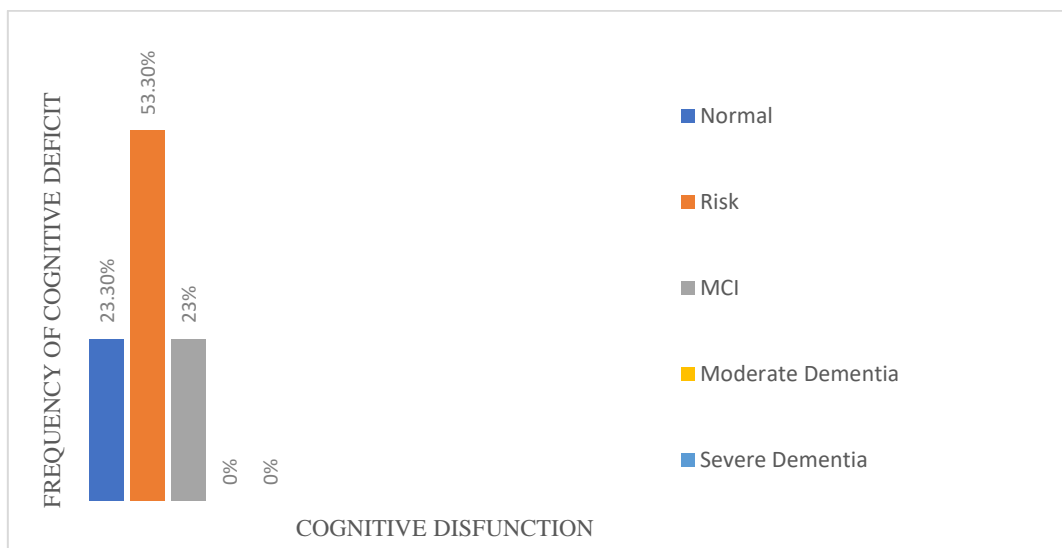


Figure 1. Distribution of patients according to the severity of cognitive deficit assessed by MMSE

According to PDSS-2 53.3% of the patients had sleep disturbances. Individual assessment of sleep disorders based on PDSS-2 are shown in table 3.

Table 3. Assessment of sleep disturbances

Test	Mean±SD	minimum	maximum
PDSS-1	0,97±1,12	0	4
PDSS-2	1,13±1,07	0	4
PDSS-3	1,33±1,24	0	4
PDSS-4	0,87±1,04	0	4

PDSS-5	0,60±0,97	0	4
PDSS-6	0,50±0,86	0	3
PDSS-7	0,03±0,18	0	1
PDSS-8	1,13±0,81	0	3
PDSS-9	0,67±1,02	0	4
PDSS-10	0,33±0,60	0	2
PDSS-11	0,60±0,77	0	3
PDSS-12	0,17±0,46	0	2
PDSS-13	1,00±1,31	0	4
PDSS-14	0,57±0,93	0	3
PDSS-15	0,20±0,61	0	3

Correlation analysis found a strong positive correlation between UPDRS-total and PDSS-2 score ($r_{xy} = 0,598$, $p < 0,0001$). Moderate negative correlation was found between MOCA score and patients' age ($r_{xy} = 0,553$, $p = 0,002$), as well as with age at onset of complaints ($r_{xy} = 0,528$, $p = 0,004$). No statistically significant correlation was found between MMSE, patient age, age at onset and disease duration.

DISCUSSION

The present study registered cognitive deficits in more than two-thirds of the patients, which corresponds to the results of Wan et al., 2023, who reported cognitive impairment in 75.4% of their cases with early PD (Wan, 2023). Mild cognitive impairment was observed in 25% of our patients' population according to the MMSE. These results are in line with those of Hemphill et al., 2023 (25%) and Litvan et al., 2011 (26.7%) (Hemphill, 2023; Litvan, 2011) and slightly differ from data of Jaramillo-Jimenez et al., 2023 (36%) (Jaramillo-Jimenez, 2023). The reasons for these differences should be sought in the heterogeneity of the studied contingent (accompanying diseases, the age at the onset of complaints, etc.), the different neuropsychological tests used for the assessment of cognitive functions and/or in different criteria for defining cognitive decline. Patients' age and age at onset of the disease are factors associated with an increased risk of cognitive decline in early PD.

The present study found sleep disturbances in more than a half of the patients' population according to PDSS-2. Close results are presented by Kumar et al., 2002 (42%) (Kumar, 2002), and Gianpaolo et al., 2023 (46%) (Gianpaolo, 2023).

Only a handful of studies have addressed sleep dysfunction in untreated PD patients. These studies have largely focused on excessive daytime sleepiness (EDS) and periodic limb movements sleep (PLMS). A holistic assessment of the multifactorial nature of sleep dysfunction in PD is still to be attempted (Fabbrini, 2002; Wetter, 2000). The prevalence of sleep disorders increases over time and become the most common non-motor features in late stages of the disease (Maggi, 2023; Xu, 2022). Further research is needed to determine if treatment of sleep disorders in PD can alter other symptoms of the disease and their progression with the time.

CONCLUSION

The presented study shows a significant incidence of cognitive impairment and sleep disturbances in patients with early PD. Patients' age and age at disease onset are factors associated with an increased risk of cognitive decline. Poor sleep quality and nocturia are the most common sleep disturbances in these patients. Higher degree of motor deficit is associated with more severe sleep disturbances.

REFERENCES

- Aarsland, D., Batzu, L., & Halliday, G. M. et al. (2021). Parkinson disease-associated cognitive impairment. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(47).
- Chahine, L. M., Aleksandar, V., et al. (2017). A systematic review of the literature on

disorders of sleep and wakefulness in Parkinson's disease from 2005 to 2015.

Chandler, J. et al. (2021). Characteristics of Parkinson's disease in patients with and without cognitive impairment.

Fabbrini, G., Barbanti, P., Aurilia, C., Vanacore, N., Pauletti, C., & Meco, G. (2002). Excessive daytime sleepiness in de novo and treated Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 17(5), 1026–1030.

Goldman, J. G., & Sieg, E. (2020). Cognitive impairment and dementia in Parkinson disease. *Clinics in Geriatric Medicine*, 36(2), 365–377.

Hemphill, L., Valenzuela, Y., Luna, K., et al. (2023). Synergistic associations of depressive symptoms and aging on cognitive decline in early Parkinson's disease. *Clinical Parkinsonism & Related Disorders*, 8, 2590–1125.

Jaramillo-Jimenez, A., Bocanegra, Y., Buriticá, O., et al. (2023). Subjective cognitive and communicative complaints and health-related quality of life in Parkinson's disease with and without mild cognitive impairment. *Revista Colombiana de Psiquiatría (English ed.)*, 52(4), 305–313.

Kumar, S., Bhatia, D., & Behari, M. (2002). Sleep disorders in Parkinson's disease.

Litvan, I., Aarsland, D., Adler, C. H., Goldman, J. G., et al. (2011). MDS task force on mild cognitive impairment in Parkinson's disease: Critical review of PD-MCI. *Movement Disorders*, 26, 1814–1824.

Maggi, G., Vitale, C., Cerciello, F., & Santangelo, G. (2023). Sleep and wakefulness disturbances in Parkinson's disease: A meta-analysis on prevalence and clinical aspects of REM sleep behavior disorder, excessive daytime sleepiness, and insomnia.

Stefano, Z., Mariantonietta, S., & Paolo, L. et al. (2011). Sleep disorders and the natural history of Parkinson's disease: The contribution of epidemiological studies.

Wan, H., Wu, D., Gao, D., et al. (2023). Disturbance of functional brain networks and cognitive decline in Parkinson's disease: Severe cerebral small vessel disease aggravates this relationship. *Parkinsonism & Related Disorders*, 110, 105–386.

Wetter, T. C., Collado-Seidel, V., Pollmacher, T., Yassouridis, A., & Trenkwalder, C. (2000). Sleep and periodic leg movement patterns in drug-free patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Sleep*, 23(3), 361–367.

Xu, Z., Anderson, K. N., & Pavese, N. (2022). Longitudinal studies of sleep disturbances in Parkinson's disease. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 22(10), 635–655. <https://doi.org/10.1007/s11910-022-01223-5>

СЪВРЕМЕНЕН ПОДХОД ПРИ ПАЦИЕНТИ С H. PYLORI ИНФЕКЦИЯ

Мила Ковачева-Славова

УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“,

Клиника по гастроентерология, Медицински университет – София

CURRENT APPROACH TO PATIENTS WITH H. PYLORI INFECTION

Mila Kovacheva-Slavova

University Hospital Tsaritsa Ioanna-ISUL,

Department of Gastroenterology, Medical University of Sofia

Abstract: The role of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) as an etiological factor in the genesis of several gastric diseases such as functional dyspepsia, chronic atrophic gastritis, and peptic ulcer of the stomach and duodenum, which affects more than 10% of the population, is indisputable. The proven malignant potential of the bacterium is why *H. pylori* is classified as a type I carcinogen by the World Health Organization. Because of chronic *H. pylori* infection, gastric adenocarcinoma develops, which is the fifth most frequent and third malignant neoplasm globally. Invasive and non-invasive methods diagnose *H. pylori*. The current diagnostic and therapeutic approach is challenging due to false negative results and increased antibiotic resistance of the bacterium. *H. pylori* extragastral manifestations are still underestimated, although the variety of examples of correlation between liver, neurological, hematological etc. diseases with the presence of *H. pylori*. We are aiming to address these questions and to give the current approach to this global chronic infection.

Keywords: *H. pylori*, diagnosis, therapy

INTRODUCTION

H. pylori is a Gram-negative spiral microaerophilic bacterium, which is spread worldwide and is nowadays the most common widespread chronic infection as its prevalence ranges from 50.8% to 84%. *H. pylori* infection is a public health problem in both developing and developed countries (Zamani, 2018). *H. pylori* is transmitted by oral-oral and oral-faecal routes, usually between family members and can begin during early life. Urbanization and poor socioeconomic status are risk factors for transmission (Zamani, 2018). Barry Marshall and Robin Warren first identified *H. pylori* as a stomach infection causing ulcers in 1983 (Warren, 1983). For this discovery, they both received in 2005 a Nobel Prize in physiology or medicine. *H. pylori* is a pathogen that resides in the human stomach and overcomes gastric defense mechanisms using its flagella and urease production. *H. pylori* infection leads to dyspepsia and chronic gastritis, further progressing to erosions and ulcers, gastric atrophy and metaplasia. Moreover, *H. pylori* is a cause and risk factor for the development of gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma (Li, 2020). *H. pylori* was classified in 1994 by the World Health Organization's International Agency for Research on Cancer as a human carcinogen type I (IARC, 1994). *H. pylori* is associated with many extra gastric diseases, including cancers, cardiovascular and cerebrovascular diseases, respiratory disorders, endocrine diseases, neurocognitive disorders, idiopathic thrombotic purpura etc. (Li, 2020). Guidelines in the last decade promote screening and treatment strategies for *H. pylori* infection. The last Maastricht VI/ Florence consensus report from 2022 accepts the "test-and-treat strategy" in patients with dyspepsia; patients with hematological disorders (iron deficiency anaemia, immune thrombocytopenic purpura, vitamin B12 deficiency); high-risk patients on aspirin therapy or before

starting a long course of NSAIDs (Malfertheiner, 2022). Accurate diagnosis is of great importance for proper treatment and eradication with appropriate antibiotic regimens.

METHODS AND MATERIALS

In clinical practice, there are various methods for the diagnosis of *H. pylori*. Finding the best diagnostic method is a great cornerstone for clinicians and microbiologists. In general, the methods are divided into invasive and non-invasive. Non-invasive methods include stool tests, Urea breath tests and serological tests. Among the invasive methods used in clinical practice are Rapid urease test, Molecular-based testing, culture and histology, which requires an endoscopic examination (Lee, 2022). Each of the methods has its advantages, disadvantages and limitations.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the Maastricht VI/ Florence consensus report, patients under 50 years of age with dyspepsia without risk factors and alarming symptoms should be screened by non-invasive tests for *H. pylori* - Urea breath test, faecal antigen test, IgG anti-*H. pylori* in serum and urine, Polymerase Chain Reaction (PCR) in faeces. Patients over 50 years of age with dyspepsia or patients with alarming symptoms should undergo invasive tests for *H. pylori* - Rapid urease test, histopathology, biopsy culture, and biopsy PCR (Malfertheiner, 2022). Based on the presence or absence of current infection, we decided to administrate the type of treatment. Testing for *H. pylori* infection is mandatory for the monitoring of the effectiveness of treatment and disease management (Ansari, 2022). For best diagnostic accuracy, tests' sensitivity and specificity should exceed 90%. Choosing a method depends on several factors such as its accessibility, availability, cost, the equipment of the laboratories, the condition of the patient and the expected false positive or false negative results. The sensitivity of the rapid urease test, histology and culture is lower, compared to the non-invasive tests (50-95% vs. above 95%). However, specificity is more than 90-95% in almost all tests as only the serology test is less specific (60-90%) (Lee, 2022).

False-negative results are possible both in invasive and non-invasive tests (faecal stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, histology and culture). On the one hand, the use of antibiotics, PPIs or bismuth can decrease the bacterial load; therefore, patients should stop taking them for at least 2-4 weeks before the test performance (Ansari, 2022). On the other hand; low bacterial colonization, decreased sensitivity in patients with bleeding, intestinal metaplasia, achlorhydria, and alcohol consumption can give false negative results. For proper cultural tests, ideal conditions for storage, transportation and highly qualified personnel are required (Lee, 2022). False positive results are also seen by serology tests, rapid urease tests and urea breath tests. IgG anti-*H. pylori* in serum – last positive at least 1 year after eradication. Achlorhydria leads to overgrowth of non-*H. pylori* urease-producing organisms such as *Streptococcus salivarius*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Staphylococcus capitis* (Talebi, 2018; Lee, 2022). No single test is considered the gold standard for diagnosing an infectious disease; therefore, accuracy is enhanced with a combination of diagnostic tests.

Performing endoscopy to approach for invasive test, we need at least six biopsies from the fundus, corpus, and antrum, greater and lesser curvature with additional biopsies for ulcerative and localized lesions. The rapid urease test requires at least two biopsies from the antrum and corpus. Corpus biopsies increase the detection of *H. pylori* in patients with atrophic gastritis and long-term PPI use. NBI, chromoendoscopy and magnifying endoscopy increase the diagnostic accuracy in case of inflammatory lesions, mucosal atrophy, focal abnormalities, and assessment of mucosal microvascular architecture (Monzani, 2021; Elbehiry, 2023). Staining in histology (Haematoxylin eosin (H&E), Giemsa, *H. pylori* silver staining) and immunohistochemistry differ as H&E is more sensitive but less specific compared to Giemsa. Fluorescent nucleic acid peptide in situ hybridization has 100% accuracy, but is a time-consuming method, and requires special equipment and interpretation of results. As *H. pylori* causes chronic gastritis that can progress to gastric atrophy and intestinal metaplasia, staging of gastritis changes using OLGA and OLGIM histological classifications is of great importance (Elbehiry, 2023). Stool antigen test is an easy, fast and cheap method, based on enzyme immunoassay (monoclonal or polyclonal) or immunochromatography (Elbehiry, 2023). 13C-Urea and 14C-Urea breath tests have comparable specificity and sensitivity

according to a meta-analysis of 41 studies (Shypulin, 2020). Citric acid in test food reduces gastric emptying and increases the contact of the substance with the mucosa and *H. pylori* urease, increasing the accuracy of the test (Elbehiry, 2023). The serology tests use ELISA methods for detecting IgG. They do not distinguish active from past infection and cannot be used for control after eradication. To reduce false negative results of other tests, serology tests can be performed in patients with bleeding from peptic ulcer, MALT, gastric atrophy and on PPI therapy (Elbehiry, 2023).

The World Health Organization has declared clarithromycin-resistant strains of *H. pylori* as one of the 12 priority pathogens for which the development of new antibiotics is urgently needed. *H. pylori*'s resistance to amoxicillin and tetracycline remains less than 10% in all WHO regions. Maastricht VI / Florence guidelines recommend routine antibiotic susceptibility testing (molecular or cultural) when available, including before first-line therapy (Malfertheiner, 2022; Savoldi, 2018; Brennan, 2016). Using molecular tests, we can determine the resistance of *H. pylori* to some antibiotics, including clarithromycin, levofloxacin, tetracycline, rifampicin, metronidazole and amoxicillin (Godavarthy, 2023). Recent data emphasize guided, after the determination of PCR resistance, over empirical treatment (Celiberto, 2023). The molecular methods - PCR, real-time PCR, whole genome sequencing, and digital PCR, can detect *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, dental plaque, and faeces. Fresh samples, rapid urease tests and paraffin blocks provide equally reliable substrates for *H. pylori* DNA analysis. Faecal PCR results can be influenced by the cut-off for bacterial concentration in the stool. The molecular tests give an accurate rapid detection and measurement of target DNA, however, they are expensive and labor-intensive and still not available for routine clinical practice (Elbehiry, 2023).

CONCLUSIONS

Among physicians, pathologists and scientists *H. pylori* has attracted much attention as a widespread and complex pathogen, leading to socially significant gastral and extra gastral diseases. Early detection, proper follow-up and effectively treatment regimens are needed. Principles of antimicrobial stewardship should be the basis of a strategy to slow the spread of antibiotic resistance.

ACKNOWLEDGMENTS: This research is supported by the National Science Fund, Bulgaria, Grant № KP-06-H33/1, 2019 (KII-06-H33/1, 2019).

REFERENCES

- Ansari, S.** (2022). *Helicobacter pylori* infection, its laboratory diagnosis, and antimicrobial resistance: a perspective of clinical relevance. *Clinical Microbiology Reviews*, 35(3), e0025821. <https://doi.org/10.1128/cmr.00258-21>
- Brennan, D. E.** (2016). Molecular detection of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in stool vs biopsy samples. *World Journal of Gastroenterology*, 22(41), 9214–9221. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i41.9214>
- Celiberto, F.** (2023). The state of the art of molecular fecal investigations for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) antibiotic resistances. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4361. <https://doi.org/10.3390/ijms24054361>
- Elbehiry, A.** (2023). *Helicobacter pylori* infection: current status and future prospects on diagnostic, therapeutic and control challenges. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(2), 191. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020191>
- Godavarthy, P. K.** (2023). From antibiotic resistance to antibiotic renaissance: A new era in *Helicobacter pylori* treatment. *Cureus*, 15(3), e36041. <https://doi.org/10.7759/cureus.36041>
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.** (1994). Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 61.
- Lee, Y. C.** (2022). Diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Annual Review of Medicine*, 73, 183–195. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220-020814>
- Li, L.** (2020). Association between *Helicobacter pylori* infection and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *BMJ Open*, 10, e031951.

<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-031951>

Malfertheiner, P. (2022). Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut*. Published online August 8, 2022. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327745>

Monzani, A. (2021). The best is the enemy of the good: Time for a biopsy-sparing approach for *Helicobacter pylori* diagnosis and treatment in children in the COVID-19 era? *Helicobacter*, 26(4), e12826. <https://doi.org/10.1111/hel.12826>

Savoldi, A. (2018). Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: A systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions. *Gastroenterology*, 155(5), 1372–1382.e17. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.07.007>

Shypulin, V. (2020). Clinical experience of use of 13C-breath tests in oesophagogastroduodenal diseases: selective questions. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 15(2), 126–130. <https://doi.org/10.5114/pg.2019.90080>

Talebi, A. (2018). Diagnosis of *Helicobacter pylori* using invasive and noninvasive approaches. *Journal of Pathogens*. <https://doi.org/10.1155/2018/9064952>

Warren, J. R. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*, 1(8336), 1273–1275. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(83\)92719-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(83)92719-8)

Zamani, M. (2018). Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 47, 868–876. <https://doi.org/10.1111/apt.14561>

DIETARY PATTERNS AND EFFECT ON BMI AMONG MEDICAL STUDENTS IN PLOVDIV

Elka Toseva², Pravin Prabakaran¹, Stanislava Harizanova²

¹Student of Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

²Department of Hygiene, Faculty of Public Health,
Medical University of Plovdiv

Abstract: Dietary patterns depend on traditions in different population groups. The *aim* of this study was to analyze which dietary habits of international medical students affect BMI. *Materials and methods:* The survey was conducted in 2023 using questionnaire method. The frequency of meals, type of cooking and eating patterns were examined among 145 international medical students from different countries. *Results:* 73 from 145 were female, 72 of total were male. 84.9% (n=62) of girls were with normal or underweight BMI compared to 56.9% (n=41) of boys ($\chi^2 = 13.799$, $df = 1$, $p = 0.0001$). 26 (61.9%) of the overweight students had breakfast before 6:00 a.m. or after 10:00 a.m., while 64 (62.1%) in the normal or underweight group, had breakfast within 6:00 a.m. to 10:00 a.m. ($\chi^2 = 6.972$, $df = 1$, $p = 0.008$). There was no statistically significant difference between BMI and frequency of intake of raw fruits and vegetables, the type of food during breakfast, type of food of supporting snacks, what was the main meal of the day (breakfast, lunch or dinner), frequency of night meal, time of the last meal of the day, frequency of eating or skipping lunch or dinner. *Conclusion:* Medical students have a well knowledge about the requirements of healthy nutrition because they study this discipline, but dietary patterns varied widely. The type of eating patterns, type of cooking and frequency of overeating affect BMI. The time of the first meal likely affects BMI.

Keywords: BMI, dietary patterns, international medical students, Plovdiv

1. INTRODUCTION

University is a key period between adolescents and adulthood. Behavior of international medical students affects their dietary habits, food choices, and physical behavior (Sprake et al., 2018). They may partially adapt to the food culture of their host country in a few cases. Dietary patterns depend on traditions in different population groups, incomes, globalization of delivery of food, increased consumption of processed foods, which are poor of fibers, vitamins and trace elements, but are rich of calories, food prices, family eating habits, food preparation skills, accessibility and availability of specific traditional food (Mogeni & Ouma, 2022; Alakaam & Willyard, 2020). Obesity has increased worldwide, more than doubled since 1990, and adolescent obesity has quadrupled. This corresponds to 43% of adults aged 18 years and over who were overweight in 2022 compared to 1990, when 25% of adults aged 18 years and over were overweight (WHO, 2024). Body Mass Index (BMI) is a widely available, easy to measure and inexpensive method. It has standardized cut-off points for overweight and obesity, but BMI is an imperfect measure because it does not directly assess distribution of body fat. The uniqueness of BMI stems from its continued popularity as a measure of individual and population health, despite ongoing debate concerning what BMI actually captures and the lack of clear pathways linking BMI to health (Gutin, 2018).

