

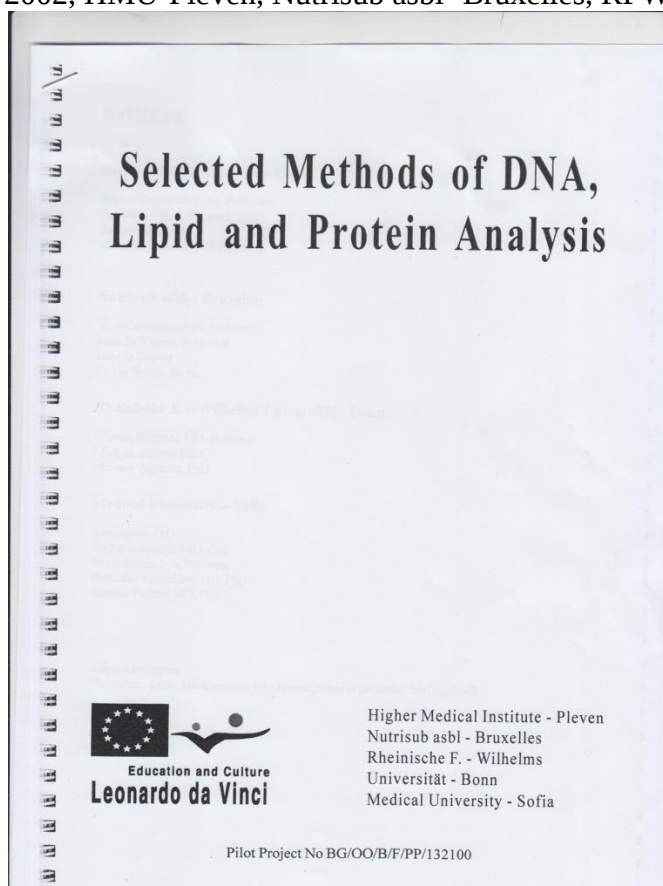
Списък на научните трудове на Доц. Регина Семьоновна Комса-Пенкова, д.б.н –

Дисертационни трудове за ОНС „Доктор” и „Доктор на науките”:

1. “Термоденатурация на фибрилари колагени. Влияние на различни химически фактори върху термостабилността на фибрилари колагени” - дисертационен труд за присъждане на научна степен „кандидат на биологическите науки“ – 1993г. гр. Плевен
2. „Нов поглед върху ролята на генетичните и негенетични рискови фактори в патогенезата на тромботични инциденти при пациенти с венозен тромбоемболизъм и репродуктивни проблеми“ - дисертационен труд за придобиване на научната степен „доктор на науките“ – 2017г. гр. Плевен

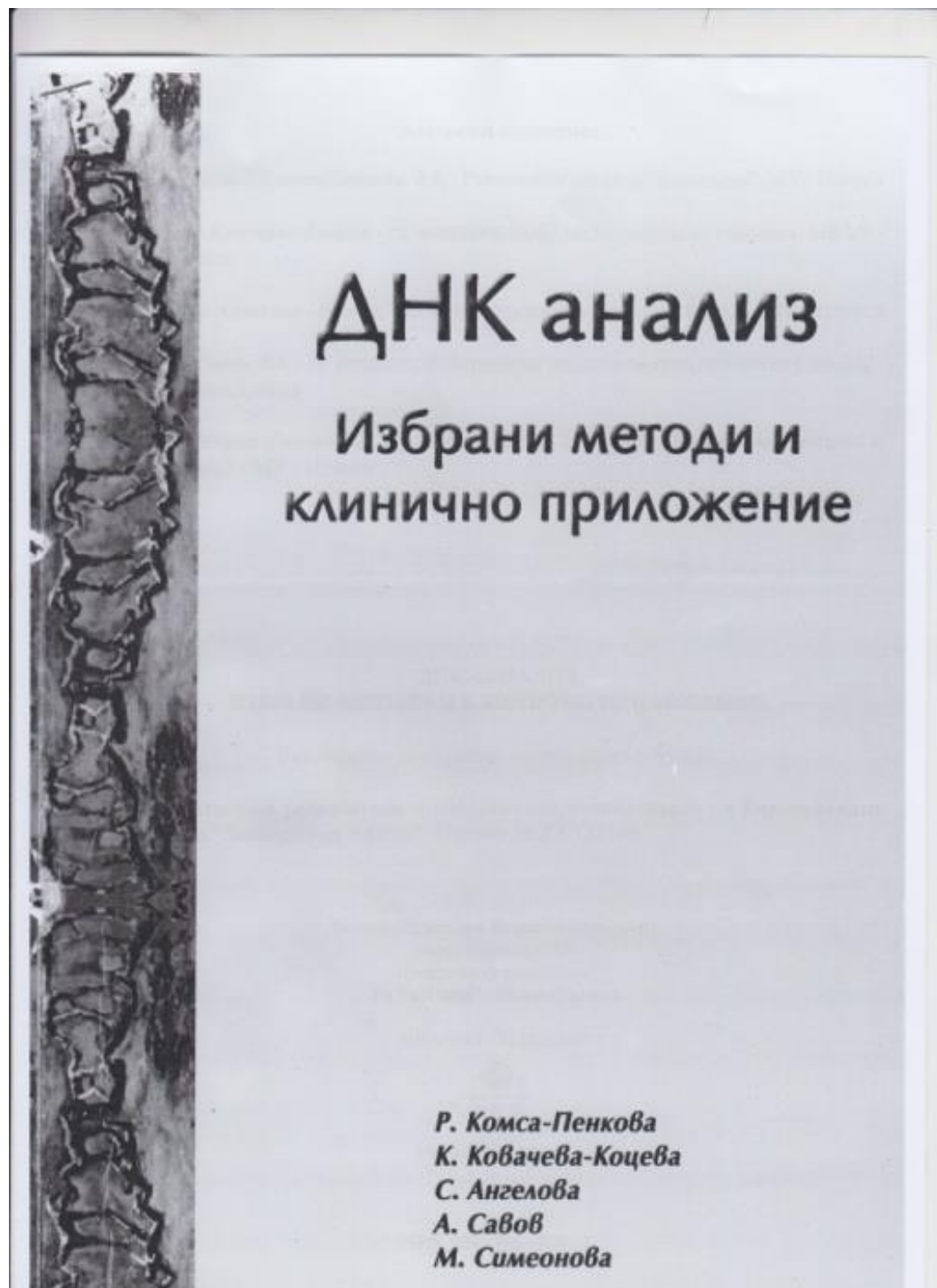
Глави от книги, учебници и студии:

3. Selected methods of DNA, Lipid and Protein Analysis
R. Komsa-Penkova, K. Kovacheva- Kotseva, Y. Carpentier, W. Breipohl, A. Savov, Copyright 2002, HMU-Pleven, Nutrisub asbl- Bruxelles, RFWU-Bonn, MU-Sofia;