The aim of this study is to analyze which dietary habits of international medical students affect BMI.

2. METHODS AND MATERIALS

The survey was conducted in 2023 using the questionnaire method. The frequencies of meals, type of cooking and eating patterns were examined among 145 international medical students in Plovdiv from different countries. Assessment of overweight and obesity were defined according to the cut-off points for BMI in adults.

Processing and analysis of data and results were performed on a computer using routine statistical programs (MS Excel, SPSS v23). Data were expressed as mean \pm standard deviation ($M\pm SD$). Statistical analysis was performed with Chi-squared test, Fisher's exact test (two-sided hypothesis), and Odds Ratio. Differences in results $P < 0.05$ was accepted as level of significance with confidence interval of 95%.

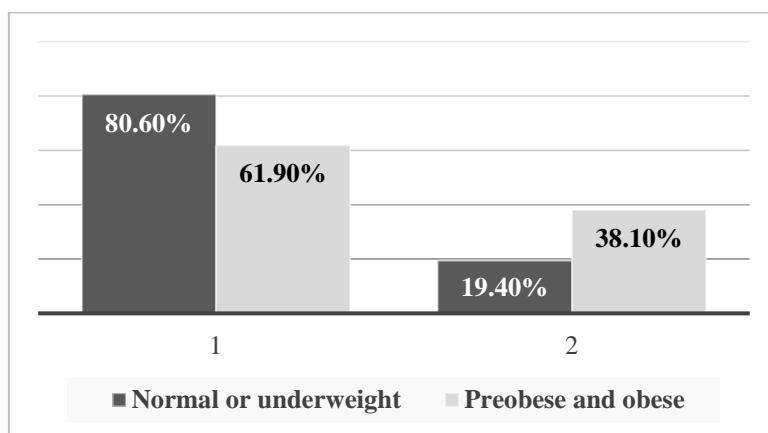
3. RESULTS

The average age of the students was 21.47 ± 2.641 years old (Mean \pm SD). Their ages ranged between 18 to 33 years. Of them, 73 (50.34%) were female, 72 (49.66%) were males.

11 students (7.6%) were underweight, 92 students (63.4%) were of normal weight, 30 students (20.7%) were overweight and 12 (8.3%) of the studied were obese. Grouped, 103 students (71.0%) were normal or underweight, 42 (29.0%) were overweight or obese ($t=7.897$; $SE=3.767$; $p=0.0001$). Of the group of female students (2), 62 (84.9%) were of normal or underweight, according to BMI, 11 (15.1%) were overweight or obese. Among the male students (1), 41 (56.9%) had a BMI within the normal range or underweight, 31 (43.1%) were overweight or obese, ($\chi^2 = 13.799$, $df = 1$, $p = 0.0001$).

Important factors for being overweight were:

- Frequency of overeating, where 20 participants (19.4%) from the group of normal and underweight students, overeat more than three times a week, while from the group of overweight or obese students, 16 participants (38.1%) overeat more than three times a week (Fig.1). Pearson Chi-Square shows ($\chi^2 = 5.577$, $df = 1$, $p = 0.018$).



Legend: 1. never or less than 3 times a week; 2. more than 3 times a week or every day

Figure 1. Ranges of BMI and frequency of overeating

- Type of cooking. In the group of overweight students, 25 (59.5%) preferred baking, boiling 0 (0%) and 7 (16.7%) preferred stewing and steaming as a method of food preparation, while in the group of students with normal weight distribution was respectively 33 (32.0%), 22 (21.4%) and 28 (27.2%) participants, ($\chi^2 = 5.577$, $df = 4$, $p = 0.002$). The preferred method of cooking is shown in Table 1, where a significant difference was found between the group of overweight and normal weight students ($\chi^2 = 16,653$, $df = 4$, $p = 0.002$).

- The time of the first meal was important (Table 2), as in the group of overweight students 26 (61.9%) had breakfast before 6:00 a.m. or after 10:00 a.m., while in the group of those with normal or underweight 64 (62.1%) had breakfast in the time interval from 6:00 a.m. to 10:00 a.m. ($\chi^2 = 6.972$, $df = 1$, $p = 0.008$).

Table 1. The preferred method of cooking

Type of cooking	Normal or underweight students	Pre- and obese students
boiling	21.40%	0%
roasting or baking	32.00%	59.50%
stewing or steaming	27.20%	16.70%
frying	15.50%	16.70%
raw food	3.90%	7.10%

Table 2. First meal of the day

Breakfast (time)	Normal or underweight students	Pre- and obese students
before 6 a.m.	0%	7.10%
6 — 6:59 a.m.	16.50%	11.90%
7 — 7:59 a.m.	15.50%	4.80%
8 — 8:59 a.m.	17.50%	9.50%
9 — 9:59 a.m.	12.60%	11.90%
10 — 11 a.m.	18.40%	19.00%
after 11 a.m.	19.40%	35.70%

• 47 participants (45.6%) of the group with normal weight compared to 7 (16.7%) of the students with overweight had never attempted a diet other than their typical diet (Table 3); ($\chi^2 = 13.734$, $df = 3$, $p = 0.003$).

Table 3. Attempts to follow a diet to lose weight

Breakfast (time)	Normal or underweight students	Pre- and obese students
never	45.60%	16.70%
yes, but rarely	34.00%	40.50%
yes, often	19.40%	42.90%

Students included late-night meals in their dietary patterns due to late-night studying without statistically significant difference on registered body mass indices ($\chi^2 = 3.427$, $df = 3$, $p = 0.330$).

The frequency of food intake; the frequency of eating or skipping lunch or dinner; time of the last meal of the day; frequency of night meal, frequency of consumption of home-made food; frequency of intake of raw fruits and vegetables; the intake of beverages at breakfast time; the type of food during breakfast had no effects on the change on BMI of the participants.

4. DISCUSSION

University policy to improve dietary patterns should incorporate provision of adequate educational nutrition programs to eliminate barriers to future international students who lack knowledge of the food environment in their host country, efforts to promote student engagement in cooking and food preparation, and information of availability of healthier food items with acceptable price (Sprake et al., 2018; Alakaam & Willyard, 2020).

The prevalence of obesity among students was like this described in British University, in Sudan and among medical students in northern Greece (Tanton et al., 2015; Yousif et al., 2019; Chourdakis et al., 2010)

The study from Sudan (Yousif et al., 2019) revealed significant relationship between eating behaviors and BMI ($P = 0.01$). University is a period of change and adaptation between adolescence and adulthood. Adolescence represents a key period of brain development. Individual variations in structure and functionality of prefrontal cortex may predispose an individual to the overconsumption of appetitive and calorie-dense foods. At the same time, there are neurobiological and neurocognitive evidence that described the relationship between the structure and functions of the

prefrontal cortex and obesity as reciprocal in nature: the excessive consumption of calorie-dense food can modulate self-regulatory processes of the appetite and behavioral control and can lead to functional changes in the brain (Lowe et al., 2019). The consumption of calorie-dense food in childhood and adolescent period could introduce durable unacceptable eating behaviors in adulthood that underlie adult obesity.

Limitations of this survey were lack of assessment the level of physical activity, which significantly affects BMI; the presence of comorbidities; as well as the fact that students reside for more than 3 years in a host country with a different dietary pattern and problems with dietary acculturation. Whether the students were overweight during childhood and possibly limited access to some of the foods that students consume in their native countries were not assessed. For some of the participants in the study, the period is related to the consumption of lean foods - fasting before a religious holiday.

5. CONCLUSIONS

Medical students have a well knowledge about the requirements of healthy nutrition because they study this discipline, but dietary patterns varied widely. The type of eating patterns, type of cooking and frequency of overeating affect BMI. The time of the first meal likely affects BMI. Frequencies of attempts on diets to lose weight may be related to medical students' self-esteem about appearance (body shape) or suggest that obesity problems started in childhood.

REFERENCES

- Alakaam, A., & Willyard, A.** (2020). Eating habits and dietary acculturation effects among international college students in the United States. *AIMS Public Health*, 7(2), 228–240. <https://doi.org/10.3934/publichealth.2020020>
- Chourdakis, M., Tzellos, T., Papazisis, G., Toulis, K., & Kouvelas, D.** (2010). Eating habits, health attitudes and obesity indices among medical students in northern Greece. *Appetite*, 55(3), 722–725. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.08.013>
- Gutin, I.** (2018). In BMI we trust: Reframing the body mass index as a measure of health. *Social Theory & Health*, 16(3), 256–271. <https://doi.org/10.1057/s41285-017-0055-0>
- Lowe, C. J., Reichelt, A. C., & Hall, P. A.** (2019). The prefrontal cortex and obesity: A health neuroscience perspective. *Trends in Cognitive Sciences*, 23(4), 349–361. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2019.01.005>
- Mogeni, B. K., & Ouma, L. O.** (2022). Dietary patterns, behaviours, and their associated factors among university students in coastal Kenya. *Cogent Food & Agriculture*, 8(1), 2132873. <https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2132873>
- Sprake, E. F., Russell, J. M., Cecil, J. E., et al.** (2018). Dietary patterns of university students in the UK: a cross-sectional study. *Nutrition Journal*, 17(90). <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0398-y>
- Tanton, J., Dodd, L. J., Woodfield, L., & Mzwandile, M.** (2015). Eating behaviours of British university students: A cluster analysis on a neglected issue. *Advances in Preventive Medicine*, 1, 639239. <https://doi.org/10.1155/2015/639239>
- World Health Organization.** (2024, March 1). Obesity and overweight [Internet]. Geneva: World Health Organization. Available from: <http://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>
- Yousif, M. M., Kaddam, L. A., & Humeda, H. S.** (2019). Correlation between physical activity, eating behavior and obesity among Sudanese medical students. *BMC Nutrition*, 5(6). <https://doi.org/10.1186/s40795-019-0271-1>

NUTRITIONAL HABITS AMONG MEDICAL STUDENTS OF DIFFERENT NATIONALITIES IN PLOVDIV

Elka Toseva², Waleed Thathal¹,

Bavisan Jeyakanthan¹, Stanislava Harizanova²

¹ Student of Faculty of Medicine, Medical University of Plovdiv

² Department of Hygiene, Faculty of Public Health,

Medical University of Plovdiv

Abstract: Prolonged residence in a host country other than one's home probably affects the eating pattern. The goal of this study was to analyze the relationship between the diets of university students from different nationalities and effects on BMI. *Materials and methods:* The survey was conducted in 2023 used questionnaire method. We grouped 119 foreign students at the Medical University of Plovdiv into 2 groups due to similarities in dietary regimes: 1. Northern European countries and Germany and 2. Mediterranean countries. *Results:* The mean age of the students was 21.52 ± 2.687 (Mean \pm SD) years. Of them, 56 (47.1%) are female, 63 (52.9%) are male. 87 students (73.1%) were from North countries and 32 students (26.9%) were from typical Mediterranean countries. We found a statistically significant positive association between geographic area and BMI: 29 (90.6%) of students from Mediterranean countries were with normal BMI compared to 59 (67.8%) of students from Northern countries ($\chi^2 = 6.318$, $df = 1$, $p = 0.012$). The main meal for participants from North countries was dinner ($n=53$; 60.9%) compared to 8 (25.0%) of Mediterranean students. 34.48% ($n=30$) of participants from North countries preferred foods with a high sugar content compared to 12.5% ($n=4$) from the Mediterranean. Students from Mediterranean countries prefer fruits ($n=12$; 37.5%), dairy products ($n=4$; 12.5%) and flour-based foods ($n=5$; 15.62%) compared to students from North countries: ($n=26$; 29.89%), ($n=5$; 5.75%); ($n=5$; 5.75%) respectively. *Conclusion:* Nutrition habits are different between North and Mediterranean students and the type of eating pattern affects BMI.

Keywords: BMI, medical students, Mediterranean, North countries, nutrition habits

1. INTRODUCTION

The transition to university life may be associated with increased autonomy over food choice, small food budgets, and exposure to new social groups and food cultures (Sprake et al., 2018). Prolonged residence in a country other than one's home probably affects the eating pattern. An unhealthy diet is a known risk factor for overweight and obesity and increases risks of noncommunicable diseases. Being rich in foods from plant origin, fibers and in unsaturated fatty acids, Mediterranean diet has been associated with health benefits, compared with other developed countries in the world, in which predominate 'Western' eating pattern, characterized by increased consumption of animal products and reduced intake of cereals, fruits, legumes and vegetables (Papadaki et al., 2007).

The goal of this study was to analyze the relationship between the diets of university students from different nationalities and effects on BMI.

2. METHODS AND MATERIALS

The survey was conducted in 2023 using the questionnaire method. 145 students took part in the study. We grouped the medical students into groups by geographical areas, due to similarity in dietary regimes: from countries in North Europe – 87 of the participants (60.0%) from UK, Ireland, Norway, and Germany; Mediterranean students – 32 (22.1%) from Greece, Italy, Cyprus, Croatia,

Portugal; and 26 students (17.9%) from various countries in Europe, Africa and Asia, including students from the extended geographic concept of the North-eastern Mediterranean - Bulgaria, Serbia, Turkey, Syria, Lebanon, etc. (Brauch, 2003).

We excluded from the study 26 students from the third group, as well as those who self-identified from mixed regions. We believe that due to their number and specific (different) dietary regimes, statistically unreliable results are obtained. We grouped 119 foreign students from Medical University of Plovdiv into 2 groups: Northern and Mediterranean countries due to similarities in dietary regimes.

Assessment of overweight and obesity was determined using adults BMI cut-off points.

Processing and analysis of data and results were performed on a computer using routine statistical programs (MS Excel, SPSS v23). Data are expressed as mean \pm standard deviation ($M \pm SD$). Statistical analysis was performed with the Chi-squared test, Fisher's exact test (two-sided hypothesis) for differences between the groups, and Odds Ratio. Differences in results $P < 0.05$ was accepted as level of significance with confidence interval of 95%.

3. RESULTS

In the survey attended 87 (73.1%) medical students from Northern European countries and Germany and 32 (26.9%) students from typical Mediterranean countries. The average age of the students was 21.52 ± 2.687 years old (Mean \pm SD); minimal was 18, maximal was 33. Females were 56 (47.1%), males were 63 (52.9%).

84.90% of medical students from Mediterranean countries were underweight or with normal ranges on BMI, 15.10% were preobese and obese. 56.90% of students from Northern countries and Germany were underweight or with normal ranges on BMI, 43.10% of them were preobese and obese, respectively. We established significant positive association between geographic area and BMI ($\chi^2 = 6.318$, $df = 1$, $p = 0.012$). The Distribution of students according to BMI cut-off points is shown in Table 1.

Table 1. Distribution of students according to BMI cut-off points

BMI ranges (kg/m ²)	From Mediterranean countries	From Northern countries	Total
Underweight (<18.5)	18.8% (n=6)	2.3% (n=2)	6.7% (n=8)
With normal weight (18.5-24.9)	71.9% (n=23)	65.5% (n=57)	67.2% (n=80)
Overweight (25.0-29.9)	6.3% (n=2)	24.1% (n=21)	19.3% (n=23)
Obese (>30.0)	3.1% (n=1)	8.0% (n=7)	6.7% (n=8)

n= number of students

The distribution of international medical students according to BMI, gender and geographical region is shown in figure 1.

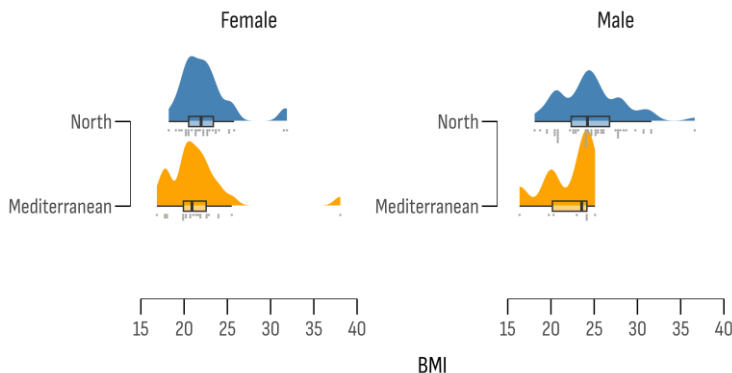


Figure 1. The Distribution of students according to BMI, gender and geographical region

The main meal for participants from North countries was dinner (n=53; 60.9%) compared to 8 (25.0%) of Mediterranean students (fig. 2).

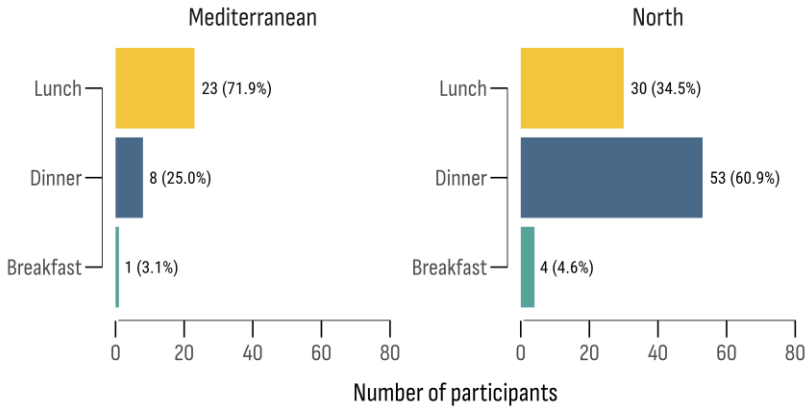


Figure 2. The main meal for students

30 (34.48%) of participants from Northern countries preferred foods with a high sugar content compared to 4 (12.5%) from the Mediterranean. Students from Mediterranean countries prefer fruits (37.5%), dairy products (12.5%) and flour-based foods (15.62%) compared to students from Northern countries: (29.89%), (5.75%); (5.75%) respectively (fig.3).

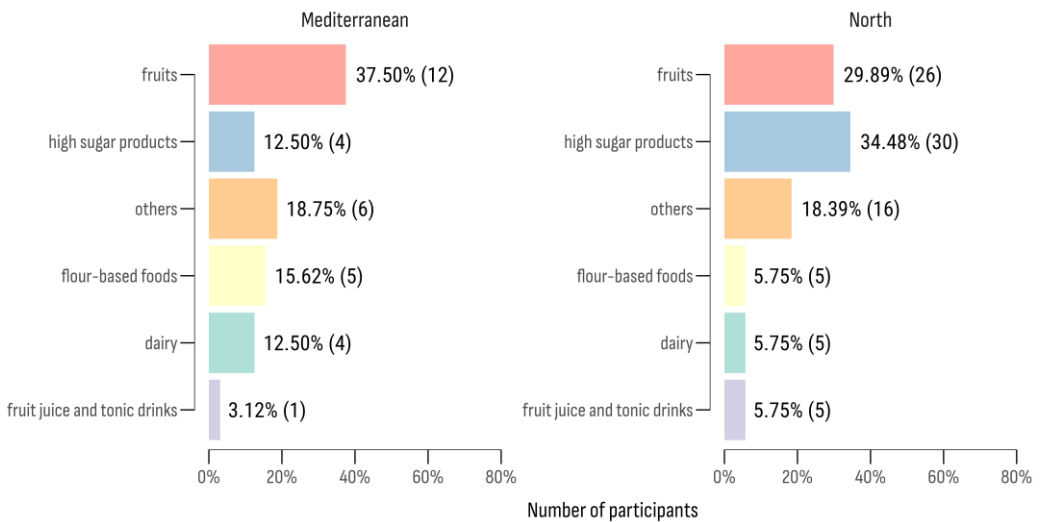


Figure 3. Frequency of different types of food

4. DISCUSSION

The prevalence of obesity among medical students is low in Mediterranean countries compared to those from Northern Europe. This is in opposite to the Eurostat statistic data-2019 from the third European health interview survey (EHIS) which was conducted between 2018 and 2020. The overweight population prevalence /2019/ showed 54% in Ireland, 59% in Finland, 51% in Sweden, 51% in Norway, and 54% in Germany; compared to 58% in Greece, 46% in Italy, 50% in Cyprus, 65% in Croatia, 56% in Portugal. There was no data for the UK (EUROSTAT, 2021).

A study conducted in 2007 among Greek students living away from home showed that they decreased their weekly consumption of fresh fruit, cooked and raw vegetables, oily fish, seafood, pulses and olive oil, and increased their sugar, wine, alcohol and fast-food intake (Papadaki et al., 2007). A study in Italy (Teleman et al., 2015) showed that the eating habits of university students

do not follow national recommendations. Less than 50% of them eat at least 1 portion of fruit per day and less than 1 out of 4 eats at least 2 portions of vegetables per day. Less than 10% of the students eat on average 5 times per day and more than 1 out of 3 does not have breakfast regularly every morning. For students in Italy living away from home frequency of different types of food were characterized by higher consumption of raw vegetables, beer and alcoholic drinks, raw/cold meals, frozen meals and ready meals. Moreover, students living alone perceived that they had a larger body mass (Bagordo et al., 2015). In Belgium, nutrition education, based on non-diet principles and focused on eating competence was found to be effective in the long term to promote healthy eating (Deliens et al., 2016). After lecture series on nutritional medicine about guideline adherence with respect to fruits and vegetables consumption, medical students from Germany showed a significant increased awareness of healthy nutrition. Similar low-threshold approaches, such as “Eat This!”, can positively influence the dietary behaviors and lifestyle habits of medical students (Helbach et al., 2016). Furthermore, this can help future doctors implement their responsibility in preventive medicine

Limitations. The level of physical activity, which also affects BMI, the presence of comorbidities, as well as the fact that students reside for more than 3 years in a country with a different dietary pattern, and possibly limited access to some of the foods that students consume in their native countries, were not assessed.

5. CONCLUSIONS

Medical students have a well knowledge about the requirements of healthy nutrition; but this does not automatically mean healthy food choices and dietary behaviors. Nutrition habits are different between North and Mediterranean students and the type of eating pattern affects BMI.