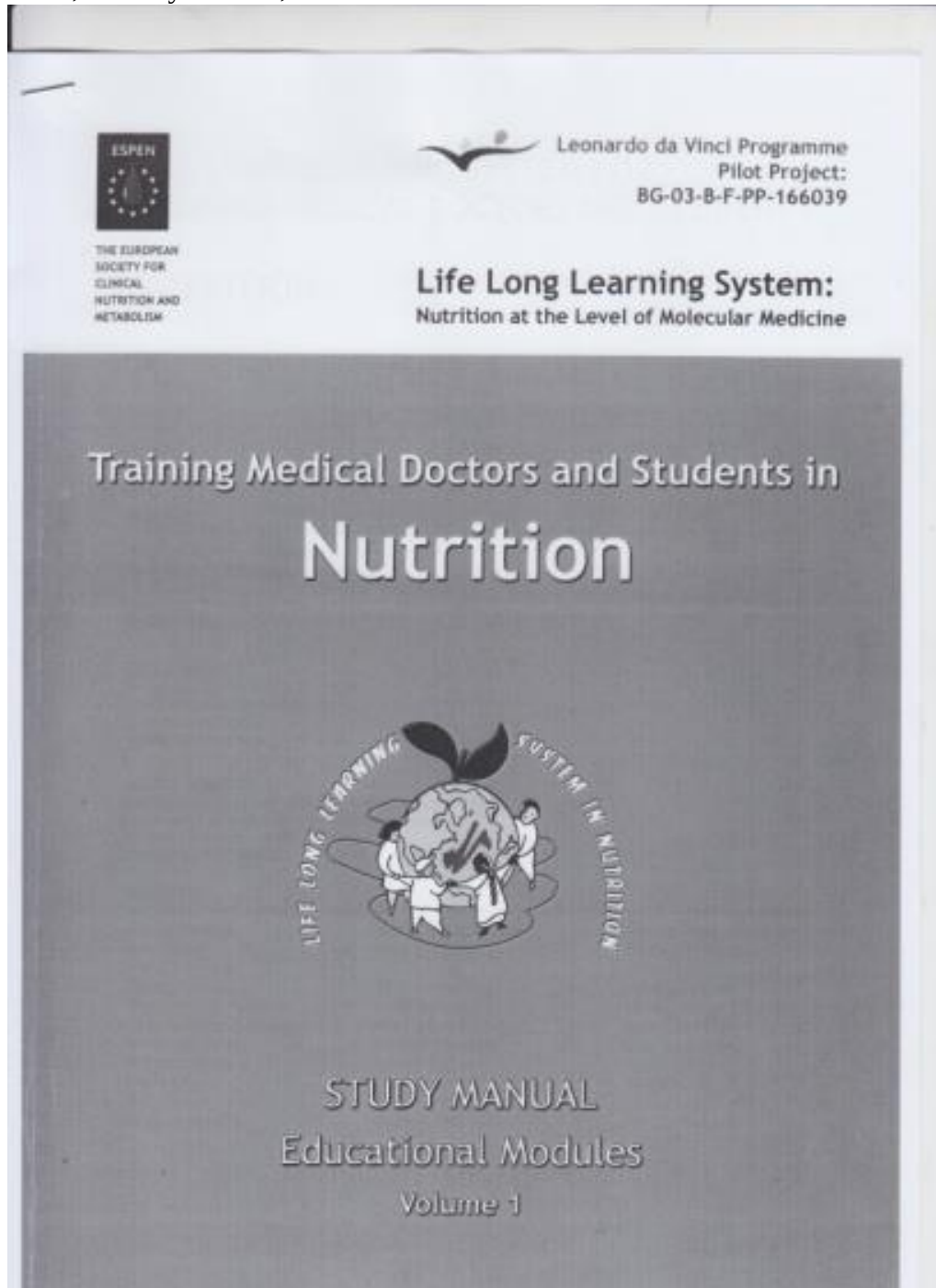


4. ДНК анализ, Избрани методи и клинично приложение

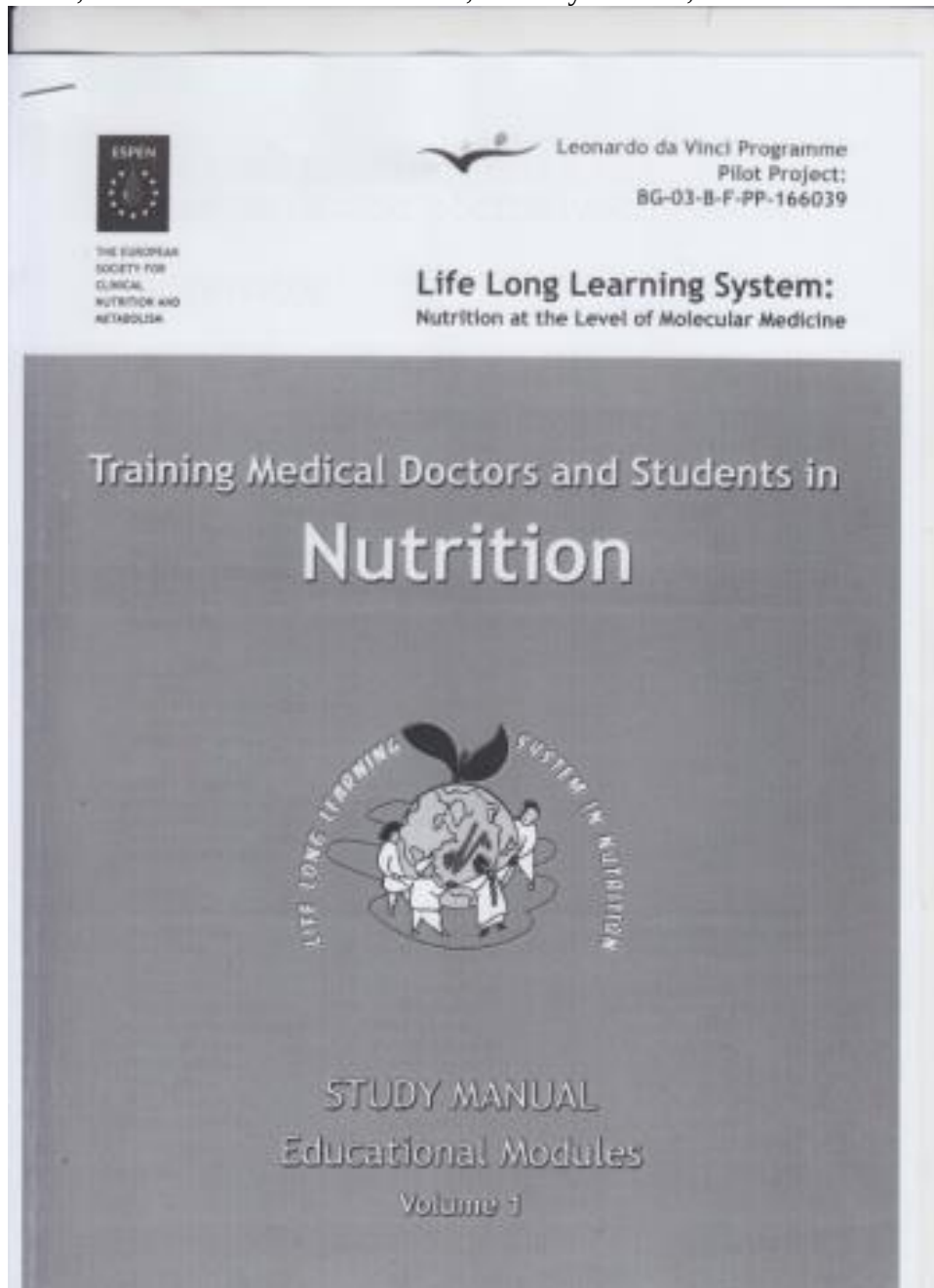
Р. Комса-Пенкова, К. Ковачева-Коцева, С. Ангелова, А. Савов, М. Симеонова, ISBN: 954-756-030-1. 2004;



5. Training Medical Doctors and Students in NUTRITION, Study Manual, Module Catalogue
R. Komsa-Penkova, R. Maier, L. Sobotka, ISBN-10: 954-756-051-4, ISBN-13: 978-954-756-051-2, 2005 by ESPEN;



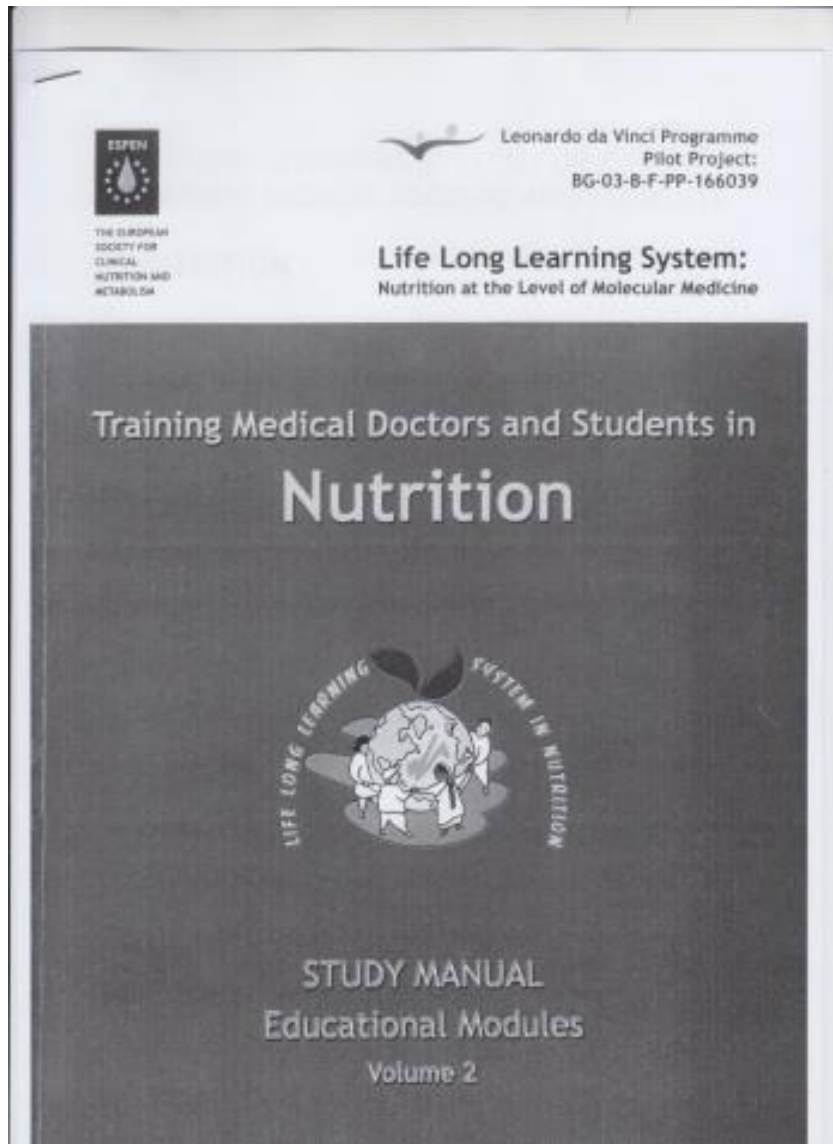
6. Life Long Learning System: Nutrition at the Level of Molecular Medicine, Training Medical Doctors and Students in Nutrition, Study Manual, Educational Modules, Volume 1
Regina Komsa-Penkova, Claude Pichard, Remy Maier, Yvon Carpentier, ISBN-10: 954-756-052-2, ISBN-13: 978-954-756-052-9, 2005 by ESPEN;



7. Life Long Learning System: Nutrition at the Level of Molecular Medicine, Training Medical Doctors and Students in Nutrition, Study Manual, Educational Modules, Volume 2

Regina Komsa-Penkova, Claude Pichard, Remy Maier, Yvon Carpentier

ISBN-10: 954-756-053-0, ISBN-13: 978-954-756-053-6, 2005 by ESPEN;



8. Димитрова Д., Младенов Ив., Стаменова М., Трифонова Н., Минчева П., Комса-Пенкова Р., Калайджиев С., Маринова Ц., Трифонова Н., Стаменова М., Буланов Ив., Ватев И. Ръководство за имунохистохимични методи. София, Медицински факултет, Катедра по Биология, 2006, с. 27-3



РЪКОВОДСТВО ЗА

ИМУНОХИСТОХИМИЧНИ МЕТОДИ

Димитрова Д., Младенов Ив., Стаменова М., Трифонова Н.,

Минчева П., Комса-Пенкова Р., Калайджиев С., Маринова Ц.,

Трифонова Н., Стаменова М., Буланов Ив., Ватев И

София, Медицински факултет

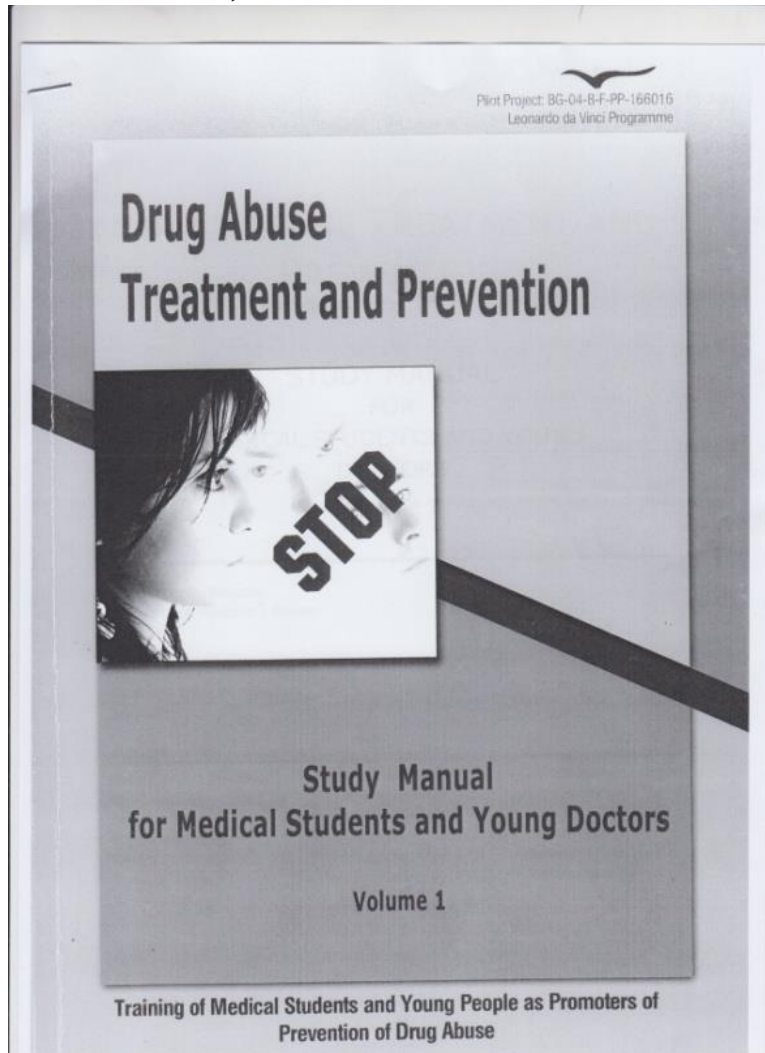
Катедра по Биология

2006

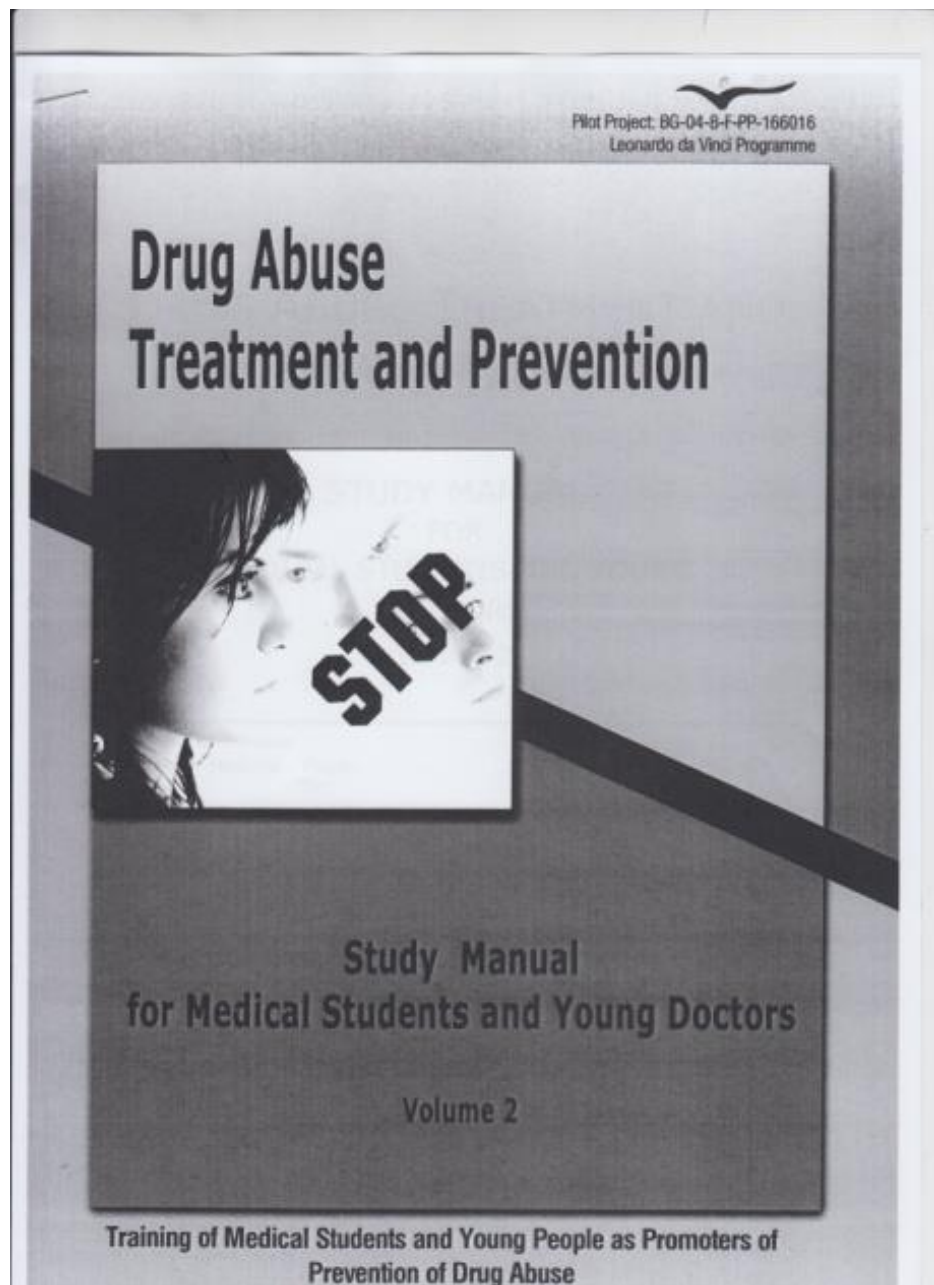
9. Drug Abuse, Treatment and prevention, Study Manual for Medical Students and Young Doctors, Volume 1

Regina Komsa-Penkova, Paul Verbanck, Robertas Badaras

ISBN-10: 954-756-067-0, ISBN-13: 978-954-756-067-3, Copyright: 2006, University of Medicine- Pleven;

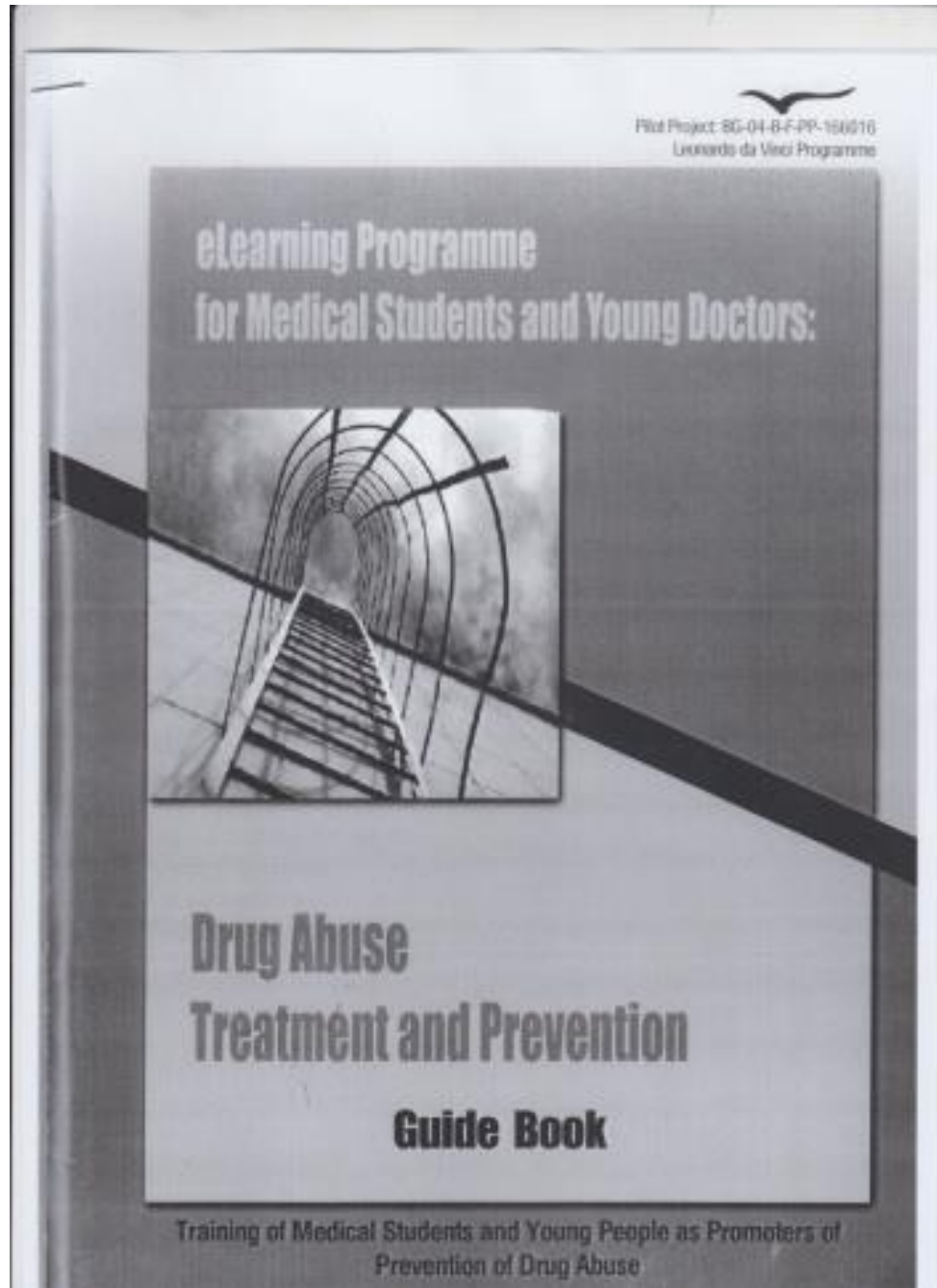


10. Drug Abuse, Treatment and prevention, Study Manual for Medical Students and Young Doctors, Volume 2. Regina Komsa-Penkova, Paul Verbanck, Kire Tomov
ISBN-10: 954-756-068-9, ISBN-13: 978-954-756-068-0, Copyright: 2006, University of Medicine- Pleven;

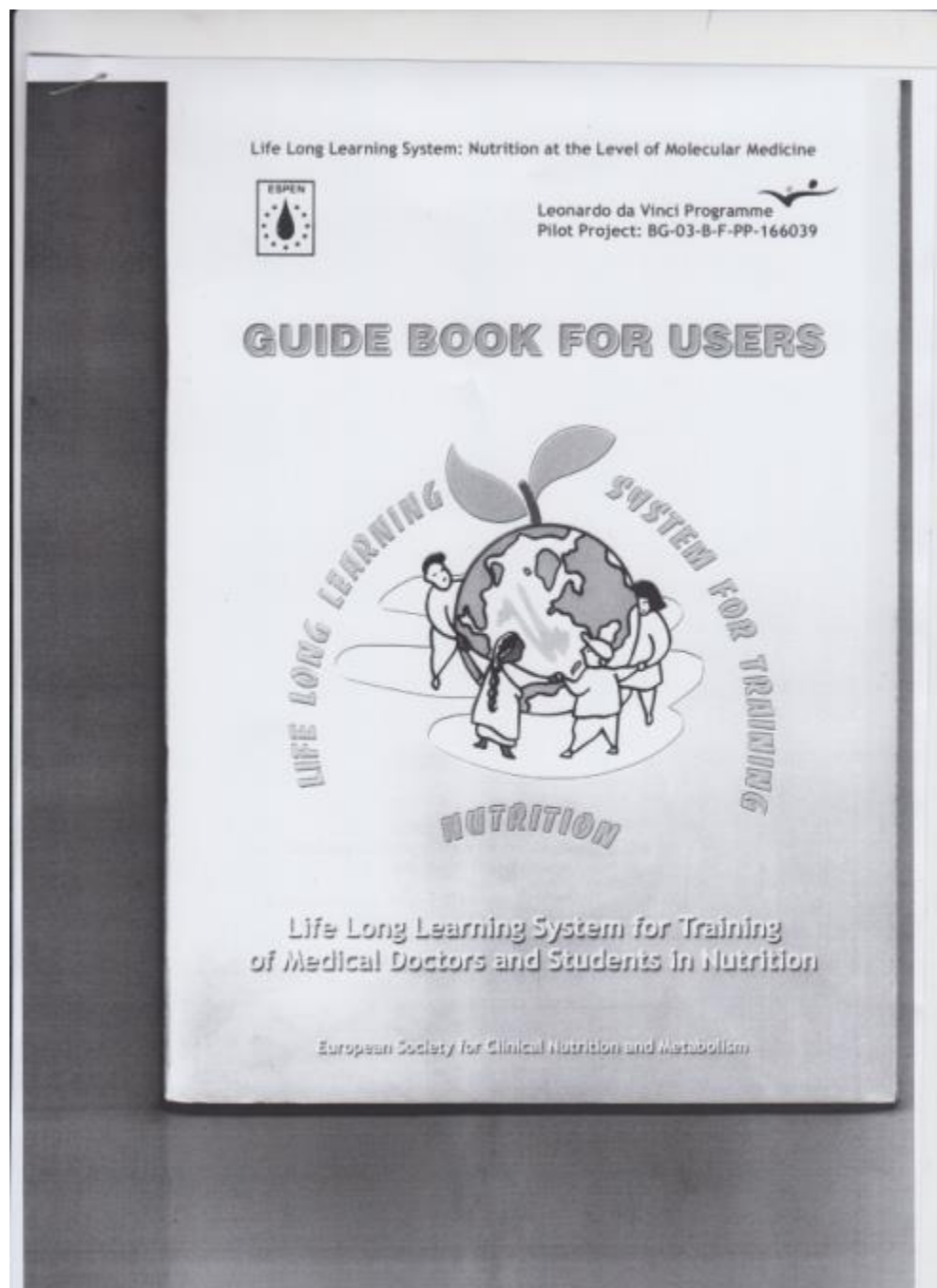


11. Drug Abuse, Treatment and prevention, eLearning Programme for Medical Students and Young Doctors, Guide Book.

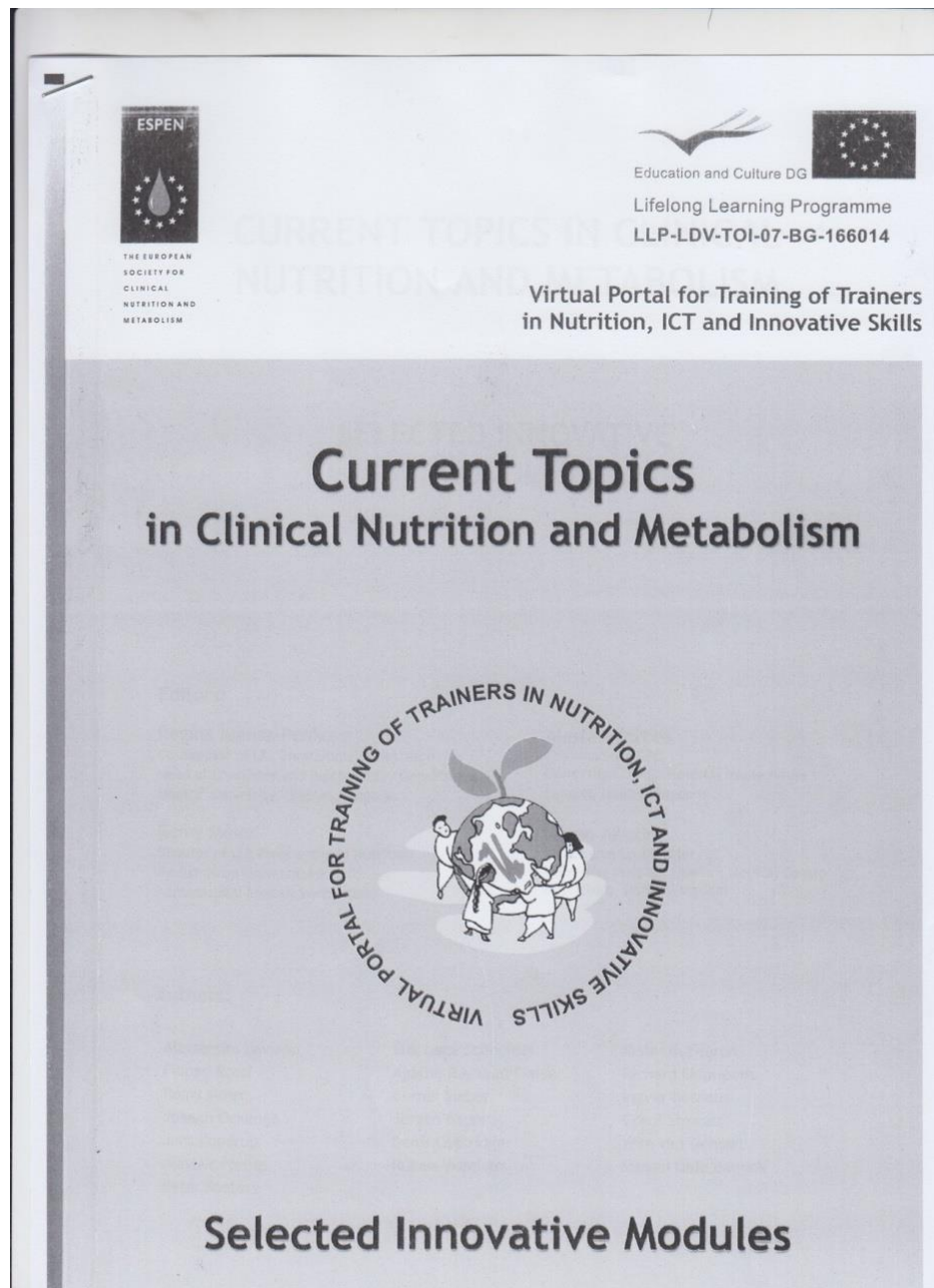
Regina Komsa-Penkova, Pencho Tonchev, Ani Kamenova, Svetlana Angelova, ISBN-10: 954-756-066-2, ISBN-13: 978-954-756-066-6, Copyright: 2006 University of Medicine- Pleven;