REFERENCES

Bagordo, F., Grassi, T., Serio, F., Idolo, A., & De Donno, A. (2013). Dietary habits and health among university students living at or away from home in southern Italy. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(3), 164–171.

Brauch H.G. (2003). Security and environment linkages on the Mediterranean space: Three phases of research on human and environmental security and peace. In Brauch H.G., Liotta P.H., Marquina A., Rogers P.F., Selim M. El-S. (Eds.). *Security and environment in the Mediterranean*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, p. 36. ISBN 3-540-40107-5

Deliens, T., Van Crombruggen, R., Verbruggen, S., et al. (2016). Dietary interventions among university students: A systematic review. *Appetite*, 105, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.05.003>

EUROSTAT. (2021). Over half of adults in the EU are overweight. [Internet]. Available from: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/ddn-20210721-2>.

Helbach, A., Dumm, M., Moll, K., et al. (2023). Improvement of dietary habits among German medical students by attending a nationwide online lecture series on nutrition and planetary health (“Eat This!”). *Nutrients*, 15(3), 580. <https://doi.org/10.3390/nu15030580>

Papadaki, A., Hondros, G., A. Scott, J., & Kapsokefalou, M. (2007). Eating habits of university students living at, or away from home in Greece. *Appetite*, 49(1), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.01.008>

Sprake, E.F., Russell, J.M., Cecil, J.E., et al. (2018). Dietary patterns of university students in the UK: a cross-sectional study. *Nutrition Journal*, 17(90). <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0398-y>

Teleman, A. A., de Waure, C., Soffiani, V., Poscia, A., & Di Pietro, M. L. (2015). Nutritional habits in Italian university students. *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, 51(2), 99–105. https://doi.org/10.4415/ANN_15_02_05

RESEARCH AND PREVENTION OF HEALTH CONDITIONS OF HOME OR HYBRID WORKERS IN BULGARIA

Rositsa Markova, Karolina Luybomirova, Marina Samuneva-Zhelyabova
Department Occupational Medicine, Faculty of Public Health,
Medical University of Sofia

Abstract: The goal of the research is developing a mobile app project (PERSONAL HOMEWORK E-HEALTH) and to make health impairment prevention digitally available to home or hybrid workers who would receive timely guidance, training, exercise, and weekly individual statistics. It also aims to identify risks, as a result of the survey analysis, and develop programs and modules in the app for movement, ergonomics, stress, eye exercises, etc.

A subjective study was conducted for this purpose and mixed groups including more than 150 employees from the following professions were surveyed: administration, occupational health services, computer technology workers, insurers, pharmacists, etc. These groups have different working arrangements i.e., working from home or hybrid. They were surveyed through 2 instruments using sociological method - questionnaire and statistical method - descriptive statistics.

Practical application could be realized as a database, for work-from-home or hybrid, for institutions such as Ministry of Labour and Social Policy, Ministry of Health, Working Conditions and Labour Fund, employers' unions, etc.

Keywords: hybrid workers, home workers, prevention, occupational health, working conditions

1. INTRODUCTION

In contemporary Western culture, the health problems of the working population, highlighted in various publications, are seen as a crucial part of public health. In order to properly address occupational health issues, occupational health services (OHS) have been organized in many countries to protect the health of workers [1]. There are differences in the occupational health systems that European Economic Area countries use to implement preventive activities focused on diseases of affluence, as well as in health promotion actions. All European countries have organized OSH [2]. Funding mechanisms are mainly based on the financial participation of employers. In most countries, the main objective of OSH is to certify fitness for work [3]. Occupational health surveillance aimed at occupational risk assessment and health promotion activities that focus on work-related and/or occupational diseases are the most popular [4].

Like all other occupational safety and health risks, those associated with the increasing digitalization of the workplace are preventable and manageable. They can be mitigated by adopting a human-centered and human-controlled approach [5]. There is a need to ensure equal access to information for employers, workers and their representatives. When decisions need to be taken regarding the development, implementation and use of digital technologies and systems, consultation and participation of workers is mandatory. It is important to ensure transparency as to how the digital tool operates - type, impact, benefits and drawbacks [6].

With the increase in the use of digital technologies and the still incomplete knowledge of their impact on work, it is important to raise awareness on how to improve strategies that promote and protect the safety and health of workers. The application of the law to digital workers is more complicated because their employer or intermediary is often located in a different legal jurisdiction [7]. Most workers are contractually classified as independent contractors by these platforms through their terms of service agreements [8]. This can constitute disguised employment wherever workers

lack the autonomy and economic independence to be considered independent workers in national law, leaving them without legal recourse and with limited recourse to challenge their rights [9].

The main purpose of the application will be, besides informative, to be developed towards a training guide for workers, exploring the final outcome and increasing their health literacy [10]. The practical application of the mobile app could be used as a database, for work-from-home or hybrid, for institutions such as Ministry of Labor and Social Policy, Ministry of Health, Working Conditions and Labor Fund, employers' unions, etc.

2. METHODS AND MATERIALS

A subjective survey was carried out for this purpose and mixed groups including over 150 employees from the professions listed were surveyed: administrative and student staff, employer groups, occupational health services, computer technology workers, insurers, pharmacists etc. These groups have different working arrangements i.e., working from home, remotely, from an office or hybrid. They were surveyed through 2 instruments concerning the pandemic period. Sociological method - survey and statistical method - descriptive statistics were used.

3. RESULTS

The organizations studied that have gone teleworking is ensuring that workers have the right technology (organizational or personal). Strategies have been developed to reduce costs in order to hire more workers but save them various types of costs e.g., travel costs. Regarding home office workers, they organize their day better to accomplish their work and personal affairs, which leads to increase their motivation and productivity. The respondents work as follows: attendance: 52%, home office: 4%, hybrid: 44% Blagoevgrad, Varna, Vratsa and one village. Results show 84.4% of them are located on the territory of the capital city – Sofia (Fig. 1).

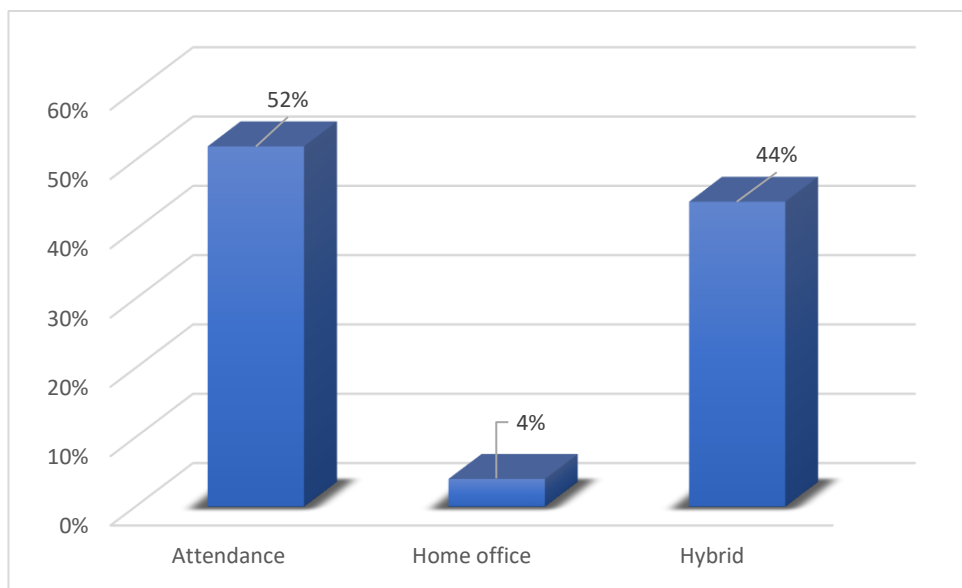


Figure 1

Benefits of the mobile app are reflected in the following: can predispose workers to a feeling of greater safety and are seen from the point of view of: limiting accidents at work. About 49% of respondents would use such a mobile app, and 33.3% would not yet, working in a hybrid/home office, 17,7 % would not use a mobile app (Fig. 2).

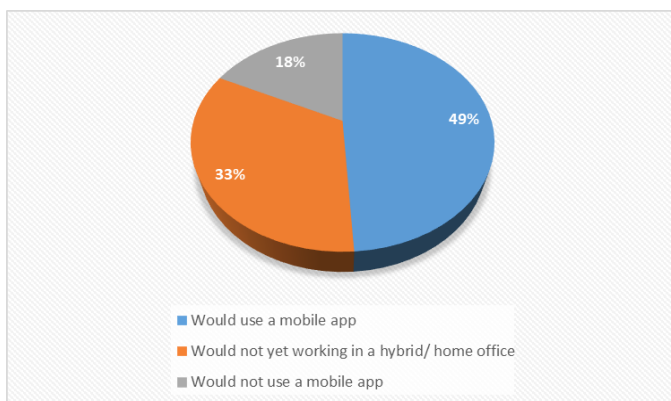


Figure 2

A key step is the introduction of a comprehensive hybrid working policy, including guidelines/assessments as appropriate to the post. Appropriate training on how to use the mobile app for managers and employees on hybrid work needs to be provided. Communication strategy for hybrid working with all employees, including information on how to request hybrid working. Contractual requirements, promotion conditions, etc. are elements that should be given important emphasis. The opinion of the respondents related to the use of the mobile application by the management for future development varies in a post pandemic environment. About 43% felt that it would contribute in their work, at the same time 23.5% of the study group were of the opinion "rather yes" and 33.5% "rather no" (Fig. 3).

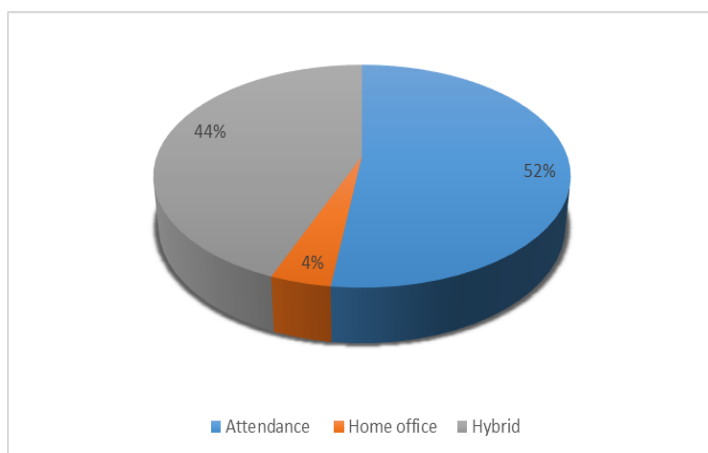


Figure 3

The main objective is to increase access and provide more opportunities for quality learning using the possibilities of digital technologies. The development and deployment of a virtual online learning platform will provide flexible and accessible forms of learning such as online distance learning courses and e-resources for self-directed learning. After the creation and implementation of the virtual e-learning platform under Component 1, all e-learning courses for unemployed and employed persons organized within the framework of the active labor market policy and financed by the state budget and the ESF+ under the Human Resources Development Program will be conducted through it.

4. DISCUSSION

The aim of developing a mobile application project is to contribute to the discussion on the evaluation and analysis of the impact of occupational health services in Bulgaria and quality of life, in the post-COVID-19 pandemic period. To this end, a survey is being conducted targeting

individuals who work most of the time at home (home office) and those who work hybrid (1-2 times a week visiting an office). The activity involves carrying out the process through an innovative and digital way, replacing paper questionnaires.

5. CONCLUSIONS

Occupational health professionals are well placed to carry out actions aimed at health promotion and prevention of a wide range of diseases - not only occupational/work-related but also non-communicable, particularly lifestyle-related diseases of affluence. The involvement of occupational health services (OHS) in the prevention of non-work-related health problems would be valuable [11]. However, it would be inevitable that employers would fund a wider range of services to a greater extent. To this end, a number of programs and frameworks have been established within the EU to maximize uniformity and guidance on the implementation and prevention of illness and injury arising from, related to or occurring in the course of work [12].

REFERENCES

1. Schneider E. EU-OSHÁs perspective on occupational safety and health in the Covid-19 pandemic. Eur J Public Health [Internet]. 2021;31(Supplement_3). Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/eurpub/ckab164.053>
2. Стратегическа рамка на ЕС за здравословни и безопасни условия на труд за периода 2021—2027 г [Internet]. Europa.eu. [cited 2023 Nov 20]. Available from: <https://osha.europa.eu/bg/safety-and-health-legislation/eu-strategic-framework-health-and-safety-work-2021-2027>
3. Safe and healthy work in the digital age [Internet]. Europa.eu. [cited 2023 Nov 20]. Available from: <https://healthy-workplaces.osha.europa.eu/en>
4. Commission recommends recognising COVID-19 as occupational disease in certain sectors and during a pandemic [Internet]. European Commission. [cited 2023 Nov 20]. Available from <https://ec.europa.eu/social/main.jsp?langId=en&catId=89&furtherNews=yes&newsId=10463>
5. EU4Health programme 2021-2027 – a vision for a healthier European Union [Internet]. Public Health. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://health.ec.europa.eu/funding/eu4health-programme-2021-2027-vision-healthier-european-union_en
6. H2020 programme [Internet]. European Climate, Infrastructure and Environment Executive Agency. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://cinea.ec.europa.eu/programmes/horizon-europe/h2020-programme_en
7. ДИРЕКТИВА НА СЪВЕТА от 12 юни 1989 година за въвеждане на мерки за насърчаване подобряването на безопасността и здравето на работниците на работното място (89/391/ЕИО) EUR-Lex - 31989L0391 - EN - EUR-Lex [Internet]. Europa.eu. [cited 2023 Nov 20]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/BG/ALL/?uri=celex%3A31989L0391>
8. Рамкова директива за БЗР [Internet]. Europa.eu. [cited 2023 Nov 20]. Available from: <https://osha.europa.eu/bg/legislation/directives/the-osh-framework-directive/the-osh-framework-directive-introduction>
9. Giszas B, Trommer S, Schüßler N, Rodewald A, Bestehar B, Bleidorn J, et al. Post-COVID-19 condition is not only a question of persistent symptoms: structured screening including health-related quality of life reveals two separate clusters of post-COVID. Infection [Internet]. 2023;51(2):365–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-022-01886-9>
10. Kadenbach K. ДОКЛАД относно Европейски план за действие „Едно здраве“ срещу антимикробната резистентност (AMP) [Internet]. Europa.eu. [cited 2023 Nov 20]. Available from: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0257_BG.html
11. Working time and work-life balance around the world. Geneva: International Labour Office. 2022;
12. Working from home: From invisibility to decent work. 2021 [cited 2023 Nov 20]; Available from: https://www.ilo.org/global/publications/books/forthcoming-publications/WCMS_765806/lang--en/index.htm

РЕГУЛАТОРНА РАМКА ЗА РАЗРЕШЕНИЕ ЗА УПОТРЕБА НА ГЕННИ ТЕРАПИИ В ЕС И САЩ

Юлияна Маринова¹, Костадин Костадинов¹, Костадин Димитров^{1,2},
Елеонора Христова-Атанасова^{1,2}, Георги Искров^{1,2}, Румен Стефанов^{1,2}

¹ Катедра по социална медицина и обществено здраве,
Факултет по обществено здраве, Медицински университет – Пловдив

² Институт по редки болести, Пловдив

REGULATORY FRAMEWORK FOR MARKET AUTHORIZATION OF GENE THERAPIES IN THE EU AND THE USA

Yuliyana Marinova¹, Kostadin Kostadinov¹, Kostadin Dimitrov^{1,2}, Eleonora
Hristova-Atanasova^{1,2}, Georgi Iskrov^{1,2}, Rumen Stefanov^{1,2}

¹ Department of Social Medicine and Public Health,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

² Institute for Rare Diseases, Plovdiv

Abstract: Gene therapies represent a groundbreaking approach to treating a diverse spectrum of diseases, including genetic disorders and cancers. Despite their immense therapeutic potential, the regulatory landscape surrounding gene therapies poses significant challenges.

This review aims to explore the regulatory frameworks governing the market authorization of gene therapies in the European Union (EU) and the United States (US). We juxtapose the primary processes and procedures employed by the European Medicines Agency (EMA) and the US Food and Drug Administration (FDA).

The Public Health Service Act and the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act are primarily responsible for the regulatory oversight of gene therapies in the US. Conversely, in the EU, Regulation (EC) № 1394/2007 on Advanced Therapy Medicinal Products serves as the cornerstone legislation setting up the procedure for market approval of gene therapies. Central to this regulatory process are the Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) within the FDA and the EMA's Committee for Advanced Therapies (CAT).

The burgeoning field of gene therapy research and development necessitates proactive collaboration between regulatory agencies. By fostering scientific and regulatory synergy between the EMA and FDA, we can accelerate the advancement of gene therapy innovations and ensure their timely availability to patients in need.

Keywords: gene therapies, market authorization, regulation, EMA, FDA

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Концепцията за лечение на етиологичната причина за заболяванията, а не на техните симптоми и усложнения, чрез промяна в генетичния код на клетъчно ниво съществува още след откриването на рекомбинантната ДНК (Wirth et al., 2013). Генните терапии (ГТ) са сравнително нов медикаментозен клас предназначен за лечение на широк спектър заболявания, причинени в резултат на патологично изменение в един или няколко гена. ГТ целят дългосрочен терапевтичен ефект чрез въвеждането на нуклеинови киселини в клетките (РНК или ДНК), които да променят патологичната генна секвенция така, че тя да не се транскрибира или транслира, да бъде заменена или поправена с коректна такава или да

добавят генетична последователност при липсващ функционален ген (Directive - 2001/83 - EN - EUR-LEX, n.d.). Въпреки големия лечебен потенциал, ГТ са предизвикателство пред стандартизираната регулация за достъп и оценка на здравните технологии в глобален мащаб.

Цел: Да се представи актуалната регулаторна рамка на ГТ в Европейския съюз (ЕС) и Съединените американски щати (САЩ) чрез сравняване на основните процеси и процедури, използвани от Европейската агенция по лекарствата (European Medicines Agency – EMA) и Американската администрация по храните и лекарствата (US Food and Drug Administration – FDA).

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Докладът е базиран на обзор на регулаторната рамка за разрешение за пазарна употреба на ГТ в ЕС и САЩ.

3. РЕЗУЛТАТИ

В рамките на ЕС ГТ попадат в класификацията на лекарствените продукти за модерна терапия (ЛПМТ), които като отделен клас терапевтични продукти според Директива 2001/83/ЕО се разделят на две основни групи: лекарствени продукти за генна терапия – биологични лекарствени продукти, които съдържат или се състоят от рекомбинантна нуклеинова киселина, използвана или прилагана на хора с терапевтични цели и лекарствени продукти за терапия със соматични клетки – биологични продукти, които съдържат или представляват клетки или тъкани, които са били подложени на съществени манипулации (European Parliament and of the Council, 2001). Чрез последвалия Регламент (ЕО) № 1394/2007 се определят и нов вид ЛПМТ, а именно „продукт, получен чрез тъканно инженерство“, както и комбинирани ЛПМТ, които могат да включват едно или повече активни имплантируеми медицински изделия. Изрично се дефинира, че ЛПМТ не включват ваксините срещу инфекциозни заболявания (European Parliament and of the Council, 2007).

Процедурата за разрешение за пазарна употреба на ГТ в ЕС е централизирана (Pimenta et al., 2021). Фармацевтичните компании, които разработват ГТ, следва да подадат заявление за пазарно разрешение на новия продукт към ЕМА. Комитетът за модерни терапии (Committee for Advanced Therapies) към ЕМА издава първоначалната научна оценка за ефикасността, безопасността и качеството на медицинския продукт, след което Комитетът за лекарствени продукти за хуманна употреба (Committee for Medicinal Products for Human Use) представя доклад и в заключение дава препоръка дали продуктът да бъде одобрен за пазарно разпространение (Carvalho et al., 2017). ЕМА няма правомощия да разрешава пазарен достъп и единствено Европейската комисия (ЕК) може да издава централизирано разрешение за търговия на ГТ, което е валидно във всички държави-членки на ЕС, както и в страните от Европейското икономическо пространство (Detela & Lodge, 2019).

Ролята на ЕМА и на ЕК в реалния пазарен достъп в рамките на ЕС засяга единствено издаването на разрешение за пазарна употреба, докато ценообразуването и решението за заплащане с публични средства са прерогатив на отделните страни членки. Всяка държава-членка на ЕС провежда собствена национална политика по отношение на регулирането на пациентския достъп до ГТ (Coyle et al., 2020).

След разрешението за пазарна употреба, ЕМА продължава да мониторира фармакологичната безопасност на лекарствените продукти чрез специализирания си Комитет за оценка на риска в областта на лекарствената безопасност (Pharmacovigilance Risk Assessment Committee) (EMA, 2018).

Лекарствата и биологичните продукти, предназначени за хуманна употреба в САЩ, са под юрисдикцията на FDA, администрация към Департамента на здравеопазването и човешките услуги на САЩ (Department of Health and Human Services) и се регулират чрез набор от федерални закони и специални разпоредби – Кодекса на федералните разпоредби (Code of Federal Regulations), Федералния закон за храните, лекарствата и козметиката (Federal Food, Drug and Cosmetic Act) и Закона за общественото здравеопазване (Public Health Service Act) (Research, 2023a). FDA дефинира ГТ като биологичен продукт, който модифицира или манипулира експресията на ген или променя биологичните свойства на

живите клетки за терапевтични цели. Подобно на ЕС, и в САЩ ГТ са ясно разграничени от продукти, съдържащи човешки клетки, тъкани и продукти на клетъчна и тъканна основа и дефинирани като „изделия, съдържащи или състоящи се от човешки клетки или тъкани, предназначени за имплантиране, трансплантация, инфузия или прехвърляне в човешки реципиент“. Последната категория медицински продукти не се считат за биологични продукти и не се третират като ГТ (CFR - Code of Federal Regulations Title 21, n.d.).

FDA се състои от девет организации, от които Центърът за оценка и изследване на биологични продукти (Center for Biologics Evaluation and Research – CBER) контролира клиничните изпитвания на нови лекарства и обществено достъпните биологични продукти, включително кръв, ваксини, алергени, човешки клетки или тъкани, като за генните и клетъчни терапии е специализиран Офисът по терапевтични продукти (Office of Therapeutic Products – OTP), преобразувана и разширена нова структура – наследник на Офиса по тъканни и съвременни терапии (Office of Tissue and Advanced Therapies) в рамките на CBER (Hampson et al., 2018; Research, 2023b). OTP отговаря за първоначалната класификация на новите медицински продукти и тяхната оценка, въз основа на които CBER предоставя проактивни научни и нормативни препоръки на медицински изследователи и производители в областта на разработването на нови продукти. За разлика от Европа, в САЩ след разрешението за употреба FDA работи в колаборация с CBER и двете институции отговарят както за оценката, така и за последващите клинични проучвания с хора (Iglesias-Lopez et al., 2021).

По отношение на ваксините САЩ включват като ГТ ваксините срещу онкологични заболявания, но подобно на ЕС ваксините за инфекциозни заболявания като HIV, дори и притежавайки всички качества на ГТ продукти, се третират от отделни разпоредби и отделна структура – Офисът за проучване и надзор на ваксини (Office of Vaccines Research and Review) към CBER (Research, 2023a).

4. ДИСКУСИЯ

Чрез въвеждане на ускорени процедури за разглеждане на ГТ и различните видове разрешителни за употреба в ЕС (Условно разрешение и Разрешение при изключителни обстоятелства), както и програмите за въвеждане на иновативни продукти и отделянето им в специални подзаконовни разпоредби в САЩ (напр. Ускорена процедура за лекарствени продукти – Fast Track Designation, Ускорена процедура за иновативни терапии – Breakthrough Therapy Designation, Процедура за модерни терапии за регенеративна медицина, Закон за Лекарствата през XXI век, 2016 г.), усилията са насочени към гарантиране на по-бърз пациентски достъп до терапиите и приоритетно задоволяване непосредствените медицински нужди в обществото (Iglesias-Lopez et al., 2021).

Специфичността и новостта на ГТ поставя регулаторните рамки за разрешение за пазарна употреба пред множество предизвикателства, което логично води и до постоянни нормативни промени. В ЕС, за разлика от САЩ, поради многонационалната структура и различните здравни системи в страните членки, получаването на разрешение на ниво общност само по себе не гарантира достъп на пациентите. От друга страна, множеството различни платци на здравни услуги в САЩ затрудняват реимбурсирането и равния достъп до терапиите, което отново може да доведе до своеобразен пазарен „провал“ на ГТ (Jørgensen & Kefalas, 2021; Yu et al., 2018).

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разрешението за пазарна употреба на ГТ, както и критериите и механизмите за това, зависят до голяма степен от правилната класификация и оценка според спецификата на продуктите. ЕМА, както и FDA, предлагат множество работни срещи и консултации между техни специалисти и кандидатите за разрешенията за пазарна употреба с цел подобряване на диалога между производители и регулатори. Правилното определяне на технологията на действие и терапевтична полза от страна на производителите и подобряването на механизмите на регулация, оценка и механизми за реимбурсиране от страна на здравните власти са от ключово значение както за бързия пазарен достъп, така и за стимулирането на развойната дейност в областта, която да доведе до повече ефективни продукти и по-широка

употреба на ГТ в реалната клинична практика.

ЛИТЕРАТУРА

Carvalho, M., Sepodes, B., & Martins, A. P. (2017). Regulatory and Scientific Advancements in Gene therapy: State-of-the-Art of Clinical Applications and of the supporting European Regulatory Framework. *Frontiers in Medicine*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00182>

CFR - Code of Federal Regulations Title 21. (n.d.). U.S. Food and Drug Administration. Retrieved May 22, 2024, from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=1271.3>

Coyle, D., Durand-Zaleski, I., Farrington, J., Garrison, L. P., Von Der Schulenburg, J. G., Greiner, W., Longworth, L., Meunier, A., Moutié, A., Palmer, S., Pemberton-Whiteley, Z., Ratcliffe, M., Shen, J., Sproule, D., Zhao, K., & Shah, K. (2020). HTA methodology and value frameworks for evaluation and policy making for cell and gene therapies. *The European Journal of Health Economics*, 21(9), 1421–1437. <https://doi.org/10.1007/s10198-020-01212-w>

Detela, G., & Lodge, A. (2019). EU regulatory Pathways for ATMPs: Standard, Accelerated and Adaptive Pathways to Marketing Authorisation. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*, 13, 205–232. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.01.010>

EMA. (2018, September 17). Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) - European Medicines Agency. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/committees/pharmacovigilance-risk-assessment-committee-prac>

European Parliament and of the Council. (2001, November 28). Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. In European Parliament and of the Council. Retrieved May 22, 2024, from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A32001L0083>

European Parliament and of the Council. (2007, December 10). Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. In European Parliament and of the Council. Retrieved May 22, 2024, from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32007R1394>

Hampson, G., Towse, A., Pearson, S. D., Dreitlein, W. B., & Henshall, C. (2018). Gene therapy: evidence, value and affordability in the US health care system. *Journal of Comparative Effectiveness Research*, 7(1), 15–28. <https://doi.org/10.2217/cer-2017-0068>

Iglesias-Lopez, C., Obach, M., Vallano, A., & Agustí, A. (2021). Comparison of regulatory pathways for the approval of advanced therapies in the European Union and the United States. *Cytotherapy*, 23(3), 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.11.008>

Jørgensen, J., & Kefalas, P. (2021). The use of innovative payment mechanisms for gene therapies in Europe and the USA. *Regenerative Medicine*, 16(4), 405–422. <https://doi.org/10.2217/rme-2020-0169>

Pimenta, C., Bettiol, V., Alencar-Silva, T., Franco, O. L., Pogue, R., Carvalho, J. L., & Felipe, M. S. S. (2021). Advanced therapies and regulatory framework in different areas of the globe: past, present, and future. *Clinical Therapeutics*, 43(5), e103–e138. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2021.02.006>

Research, C. F. B. E. A. (2023b, June 14). Interactions with Office of Therapeutic Products. U.S. Food and Drug Administration. Retrieved May 22, 2024, from <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/interactions-office-therapeutic-products>

Research, C. F. B. E. A. (2023a, March 20). Cellular & Gene Therapy Products Research, 2023a. U.S. Food and Drug Administration. Retrieved May 22, 2024, from <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products>

Wirth, T., Parker, N. R., & Ylä-Herttuala, S. (2013). History of gene therapy. *Gene*, 525(2), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>

Yu, T. T. L., Gupta, P., Ronfard, V., Vertès, A. A., & Bayon, Y. (2018). Recent progress in European advanced therapy medicinal products and beyond. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00130>

HEALTH RELATED QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

Boryana Levterova

Department of Health Management and Healthcare Economics,
Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: Tuberculosis (TB) continues to be an important public health problem and a major cause of morbidity and mortality globally. According to World Health Organization (WHO) in 2023, 10.6 million new TB cases were detected around the world and a total of 1.3 million people died from this infectious disease. The impact of any illness, especially a chronic like tuberculosis, is often all-encompassing, affecting not only an individual's physical health but also his psychological, economic, and social well-being. QoL is a broad and complex multidimensional concept that incorporates physical, social, psychological, economic, and other domains. The aims of this review were to identify self-reported HRQoL tools used in TB research and to explore factors linked to patients' QoL. A lot of focus in TB programs is placed on the outcomes of microbiological cure and mortality, while the importance of health-related quality of life is often underestimated. Assessing the health-related quality of life of patients with tuberculosis could enhance our understanding of the impact of the disease. HRQoL might play a crucial role in affecting treatment outcomes.

Keywords: Health-Related Quality of Life (HRQoL), tuberculosis (TB), Tools, World Health Organization Quality of life-BREF (WHOQoL)

1. INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is a prevalent and long-lasting lung disease that continues to pose a significant public health challenge worldwide. According to the World Health Organization (WHO) in 2023, there were an estimated 10.6 million new cases of TB and 1.3 million deaths from TB among HIV-negative individuals (WHO, 2023). It's important to note that about 90% of patients with active TB disease can be cured with appropriate treatment. However, treating active TB requires prolonged therapy with multiple drugs, which may lead to adverse reactions and raise concerns about the costs and outcomes of TB. Many aspects of TB and its treatment can compromise patients' quality of life (Aleikova et al, 2010; Aggarwal, 2019).

Assessing patient-reported outcomes (PROs) has become increasingly valued in the management of chronic diseases and for evaluating outcomes. Health-related quality of life (HRQL) is a complex type of PRO that evaluates health status. Quality of life (QoL) emphasizes an "individual's perception of their position in life in the context of the value systems and culture in which they live and about their expectations, goals, standards, and concerns" (WHO, 1995). This makes it difficult to assess patients QoL. HRQoL has gained increasing interest and has been evaluated in many chronic diseases, including tuberculosis (Yordanova et al. 2014; Novakova et al., 2017; Damyanov et al., 2020; Yasobant et al., 2022).

When measuring Health-Related Quality of Life (HRQoL), two types of instruments are commonly used: generic and disease-specific. Generic instruments are developed to cover important aspects of health and can be used to assess and compare HRQL across different health conditions and sub-populations (Bauer, 2013). In contrast, disease-specific instruments are designed to reflect the unique problems most relevant to a specific disease and its treatment. In theory, disease-specific instruments are more precise and sensitive to small but potentially important differences or changes in HRQL compared to generic instruments. There is also a special category of generic HRQL instruments that assess "preferences" for certain health states. These instruments summarize the

quality of life into a single utility score, reflecting the 'value' people place on a health state, anchored at 0 (death) and 1 (full health). Health utility measurements are often used in health economic studies (Brown, 2015).

Active TB disease exerts a substantial toll on the Quality of life—ranging from somatic symptoms related to disease and treatment to psychological distress from social isolation and stigmatization (Aggarwal, 2019). There is considerable social rejection by the immediate family and social stigma associated with TB, leaving the individual feeling shunned and isolated (Yasobant, 2022). Health-related quality of life (HRQoL), as reported by patients, is therefore highly relevant to understanding and quantifying the true impact of TB.

The aims of this review were to identify self-reported HRQoL tools used in TB research and to explore factors linked to patients' QoL.

2. MATERIAL AND METHODS

A systematic literature search was performed using the following electronic databases: Medline, EMBASE, and Google Scholar. Keyword searching and/or subject searching were performed, if applicable. The following keywords were used: tuberculosis (TBC), Quality of Life (QoL), Health Quality of Life Years (HRQoL), health utility, health status, life quality, and well-being. The limit feature was used to select human studies published between June 2014 and June 2024 written in English. Including criteria: (1) HRQL instruments could be either generic or disease (or condition) -specific; (2) have psychometric properties such as reliability and validity reported from previous studies; (3) self-reported.

3. RESULTS

Different questionnaires and scales have been utilized to evaluate self-rated HRQoL in TB patients and patients with tuberculosis (Khan et al., 2017). Some questionnaires provide a holistic assessment of HRQoL, while others focus on specific domains, such as physical or emotional well-being. HRQoL tools can be either generic or disease specific. Commonly used instruments to assess QoL in TB patients include the Short Form 36 (SF-36), the EQ-5D, and the abbreviated World Health Organization Quality of Life scale (WHOQOL-BREF) (Khan et al., 2017; Yasobant et al., 2022).

Many different instruments have been used to evaluate HRQoL in TB, though none are designed specifically for TB (Table 1).

Table 1. Instruments used to assess quality of life in TB

Name of instrument	Comments
<i>General quality of life instruments</i>	
Brief Disability Questionnaire (BDQ)	11-item scale; higher scores indicate worse HRQOL
Duke Health Profile (DUKE)	63 items evaluating symptoms and physical, social, and emotional function; higher scores indicate better HRQOL
Euro-QoL (EQ 5D)	5 domains each ranked with a 3-point scale; higher scores indicate better HRQOL
General Health Questionnaire 12 (GHQ 12)	Modified version of the General Health Questionnaire 60. Each item ranked with a 4-point Likert scale; higher scores indicate worse HRQOL
Health Utilities Index 2 (HUI 2)	7 items, each with 3 to 5 levels, used to calculate overall health utility function from 0 (death) to 1 (perfect health)
Health Utilities Index 3 (HUI 3)	8 items, each with 5 to 6 levels, used to calculate overall health utility function from 0 (death) to 1 (perfect health)
SF-36 Health Survey (SF-36)	36 items covering physical and mental wellbeing. Scores from 0–100, with higher scores indicating greater HRQOL
Sickness Impact Profile (SIP)	136 items evaluating personal and social impact of illness; a score of >10 indicates severe dysfunction
Symptoms Check List (SCL-90)	90 items in 9 domains used to calculate three global indices of global severity index, positive symptom total, and positive symptom distress index; higher scores indicate worse HRQOL
Visual Analogue Scale (VAS)	Subjects mark on a scale where they rate their own health, either using a

	10-cm scale (0 cm = death, 10 cm = perfect health) or a 100-cm 'feeling thermometer'
World Health Organization's Quality of Life-BREF (WHOQOL-BREF)	26 items comprising 5 domains (physical health, psychological health, social relationships, environment) ranked on a 5-point Likert scale; higher scores indicate better HRQOL
<i>Disease or system-specific instruments</i>	
St. George Respiratory Questionnaire Short Form (SGRQ)	50 items in 3 domains (symptoms, activity, and impacts) specific to respiratory illnesses and originally developed to assess patients with airways disease
World Health Organization's Quality of Life – HIV (WHOQOL-HIV)	Modified version of the WHOQOL-100 used for patients with HIV; higher scores indicate better HRQOL
DR-12	TB-specific quality of life score with 12 items each ranked on a scale of 1–3; higher scores indicate better HRQOL
MOS-HIV	35-item questionnaire validated to assess quality of life in HIV-infected individuals

HRQOL, health-related quality of life

In Bulgaria, the most frequently used questionnaires for measuring the quality of life in patients with chronic diseases are SF-36 and EQ-5D (Yordanova et al., 2014; Naseva et al., 2015; Vankova et al., 2016; Doneva et al., 2022).

Factors Associated with HRQoL in TB

Several studies have found that patients with active TB report lower Health-Related Quality of Life (HRQoL) compared to patients with latent TB, previously cured TB, or healthy controls. The psychological domain is more negatively affected than the physical domain among patients with active TB. A meta-analysis by Bauer et al. showed a significant improvement in HRQoL during the initial treatment period in patients with active TB. Overall, QoL appears to be largely independent of age and gender (Yasobant et al., 2022; Paskaleva et al., 2022). However, some studies reported a negative correlation between advancing age and QoL. Among women, some studies reported worse QoL (Brown et al., 2015). Higher education had a significant positive impact on the mental domain of HRQoL. The HRQoL differed between developing and developed countries based on their socio-demographic and economic conditions (Khan et al., 2017)). Tuberculosis has a socio-economic impact on patients and their families. The determinants of HRQoL among patients with TB can be found in Figure 1.

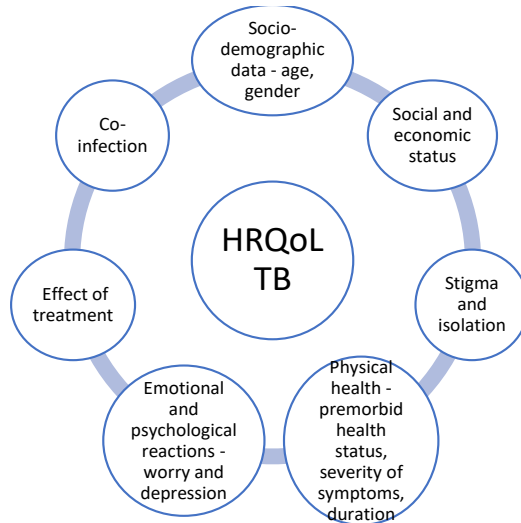


Figure 1. Determinants of HRQoL among patients TB

In high-burden settings, HIV co-infection is one of the key risk factors for tuberculosis development, escalating the susceptibility to primary infection, reinfection, and risk of reactivation

of TB in patients with latent TB (Yasobant et al., 2022). Some studies have shown that additional health conditions like undernutrition or diabetes mellitus can affect the treatment process for TB (Khan et al., 2017). However, there is not enough evidence to support the idea that having additional health conditions further deteriorates HRQoL.

4. DISCUSSION

There is a lack of validated instruments specifically for assessing the health-related quality of life for tuberculosis TB patients. As a result, a variety of tools have been used in studies involving TB patients. Research indicates that TB patients experience impaired overall well-being and HRQoL in all domains (Bauer et al., 2013; Brown et al., 2015). The economic burden of reduced work capacity, social stigmatization, and psychological issues may further deteriorate HRQoL in this population (Yasobant et al., 2022). Additionally, co-infected individuals (TB-HIV) have reported lower HRQoL compared to patients with only TB (Khan et al., 2017; Yasobant et al., 2022). TB co-infection exacerbates HIV symptoms and disease progression, which can further deteriorate HRQoL. Furthermore, studies have found that TB patients are negatively impacted by comorbidities such as undernutrition, diabetes mellitus (DM), anemia, or HIV infection (Yasobant et al., 2022).

5. CONCLUSIONS

In conclusion, there are no specific tools available to assess the Health-Related Quality of Life in patients with tuberculosis. The authors suggest the development, standardization, and validation of a TB-specific QoL assessment tool. Studies have shown that patients with active TB generally report lower HRQoL compared to those with latent TB, previously cured TB, untreated individuals, or healthy controls. Additionally, TB patients co-infected with HIV tend to report even lower QoL. However, it is unclear whether the presence of other medical conditions further worsens HRQoL. While anti-TB treatment can lead to improved HRQoL, it's important to note that adverse drug reactions may sometimes lead to its deterioration. These findings can be used to inform the development of appropriate policies aimed at addressing HRQoL issues in TB patients.

REFERENCES

- Aggarwal, A. N.** (2019). Quality of life with tuberculosis. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, 17, 100121.
- Alekova, S., et al.** (2010). Socially significant diseases and their frequency in general medicine. *Trakia Journal of Science*, 8(2), 369–373.
- Bauer, M., et al.** (2013). A systematic review and meta-analysis of the impact of tuberculosis on health-related quality of life. *Quality of Life Research*, 22, 2213–2235.
- Brown, J., et al.** (2015). Health status and quality of life in tuberculosis. *International Journal of Infectious Diseases*, 32, 68–75.
- Damyantov, V., et al.** (2020). Study on the quality of life in patients with Parkinson's disease. *Bulgarian Journal of Public Health*, 12(1), 21–28.
- Doneva, M., et al.** (2022). Quality of life, control of treatment and satisfaction of patients with asthma in Bulgaria: A pilot study. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36(1), 481–488.
- Khan, S., et al.** (2017). Health status and quality of life in tuberculosis: Systematic review of study design, instruments, measuring properties, and outcomes. *Health Science Journal*, 11(1), 1.
- Naseva, E., et al.** (2015). Health-related quality of life – A comparison of EQ-5D index calculation methods. *General Medicine*, 16(3), 3–8.
- Novakova, S. M., et al.** (2017). Quality of life improvement after a three-year course of sublingual immunotherapy in patients with house dust mite and grass pollen-induced allergic rhinitis: Results from real life. *Health and Quality of Life Outcomes*, 15, 1–6.
- Paskaleva, T., et al.** (2022). Self-management of the elderly and the old – Efficiency and significance. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(B), 2070–2075.
- Vankova, D., et al.** (2015). Researching health-related quality of life at a community level: Results from a population survey conducted in Burgas, Bulgaria. *Health Promotion International*, 31(3), 534–541.

WHO. (1995). World Health Organization Quality of Life assessment (WHOQOL): Position paper from the World Health Organization. *Social Science & Medicine*, 41, 1403–1409.

WHO. (2023). Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization. Available online: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373828/9789240083851-ng.pdf> (accessed on July 5, 2024).

Yasobant, S., et al. (2022). Health-related quality of life (HRQoL) of patients with tuberculosis: A review. *Infectious Disease Reports*, 14(4), 509–524.

Yordanova, S., et al. (2014). Comparison of health-related quality-of-life measurement instruments in diabetic patients. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(4), 769–774.

KNOWLEDGE AND PERCEPTION OF VIDEO-BASED DIRECTLY OBSERVED THERAPY AMONG PATIENTS WITH ACTIVE TUBERCULOSIS

Kristyan Hristov¹, Boryana Levterova²

¹ Student, Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv;

PhD – student, Department of History and Theory of Culture, Faculty of Philosophy, Sofia University "St. Kliment Ohridski"

² Department of Health Management and Healthcare Economics, Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: Tuberculosis (TB) is one of the major challenges for health systems worldwide. Every year, TB affects more than 10 million people and kills more than 1.3 million people. According to the report of the World Health Organization (WHO) in Bulgaria for 2022 there were 1100 (16% per 100,000) newly diagnosed tuberculosis cases under 18 years of age and 2.1% new cases of multidrug-resistant tuberculosis. Non-adherence/non-treatment of TB may prolong transmissibility, increase the risk of drug resistance and lead to patient death. Video-based directly observed therapy (vDOT) is a technological alternative to conventional directly observed treatment (DOT). The pilot study was conducted to assess knowledge and perception of video-based directly observed therapy among patients with active tuberculosis. Material and methods: A total of 30 patients with active TB were enrolled in this single-center, cross-sectional study between November 2023 - January 2024 in Sofia, Bulgaria. All the participants completed supplemented WHOQOL – BREF Bulgarian version tool and their demographic and disease characteristics were investigated. Results: The mean age of the participants was 51.5 ± 9 years, 12 were married (38.7%), and 16 were men (51.6%). The duration of disease was less than 6 months in 23 (74.2%) patients. Most (80.7%) lived in cities. Declared levels of education and income were low overall, but most participants had health insurance. The majority of them (87.1%) owned smartphones. Conclusion: Further research investigating how to improve compliance with treatment and quality of life among patients receiving vDOT is now needed.