12. Guide book for users. R. Komsa-Penkova, R. Maier, K. Kovacheva, S. Angelova, A. Kamenova, P. Tonchev, Y. Carpentier, L. Sobotka, C. Pishard, 2006, Printed by EA Ad, Pleven, Bulgaria, ISBN-10: 954-756-049-2, ISBN-13: 978-954-756-049-9;

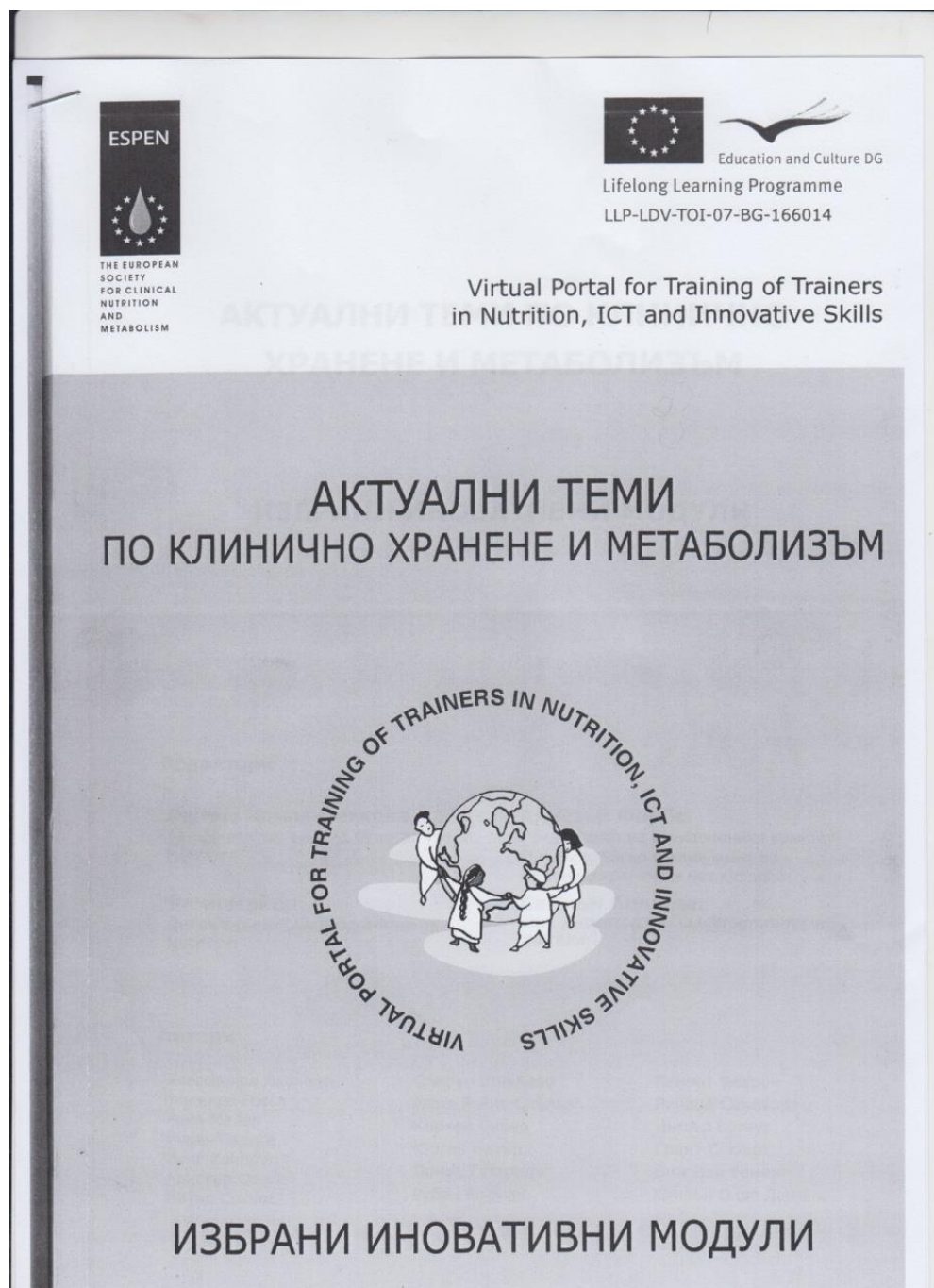


13. Virtual Portal for Training of Trainers in Nutrition, ICT and Innovative Skills, Current Topics in clinical Nutrition and Metabolism, Selected Innovative Modules. Regina Komsa-Penkova, Alessandro Laviano, Remy Maier, Alastair Forbes, ISBN: 978-954-756-079-6, 2008 by ESPEN;



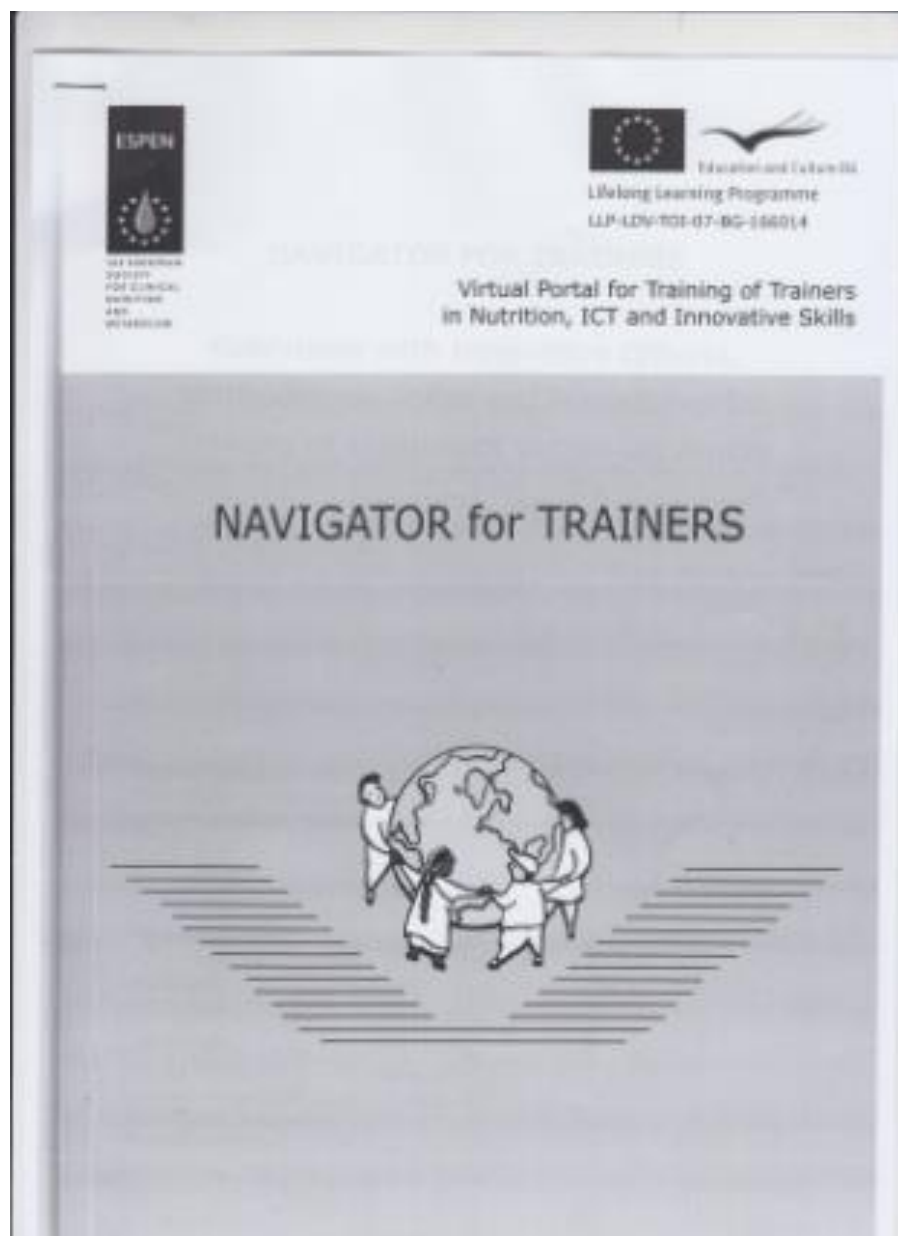
14. Virtual Portal for Training of Trainers in Nutrition, ICT and Innovative Skills, Актуални теми по клинично хранене и метаболизъм, избрани иновативни модули.

Аллесандро Лавиано, Регина Комса-Пенкова, Реми Майер, Йохан Окенга, ISBN: 978-954-756-090-1, 2009 by ESPEN;



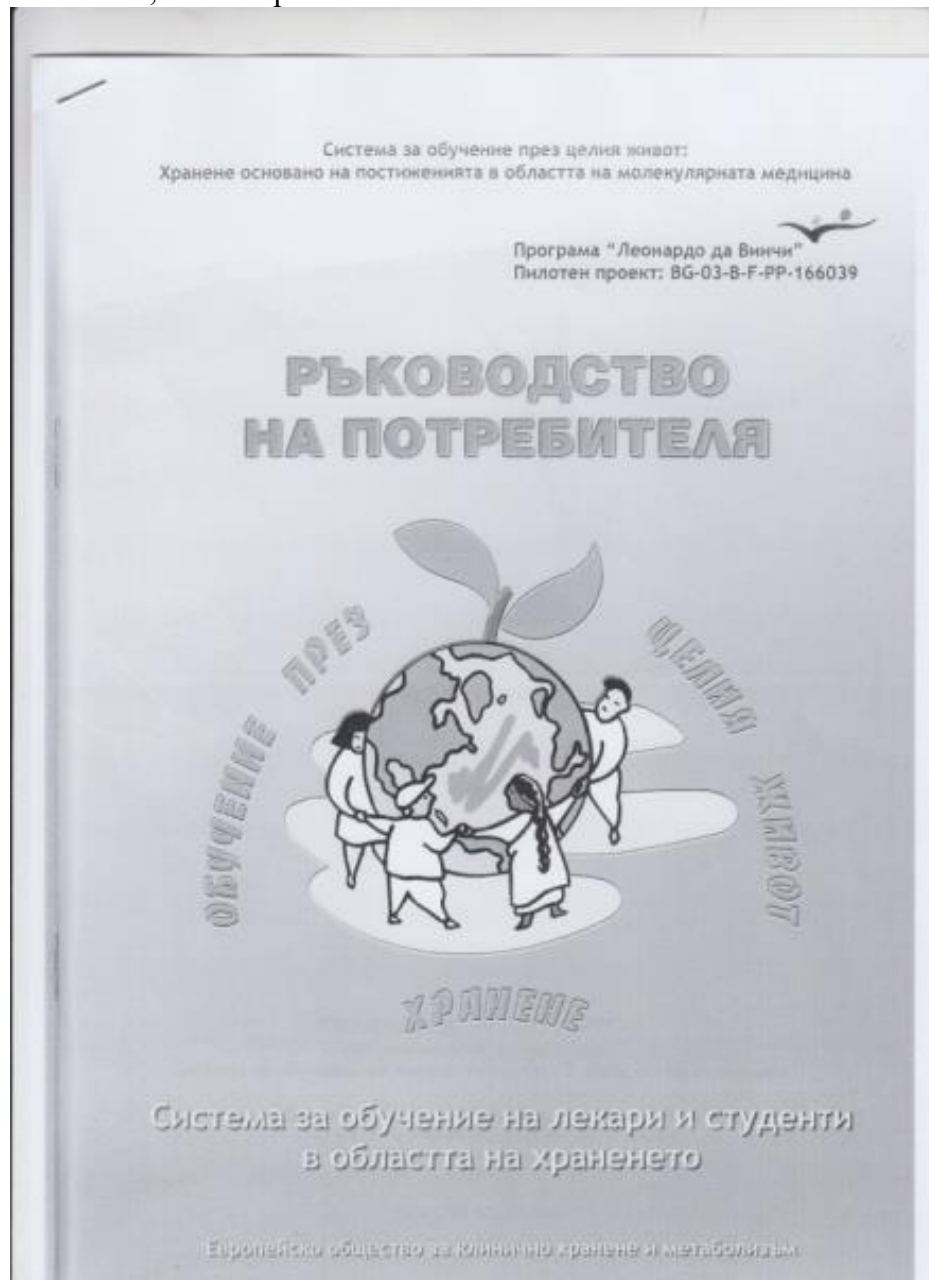
15. Navigator for Trainers: Guidelines with Innovative Criteria, Methodology, Rules and Procedures for Training of Trainers of Virtual University

R. Komsa-Penkova, R. Meier, P. Tonchev, A. Kamenova, K. Statev, N. Jurov. 2009, EU –LLL & ESPEN Printed by EA AD, Pleven, ISBN 978-954-756-091-8



16. Ръководство на потребителя, Система за обучение на целия живот: Хранене основно на постиженията в областта на молекулярната медицина, Програма „Леонардо да Винчи“, Система за обучение на лекари и студенти в областта на храненето.