Keywords: knowledge, perception, tuberculosis, video-based directly observed therapy (vDOT)

1. INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is a global pandemic that causes nearly two million deaths annually (WHO, 2023). In Bulgaria, the incidence rates of TB have steadily decreased from 39.1 per 100,000 in 2006 to 18.5 per 100,000 in 2019, according to data from the national program (Doan et al., 2019; MH, 2021; Alekova, 2010) (Fig. 1,2). Although TB is treatable, poor medication adherence leads to ongoing transmission, disease progression, and the development of drug-resistant strains. The COVID-19 pandemic has caused widespread disruptions to TB care and service delivery, setting back progress in the fight against TB by several years (Myburgh et al., 2023; Lilov et al., 2024). Treating drug-resistant TB requires longer regimens with costlier, more toxic, and less effective drugs, emphasizing the need for reliable treatment adherence monitoring (Uplekar, 2006; Kireva et al, 2015; Panaiotov et al, 2022). Strict adherence has become increasingly important because new short-course and intermittent treatment regimens have lower tolerance for adherence gaps (Milanov et al., 2015). Preventing acquired resistance to new drugs developed to treat multidrug-resistant and extensively drug-resistant TB is crucial for preserving gains made in this area (Myburgh et al.,

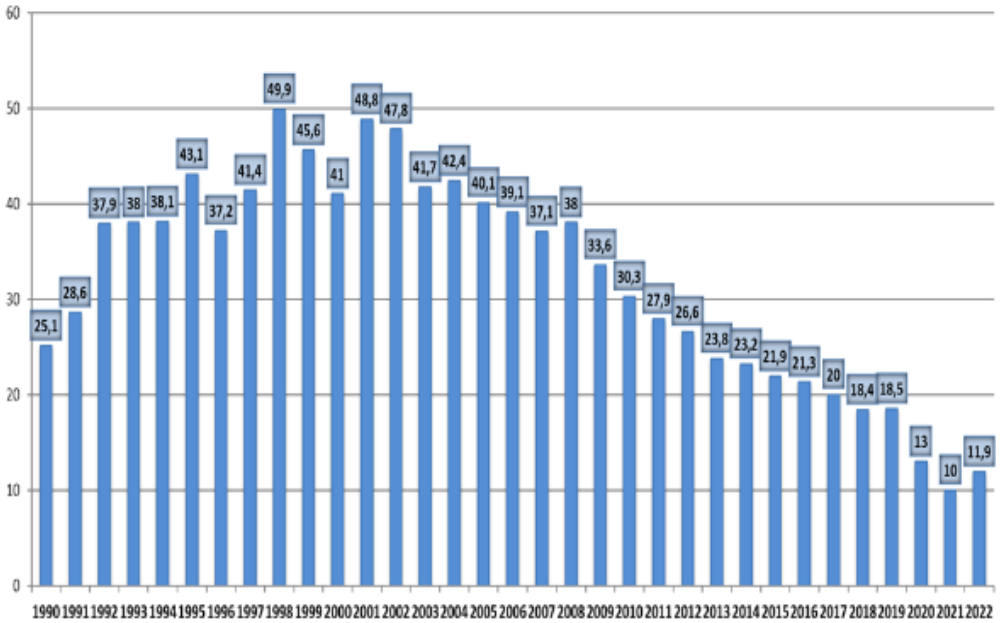


Figure 1. Incidence of tuberculosis in Bulgaria (1990-2022) (Ministry of Health, 2021).

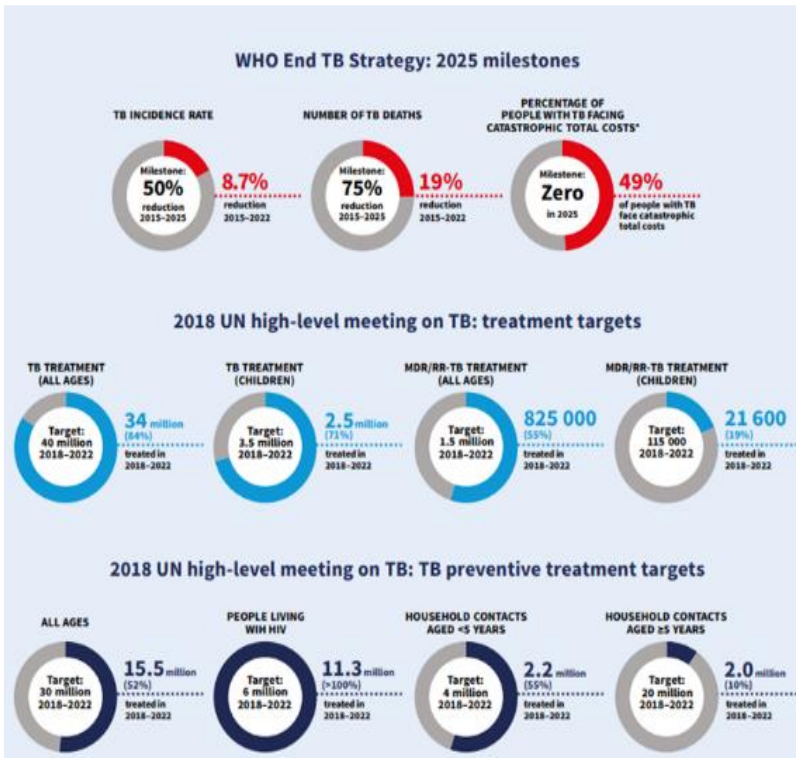


Figure 2. Progress on milestone targets for 2025 under the WHO End TB Strategy (WHO, 2023)

Health agencies recommend directly observed therapy (DOT) to ensure that patients adhere to their medication regimen (WHO, 2023). Although DOT is considered the preferred method for adherence monitoring by health agencies including the World Health Organization, varying degrees

of effectiveness have been reported from delivery of DOT through home visits by DOT workers, patients visiting clinics, and trusted family or community members performing observations (Uplekar, 2006; Kireva et al., 2015; Kilova et al., 2020; Yaneva et al., 2022; WHO, 2023).

This method, known as video-directly observed therapy (VDOT), involves live monitoring through videophones, computers, or smartphones. Research on synchronous VDOT shows that patients tend to adhere to their treatment plans and generally prefer VDOT over traditional in-person DOT. Additionally, VDOT has been shown to be cost-effective for TB programs (Doan et al., 2019; WHO, 2023).

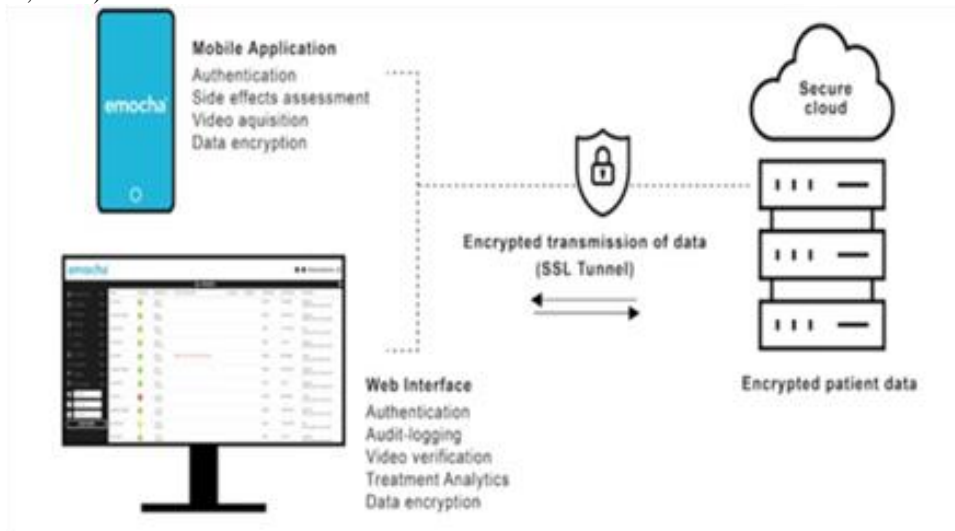


Figure 3. Data flow and security with the vDOT (Holzmann, 2018)

The study was conducted to assess the knowledge and perception of potential benefits and barriers of using VDOT among patients with active TB in Sofia, Bulgaria.

2. METHODS AND MATERIALS

We conducted a pilot descriptive study in Sofia, Bulgaria from December 21, 2023, to January 16, 2024. The study included 31 patients with active TB at a single center. During the study, the participants completed the Bulgarian version of the WHOQOL-BREF tool, which consists of 26 items. This instrument derived from the WHOQOL-100. The WHOQOL-BREF questionnaire contains two items from the Overall QOL and General Health and 24 items of satisfaction that divided into four domains: Physical health with 7 items, psychological health with 6 items, social relationships with 3 items and Environmental health with 8 items. Each item is rated on a 5-point Likert scale. Raw domain scores for the WHOQOL were transformed and higher scores denote higher QOL (WHO, 1996).

All the data were entered into Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Version 22) software and Microsoft Office 365. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant.

3. RESULTS

Of the participant with active tuberculosis, the mean age was 51.5 years (SD = 9); 51.6% of the sample was men, and more than half of them have secondary education (Fig. 4,5).

The frequency of Internet use among the participants, shown in Fig. 6, indicates that daily use is the most widespread - 58.1% (n=18) of all participants gave this answer, followed by its frequent use between 3 and 5 times a week - 12.9% (n=4). With low values are the infrequent weekly use of the Internet (6.5%, n=2), that which is once a month - 9.7% (n = 3), as well as the participants who do not use the Internet (6.5%, n = 2).

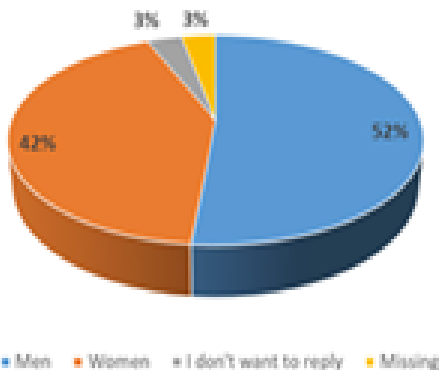


Figure 4. Distribution of the respondents by sex

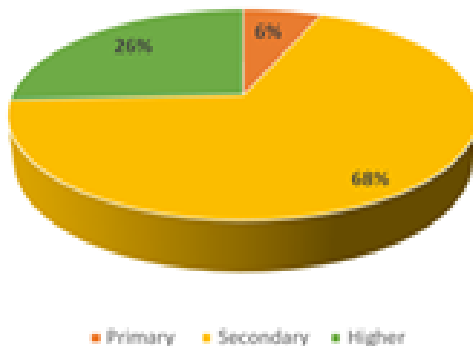


Figure 5. Distribution of the respondents by completed educational degree

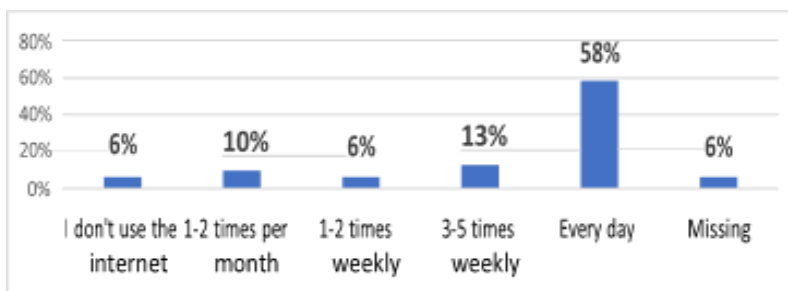


Figure 6. Distribution of respondents by frequency of the Internet usage

Among the most frequently used types of electronic devices for accessing the Internet, the mobile phone ranks indisputably at first place - 87.1% (n=27), while the share of those who also use a stationary computer or laptop is minimal - respectively 6.5% (n=2) or 3.2% (n=1), along with the same result for the answer "Other" (Fig. 7).

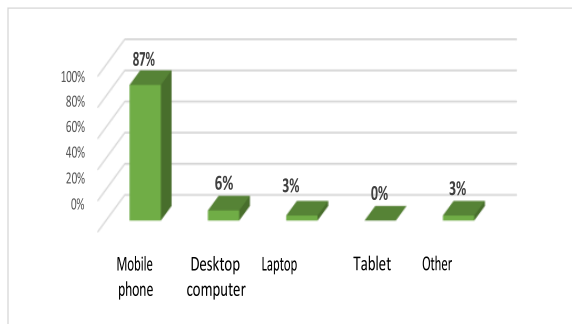


Figure 7. Distribution by the type of device used to connect to the Internet

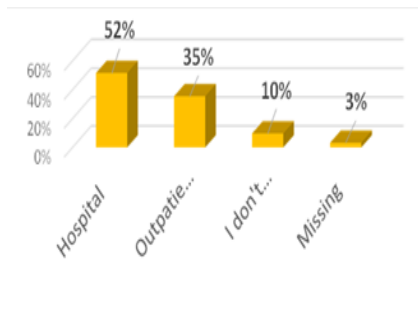


Figure 8. Distribution of respondents according to the localization of their treatment

The majority of the participants - 48.4% (n=15) – had started their treatment very recently (0-3 months), while ¼ of all participants (25.8%, n=8) had been receiving such for second trimester (4- 6 months) (Fig. 8). The distribution of the received answers regarding the place of treatment of the research participants shows that the vast majority of them are treated within the medical facility - 51.6% (n=16), while approximately 1/3 of them (35.5%, n=11) receive their treatment in the outpatient clinic of the medical facility (office). The proportion of those who refused to answer this question for any reason was 13% (n=4). Regarding the possibility of receiving TB treatment at home using various Internet-connected mobile devices, approximately 1/3 of all participants (32.3%, n=10) stated that they would rather agree to do so.

4. DISSCUSION

Regarding the attitudes of the participants towards the implementation of a technical innovation that aims to make them more mobile, more independent and responsible for their treatment, as well as to significantly relieve the hospital staff, the study showed that among a large proportion of patients there is a lack of motivation to accept the proposed intervention. This result shows that there is a need for public policies in the field of surveillance and control of infectious diseases to be carried out within the framework of a better awareness among the groups affected by them and to seek their connection with more general subjective assessments of QoL. Another important aspect of tuberculosis, when considering the impact on the quality of life of affected patients, is its stigmatization, leading to discriminatory practices. Tuberculosis has a rich social history, during which certain practices and behaviors associated with it have become stigmatized (Angelova, 2021). The implementation of VDOT aims to accomplish two primary objectives: restoring patients' health and optimizing the efficiency of healthcare services.

5. CONCLUSIONS

The implementation of various innovations in the tuberculosis treatment, such as video-monitored treatment as recommended by the WHO, creates the possibility of encountering negative attitudes of patients, which necessitates a better study of them in order to apply measures to overcome them. Such measures could be the implementation of a targeted information campaign among tuberculosis patients throughout the country and among the hospital staff of specialized medical institutions, in order to seek the intersection between the two main groups that should implement the specific public policy. Epidemiological surveillance, control and prevention of tuberculosis in its various forms should remain a long-term state commitment to ensure the sustainability of the achieved results and to minimize the possibility of a permanent regional increase in the incidence and morbidity of tuberculosis. The preservation of the good practices tested since the beginning of the present century in the course of the implemented national programs would help to achieve the necessary efficiency and effectiveness in the use of the available public resources.

ACKNOWLEDGMENTS: The authors extend their sincere appreciation to Kiril Palaveev, MD and the dedicated team at "SHATPPD-Sofia region" LTD for their invaluable assistance.

REFERENCES

- Alekova, S., Slavova, V., Platikanova, M., & Parashkevova, B.** (2010). Socially significant diseases and their frequency in general medicine. *Trakia J Sci*, 8(2), 369-373.
- Angelova, M.** The social disease: tuberculosis in Bulgaria in the first half of the 20th century", UI "Neofit Rilski", Blagoevgrad, 2021.
- Doan, T. N., Varleva, T., Zamfirova, M., et al.** (2019). Strategic investment in tuberculosis control in the Republic of Bulgaria. *Epidemiology and infection*, 147, e304.
- Holzman, S. B., Zenilman, A., & Shah, M.** (2018). Advancing Patient-Centered Care in Tuberculosis Management: A Mixed-Methods Appraisal of Video Directly Observed Therapy. *Open forum infectious diseases*, 5(4), ofy046.
https://www.mh.government.bg/media/filer_public/2021/08/09/nacionalna-programa-prevenicq-kontrol-tuberkuloza-2021-2025.pdf
- Kilova, K., Bakova, D., Yaneva, A., & Mihaylova, V.** (2020). Attitudes towards the use of mobile health applications in Bulgaria. *Proceedings of CBU in Medicine and Pharmacy*, 1, 53-60.
- Kireva, L., Ambareva, Z., Mileva, D., Semerdzhieva, M., Foreva, G., & Asenova, R.** (2015). Patient-centered care-advantages, disadvantages and barriers to its implementation. *Scientific works of the Union of Scientists–Plovdiv. Series D: Medicine, Pharmacy and Dentistry*, 17, 79-82.
- Lilov, A., Palaveev, K., & Mitev, V.** (2024). High doses of colchicine act as “silver bullets” against severe COVID-19. *Cureus*, 16(2).
- Milanov, V., Falzon, D., Zamfirova, M., et al.** (2015). Factors associated with treatment success and death in cases with multidrug-resistant tuberculosis in Bulgaria, 2009–2010. *The International Journal of Mycobacteriology*, 4(2), 131-137.

- Myburgh, H., Baloyi, D., Loveday, M., et al.** (2023). A scoping review of patient-centred tuberculosis care interventions: Gaps and opportunities. *PLOS global public health*, 3(2), e0001357.
- Panaiotov, S., Madzharov, D., & Hodzhev, Y.** (2022). Biodiversity of Mycobacterium tuberculosis in Bulgaria related to human migrations or ecological adaptation. *Microorganisms*, 10(1).
- Uplekar, M.,** Stop TB Partnership & World Health Organization. (2006). The Stop TB strategy: building on and enhancing DOTS to meet the TB-related Millennium Development Goals. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/69241>
- WHO.** (2023). *Global tuberculosis report 2023*. WHO, 2023. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373828/9789240083851-eng.pdf?sequence=1>
- WHO.** (1996). Quality of Life group: WHOQOL-BREF Introduction. Administration and scoring.
- Yaneva, A., Bakova, D, & Kilova, K.** (2022). Cloud technology in healthcare – opportunities and challenges. *Management & Education*. 2022, 18 (6),74-78.

**ПРИЛОЖЕНИЕ НА СЪВРЕМЕННИТЕ ТЕХНОЛОГИИ В
ОБЩЕСТВЕНТО ЗДРАВЕОПАЗВАНЕ**

Мария Христовова, Момчил Мавров

Катедра „Управление на здравните грижи“,

Факултет по обществено здраве, Медицински университет – Пловдив

**APPLICATION OF MODERN TECHNOLOGIES IN PUBLIC HEALTH
CARE**

Mariya Hristozova, Momchil Mavrov

Department of Health Care Management,

Faculty of Public Health, Medical University of Plovdiv

Abstract: The progressive development of science in the last decade has led to the creation of a number of new technologies that are increasingly entering public health care. Robotic systems, telemedicine, artificial intelligence are part of modern medicine and healthcare. The use of innovative technologies in these sensitive areas brings a number of contributions to society and medical professionals. At the same time, a number of questions of an ethical and legal nature arise, which should find an adequate answer and legal regulation in order to guarantee the basic rights and freedoms of citizens. This report will present a brief overview of the main challenges related to the legal regulation of modern technologies in healthcare and medicine, which are faced by national and European authorities and institutions.

Keywords: modern technologies, innovations, public health, challenges, legal regulation

ВЪВЕДЕНИЕ

Напредъкът на науката и технологиите през последните десетилетия доведе до създаването на редица иновативни методи и инструменти, които намират все по-широко приложение в общественото здравеопазване и медицината. Такива са например, изкуственият интелект (ИИ), роботизираните системи, телемедицината, биопринтирането, които промениха съществено облика на най-чувствителните обществени сфери. Приложението на тези съвременни технологии е в полза на цялото общество и най-вече на заинтересованите субекти, каквито са пациентите, лекарите, доставчиците на медицинска помощ и здравни грижи, държавните органи и други субекти. Тяхната употреба обаче поражда и редица въпроси, свързани с юридическата закрила на основните здравни права на гражданите, които следва да бъдат решени своевременно от европейските и националните органи и институции.

ИЗЛОЖЕНИЕ

През последното десетилетие по-голяма част от държавите-членки на Европейския съюз (ЕС) се сблъскват с редица предизвикателства в областта на общественото здравеопазване. Като най-съществени сред тях се открояват застаряването на населението, повишаването на хроничните заболявания, недостигът на лекари, медицински сестри и други медицински професионалисти, неравнопоставеният достъп до здравни услуги за определени групи от населението, дисбалансът на нарастващите здравни нужди и недостатъчните финансови ресурси в здравеопазването (European Parliament, 2012-2020; European Parliament, 2013/2061; Mavrov & Hristozova, 2022) и др. Изброените негативни фактори създават

сериозни рискове за устойчивостта на националните здравни системи и ограничават възможността за осигуряване на качествена и достъпна медицинска помощ и здравни грижи за населението. Преодоляването на подобни неблагоприятни тенденции в областта на общественото здравеопазване изисква прилагане на **комплексен подход, който да включва изпълнение на следните примерни мерки:**

- приемане на подходящи здравни политики и здравни стратегии;
- създаване на адекватна правна рамка в здравния сектор;
- **въвеждане на съвременните технологии в общественото здравеопазване и медицината;**
- провеждане на тясно сътрудничество и координация между всички заинтересовани субекти;
- насърчаване на научноизследователската и развойната дейност;
- повишаване информираността на обществото по различните въпроси в здравната сфера, включително за ползите и рисковете от употребата на съвременните технологии и др.