Р. Комса-Пенкова, Р. Майер, К. Ковачева, С. Ангелова, П. Тончев, И. Карпентиер, Л. Сobotка, К. Пишар



17. Polymorphism A1/A2 in cell surface integrin alpha IIb/beta 3 and the development of increased risk for venous thrombembolism and recurrent pregnancy loss In: Thrombosis: Causes, Treatment and Prevention.

Ivanov PD., Komsa-Penkova RS., Tsvyatkovska TM., Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge, NY, 2010;

POLYMORPHISM A1/A2 IN CELL SURFACE INTEGRIN ALPHA IIB/BETA 3 AND
THE DEVELOPMENT OF INCREASED RISK FOR VENOUS THROMBEMBOLISM
AND RECURRENT PREGNANCY LOSS

*Ivanov Petar, MD

**Komsa-Penkova Regina, PhD

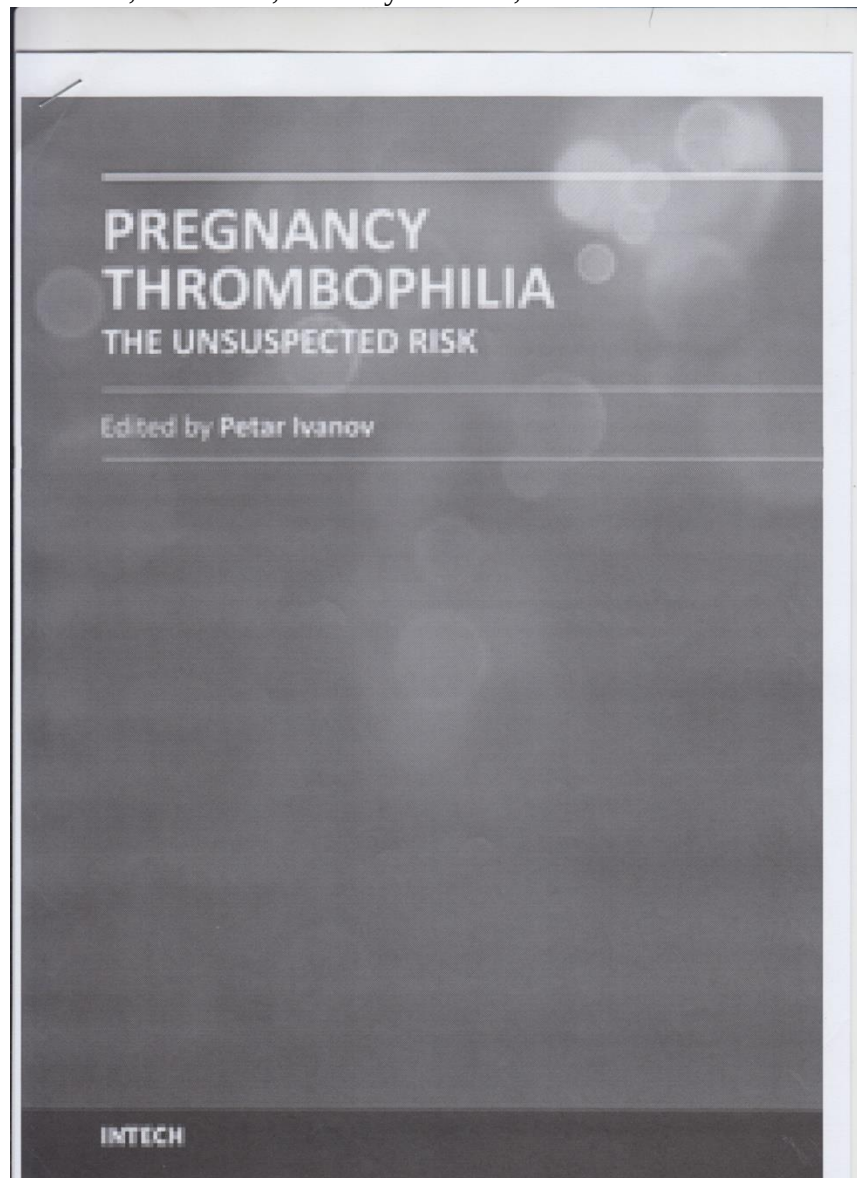
**Tsvetomira Tsvyatkovska

Affiliation: *Scientific secretary of Laboratory of Molecular Biology and Biochemistry,
Department of and Chemistry & Physic and Biophysics, Medical University, Pleven, Bulgaria
** Head of Laboratory of Molecular Biology and Biochemistry, Department of and Chemistry
& Physic and Biophysics, Medical University, Pleven, Bulgaria
*** Researcher Laboratory of Molecular Biology and Biochemistry, Department of and
Chemistry & Physic and Biophysics, Medical University, Pleven, Bulgaria

The investigation of the risk factors, development and treatment of venous thrombembolism (VTE) is probably one of the fields in medicine that possesses one of the most evidence-based labors of knowledge. The complexity of finding and understanding the main causes and pathological mechanism of thrombosis process extended the time of the study. Therefore, there are still several controversial issues in the understanding of thrombosis development. Many factors have played a role in venous thrombosis development. The acquired risk factors such as trauma, surgery, prolonged immobilization, etc. affect many persons, but frequently a combination of some risk factors in one person, is necessary for thrombus formation. Indeed, multiple risk factors are a prerequisite for thrombosis development. In our days, the importance of inherited risk factors in the development of venous thromboembolism, has been increasingly recognized. The knowledge for relatively rare conditions, such as protein C, protein S and antitrombin III deficiency [1], have been expanded with the discovery of the impact of mutation in coagulation factors for the development of VTE. Recently, the most frequent prothrombotic genetic defects in patients with VTE have been considered to be Factor V Leiden mutation [2] (FVL) and Factor II 20210 G>A mutation (FII 20210 G>A) [3]. Along with mutation in natural anticoagulants and factors from cascade of coagulation, an inherited changes in platelet membrane receptors was

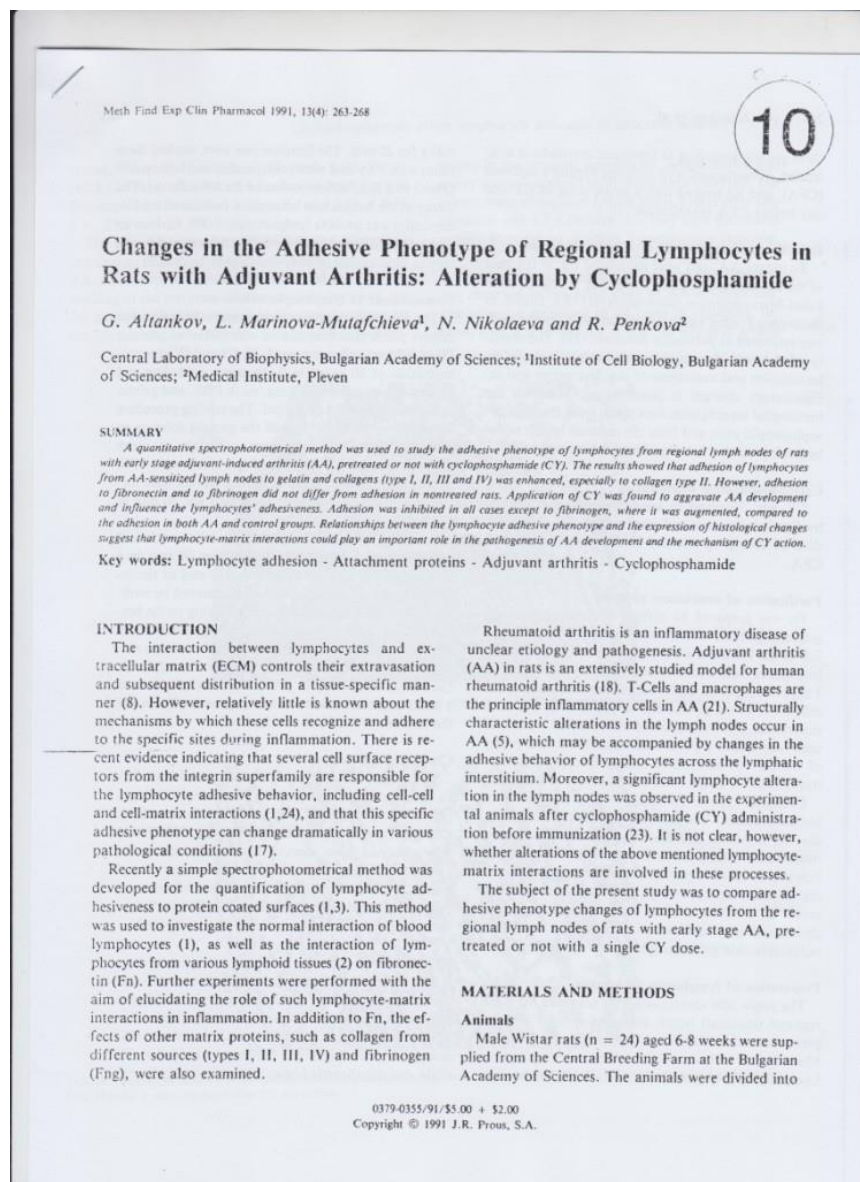
18. Thrombophilia in Assisted Reproductive Technology – Place and Needs of Tromboprohylaxis. Pregnancy thrombophilia. The unsuspected risk. <http://dx.doi.org/10.5772/46070>. 2013,129-158.

Ivanov P., Sl.Tomov,Tsv.Tsvyatkovska,E.Konova and R. Komsa-Penkova



Публикации в чужди научни списания, свързани с 1-та дисертация:

19. Altankov G, Marinova-Mutafchieva L, Nikolaeva N, Penkova R. Changes in the adhesive phenotype of regional lymphocytes in rats with adjuvants arthritis: Alteration by cyclophosphamide. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 1991, 13(4), 263-268. (IF 0.577)



20. Komsa-Penkova R, Koynova R, Kostov G, Tenchov B. Thermal stability of calf skin collagen type I in salt solutions. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, 1297, 171-181. (IF 3.06)



Biochimica et Biophysica Acta 1297 (1996) 171-181

BBA
Biochimica
et Biophysica Acta

Thermal stability of calf skin collagen type I in salt solutions

Regina Komsa-Penkova^a, Rumiana Koynova^b, Georgi Kostov^b, Boris G. Tenchov^{b,*}

^a Department of Biochemistry, Medical University of Plevan, 5802 Plevan, Bulgaria

^b Institute of Biophysics, Bulgarian Academy of Sciences, 1113 Sofia, Bulgaria

Received 20 May 1996; accepted 3 June 1996

Abstract

The thermal stability of acid-soluble collagen type I from calf skin in salt solutions is studied by high-sensitivity differential scanning calorimetry. Three concentration ranges have been clearly distinguished in the dependence of collagen thermal stability on ion concentration. At concentrations below 20 mM, all studied salts reduce the temperature of collagen denaturation with a factor of about 0.2°C per 1 mM. This effect is attributed to screening of electrostatic interactions leading to collagen stabilisation. At higher concentrations, roughly in the range 20–500 mM, the different salts either slightly stabilise or further destabilise the collagen molecule in salt-specific way that correlates with their position in the lyotropic series. The effect of anions is dominating and follows the order $\text{H}_2\text{PO}_4^- \geq \text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{SCN}^-$, with sign inversion at about SO_4^{2-} . This effect, generally known as the Hofmeister effect, is associated with indirect protein-salt interactions exerted via competition for water molecules between ions and the protein surface. At still higher salt concentrations (onset concentrations between 200 and 800 mM for the different salts), the temperature of collagen denaturation and solution opacity markedly increase for all studied salts due to protein salting out and aggregation. The ability of salts to salt out collagen also correlates with their position in the lyotropic series and increases for chaotropic ions. The SO_4^{2-} anions interact specifically with collagen — they induce splitting of the protein denaturation peak into two components in the range 100–150 mM Na_2SO_4 and 300–750 mM Li_2SO_4 . The variations of the collagen denaturation enthalpy at low and intermediate salt concentrations are consistent with a weak linear increase of the enthalpy with denaturation temperature. Its derivative, $d(\Delta H)/dT$, is approximately equal to the independently measured difference in the heat capacities of the denatured and native states, $\Delta C_p = C_p^D - C_p^N \approx 0.1 \text{ cal} \cdot \text{g}^{-1} \text{K}^{-1}$.