Всяка държава членка на ЕС следва да прилага цялостен подход, включващ изброените по-горе мерки, за да изпълни задължението си за гарантиране в най-висока степен субективното право на здраве на всеки индивид (Мавров, М. 2018). Посоченото задължение би могло да бъде изпълнено много по-успешно, тъй като в настоящия етап от развитието на обществото, държавите членки на ЕС разполагат с множество значими постижения в науката и технологиите. Така например, в по-голяма част от тях е успешно разработено и въведено електронно здравеопазване, което дава възможност за „*по-голяма ефективност; повишаване качеството на грижите; по-големи права за потребителите на медицински услуги; създаване на канали за повишаване знанията на медицинските специалисти и потребителите на медицински услуги; разширяване на обхвата на здравеопазването отвъд конвенционалните граници*“ и други ползи (Mavrov & Hristozova, 2019; Khalil & Jones, 2007; Винарова et al., 2009). Научно-технологичният прогрес осигури също така редица значими иновативни инструменти като ИИ, телемедицината и биопринтирането (Христозова et al., 2023a). Тези нови технологии предоставят възможност за усъвършенстване на здравните системи и за по-ефективно обезпечаване на основните здравни права на гражданите. Тяхното приложение в здравната сфера носи редица ползи за лекарите и пациентите, като например: по-добри условия за осъществяване на диагностично-лечебния процес; улеснена комуникация между лекарите и пациентите; по-ефективни методи за обработка на големи количества здравни данни и др. Приложението на такъв вид иновативни технологии осигурява редица предимства за обществото, но то е свързано и със сериозни рискове за основните здравни права на хората. Така например, в процеса по внедряване и употреба на ИИ, телемедицината и биопринтирането могат да бъдат нарушени правото на неприкосновеност на личния живот и правото на защита на личните данни на пациентите (Hristozova et al., 2022). В рамките на този процес се поражда също така важният юридически въпрос: *Кой субект следва да понесе юридическа отговорност, в случай на причиняване на вреди на пациента при използване на съвременни технологии?* (Христозова et al., 2023; Hristozova et al., 2022). Следва да се отбележи, че към настоящия момент практическото приложение на изброените технологии в здравеопазването и медицината изпреварва тяхната юридическа регулация, а това положение създава реална опасност за накърняване на редица основни човешки права и свободи (Valcheva, 2022). В този смисъл, необходимостта от приемане на изрични нормативни правила относно употребата на ИИ се откроява най-съществено именно в посочените чувствителни сфери (Hristozova, 2024; Христозова, 2023). Изброените обективни обстоятелства изискват отговорните европейски и национални органи да предприемат своевременно редица действия, чрез които да се осигури **адекватен подход за приложение на съвременните технологии в общественото здравеопазване и медицината**. Тези действия следва да обхващат: приемане на всеобхватна правна рамка на европейско и национално равнище, която да регламентира употребата на различните видове нови технологии в анализиранияте сфери (напр. ИИ, телемедицина, роботизирани системи, биопринтиране и др.); създаване на изрични юридически правила, които да гарантират

ефективното упражняване на основните здравни права на гражданите, в контекста на приложение на подобни технологии; регламентиране в правната уредба на предпоставките и реда за реализиране на юридическа отговорност на субектите, които участват в процеса по внедряване и употреба на съвременни технологии в здравния сектор; създаване на специализирани европейски и национални органи и институции, които да осъществяват стриктен контрол върху изпълнението на относимата нормативна рамка; приемане на широка информационна кампания на европейско и национално равнище относно ползите и рисковете от употребата на иновативните технологии в анализирани обществени сфери (Hristozova et al., 2022; Христозова et al., 2023a; Христозова et al., 2023b).

Изпълнението на описаните по-горе действия е безусловно необходимо, за да бъдат обезпечени в най-висока степен фундаменталните здравни права на европейските граждани при употребата на съвременните технологии. Именно това следва да бъде основната цел на държавите членки и европейските органи и институции, защото здравето е най-ценното благо на обществото и неговата ефективна закрила има предимство пред всички други приоритети, включително модернизиранието на здравния сектор.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достигнатият научен и технологичен напредък на човечеството осигурява нови средства за преодоляване на многобройните предизвикателства в общественото здравеопазване и медицината, каквито са съвременните технологии. Те намират все по-широко приложение в посочените области, тъй като осигуряват редица ползи за всички заинтересовани субекти. Този процес следва да продължи и за в бъдеще, но **само при осигуряване на достатъчно ефективни гаранции за закрила на основните здравни права на гражданите**. Именно към тази цел следва да се стремят европейските и националните органи, а нейното реализиране изисква още повече усилия, за да бъдат адекватно уредени нерешените юридически въпроси, свързани с приложението на иновативните технологии.

ЛИТЕРАТУРА

European Parliament. (2012-2020). *Motion for a European Parliament resolution on the eHealth Action Plan 2012-2020 – Innovative healthcare for the 21st century* (2013/2061(INI)). Retrieved from: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-7-2013-0443_EN.html.

European Parliament. (2013/2061(INI)). *Resolution of 14 January 2014 on the eHealth Action Plan 2012-2020 – Innovative healthcare for the 21st century*. Retrieved from: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-7-2014-0010_EN.html.

Hristozova, M. (2024). The EU artificial intelligence act: the necessary tool to guarantee fundamental rights of citizens. *Knowledge – International Journal*, 44(1), 91–96.

Hristozova, M., Mihaylova, A., Shopova, D., & Bakova, D. (2022). Application of biomedical technologies - challenges and solutions. *Supplement Journal of IMAB*, 2022, Section Varia, 81–84. e-ISSN: 1312-773X.

Khalil, M. M., & Jones, R. (2007). Electronic Health Services An Introduction to Theory and Application. *Libyan Journal of Medicine*, 2(4), 202-210. <https://doi.org/10.3402/ljm.v2i4.4732>

Mavrov, M., & Hristozova, M. (2019). E-health: the modern instrument for improving health systems and providing accessible and high-quality health care. *Knowledge – International Journal*, 33(5), 1581-1586.

Mavrov, M., & Hristozova, M. (2022). Legal Aspects of Telemedicine. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 28(Supplement 12), 97-99. e-ISSN: 1312-773X.

Valcheva, A. (2022). Human rights and artificial intelligence. *Knowledge - International Journal*, 52(1), 121–126. Retrieved from: <https://ikm.mk/ojs/index.php/kij/article/view/5169>.

Винарова, Ж., Михова, П., Тонев, Ст., Петков, А. (2009). *Електронно здравеопазване*. Изд. Лета, София.

Мавров, М. (2018). *Правният институт на информираното съгласие на пациента*. Изд. „Stovi Group Bulgaria“.

Христозова М., Шопова Д., Михайлова М., Мавров М., & Бакова Д. (2023a). Законодателна рамка на ЕС за регулиране на 3D биопринтирането в медицината. *Сборник*

доклади от Научна конференция „Знание, наука, иновации и технологии“, Велико Търново, ISSN 2815-3480.

Христозова, М. (2023). Изкуственият интелект в медицината и здравеопазването. *Сборник доклади от годишна университетска научна конференция*, Велико Търново, 12, 137–143. ISSN 1314-1937.

Христозова, М., Шопова, Д., Михайлова, А., Янева, А., Каснакова, П., Семерджијева, М., Мавров, М., & Бакова, Д. (2023b). *Етично и правно регулиране на биопринтирането в медицината и здравеопазването*. FastPrintBooks. ISBN: 978-619-236-462-5.

ACTIVE SUBSTANCES FROM HUMAN ORIGIN – THE LEGAL FRAMEWORK ENSURING TRANSPLANTATION

Nikolay Nachev¹, Stefka Stoyanova¹, Dzhansu Ilyaz¹, Iva Parvova²

¹ Faculty of Chemistry and Pharmacy,
Sofia University "St. Kliment Ohridski"

² Department of Internal Medicine, Clinic of Rheumatology,
Medical University of Sofia

Abstract: *Aim:* To analyze the possibilities of treatment of various diseases and conditions by using active substances of human origin - blood, cells, tissues, organs. To analyze the regulatory framework that provides reliable information and guidance to optimize the quality and procedures for the provision of these types of active substances. *Materials and Methods:* We performed a content analysis and document analysis of published guidelines from the EMA, the European Directorate for the Quality of Medicines, and publicly available data from the four directives (2010/45, 2002/98, 2004/23, 2006/17) that form the regulatory framework for active substances of human origin. *Results and Discussion:* At any point in time, we need to make sure that all steps in the chain are done correctly to ensure optimal effect from the therapy. Some of the most important points are assessing the health status of the potential recipient, assessing the potential donor and minimizing potential adverse effects and side effects in response to the introduction of transplanted organs/tissues/cells, and assessing the effects associated with immunosuppressive therapy, which is an integral part of these processes.

Keywords: active substances, blood, cells, tissues, organs, transplantation, donor, recipient

1. INTRODUCTION

We are entering a new era of medical and biotechnological progress where active substances of human origin (ASHO) are increasingly being used in new ways. Every year, 15 million people in Europe donate their blood, while there are 4.6 million patients receiving blood transfusions. Similarly, every year there are 165 000 babies born through medically assisted reproduction in Europe, approximately 36 000 stem cell transplants for blood cancers and 14 500 cornea transplants.

There are a number of organs that can be donated from living donors, such as placenta, parathyroid tissue and cranial bone. In addition, femoral heads removed during hip replacement surgery and heart valves from patients receiving heart transplants are sometimes processed and 'recycled'. In addition, many types of cells can be donated and subjected to varying degrees of manipulation prior to administration in humans.

A brief historical overview of the treatment performed with ASHO begins in the 2nd century BC, where the Indian surgeon Sushruta applied transplanted skin to a nose in need of reconstruction, or in today's terminology - he performed rhinoplasty. We are transported to the 16th century when Gasparo Tagliacosi performed successful skin autografts but consistently failed with allografts, offering the first suggestion of graft rejection several centuries before this mechanism was understood. In the early 20th century, Erich Lexer developed a procedure to remove an entire knee joint in one operating room and transport the "warm" graft to an adjacent operating room for immediate transplantation (the 1950s gave rise to tissue preservation). 1956 marks the first recorded heart valve transplant. Gordon Murray implanted an aortic allograft in the descending thoracic aorta to relieve aortic insufficiency.

2. AIM, METHODS AND MATERIALS

The aim of the study is to analyze the possibilities of treating various diseases and conditions by using active substances of human origin - blood, cells, tissues, organs. In order to accomplish this goal, we analyzed published guidelines from the European Medicines Agency (EMA), the European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM), and publicly available data from the four directives (2010/45, 2002/98, 2004/23, 2006/17) forming the regulatory framework for active substances of human origin, as well as regulation 1394/2007 concerning advanced therapies.

3. DISCUSSION

Transplantation of human organs, tissues and cells is a strongly developing field of medicine that offers great opportunities for the treatment of still incurable diseases. The quality and safety of these substances must be guaranteed, especially to prevent the transmission of diseases.

However, the use of organs for transplantation is associated with risks. Their widespread therapeutic use requires that their quality and safety be such as to minimize any risks associated with disease transmission. Well-organized national and international transplantation systems and the use of the best available expertise, technology and innovative medical treatment can significantly reduce the risks associated with transplanted organs for recipients.

The risk-benefit ratio is a fundamental aspect of cell, tissue and organ transplantation. Due to the scarcity of AVHR and the inherent life-threatening nature of the diseases leading to the need for transplantation, the overall benefits of transplantation are high and high risks are accepted. Regulatory requirements provide a certain minimum of data that needs to be collected from the donor in order to minimize the risk of disease transmission: Donor type; blood type; sex; cause of death; date of death; date of birth and presumed age; height; weight; past and present history regarding intravenous drug use; past and present history regarding malignant neoplastic growths; present history of transmissible diseases; HIV, HCV, HBV testing; basic information on donor organ function.

The main purpose of setting such a minimum of pre-collection data is to prevent serious adverse events (SAEs). A serious adverse event means any unwanted and unexpected event related to any stage of the chain from donation to transplantation that may result in the transmission of a communicable disease, in death or in life-threatening, disabling or incapacitating conditions for patients, or that results in or prolongs hospitalisation or morbidity. The risk of SAEs is increased when all the requirements for donor and recipient evaluation before transplantation are not met.

Maintaining the quality and safety of human-derived active substances is achieved by implementing a series of 'good practices' (GP). GPs are linked to each stage of the donor process, and these include: quality control, personnel, equipment, method validation, donor testing, packaging, traceability, biovigilance.

The first step towards ensuring a safe transplant process is a complete physical examination of the recipient and potential donor. The compatibility of the antibodies produced by the tissue or organ in question is a definitive requirement. Failure to do so results in rejection of the graft and the development of an immune reaction by the recipient, which can end fatally. In addition to compatibility, a complete medical history of the donor and recipient is assessed for malignancies and infectious diseases, as well as for ongoing therapies. The standard tests to be performed in the course of such an evaluation are described in the EDQM guidelines on quality and safety in the administration of ASHO.

Once the safety of the donor and the recipient has been ensured, arrangements should be made for the mode of transport and storage of the relevant ASHO in case both parties involved in the process are located in different healthcare facilities. Directive 2006/17 provides the temperature and time limits within which an ASHO may be stored and transported. Transplants are classified into two main categories: non-frozen products and frozen products. Specific requirements for individual types of transplants are presented in the EDQM Quality and Safety Guide for ASHO. Frozen products are stored and transported at a wide temperature range from -15°C to -140°C. The limits for non-frozen are 2°C to 25°C.

4. CONCLUSIONS

High quality, safe and efficient procedures for the donation, procurement, import, testing, processing, preservation, storage and distribution of human organs, tissues and cells for human applications are essential for both donors and recipients. These are active substances of an exceptional nature and all Member States should strive to protect public health by promoting a high level of safety and quality of these substances when used for human applications. This objective should be achieved by defining and implementing key quality and safety criteria in relation to all procedures in tissue and organ centers.

REFERENCES

Directive 2010/53/EU of the European Parliament and of the Council of 7 July 2010 on standards of quality and safety of human organs intended for transplantation

Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells

Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council of 27 January 2003 setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC

Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells

Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004

Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application of the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 4th Edition

ПРЕВЕНЦИЯ СРЕЩУ РАК НА МАТОЧНАТА ШИЙКА ПРИ МЛАДИ МОМИЧЕТА И РОЛЯТА НА ОБЩО ПРАКТИКУВАЩИТЕ ЛЕКАРИ И МЕДИЦИНСКИТЕ СПЕЦИАЛИСТИ

Мюжгян Сабри

Медицински университет – Варна, Филиал Велико Търново

CERVICAL CANCER PREVENTION IN YOUNG GIRLS AND THE ROLE OF GENERAL PRACTITIONERS AND MEDICAL SPECIALISTS.

Muzhgian Sabri

Medical University of Varna, Veliko Tarnovo Branch

Abstract: *Introduction:* In Bulgaria, coverage of young girls with a vaccine against the human papilloma virus (HPV) is very low, and the mortality rate from cervical cancer, which is caused by the virus, is high. In 2019 the range was 4%, in 2020-2021. – 2%, and in 2022 only 1%, according to data from the Ministry of Health.

Objective: To investigate the attitude of women-parents of young girls towards the prevention of PMS and their attitudes towards vaccination as an essential part of this prevention.

Material and methods: Documentary method and sociological survey were used. An author survey was developed. 44 randomly selected women were interviewed.

Results and discussion: The majority of surveyed women are aware of primary prevention. The data indicated a positive attitude towards the vaccine, and indicated that they would vaccinate their daughter against MMR. The fact that 43% of respondents doubt the safety of vaccines gives a clear indication that the information coverage of parents is unsatisfactory.

Conclusions: The target group for preventive activity should be the 34% of respondents who categorically refuse vaccination. Information campaign efforts should be directed at women who believe that HPV vaccines are unsafe.

Being well informed is the first step in protecting against HPV.

Keywords: Cervical cancer, prevention, vaccination, young girls, medical professionals

1. ВЪВЕДЕНИЕ.

В България обхватът на младите момичета с ваксина срещу човешкия папилома вирус (HPV) е много нисък, а смъртността от рак на маточната шийка /РМШ/, който се причинява от вируса – висока. През 2019 г. обхватът е бил 4%, през 2020-2021 г. – 2%, а през 2022 г. едва 1%, припомнят и от Министерство на здравеопазването в специално създадения сайт, посветен на ваксинапрофилактика – plusmen.bg. Така страната ни чувствително изостава от целите на СЗО и постиженията на развитите страни. Същевременно всяка година се откриват 1200 нови случая на РМШ у нас, а за последните 30 години смъртността се утроила. За да се постигне действително ограничаване на онкогенните HPV инфекции и причинявания от тях РМШ е необходим ваксинационен обхват от над 75% от подлежащите на имунизация момичета (Kostov & Vasilev, 2013). Страните, които са на път да елиминират инфекцията, водеща до РМШ, като Австралия и Великобритания са постигнали дори по-висок обхват – от около и над 80% (9).

Въпреки, че от 2012 година у нас ваксината е безплатна за желаещите и се покрива от държавата, ваксинационният обхват е нисък. В началото тя се радва на по-голям интерес. Постигнатият имунизационен обхват с пълна схема с три приема през 2013 г. е бил 23.83%,

а през 2014 г. – 19.6 %. През 2015 г. се преминава към двудозова схема, а обхватът рязко спада – 2.68% при 12-годишните момичета и 0.75% при 13-годишните. Този рязък спад във ваксиналното покритие през 2015 г. е свързан с широката глобална антиваксинална кампания, че ваксината е отговорна за случаи на автоимунни заболявания при момичета (Gencheva, 2019). Въпреки, че Европейската агенция по лекарствата (ЕМА) отхвърля подобна връзка, а безопасността на ваксината е редовно потвърждавана от Глобалния консултативен комитет по безопасност на ваксини към СЗО, кампанията доведе до отлив от ваксинация и в други държави (Kovachev, 2019).

Затова ключово е възвръщането на доверието към ваксините. За да се намали то, е необходимо в този процес активно да участват общопрактикуващите лекари, гинеколозите, педиатрите, Регионалните здравни инспекции и здравните медиатори (Radeva & Kovachev, 2018).

Д-р Валери Цеков от Българското сдружение по иновативна медицина посочва, че ваксините срещу HPV имат изключително висок индекс на ефикасност и безопасност. В съчетание с редовни профилактични прегледи и цитонамазки, те могат да осигурят почти 100% защита от РМШ, причинен от онкогенните видове на вируса 16 и 18.

По данни от последните научни публикации в страните с висок ваксинационен обхват се наблюдава до 90% спад на HPV инфекциите и броят на случаите с предракови лезии на шийката на матка е намалял чувствително сред ваксинираните млади момичета и жени на възраст между 15 и 26 години (Bозukova, 2020). Проучване в Англия показва че до 8 години след въвеждането на ваксинацията, HPV-инфекциите, причиняващи рак, **са намалели с 86% сред жените на възраст от 16 до 21 години**. В Австралия, относителният дял на инфекциите с HPV сред жените на възраст от **18 до 24 години е намалял от 22,7% на 1,1% за периода 2005-2015г.** след прилагането на ваксината (9).

Проучване в Шотландия показва, че в сравнение с неваксинираните жени, родени през 1988г., при ваксинираните жени, родени през 1995 г. и 1996 г., **предраковите образувания на маточната шийка са намалели с 89%**. По данни на Американските центрове за контрол и превенция на заболяванията след препоръчването на HPV ваксинацията през 2006г., **инфекциите с HPV типове са намалели с 88%** сред тийнейджърките и **с 81% сред младите жени** (6). Значително увеличаване на обхвата с HPV ваксините сред момичетата е заложено и в **Европейския антираков план** (Todorova, 2023).

В България действа Национална програма за първична профилактика на РМШ, но тя не е ефективна. Причината е, че е делегирана на общопрактикуващите лекари и на специалистите от доболничната помощ. **Първичната профилактика има за цел да предотврати появата на заболяване и се случва благодарение на ваксинацията**. HPV ваксините са включени в списъка на препоръчителните имунизации. От 2021 г. в изпълнение на Националната програма за първична профилактика на рака на маточната шийка у нас е прилагана ваксината Gardasil срещу четирите най-разпространени HPV типа – 6, 11, 16 и 18. От есента на 2023 г. по Програмата се осигурява ваксината Gardasil 9, която покрива деветте най-рискови типа HPV – 6,11,16,18, 31, 33, 45, 52 и 58 (1).

2. ЦЕЛ

Целта на настоящото проучване е да се изследва отношението на жените-родители на младите момичета към превенцията на РМШ и техните нагласи към ваксинирането като съществена част от тази превенция. Във връзка с това са поставени две основни **задачи**: 1) да се установи информираността на жените, относно начините за превенция на РМШ, и 2) да се анализира отношението им относно профилактичните ваксини и нуждата им от специализиран медицински съвет в този контекст.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За постигане на целта са използвани документален метод и социологическа анкета. Данните са обработени и представени графично чрез продукта Excel 2010.

Разработена е авторска анкета с 16 въпроса, от които 15 закрити и 1 открит.

Анкетирани са 44 жени от град Шумен, родители на учениците от ОУ „Димитър

Благоев“, НУ „Илия Р. Блъсков“ и VI-то основно училище „Еньо Марковски“, подбрани на случаен принцип. Проучването е направено в периода м. Януари-Март 2024 г.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.

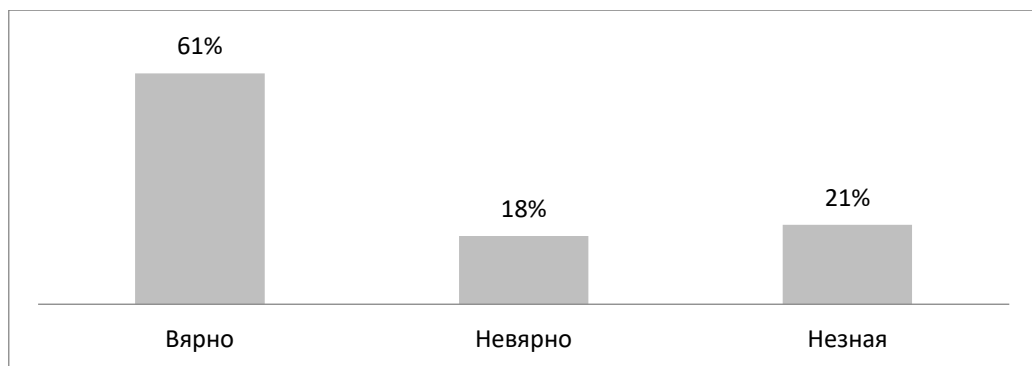
За нас беше важно да идентифицираме *мнението на анкетираните жени, които са родители на деца от 10 до 13 годишна възраст какво е тяхното отношение към превенцията на РМШ и до колко са информирани за ролята, и значението на профилактичните ваксини в изпълнението на тази превенция, и дали имат нужда от професионална медицинска насока при вземането на решение за ваксиниране на детето си.* На въпроса „*Какво включва първичната профилактика на Рак на маточната шийка?*“, най-висок е относителният дял (N=23; 52%) на анкетираните, които смятат, че това е **ваксинация срещу най-често срещаните онкогенни типове човешки папиломен вирус**. Всяка четвърта жена (N=12; 27%), смята, че първичната профилактика включва излекуване на ранни симптоми на инфекция с човешки папиломен вирус. Следващата група (N=5; 12%), са тези, които са на мнение, че посещението на гинеколог за пръв път е първична профилактика. Според 7% от респондентите първичната профилактика на РМШ включва всички посочени опции. Незначителна част /2%/ не могат да отговорят (фиг. 1.),



Фигура 1. Какво включва първичната профилактика на РМШ, в %

От посочените отговори се вижда, че по-голямата част от анкетираните жени са наясно с първичната профилактика. Въвеждането на ЧПВ ваксините (първичната профилактика на РМШ) не отменя стандартната практика за предпазване от полово-предавани инфекции, както и необходимостта от редовни гинекологични прегледи с цитонамазка (вторичната профилактика на РМШ) при жените в полово активна възраст, поради отложения във времето ефект от имунизацията. Профилактичните ваксини срещу РМШ са най-новото постижение на съвременната медицина в контрола на раковите заболявания чрез средствата на ваксинапрофилактиката. Този забележителен прогрес стана възможен след доказване на вирусната етиология на заболяването (откритие, оценено с Нобелова награда), последвано от разработване и въвеждане в практиката на безопасни и високо ефективни папиломавирусни ваксини (Kostov & Vasilev., 2013).