Keywords: Collagen type I; Protein-salt interactions; Thermal stability; DSC; Protein electrostatics; Hofmeister effect; (Calf skin)

1. Introduction

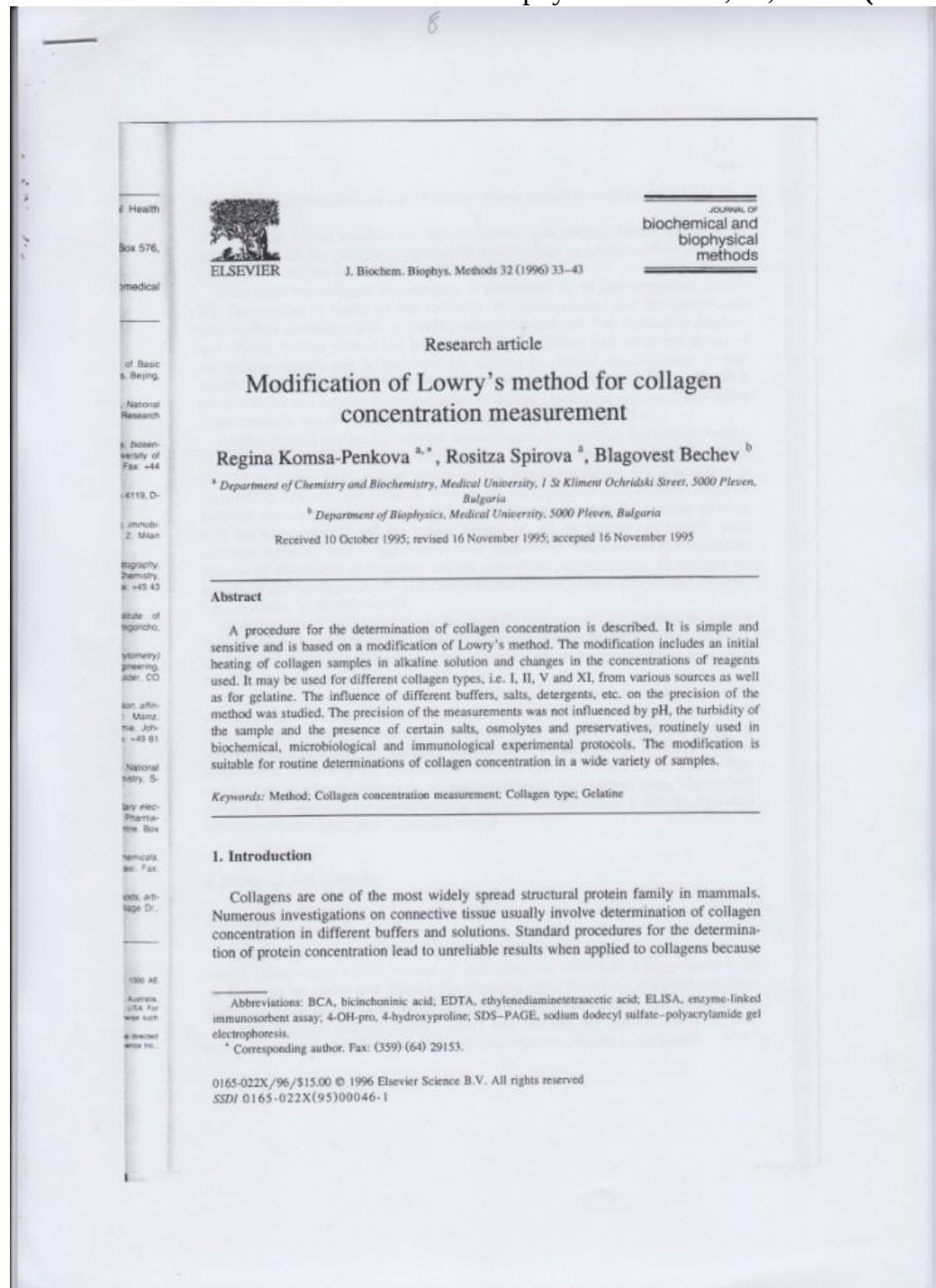
Collagen is the major structural component of connective tissues. In vertebrates, it represents about one-third of their total protein content [1]. At least 19 fibrillar and non-fibrillar, genetically different, types of collagen have been distinguished [2]. The fibrillar collagen type I is the major component of tendon, bone, skin, and other tissues. Its primary structure consists of repeating triplets (Gly-X-Y)_n, where X is often proline (Pro) and Y is often 4-hydroxyproline (Hyp). The collagen molecules consist of three polypeptide chains, each coiled in a left-handed helix. The three chains are thrown into a right-handed triple superhelix stabilised by periodic hydrogen bonds [3,4]. The triple helices, known also as tropocollagen,

associate laterally and longitudinally to form microfibrils. These, in turn, form fibrils, aggregates of which constitute various forms of connective tissue. Decrease of pH below 4 results in dissolving of the fibrils and formation of a molecular solution of tropocollagen [5].

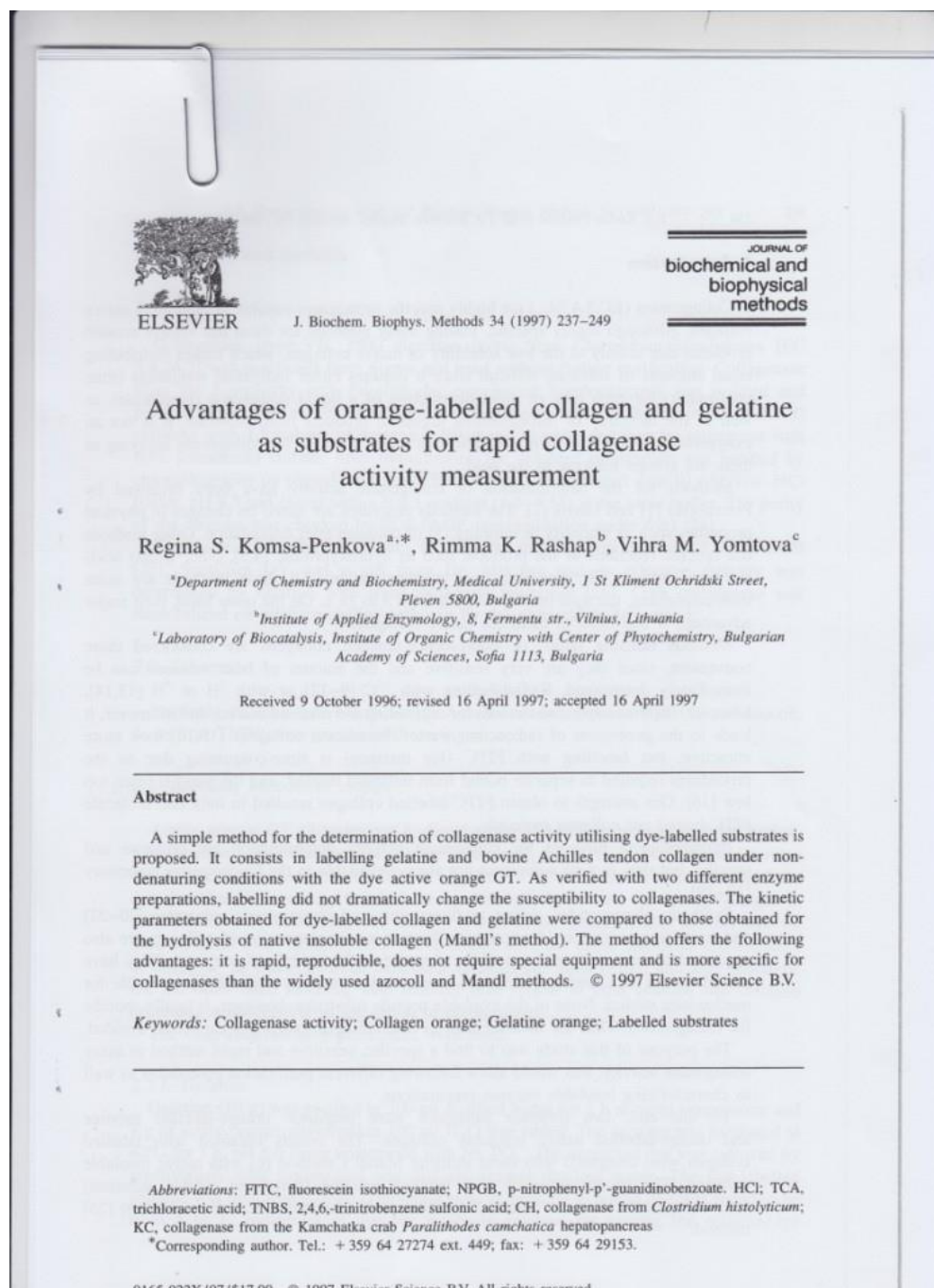
Upon heating, collagen undergoes a denaturational transition from the triple helix to a randomly coiled form in which the three chains are separated. A correlation between chemical composition and thermal stability of collagens has been established [6]. Several studies emphasise the stabilising effect of hydroxyproline [7–11]. Altogether, the imino-acid content is considered a dominant determinant of the collagen stability. Since about 40% of the Gly-X-Y triplets of collagen contain at least one charged residue in X or Y position, the electrostatic interactions are also considered important for its molecular organisation [12–14]. The structure of the triple helix allows for formation of both intra- and interchain ion pairs. Examination of collagen primary structure [12,15] shows a considerable

* Corresponding author. Fax: +359 2 9712493; e-mail: tenchov@bgears.blnet.

21. Komsa-Penkova R, Spirova R, Bechev B. Modification of Lowry's method for collagen concentration measurement. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 1996, 32, 33-43. (IF 0.862)



22. Komsa-Penkova R, Rashap RK, Yomtova VM. Advantages of orange-labelled collagen and gelatine as substrates for rapid collagenase activity measurement. *J Biochem Biophys Methods*. 1997 Jun 9;34(3):237-49. (IF 0.648).



Публикации в чужди научни списания, свързани с 2-та дисертация:

23. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Ivanov Y, Stoyanova A, Ivanov I, Pavlov P, Glogovska P, Nojarov V. Impact of thrombophilic genetic factors on pulmonary embolism - early onset and recurrent incidences. *Lung*. 2008 Jan-Feb;186 (1):27-36. (IF 1.495)

Lung (2008) 186:27–36
DOI 10.1007/s00408-007-9061-7

PULMONARY VASCULAR DISEASE

Impact of Thrombophilic Genetic Factors on Pulmonary Embolism: Early Onset and Recurrent Incidences

Petar Ivanov · Regina Komsa-Penkova · Katia Kovacheva · Yavor Ivanov · Angelina Stoyanova · Ivan Ivanov · Plamen Pavlov · Pavlina Glogovska · Venzislav Nojarov

Received: 20 August 2007 / Accepted: 12 November 2007 / Published online: 21 December 2007
© Springer Science+Business Media, LLC 2007

Abstract The importance of genetic thrombophilic factors in the development of venous thromboembolism has been increasingly recognized. Factor V Leiden (FVL), prothrombin gene mutation G20210A (FII G20210), genetic variant C677T of the methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR), as well as the polymorphism A2 (PIA2) in platelet glycoprotein IIb/IIIa were recently discussed. We analyzed the contribution of genetic thrombophilic factors to the pathogenesis of pulmonary embolism (PE) and their association with the early onset and recurrence of PE using DNA analysis methods. In this case control trial we found thrombophilic genetic variants in 58.8% of 51 patients with PE. FVL was found in 23.5% of the patients versus 7.1% of the 98 controls ($p = 0.01$), PIA2 IIb/IIIa was found in 35.3% vs. 14.3% ($p = 0.03$), and FII G20210A was found in 5.9% vs. 2.0% (NS). Patients with recurrent PE had a very high prevalence of genetic factors, 70.4%. High prevalence of FVL was found in patients under 45 years of age: 39.3% (OR = 14.23, 95% CI = 1.58–330.03, $p = 0.01$) as well as in patients with recurrent incidence (37%, OR = 7.647, 95% CI = 2.27–26.44, $p = 0.001$). FVL was also significantly higher in the subgroup of patients with PE

combined with deep venous thrombosis (OR = 6.500, 95% CI = 1.81–23.76, $p = 0.002$) in comparison with patients with isolated PE (OR = 2.261, 95% CI = 0.50–9.69). The carriers of FVL are at higher risk for early and recurrent PE events. High prevalence of PIA2 in PE patients evidently shows the impact of this polymorphism in PE development. A different treatment should be considered in carriers of thrombophilic defects.