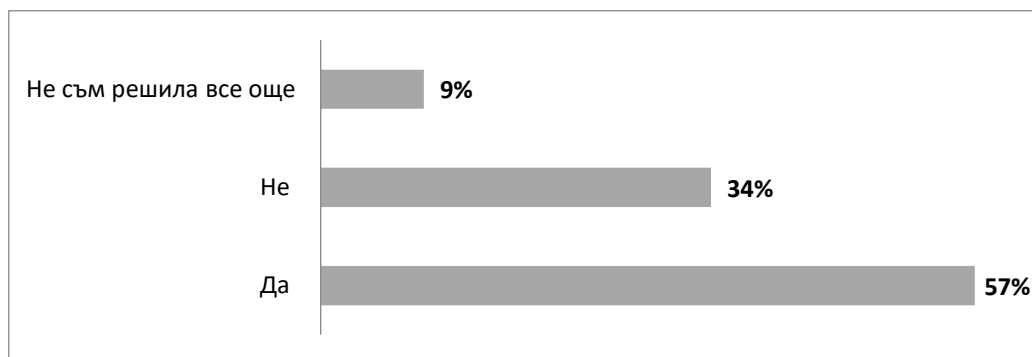
Твърдението: „**Ваксинация срещу рак на маточната шийка може да се прави само на момичета преди началото на половия живот.**“ е потвърдено от повече от половината анкетирани жени (N=27; 61%), което показва запознатостта им (фиг. 2.). Има и такива, които не са наясно, именно за тях трябва да се провежда специализирана информационна кампания от здравни специалисти, за да им се разясни важността и специфичността на ваксинацията.



Фигура 2. Ваксинацията срещу РМШ може да се прави само на момичета преди началото на половия живот, в %

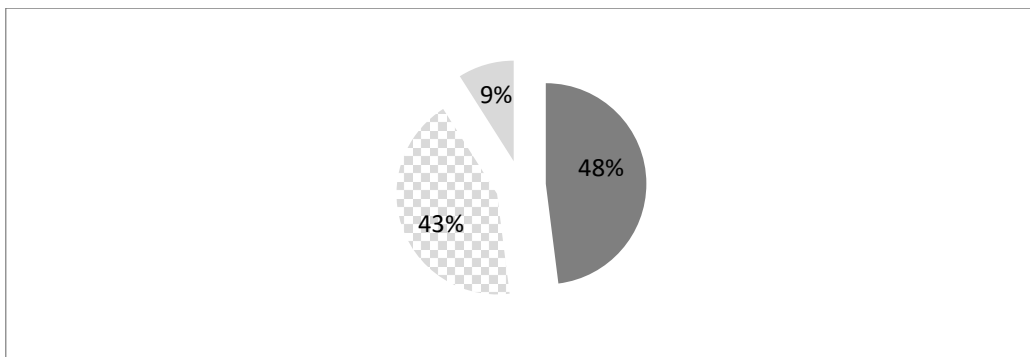
Както се препоръчва и в консенсусните декларации на педиатрите и онкогинеколозите, ЧПВ имунизацията за профилактика на РМШ следва да бъде извършвана приоритетно при здрави момичета на 10-13 години (за нашите условия), които не са започнали да водят полов живот. Целта е образуването на постваксинални антитела да ги предпазят от онкогенна ЧПВ инфекция, като предотвратят навлизането на вируса в клетките на цервикалния епител (Kostov & Vasilev, 2013). HPV ваксините са профилактични ваксини, те нямат терапевтичен ефект върху вече настъпила инфекция или заболяване. По тази причина и поради по-ниската имуногенност при сексуално активни жените се очаква по-ниска ефикасност на HPV ваксините. Тази възрастова група остава на втори план при въвеждане на имунизацията, но в много страни се предлага т. н. изчерпваща имунизация (catch-up) при младите жени до 25-годишна възраст. При тях имунизацията е оправдана, поради факта, че персистиращата инфекция и преканцерозите много рядко са свързани с повече от един тип HPV, а ваксините осигуряват защита срещу най-разпространените онкогенни типове (Kovachev, 2019; Kostov & Vasilev, 2013).

Данните сочат **положително отношение към ваксината**, в предвид това, че **поголяма част от анкетираните жени (N=25; 57%) са посочили, че биха ваксинирали дъщеря си срещу РМШ**. Незначителна част от тях (N=4; 9%), не са решили все още. **От изключително значение е резултата на тези, които категорично отказват ваксиниране (N=15; 34%), а именно 1/3 от групата, което трябва да се анализира** (фиг. 3).



Фигура 3. Бихте ли ваксинирали дъщеря си срещу РМШ, в %

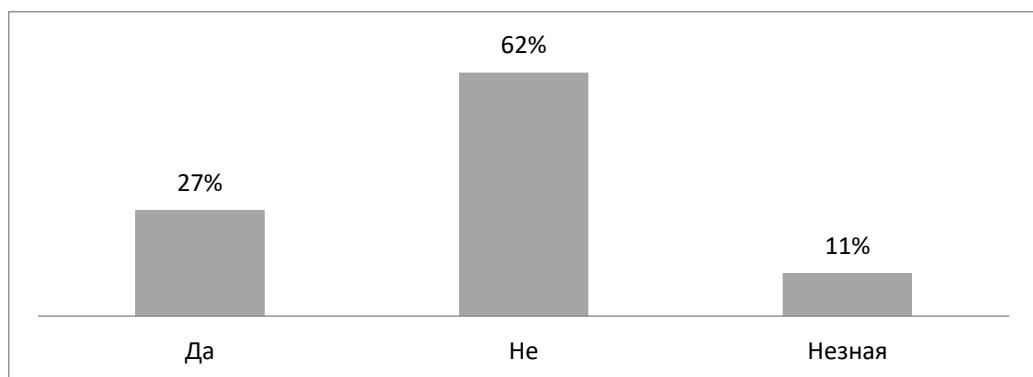
На въпроса „Според вас, безопасни ли са човешки папиломен вирус-ваксините?“, отговорите са смущаващи. Почти половината анкетираните са дали **положителни отговори (N=21; 48%)**. Незначителна част от тях (N=4; 9%), не знаят. **Тези, които заявяват, че човешки папиломен вирус ваксините не са безопасни е обезпокоително висок (N=19; 43%)** (фиг. 4).



Фигура 4. Безопасни ли са човешки папиломен вирус-ваксините, в %

Ето тук е ролята на специалистите по здравни грижи: да информират компетентно и професионално относно безопасността на ваксината. Тези ваксини не са живи ваксини, не съдържат ДНК на вируса и не могат да причинят HPV инфекция или рак. При ваксинация срещу HPV тялото реагира като произвежда антитела, които помагат на имунната система да се бори с HPV инфекцията при среща с истинския вирус.

Фактът, че 43% от анкетираните се съмняват в безопасността на ваксините, дава ясен знак, че информационното покритие на родителите е незадоволително. Те имат нужда от научни знания, предоставени им от здравен специалист, който да ги информира, че същите не само, че са безопасни, но и са ефективни и могат да предотвратят повече от 90% от раковите заболявания, свързани с вируса. Другият въпрос, чийто отговори показват пропуски в познанията за ваксината е „Може ли човешки папиломен вирус ваксините да причинят рак?“. Повече от половината анкетираните са запознати (N=27; 62%). Незначителна част от тях (N=5; 11%), не знаят. Тези, които заявяват, че човешки папиломен вирус ваксините могат да причинят рак е доста висок (N=12; 27%) и това ясно подчертава нуждата от професионална информираност от медицински специалисти за опровергаването им и насочването им във вярната посока (фиг. 5).



Фигура 5. Може ли човешки папиломен вирус-ваксините да причинят рак, в %

HPV ваксинацията е препоръчана за първи път през 2006г. и в страните с висок ваксинационен обхват като Швеция, Дания, Австралия и Канада, инфекциите с типовете HPV, които причиняват повечето ракови заболявания и генитални брадавици, са намалели с 88% сред тийнейджърките и 81% сред младите възрастни жени. HPV ваксинацията също е намалила броя на случаите на предракови заболявания на шийката на матката при млади жени. Защитата, осигурена от HPV ваксината, е дългосрочна. Хората, които са получили HPV ваксина са били проследявани поне около 12 години след поставянето ѝ и тяхната защита срещу HPV е все още висока.

5. ИЗВОДИ

При проведеното проучване, анализа и оценката на получените резултатите, могат да се формулират следните по-значими изводи:

1. От посочените отговори се вижда, че по-голямата част от анкетираните жени са наясно с първичната профилактика /ваксинацията/. Но останалата част не са наясно с действието и значимостта на ваксинациите. Това сигнализира, че усилията на здравните специалисти трябва да се насочат към информационни здравни кампании, индивидуални консултации и разяснителни срещи.

2. 57% от респондентките имат положително отношение към ваксината и това доказва, че те осъзнават значимостта на имунизацията. Прицелна група за профилактична дейност трябва да станат тези 34%, които категорично отказват ваксинация.

3. Усилията на информационните кампании трябва да се насочат към онези 43%, според които ваксините срещу човешки папиломен вирус не са безопасни. Родителите трябва да направят своя информиран избор на базата на практика, базирана на доказателства.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Колкото повече знаем за рисковете за здравето на нашите деца, толкова повече можем да направим, за да ги защитим. да бъдеш добре информиран е първата стъпка в защитата срещу HPV. Ваксината срещу човешки папилома вирус в България е безплатна за момичета на възраст между 10-13 години по Националната програма на Министерството на здравеопазването за първична профилактика на РМШ. В двадесет и първи век развитите държави отдавна са осъзнали изключителната важност на профилактиката и влагат огромни средства за нейната масовост и всеобхватност. Средствата, които са вложени в превенцията на правилното място и в правилното време, впоследствие спестяват в пъти по-големи разходи за лечение и най-важното – спасяват човешки живот. Задължение на здравните специалисти е да участват ефективно в изпълнението на програмата и в ограмотвяването на родителите за значението на ваксинацията, за да се увеличи обхвата на приложение и вярата в безопасността, тъй като ваксинацията в комбинация с цитонамазка и колпоскопия е напълно достатъчна за реалното елиминиране на заболяването.

ЛИТЕРАТУРА

Gencheva, (2019), Mnenie i gotovnost na roditelite odnosno vaksinoprofilaktikata na raka na matochnata shiika. – Zdravni griji, №2.

<https://medicalnews.bg/2023/09/28/българия-катастрофира-с-ваксинопроф/>

<https://www.mediapool.bg/bulgaria-izostava-ot-globalnite-tseli-za-eliminirane-raka-na-matochnata-shiyka-news302583.html>

Kostov I., N. Vasilev. (2013), Rak na matochnata shiika. Profilaktika i vaksinacij. – Medinfo, №2.

Kovachev, S. (2019), HPV vaksina – Stranichni efekti. – Akusherstvo i ginekologiq. Volume 58, №4.

Nacionalna programa za purvichna profilaktika na raka na matochnata shiika v Bulgaria 2021-2024 г.

National and state vaccination coverage among adolescents aged 13-17 years – United States, 2011 Morb Mortal Wkly Rep 2012; 61: 661-686

Radeva, Sv., E. Kovachev. (2018), Rolq na akusherката pri uchastieto i v programi za profilaktika na jenskoto zdrave. – Vuv: Varnenski medicinski forum, t. 7

ИНФОРМИРАНОСТ НА НАСЕЛЕНИЕТО ОТНОСНО ПРАВИЛАТА ЗА ПОВЕДЕНИЕ ПРИ НАВОДНЕНИЕ

Румяна Етова¹, Десислава Тодорова², Даниела Петковска³,
Ангелка Янкуловска³, Денис Арсовски³

¹ Катедра „Епидемиология и МБС“, Факултет по обществено здраве,
Медицински университет – Пловдив

² Катедра „Превантивна медицина“, Факултет по обществено здраве,
Медицински университет – София

³ Университет „Св. Климент Охридски“ – Битоля, Северна Македония

AWARENESS OF THE POPULATION REGARDING THE RULES OF CONDUCT IN CASE OF FLOODING

Rumyana Etova¹, Desislava Todorova², Daniela Petkovska³,
Angelka Jankulovska³, Denis Arsovski³

¹ Department of Epidemiology and MBS, Faculty of Public Health,
Medical University of Plovdiv

² Department of Preventive Medicine, Faculty of Public Health,
Medical University of Sofia

³ University "St. Kliment Ohridski", Bitola, North Macedonia

Abstract: Over the past decades, an increasing number of floods has been observed on the territory of Bulgaria. Regardless of the causes (natural or anthropogenic), floods pose a real danger to human life and health. Therefore, the rules of conduct of the population before, during and after a flood are extremely important. The purpose of this publication is to compare the awareness of the population in different time periods about the rules of proper conduct during a flood. *Material and methods:* Statistical, comparative and descriptive methods were used. The survey conducted is part of a long-term study and is a comparative analysis covering respondents from 2015 (309) and 2021 (250). The survey data shows that 59.6% of the respondents are aware of the rules of conduct in case of flooding. It is not a small percentage of the remaining 40.4% of respondents for whom continuing education and awareness is needed. *Conclusion:* Preventive measures among the population and sufficient awareness are a guarantee for good preparation, response and choice of methods to prevent negative consequences among the population during a flood.

Keywords: flood, awareness, rules of conduct, preventive measures

ВЪВЕДЕНИЕ

Наводненията са най-честите природни и/или антропогенни бедствия. Броят им значително се увеличи през последните десетилетия. Това се свързва най-вече с променените климатични условия. По данни на ООН годишно на Земята стават средно 10 000 наводнения, които са с различен произход и обхваната територия (Sprasova, 2013). Рисковите фактори водещи до наводнения са многобройни – количество и интензитет на валежите, непочистени речни корита, състояние на дренажната система, неизправни хидротехнически системи и съоръжения, ледени запори (при много студени зими и бурен летен ледоход) и др. (Strategiq, 2014). Изключително необходимо е хората да осъзнаят значението на своите действия като

рисков фактор за наводнения и със своите постъпки и дейности да допринесат за намаляване нивото на този риск.

Наводненията нанасят огромни щети, като засягат живота и здравето на населението, урбанизирани територии, критична инфраструктура, продуктивни земеделски земи, горски масиви, флора и фауна. Вредното въздействие на наводненията върху човешкото здраве е комплексно и многоаспектно. То може да бъде директно от приливната вълна или да бъде резултат на продължително действащи вторични поразяващи фактори (Menne, 2014). Освен личната отговорност, необходимостта от информираност на населението относно превантивни мерки и правила за правилно поведение при наводнение са изключително важни за запазване на живота и здравето на попадналите хора в огнището на поражение от наводнение. Наводнението е бедствие, което изисква спазването на определени правила, мерки и мероприятия. Тези правила са различни и специфични във времето преди, по време и след наводнение.

Основните правила за поведение преди наводнение включват: информиране относно риска за личния имот и жилище, ако те се намират в потенциално заливаем район; избягване изхвърлянето на отпадъци в речните корита, около реките и други водни обекти; информиране по отношение на най-безопасните и къси маршрути при евентуална евакуация от дома, от работното или друго място; активно участие при провеждането на обучения и симулационни игри; избягване на плуване в неохраняеми водни обекти; запознаване с алгоритмите за оказване на първа помощ при даване в бързо течащи води и спокойни води; информиране относно риска, мерките и начините за предпазване от заболявания предавани по воден път и не на последно място необходимостта от застраховка на имуществото и живота на членовете от семейството (Duží, 2014).

Основните правила за поведение при непосредствена заплаха и по време на наводнение включват: „раница за бедствия“ с най-важните за оцеляване материали и средства, медикаменти и вода; изключване на електричество и газ; обезопасяване на дома чрез изграждане на временни прегради пред врати и прозорци; обезопасяване на живота на домашните любимци; при необходимост качване на по-висок етаж; избягване на престоя и преминаването под мостове, подлези, надлези, залети пътища, разливи и потоци; първа помощ под формата на само- и взаимопомощ; организирана евакуация към медицински заведения; информиране на близки и институции за местонахождението; спазване на всички указания и ред установени от институциите (Mihajlova, 2011).

Основните правила за поведение след наводнение са свързани с ликвидиране на последствията от наводнение: основно недопускане влошаване на санитарно-хигиенното състояние и здравето на населението. Затова е необходим усилен и стриктен здравен контрол включващ своевременна деконтаминация на залетите територии, приемане само на бутилирана вода или вода от водоноски, както и хранителни продукти преминали експертно заключение за годност, проследяване на здравословното състояние на пострадалите от съответните медицински специалисти, активно епидемиологично наблюдение (Kanev, 2008; Disk, 2008).

Целта на проучването е да се направи анализ относно информираността на населението по отношение на необходимите правила за поведение преди, по време и след наводнение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За реализиране на целта са използвани данни от анкетна карта сред 309 респондента през 2015 година и 250 анкетирани през 2021 година. Използвани са описателен и сравнителен методи, като се акцентира на въпроса „Спомняте ли си правилата за правилно поведение при наводнение?“

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Обект на проучването са анкетирани с различна месторабота, по-конкретно работещи в институции, които имат отношение към защитата на населението при различни бедствени ситуации – Регионална дирекция „Пожарна безопасност и защита на населението“ (РД

„ПБЗН“ в Пловдив, Регионални здравни инспекции (РЗИ) в Пловдив и Пазарджик, работещи в Български червен кръст (БЧК) в Пловдив и Пазарджик, както и граждани на случаен принцип. Респондентите от РД ”ПБЗН”, РЗИ и БЧК се приемат едновременно и като работещи в тези институции и като част от населението (общността) изложено на риск от бедствия, аварии и катастрофи.

Анкетното проучване се проведе на два етапа – през 2015 година и през 2021 година. Броят на респондентите през 2015 година е 309, а през 2021 година – 250. В проучването са обхванати различни възрастови групи.

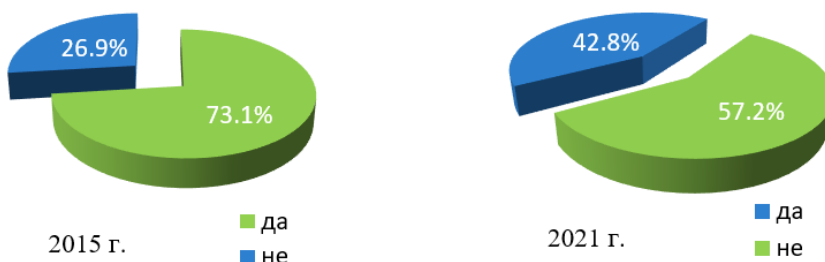
Общият брой респонденти за 2015 година и 2021 година, които си спомнят правилата за правилно поведение при наводнение е 333, или това са 59,6%. Докато общият брой анкетирани за същия период от време, които не си спомнят правилата за правилно поведение при наводнение е 226 или 40,4% (табл.1).

Таблица 1. Статистическа разбивка на респондентите

		Спомняте ли си правилата за правилно поведение при наводнение?		
		да	не	общо
2015 год.	брой	226	83	309
	%	73,1%	26,9%	100%
2021 год.	брой	107	143	250
	%	42,8%	57,2%	100%
ОБЩО	брой	333	226	559
	%	59,6%	40,4%	100%

На въпроса „Спомняте ли си правилата за правилно поведение при наводнение?“ се получиха следните резултати:

- през 2015 година – 73,1% (226 анкетирани) си спомнят правилата за правилно поведение при наводнение. 26,9% (83 анкетирани) не си спомнят кои са тези правила.
- През 2021 година – 42,8% (107 анкетирани) си спомнят правилата за правилно поведение при наводнение. 57,2% (143 анкетирани) не си спомнят кои са тези правила (фиг.1).



Фигура 1. Анкетирани през 2015 и 2021 година

Прави впечатление, че през 2015 година процентът (73,1%) на запознатите с правилата за правилно поведение при наводнение е по-голям отколкото през 2021 година (42,8%). Може би това се дължи на факта, че все още се помнят наводненията през лятото и есента на 2005 година, когато територията на цялата страна беше обхваната от проливни дъждове и придошлите реки залиха промишлени и жилищни сгради, инфраструктурни и земеделски земи. Евакуирани бяха десетки семейства. Имаше не само медицински, но и безвъзвратни

загуби. След тези наводнения се направиха съответните изводи и се предприеха превантивни мерки, включително и по отношение на някои основни правила касаещи гражданите при наводнение. Следва един период от няколко години през който не са регистрирани сериозни наводнения на територията на страната ни. И затова може би през 2021 година процентът на хората, които не си спомнят за правилата при наводнение е по-голям 57,2% в сравнение с 2015 година (26,9%).

ИЗВОДИ

Данните от анкетното проучване показват, че по-голямата част от респондентите са запознати с правилата за поведение при наводнение, но съвсем не малък е процента на анкетираните за които е необходима продължаваща образователна дейност и информираност.

Човекът със своите действия и бездействия, култура и поведение в голяма степен може да моделира нивото на риск от наводнения. Значение за това има превантивната подготовка.

Чрез повишаване на информираността на населението относно правилата за поведение на населението независимо от бедствената ситуация ще се повиши подготовката, а от тук и устойчивостта на обществото за реакция при бедствия, аварии и катастрофи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Превантивните мероприятия сред населението и достатъчната информираност за бедствията, както и необходимите правила за поведение са гаранция за добра подготовка, адекватна реакция и правилен избор на начини за предотвратяване и минимизиране на негативните последици при наводнения. Достатъчната информираност относно риска от наводнения и правилната реакция при наводнения осигуряват необходимата реакция, защита и опазване на общественото здраве.

ЛИТЕРАТУРА

Disk, Q. Fundter, Jonkman, B., Beerman, S., et al. (2008). Health impacts of large-scale floods: Governmental decision-making and resilience of the citizens. *TAP Report, Prehospital and Disaster Medicine*, 23(Suppl), 70–73.

Duží, B., et al. (2014). Household measures for river flood risk reduction in the Czech Republic. *Journal of Flood Risk Management*.

Kanev, K., Belokonski, Ev., & Sotirov, Kr., et al. (2008). *Medical insurance in crises*. Изд. „Ирита“, София, 106–111.

Menne, B., Brown, L., & Murray, V. (2014). *Floods and health: Fact sheets for health professionals*. World Health Organization, Regional Office for Europe, 1–12.

Mihajlova, П., & Todorova, D. (2011). *Disaster Medicine: Catastrophic Floods*. Медицинско издателство „АРСО“, София, 64–68.

Smith, G. J. (1999). *Floods: An environmental health practitioner's emergency management guide*. National Environmental Health Forum.

Spasova, Z. (2013). *Climate change: a threat to human health*. Издание на МЗ и НЦОЗА по Национална програма за действие по околна среда и здраве.

Стратегия за намаляване на риска от бедствия 2014-2020 г. София.

ТЕХНИКА НА ФОРСИРАНИТЕ ОСЦИЛАЦИИ И ДИСФУНКЦИЯ НА МАЛКИТЕ ДИХАТЕЛНИ ПЪТИЩА – ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА ПРЕЗ МОДЕРНАТА ДИАГНОСТИКА

Пламена Стоименова¹, Арас Будак²,
Стоилка Мандаджиева¹, Благой Маринов¹

¹ Катедра по Патологична физиология,
Медицински университет – Пловдив

² Студент по медицина към Медицински университет – Пловдив

FORCED OSCILLATION TECHNIQUE AND SMALL AIRWAY DYSFUNCTION – THE CHALLENGES OF MODERN DIAGNOSTICS

Plamena Stoimenova¹, Aras Budak²,
Stoilka Mandadzhieva¹, Blagoi Marinov¹

¹ Department of Pathophysiology, Medical University of Plovdiv

² Medical student, Medical University of Plovdiv

Abstract: According to the World Health Organization in 2019 chronic obstructive pulmonary disease (COPD) was the third leading cause of death worldwide, causing 3.23 million deaths whereas bronchial asthma affected an estimated 262 million people and caused 455 000 deaths. Both diseases are chronic obstructive conditions which need to be diagnosed early in order to prevent or slow down the complications. The early changes represent SAD (small airway disease) and actually start at the peripheral airways. Consequently, the world requires new effortless methods for diagnosis of airway obstructions, especially for small children and people who cannot perform the spirometry maneuver.

The purpose of this report is to describe the objectives of the forced oscillation technique (FOT) and to establish its applications in the clinical practice.

Studies and clinical cases regarding pulmonary function testing are summarized and analyzed. They are found in the following databases - PubMed, Google Scholar and Science Direct.

Spirometry is the ‘gold standard’ for the diagnosis of airflow obstruction but it requires effort and can be difficult for patients to perform. Forced oscillation technique (FOT) on the other hand is a relatively new method that may hold the key to the detection of smoking-induced respiratory early alterations and childhood asthma. FOT requires tidal breathing while applying external, small amplitude oscillations in order to determine the response of the respiratory system. Therefore, it is easy for pre-school children to perform. The use of FOT should be considered in patients in whom spirometry or other pulmonary function tests cannot be performed. One of the main advantages of this method is that minimal cooperation of the patient is needed and no respiratory maneuvers are required. This technique may be more sensitive than spirometry in identifying disturbances of peripheral airways or the effectiveness of therapy at the long term.

The Forced oscillation technique has been successfully applied in various pediatric respiratory disorders, such as asthma, cystic fibrosis, and chronic lung disease. Considering these qualities FOT may be used as an alternative of spirometry in heterogenous ventilatory disturbances of the small airways.

Keywords: diagnostics, small airway diseases, forced oscillation technique

INTRODUCTION

Small airway disease (SAD) is a condition that affects the peripheral airways of the lungs, with significant focus on those with an internal diameter less than 2 millimeters. These airways, although being small, play a crucial role in gas exchange and are often involved in the early stages of respiratory diseases, such as asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Pathologically, the disease manifests as a variety of lesions including cellular infiltration of the bronchiolar walls, alveoli, and perivascular spaces; goblet cell hyperplasia; mucus and inflammatory cell accumulation obstructing the airway lumen; smooth muscle thickening; and submucosal remodelling. These changes lead to clinical symptoms such as dyspnea, cough, and detectable obstruction on pulmonary function tests, including premature airway closure, air trapping, regional heterogeneity, and exaggerated volume dependence of airflow limitation. Recognizing the significance of SAD is essential because it often precedes a marked decrease in lung function, highlighting the importance of early diagnosis and intervention for preserving and maintaining respiratory health. In this literature review are discussed the golden standard in the diagnosis of respiratory diseases – spirometry and two modern diagnostic tools that are vital for the detection of early changes in the respiratory tree.

SPIROMETRY

Spirometry stands as the most widely adopted test for lung function, essential for both diagnosing and assessing the severity of lung disorders. If the ratio of Forced Expiratory Volume in 1 second (FEV1) to Forced Vital Capacity (FVC) is below 70%, a diagnosis of obstructive lung disease can be made, signaling that considerable small airway disease must be present for FEV1 to show abnormalities. The Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of the FVC (FEF25–75) often provides insights into small airway conditions, although its effectiveness is limited by poor reproducibility and weak correlation with other small airway disease markers unless lung volume adjustments are made.

Moreover, spirometry frequently includes measurements like the ratio of FVC to slow vital capacity (SVC) to evaluate small airways disease, demonstrating its broad application in respiratory assessment. Indicators such as Forced Expiratory Flow (FEF) 50%, FEF75%, and FEF25–75% [also referred to as Maximum Midexpiratory Flow (MMEF)] are commonly employed to determine small airway function, with a recognized dysfunction when two of these indicators are below 65%. These measurements are instrumental in potentially pinpointing early Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) in patients who exhibit symptoms but whose pulmonary function tests have not yet identified persistent airflow limitations. Despite this, the American Thoracic Society advises against using MMEF for diagnosing small airway disease due to its unreliable reproducibility and sensitivity, and minimal correlation with other small airway condition indicators like gas trapping and small airway inflammation observed through lung biopsies.

SINGLE BREATH NITROGEN WASHOUT (SBNW)

Gas washout tests, specifically the Single Breath Nitrogen Washout (SBNW), provide crucial insights into small airway functions and the presence of airway diseases. The test initiates with the inhalation of 100% oxygen from residual volume (RV) to total lung capacity (TLC), followed by a slow vital capacity (SVC) exhalation during which the exhaled volume and nitrogen concentration are measured, revealing a characteristic trace divided into distinct phases.

In individuals without diseases, small airway closure occurs close to RV, but diseases like COPD may cause premature airway closure, leading to increased CV and gas trapping. This closing capacity then may be expressed as a percentage of the TLC, offering valuable data for the assessment of obstructive lung diseases.

The relevance of SBNW indices extends to the assessment and monitoring of treatment responses in conditions like asthma and COPD. For instance, patients with asthma who have normal Forced Expiratory Volume in one second (FEV1) may show increased CV and SIII, correlating with the frequency of exacerbations and suggesting these metrics as sensitive indicators of control. Additionally, SBNW has shown sensitivity to early airways changes in smokers, potentially identifying those at risk before obstructive spirometry patterns develop, although its specificity for

pinpointing the exact anatomical sites of pathology remains limited.

FORCED OSCILLATION TECHNIQUE (FOT)

The Forced Oscillation Technique (FOT) is a noninvasive lung function test that measures the mechanical feedback of the respiratory system by applying an external oscillatory signal during regular breathing. This technique operates on the principle of minimal patient involvement, requiring only passive cooperation, which is particularly advantageous for assessing lung function in young pediatric patients. It works by assessing the respiratory system's resistance and reactance, offering insight into various pulmonary conditions. By measuring respiratory system resistance and reactance, FOT provides valuable insights into the dynamics of airway obstruction and the effectiveness of bronchodilatory interventions. The method's sensitivity surpasses that of traditional spirometry in detecting peripheral airway disturbances and in evaluating asthma control or long-term therapeutic effectiveness. Despite its growing use, FOT is not intended to replace spirometry but rather to complement it, particularly in clinical settings involving asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

As previously mentioned, the Forced Oscillation Technique (FOT) offers a unique approach to lung function assessment in pediatric patients, particularly useful due to its noninvasive nature and minimal requirement for patient involvement, making it ideal for young children. FOT has shown great results in detecting airway obstruction in conditions like asthma and cystic fibrosis, especially useful in evaluating preschool children who cannot perform complex respiratory techniques required for conventional tests such as spirometry.

In pediatric asthma, traditional assessments often focus on large airways, but small-airways dysfunction is increasingly recognized as contributing significantly to the disease's clinical presentation. FOT can be particularly advantageous here as it may detect disturbances in peripheral airways that are not as apparent in spirometry tests. Studies have shown that FOT can effectively identify airway obstruction and assess bronchodilator response, indicating its sensitivity and potential for broader clinical applications.

FOT stands out as particularly beneficial also for elderly patients who may struggle with conventional spirometry due to the requirement for active participation, which can be challenging with advancing age. Research on COPD patients shows that FOT, especially through measurements like reactance and resonance frequency, can accurately determine the severity of airflow limitations and detect significant airway obstructions with high precision and reliability in older adults.

Additionally, the simplicity of the application and non-invasive nature of FOT make it an appealing option for routine use in clinical settings, especially for older patients who require frequent monitoring of lung function without the physical strain associated with traditional methods.

CONCLUSION

In summary, the modern methods in diagnosis of SAD offer a better understanding of the early changes in the bronchial tree and result in prompt treatment and therapy control. The Forced Oscillation Technique represents a significant advancement in respiratory diagnostics, offering a noninvasive, sensitive, and comprehensive method for assessing lung function across different age groups. Despite some challenges related to standardization and necessity for further testing, its benefits make it a valuable tool in clinical practice, particularly for managing chronic respiratory diseases.

REFERENCES

- Burgel, P. R.** (2011). The role of small airways in obstructive airway diseases. *European respiratory review*, 20(119), 023-033. <https://doi.org/10.1183/09059180.00010410>
- Graham, B. L.** (2019). Standardization of Spirometry 2019. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(8), e70–e88. <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590st>
- Kim, C. W.** (2001). Clinical Applications of Forced Oscillation Techniques (FOT) in patients with Bronchial Asthma. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 16(2), 80–86. <https://doi.org/10.3904/kjim.2001.16.2.80>

McNulty, W. (2014). Techniques of assessing small airways dysfunction. *European Clinical Respiratory Journal*, 1(1), 25898.

Shirai, T., & Kurosawa, H. (2016). Clinical application of the forced oscillation technique. *Internal Medicine*, 55(6), 559–566. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.5876>

СЪДЪРЖАНИЕ

- 1. Death by lactic acid? implications of lactate in health and disease – a mini review - Nikolay Mandadzhiev..... 4**
- 2. Activity of the pentose phosphate pathway enzymes in the liver of diabetic rats with preserved glycemia and melatonin injection - Oleksandra Kushnir, Yaremii Kateryna.... 11**
- 3. The influence of melatonin on the main indicators of the glucose-lactate cycle in the skeletal muscles and liver of rats with dexamethasone diabetes - K.M. Yaremii, O.Yu. Kushnir, I.M. Yaremii..... 14**
- 4. The seventh cranial nerve and its clinical manifestation – Bell’s palsy - Dimitar Dimitrov, Katerina Georgieva, Petar-Preslav Petrov, Maria Motrenikova, Plamen Penchev, Todor Todorov, Darina Barbutska..... 18**
- 5. Variations and clinical syndromes of the anatomical elements in the infraclavicular space - Petar-Preslav Petrov, Darina Barbutska, Krikor Indjian, Todor Todorov, Plamen Penchev, Kiril Ivanov, Stoyan Papalakov..... 22**
- 6. Change in myocardial MAS receptor expression induced by Aronia melanocarpa - Maria-Florans Kitova, Elena Daskalova, Mina Pencheva 28**
- 7. Гастроинтестиналният хормон грелин и неговата протективна роля по отношение на стомашната лигавица, инфицирана с *Helicobacter pylori* - Сабри Сабри, Надя Пенкова, Пепа Атанасова..... 32**
- 8. Роля на холангиоцитите от жлъчните пътища и жлъчния мехур във формирането на жлъчния сок и жлъчнокаменната болест - Сабри Сабри, Никол Кирчев, Надя Пенкова, Петър Хрисчев, Пепа Атанасова 36**
- 9. Intestinal microbiota and intestinal permeability in autoimmune thyroid diseases - Boryana Levterova, Desislav Tomov, Maria Orbetzova, Yordanka Uzunova..... 40**
- 10. Research advances of polymers as materials for the acceleration of bone healing - Nadezhda Kadreva, Nadia Penkova, Pepa Atanassova, Bissera Pilicheva 45**
- 11. Follow-up of patients with IgA nephropathy and SGLT2 inhibitors – our view - I. Erkanyan, E. Tilkiyan, E. Kumchev, H. Atanasov, G. Krалеva 49**
- 12. Separation of ethanol by nanofiltration of red wine Mavrud - V. Prodanov, M. Dencheva-Zarkova, J. Genova..... 52**
- 13. Биологичен потенциал на балканския ендемичен вид *Micromeria frivaldszkyana* (Degen) Velen (Lamiaceae) - Кристина Ставракева..... 56**
- 14. Анализ на диагностичните и терапевтични стратегии при пациенти с артериална хипертония чрез методите за измерване на лекарствената използваемост и рационалната лекарствена употреба на макроравнище в България – систематичен преглед - Стефка Стоянова, Николай Начев, Емануил Йорданов, Иван Груев, Ива Първова, Емил Христов 60**
- 15. Treatment of diabetes mellitus with biological medicinal products – the new reality - Darin Todorov, Iva Parvova, Dzhanu Ilyaz, Nikolay Nachev, Stefka Stoyanova..... 66**

16. Нутривижиланс – проследяване безопасността на хранителните добавки в Европейския съюз - Катерина Славчева, Радиана Стайнова, Евелина Гавазова, Даниела Кафалова.....	70
17. Природни фитостероиди – от фармакологичната полза до злоупотребата в спорта - мини обзор - Красимир Стефанов, Беркай Хасан, Мариана Кацарова, Стела Димитрова	75
18. Регулаторни аспекти при планиране и провеждане на клинични изпитвания на лекарствени продукти за лечение на захарен диабет - Лора Петрова, Калина Андреевска, Емил Христов	80
19. Съвременни терапевтични подходи за лечение на захарен диабет тип 2 - Лора Петрова, Калина Андреевска, Джансу Иляз, Емил Христов	88
20. Histological reaction of the pulp on the 90th day after direct vital pulp capping with different materials and preparation by Er: YAG dental laser - Vesela Stefanova, Mariela Tsanova-Stamatova, Kostadin Zhekov	96
21. Femtosecond laser irradiation of dental composite material - Dragomir Vassilev, Vesela Stefanova, Kostadin Zhekov, Todor Petrov, Lyubomir Stoychev	100
22. Pulp and root denticles-obstacles for successful endodontic treatment: a case report - Zdravka Harizanova, Ferihan Popova, Marieta Peycheva	104
23. Area of residual gutta-percha evaluation after retreatment of root canals filled by hydraulic condensation of gutta-percha and bioceramic sealer: an in vitro study - Kostadin Zhekov, Vesela Stefanova	108
24. Информираност на денталните специалисти относно влиянието на протезните адхезиви върху говорната функция - Маджед Хусеин	112
25. Modern 3D printing materials in prosthetic dentistry - Mariana Dimova-Gabrovska, Yoana Brusarska.....	118
26. Opportunity for crafting of experimental bodies from polymer materials with reinforcement - Mariana Dimova-Gabrovska, Stefan Rangelov	122
27. Managing aesthetic restoration through multidisciplinary approaches utilizing 3D smile design - Dobromira Shopova, Vasil Dimitrov, Maria Hristozova, Emiliya Simeonova, Atanaska Dinkova, Yana Dermendzhieva	126
28. Expression of estrogen and progesterone hormone receptors in endometrial polyps in pre- and post-menopause women - a literature review - Krum Vladov, Ekaterina Uchikova, Veselin Belovezhdiv, Gita Yamakova-Vladova, Kamen Yamakov, Maria Koleva-Ivanova, Nikoleta Parahuleva-Rogacheva	130
29. Simulation-based training in obstetrics at the medical simulation training center of MU Plovdiv as a basis for research project activity - K. Vladov, M. Sandeva, E. Uchikova, Yu. Yanakiev, K. Yamakov, M. Vlahova, P. Petleskova, S. Tufkova, M. Vladimirova, Z. Nikolova	133
30. Tumor microenvironment – a new target for oncological therapy - S. Chilova, G. Raycheva, I. Nenova.....	136
31. Предразполагащи сърдечни състояния при инфекциозен ендокардит: 17-годишен ретроспективен анализ - Иван Кучмов, Бистра Добрева-Яцева, Ралица Райчева, Петър Николов, Мария Токмакова.....	140

32. Динамика и прогностично значение на някои рутинни лабораторни показатели при пациенти с инфекциозен ендокардит - Г. Трендафилов, Б. Добрева – Яцева, Р. Читак, И. Кучмов, Р. Райчева, М. Токмакова.....	144
33. Коморбидности при инфекциозен ендокардит – 17 годишен, едноцентров, ретроспективен анализ - Рафиела Читак, Бистра Добрева-Яцева, Ралица Райчева, Петър Николов, Иван Манолов, Мария Токмакова.....	149
34. Приложение на медикамент-излъчващ балонен катетър при пациенти с остър коронарен синдром със ST-елевация - Иван Кучмов, Петър Николов, Бистра Добрева-Яцева.....	154
35. Ревматоиден фактор и anti-CCP антитела – ролята на лабораторните тестове за диагноза на болестта ревматоиден артрит - Владимир Благоев, Яна Тодорова, Мария Прошенска, Мария Панчовска	158
36. Подагра – лабораторни тестове за диагностика и терапевтичен мониторинг - Яна Тодорова, Владимир Благоев, Мария Прошенска, Мария Панчовска	162
37. Аспекти в диагностиката и лечението на депресивни състояния - Н. Асипова, Н. Неделков, С. Огнянов, И. Първова, Е. Христов	166
38. Клинична оценка на когнитивните функции и съня при пациенти с ранна паркинсонова болест - Виктор Каралийски, Анастасия Тренова, Лъчезар Трайков, Мария Петрова, Кирил Терзийски, Тодор Георгиев.....	172
39. Съвременен подход при пациенти с H. pylori инфекция - Мила Ковачева-Славова	177
40. Dietary patterns and effect on BMI among medical students in Plovdiv - Elka Toseva, Pravin Prabakaran, Stanislava Harizanova	181
41. Nutritional habits among medical students of different nationalities in Plovdiv - Elka Toseva, Waleed Thathal, Bavisan Jeyakanthan, Stanislava Harizanova.....	185
42. Research and prevention of health conditions of home or hybrid workers in Bulgaria - Rositsa Markova, Karolina Luybomirova, Marina Samuneva-Zhelyabova.....	189
43. Регулаторна рамка за разрешение за употреба на генни терапии в ЕС и САЩ - Юлияна Маринова, Костадин Костадинов, Костадин Димитров, Елеонора Христова-Атанасова, Георги Искров, Румен Стефанов	193
44. Health related quality of life in patients with tuberculosis - Boryana Levterova.....	197
45. Knowledge and perception of video-based directly observed therapy among patients with active tuberculosis - Kristyan Hristov, Boryana Levterova.....	202
46. Приложение на съвременните технологии в общественото здравеопазване - Мария Христозова, Момчил Мавров	208
47. Active substances from human origin – the legal framework ensuring transplation - Nikolay Nachev, Stefka Stoyanova, Dzhansu Ilyaz, Iva Parvova.....	212
48. Превенция срещу рак на маточната шийка при млади момичета и ролята на общо практикуващите лекари и медицинските специалисти - Мюжгян Сабри... 	215
49. Информираност на населението относно правилата за поведение при наводнение - Румяна Етова, Десислава Тодорова, Даниела Петковска, Ангелка Янкуловска, Денис Арсовски.....	221

- 50. Техника на форсираните осцилации и дисфункция на малките дихателни пътища – предизвикателства през модерната диагностика - Пламена Стоименова, Арас Будак, Стоилка Мандаджиева, Благой Маринов 225**

**Scientific Works
of the Union of Scientists
in Bulgaria – Plovdiv**

**Series G. Medicine, Pharmacy and Dental
medicine
Vol. XXXI**

**ISSN 1311-9427 (PRINT)
ISSN 2534-9392 (ON-LINE)**

**Xth INTERNATIONAL CONFERENCE
OF YOUNG SCIENTISTS**

**EDITOR – IN CHIEF:
PROF. DR. Vladimir Andonov, DM**

**Technical editor:
Maria Gorgorova**

ISSN 1311-9427 (Print)
ISSN 2534-9392 (On-line)



СЪЮЗ НА УЧЕНИТЕ В БЪЛГАРИЯ – ПЛОВДИВ

ЕВРОПА, БЪЛГАРИЯ, 4000 ПЛОВДИВ
ул. „Митрополит Паисий“ 6
тел.: +359 88 295 4369

UNION OF SCIENTISTS IN BULGARIA
CITY OF PLOVDIV

EUROPE, BULGARIA, 4000 PLOVDIV
6 Mitropolit Paisii Str.,
Tel. +359 88 295 4369

www.usb-plovdiv.org