Keywords Inherited thrombophilic genetic factors · Pulmonary embolism · Risk of early and recurrent onset

Introduction

Pulmonary embolism (PE) along with deep venous thrombosis (DVT) is a major clinical manifestation of venous thromboembolism (VTE) [1]. VTE and PE in particular are considered to be a multifactorial vascular disease caused by environmental and genetic risk factors interacting dynamically. PE causes 10% of death in hospitalized patients and contributes to another 15% [2]. The lack of sensitivity of clinical diagnosis of PE impedes its recognition, maintaining a constant level of incidents. Although the impact of genetic factors on PE development is recognized [3], there is no accepted opinion on DNA testing in prevention strategy of recurrent episodes.

Since 1965 several hereditary prothrombotic defects causing VTE have been identified, e.g., deficiencies of antithrombin, protein C, and protein S, nevertheless they are rare, occurring in less than 1% of healthy individuals and 5–10% patients with VTE [3].

Recently, the most frequent prothrombotic genetic defects in patients with PE were considered to be FVL and

P. Ivanov (✉) · R. Komsa-Penkova · A. Stoyanova · I. Ivanov
Department of Biochemistry, University of Medicine, 1, St.
Kliment Ohridski Str, Plevna 5800, Bulgaria
e-mail: mdivanov@gmail.com

K. Kovacheva
Medical Genetics, University of Medicine, Plevna, Bulgaria

Y. Ivanov · P. Pavlov · P. Glogovska · V. Nojarov
University Lung Diseases Hospital, University of Medicine,
Plevna, Bulgaria

24. Ivanov, PD, Komsa-Penkova RS; Konova EI, Kovacheva KS, Simeonova MN, Popov JD. Association of inherited thrombophilia with embryonic and postembryonic recurrent pregnancy loss. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2009; 20(2):134-140. (IF 1.246)

Association of inherited thrombophilia with embryonic and postembryonic recurrent pregnancy loss

Petar D. Ivanov^a, Regina S. Komsa-Penkova^a, Emiliana I. Konova^c,
Katia S. Kovacheva^b, Maria N. Simeonova^b and Jordan D. Popov^d

To investigate the impact of maternal-inherited thrombophilia: effects of factor V Leiden (FVL) and prothrombin gene mutation (FII 20210G>A) on the development of recurrent pregnancy loss in embryonic and postembryonic periods. A total of 153 patients were analysed for FVL and FII 20210G>A according to placenta gestation: 94 women with embryonic loss prior 10 weeks of gestation and 59 women with postembryonic (early fetal) loss occurring between 10 and 14 weeks of gestation. The control group consisted of 100 healthy women, with at least one uncomplicated full-term pregnancy. FVL prevalence was not significantly associated with pregnancy loss prior to 10 weeks of gestation (9.6%) compared with controls (7%) [odds ratio (OR) 1.41; 95% confidence interval (CI) 0.454–4.416, $P > 0.05$], but it was much more pronounced in women with postembryonic loss (10–14 weeks of gestation) – 18.6% (OR 3.05; 95% CI 1.010–9.387, $P = 0.047$). FII 20210G>A was significantly higher in both groups with embryonic (17%) and early fetal losses (16.9%) as compared to controls (3%) (OR 6.63; 95% CI 1.731–29.752, $P = 0.003$; OR 6.60; 95% CI 1.572–31.856, $P = 0.006$). FII 20210G>A is significantly associated with an increased risk of early recurrent pregnancy loss throughout the entire first trimester. FVL was significantly higher only in early fetal period after starting of the placentation process,

but not associated with embryonic recurrent pregnancy loss. These results suggested that the first trimester should be viewed rather as a heterogeneous interval, with different relation to FVL in the embryonic and postembryonic fetal period. Genetic testing should be applied according to the diverse contribution of thrombophilic markers to embryonic and postembryonic period. *Blood Coagul Fibrinolysis* 20:134–140 © 2009 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Blood Coagulation and Fibrinolysis 2009, 20:134–140

Keywords: inherited thrombophilia, recurrent embryonic loss, recurrent postembryonic pregnancy loss

^aDepartment of Chemistry and Biochemistry and Physics and Biophysics, ^bDepartment of Medical Genetics, ^cCenter of Clinical Immunology, University of Medicine and ^dDepartment of Obstetric and Gynecology, University Hospital of Plevna, Plevna, Bulgaria

Correspondence to Petar Ivanov, MD, Department of Chemistry and Biochemistry and Physics and Biophysics, University of Medicine, 1, St. Kliment Ohridski Street, Plevna 5800, Bulgaria.
Fax: +359 84 801398; e-mail: mdivanov@gmail.com

Received 18 April 2008 Revised 29 September 2008
Accepted 11 November 2008

Introduction

Pregnancy loss before 20 weeks of gestation affects 10–15% of women attempting pregnancy. About 90% of them occur prior to 12–14 weeks of gestation [1]. Sporadic pregnancy loss is common, it occurs in 10–20% of women of reproductive age, whereas only about 1–5% of women experience two or more consecutive pregnancy losses [recurrent pregnancy loss (RPL)] [2]. The pathology of pregnancy loss is complex and still poorly understood: 30–40% of the miscarriages cannot be explained on the basis of serological, endocrine, chromosomal or immune investigations [3]. Within this large and heterogeneous group of patients, inherited thrombophilia is believed to be one of the reasons for RPL or pregnancy-associated complications such as pre-eclampsia, abruptio placentae, intra-uterine growth retardation and fetal death [4–7].

Pregnancy is characterized by changes in the levels of procoagulant factors (fibrinogen, prothrombin, factors V, VII, VIII, IX, X and XII) [8,9], decreased protein S, acquired resistance to active protein C (APC) and impaired fibrinolysis [10,11]. Such changes lead to a

physiological hypercoagulable state and drive to specific dynamics of haemostasis during pregnancy. It has been outlined that carriage of thrombophilic mutations could aggravate the normal hypercoagulable profile of pregnancy, thus changing haemodynamics of decidual vessels, triggering thrombotic processes and vasculopathy. Factor V and prothrombin, apart from their procoagulant function, indeed play an essential role in cell adhesion, smooth muscle proliferation and vasculogenesis during embryonic development [12].

There is growing evidence of the impact of factor V Leiden (FVL) and prothrombin gene mutation (FII 20210G>A) (prevalence 5–7% and 1–3% in whites) in underlying pathology of RPL. FVL as a point mutation G1671A in factor V results in resistance to APC and impaired inhibition of coagulation. This contributes to a 5–10-fold risk of thrombosis [13]. The impact of FVL on compromised pregnancy outcome during the first trimester is still a controversial issue; data vary from no correlation with pregnancy complications [14–16] to significant association with recurrent miscarriages [17,18].

25. P. Hristova, P.Pavlov, Y.Ivanov, P.Nikolova, T.Popova, R. Komsa-Penkova, Epidemiological study of spread of chronic obstructive pulmonary disease among workers in Pleven's region, . "Public health and health care in Greece and Bulgaria: The challenge of the cross border collaboration" 2009.

**PUBLIC HEALTH
AND HEALTH CARE
IN GREECE AND BULGARIA:**
the Challenge of the Cross-border
Collaboration

Editors

Jeliasko Hristov

John Kyriopoulos

and

Theodoros Konstantinidis

Elena Shipkovenska



PAPAZISSIS PUBLISHERS

26. Ivanov P., Komsa-Penkova RS, Konova EI, Tsvyatkovska TM, Kovacheva KS, Simeonova M, Tanchev SY. Polymorphism A1/A2 in the cell surface integrin subunit beta 3 and disturbance of the implantation and placentation in women with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2010 Dec; 94(7):2843-5. Epub 2010 Jun 17. (IF 3.958)

Polymorphism A1/A2 in the cell surface integrin subunit $\beta 3$ and disturbance of implantation and placentation in women with recurrent pregnancy loss

Polymorphism A1/A2 in the $\beta 3$ subunit of integrins $\alpha \text{IIb}/\beta 3$ and $\alpha \text{V}/\beta 3$ is implicated in the risk of development of embryonic and fetal recurrent pregnancy loss (RPL). In 191 women with RPL, polymorphism A1/A2 was statistically significantly associated with RPL at <10 weeks of gestation (29.3% versus 16.4% in controls), but it was much more pronounced in 67 women with RPL between 10 and 20 weeks of gestation (41.8%), illustrating its role in recurrent fetal loss. (*Fertil Steril*® 2010;94:2843-5. ©2010 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Embryonic and fetal recurrent pregnancy loss, integrin $\alpha \text{V}/\beta$, integrin $\alpha \text{IIb}/\beta 3$, polymorphism A1/A2

Severe obstetric complications such as spontaneous embryonic and fetal loss, intrauterine growth retardation, and placental abruption occur in 1% to 5% of all pregnancies (1). The establishment and development of a pregnancy depends on the interaction between the maternal endometrium and the embryonic cells. The activation of the adhesion receptor integrin $\alpha \text{V}/\beta 3$ is involved in embryo adhesion and implantation (2). Inherited changes (1565 T>C in the $\beta 3$ gene) in the structure of $\alpha \text{V}/\beta 3$ could be a plausible cause for disturbances in the process of adhesion, as has been shown for osteopontin and vitronectin (3). The $\beta 3$ subunit, as

a part of $\alpha \text{IIb}/\beta 3$ integrin, is involved in the process of platelet aggregation as well (3). Polymorphism (PL) A1/A2 (allele A2) in $\alpha \text{IIb}/\beta 3$ integrin is responsible for increased platelet aggregability and thrombogenicity (4), causing a low threshold activation of the platelets. The role of PL A1/A2 in the increased risk of venous thromboembolism (5) and recurrent pregnancy loss (RPL) (6) is still debated. Thrombosis in the intervillous space could be considered a main cause for the impaired nutrition of the fetus and subsequent spontaneous fetal loss. Thus, PL A1/A2 could be a novel thrombophilic risk factor for RPL, along with the previously established factor V Leiden (FVL) and prothrombin gene mutation (FII 20210 G>A) (7, 8). The PL A1/A2 genotype has been found in 18% to 25% of healthy individuals (21, 22).

Our study evaluated the role of PL A1/A2 in the $\beta 3$ subunit of integrins $\alpha \text{V}/\beta 3$ and $\alpha \text{IIb}/\beta 3$ in the increased risk for the development of early embryonic (before 10 weeks of gestation) and fetal (between 10 and 20 weeks of gestation) RPL. To differentiate those with double-carrier status, women with RPL were tested for the most common thrombophilic factors as well (FVL and FII G20210A).

This 3-year study was approved by the ethics commission for scientific research activity at the Medical University of Plevna, Bulgaria. The patients and control participants gave written informed consent. The history of RPL was obtained from medical records and from interviews with the patients.

A total of 258 Caucasian women from the Bulgarian ethnic group with a history of two or more spontaneous pregnancy losses before 20 weeks of gestation were included in the study (mean age: 30.2 years). The patients were divided in two subgroups, according to the blood flow conditions in the endometrium before and after placenta development (9). None of the patients had received antithrombotic or antiaggregant prophylactic therapy.

All women with chromosomal aberrations, intrauterine infections or malformations, antiphospholipid syndrome, lupus anticoagulant, multiple gestations, diabetes mellitus, chronic hypertension, or thyroid dysfunction were excluded from this investigation. Women with secondary abortions (who had given

Petar D. Ivanov, M.D.^a

Regina S. Komsa-Penkova, Ph.D.^a

Emiliana I. Konova, M.D., Ph.D.^{b,c}

Tsvetomira M. Tsvyatkovska^a

Katia S. Kovacheva, M.D.^d

Maria N. Simeonova, M.D., Ph.D.^d

Stoyan Y. Tanchev, M.D., Ph.D.^e

^a Departments of Chemistry and Biochemistry and Physics and Biophysics, University of Medicine, Plevna, Bulgaria

^b Clinical Institute of Reproductive Medicine, Plevna, Bulgaria

^c Department of Clinical Immunology, University of Medicine, Plevna, Bulgaria

^d Department of Medical Genetics, University of Medicine, Plevna, Bulgaria

^e Department of Obstetric and Gynecology, University Hospital of Plevna, Plevna, Bulgaria

Received January 14, 2010; revised April 22, 2010; accepted May 8, 2010; published online June 17, 2010.

P.D.I. has nothing to disclose. R.S.K.-P. has nothing to disclose. E.I.K. has nothing to disclose. T.M.T. has nothing to disclose. K.S.K. has nothing to disclose. M.N.S. has nothing to disclose. S.Y.T. has nothing to disclose.

Supported by scientific projects No. 9/2007 and No. 18/2008 of the University of Medicine, Plevna, Bulgaria.

Reprint requests: Petar D. Ivanov, M.D., Department of Chemistry and Biochemistry and Physics and Biophysics, University of Medicine, 1, St. Kliment Ohridski Street, Plevna 5800, Bulgaria (FAX: +359-64-801398; E-mail: mdivanov@gmail.com).

27. Sachdeva M, Ivanov P, Komsa-Penkova R, Ivanov Y, Beshev I. Polymorphism A2 in platelet glycoprotein IIb/IIIa among patients with pulmonary embolism and deep venous thrombosis. European Journal of Medical Research, October 13, 2010, 81-82. (IF 1.092)

October 13, 2010

EUROPEAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH

81

mm in diameter and increased ovarian stroma; this condition is not pathologic but may also occur due to AEDs. Studies conducted by Isojarvi et al.; Morrelle et al in 2002 show the same. However there is no relation to any specific seizure type. This iatrogenic PCOS usually disappears once the causative AED therapy is stopped and another adequate AED having equal anti epileptic efficacy has been added. However this change in drug should be done with extreme caution.

Conclusion: The treatise so reached on the basis of clinical evidence seen is that there is a high probability of PCOS in young female patients on AED's and thus must be kept in mind before treatment of such patients who have a higher predisposition towards weight gain and amenorrhoea

Diagnostic reliability of biopsy in the early discovery of precancerous and cancerous lesions on the cervix

ESC-ID: 1229

Authors: Dikic M

Country: Serbia

University: University of Novi Sad Faculty of Medicine , Department: Oncology Institute of Vojvodina

Introduction: Diagnosis of cervical intraepithelial changes presents a combination of cytology, colposcopy, biopsy and endocervical curettage, and the definite diagnosis is made after the pathohistological review of material obtained from the application of one of the excision techniques.

The aim: The goal of this paper is to compare and analyze the obtained pathohistological results of the bioplate and conizate.

Materials and methods: The research included 130 female patients to whom, after a cytological smear using the Papanikolaou method, a colposcopically aimed biopsy was done. On the basis of the pathohistological results of the bioplate, a suitable excisional technique was used on the patients: a conization using knife, laser, or loop electrosurgical excision procedure. On the basis of the pathohistological review of the bioplate material and the conizate, the degree of precancerous lesion is determined in each of them. In the statistic processing of the data, a paired samples t-test is used.

Results: Most of the precancerous and cancerous changes were diagnosed in the age group of 31-40 years 45,4% (59/130). There was a discrepancy between the result of the biopsy and conization with 58,5% (76/130) of the patients. With about 6% of the patients, an invasive carcinoma was not verified by biopsy. With the application of the t-test paired samples, it was confirmed that there is a statistically meaningful difference between the pathological diagnosis obtained by the examination of the bioplate and the diagnosis that is made by the pathohistological examination of the suitable conizate.

Conclusions: The most common discrepancy in the pathohistological result of the bioplate and the conizate was confirmed with the group of patients above the age of 30, with a higher degree of dysplasia on the cervix. Slight dysplastic changes diagnosed by biopsy require a conservative approach due to the fact that the mostly negative result on the conus after excision techniques was in this group. It is necessary to insist on one of the excision techniques as a diagnostically and therapeutically accept-

able method with women over the age of 30 and with a higher degree of dysplasia on the bioplate material.

Ovarian reserve in smoking patients

ESC-ID: 1262

Authors: Mitrovic A, Mihailovic A, Babic M, Garalevic E

Country: Serbia

University: Medical University in Belgrade , Department: gynecology

Introduction: Infertility is hard and serious medical problem because in high percentage consist damage of reproductive organs. In situations without other solution we use procedures of assisted reproductive technology (ART). **The aim:** The aim of our study was to examine the effects of nicotine on ovarian reserve.

Material and Methods: Our research study was carried on 340 patients who were submitted on IVF procedure in 2009 in our clinic. The patients were divided in 2 groups depending of smoking habit. We analysed result of IVF procedure, level of FSH, number of ovarian follicles after stimulation, number of oocytes after puncture and number of embryos in this procedure.

Results: The average age of the surviving patients was 33,25, from 25 to 37 years. From overall number of patient (340), 65% (220) are non smokers and 35% (120) are smokers. When we observing efficacy of IVF procedure, pregnancy rate was 28,82% (98), 67 in group of non smokers (30,54%), and 31 in group of smokers (25,83%) ($p < 0,05$). The average number of follicles after stimulation in non smoking group was 7,12, in first smoking group 6,36, second 5,61 and third 5,36 ($p < 0,05$). The average number of oocytes after puncture in non smoking group was 8,80, in first smoking group 8,60, second 8,57 and third 7,53 ($p < 0,05$). The average number of embryos in this procedure in non smoking group was 3,17, in first smoking group 3,17, second 3,04 and third 3,28 ($p < 0,05$). The basal level of FSH in non smoking group was from 0,20 to 15,97, and average value was 6,99 UI/L, as in smoking group was from 2,5 to 15,5, and average value was 8,09 UI/L ($p < 0,05$).

Conclusions: Although we show significant effect of nicotine only on follicles number, we always have to observe smoking as factor with bad effects on human health.

Polymorphism A2 In platelet glycoprotein IIb/IIIa among patients with pulmonary embolism and deep venous thrombosis

ESC-ID: 1267

Authors: Sachdeva M, Ivanov P, Komsa-Penkova R, Ivanov Y, Beshev I

Country: Bulgaria

University: Medical University - Pleven , Department: medicine

Background. The gene encoding the platelet glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) shows polymorphism A2 (PIA2) related with arterial thromboisis. The role of the PIA2 in venous thrombosis development is still controversial. In case-control study we investigated whether the PIA2 is associated with deep venous thrombosis and pulmonary embolism.

28. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Konova E., Tanchev., Taaran Cariappa Ballachanda Subbaiah. Factor v leiden and prothrombin gene mutation g202100a in early pregnancy loss. European Journal of Medical Research, October 13, 2010, 103-104. (IF 1.092)

October 13, 2010

EUROPEAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH

103

Induction and function of IL-10 in natural CD4+CD25 regulatory T-cells (Treg).

ESC-ID: 914
Authors: Köhler L, Brandenburg S, Janke M, Rutz S, Scheffold A
Country: Germany
University: Deutsches Rheumaforschungszentrum Berlin, Germany, Department:

Though the incidence of autoimmune diseases is increasing worldwide the treatment options remain limited. Naturally occurring CD4(+)CD25(+) regulatory T cells (Treg) play a key role in the maintenance of self tolerance. The exact mechanisms are still a matter of discussion, but a rising number of studies suggest a major role of the immunosuppressive cytokines IL-10 and TGF- β . In previous studies our group could show that IL-10 expression can be induced in Treg in vitro. Therefore, we wanted to analyse if in vitro induction of IL-10 in Treg and a transfer of those activated cell could represent a therapeutic option. In order to optimize IL-10 induction Treg were stimulated in vitro under defined conditions and the expression of IL-10 was analysed by intracellular staining. Using this in vitro assay we screened different factors such as co-stimulatory molecules, different cytokines and Toll like receptor (TLR) signals for their potential to induce IL-10. We could show that in vitro stimulation with antibodies directed against CD3 and CD28 molecules for 72-96h in the presence of IL-2 induced IL-10 in 15-20% of the activated Treg. The activated Treg showed a strong suppressive capacity in a standard in vitro suppression assay. The potential of the IL-10 producing Treg to suppress the proliferation of naive T cells in vivo was analysed in a DNA vaccination mouse model. In this model only activated Treg suppressed the proliferation of naïve T cells in a IL-10 and TGF- β dependent manner. The suppression by antigen specific Treg was stronger due to additional suppressive mechanisms. In a second mouse model the suppressive capacity was analysed in a Th1 dependent inflammation. In this model only activated antigen specific Tregs could suppress the inflammatory reaction in an IL-10 dependent manner. Surprisingly the Treg with the strongest potential to express IL-10 lost their suppressive capacity after 4 days. This indicates that other factors such as strength of activation, cytokine memory, migration and in vivo survival also play an important role. This work shows that an in vitro activation of Tregs before transfer is essential for the suppression of inflammatory reactions. Although IL-10 is an important cytokine mediating this suppression, an exclusive focus on IL-10 induction during this activation is not sufficient. Therefore further work on the in vitro activation will include more markers (e.g. CD103 and TGF- β). The in vivo analyses of the activated Treg will include cell migration, cytokine memory and in vivo survival of Treg. All models showed a significant advantage using antigen-specific Tregs, indicating that this transfer strategy might be more valuable in autoimmune diseases with known autoantigens (e.g. Multiple Sclerosis and Myasthenia gravis).

The Circadian Clock in Macrophages.

ESC-ID: 920
Authors: Mazuch J, Eom G, Kramer A, Maier B
Country: Germany
University: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Department: Institut für Immunologie / AG Chronobiologie

In the immune system various parameters and immune functions, like blood levels of lymphocytes and cytokines are subjected to daily variations. At least some of these rhythms are likely of biological relevance since it has been shown that the mortality rate of mice dramatically depends on the time of day when LPS is injected, ranging from 10% at midnight up to 90% in the afternoon. Thus, it is assumed that the circadian system modulates immune functions. However, the molecular mechanisms that link the circadian clock and the immune system are so far unknown. To investigate the molecular mechanisms of circadian modulations in the immune system, we use mouse macrophages as a model system. We show that the mRNA levels of the canonical clock genes *Per2* and *Rev-Erba* show circadian expression pattern in ex vivo isolated peritoneal macrophages. These rhythms persist even in in vitro cultured peritoneal cells from *PER2::LUC* reporter mice detected by bioluminescence recording. Additionally, we show that isolated splenic and peritoneal macrophages secrete TNF- α , one prominent LPS induced cytokine, in a circadian manner upon stimulation with LPS. These results indicate that a macrophage intrinsic clock modulates the response to LPS. To analyze the circadian regulation on a transcriptional level we performed a whole genome microarray analysis of isolated peritoneal macrophages, collected in a time course for two days. These data show that more than 10% of the macrophage transcriptome is rhythmically expressed. Besides core clock genes we could also identify circadian expression patterns for several key players involved in the LPS responsive pathway as well as in macrophage output function. Our data support the idea of a robust local circadian clockwork as a modulatory component in macrophage function and provide first insights into that regulation on transcriptional level.

Factor v leiden and prothrombin gene mutation g202100a in early pregnancy loss

ESC-ID: 1324
Authors: P. Ivanov, R. Komsa-Penkova, E. Konova, Tanchev, Taaran Cariappa Ballachanda Subbaiah
Country: Bulgaria
University: Medical University Plevan, Department: Reproductive Immunology

Objectives: To evaluate the impact of inherited maternal thrombophilia: carriage of Factor V Leiden (FVL) and G20210A Prothrombin gene mutation (PTM), for the development of recurrent early pregnancy losses (EPL) (before 14 weeks of gestation) and to identify a subgroup at higher risk of being carriers of these mutations.

Study Methods: Blood samples of 153 women with pregnancy losses before 14 weeks of gestation (wg) were investigated by polymerase chain reaction and restriction analysis to detect FVL (G1691A) and PTM (G20210A) genetic defects. The patients were analyzed according to placenta gestation: women with embryonic loss - before

29. Ivanov P, Tsvyatkovska T, Konova E, Komsa-Penkova R. Inherited thrombophilia and IVF failure: the impact of coagulation disorders on implantation process. *Am J Reprod Immunol*. 2012 Sep;68(3):189-98. doi: 10.1111/j.1600-0897.2012.01156.x. Epub 2012 May 24. Review. (IF 3.317)



30. Tüttelmann F, Ivanov P, Dietzel C, Sofroniou A, Tsvyatkovska TM, Komsa-Penkova RS, Markoff A, Wieacker P, Bogdanova N. Further insights into the role of the annexin A5 M2 haplotype as recurrent pregnancy loss factor, assessing timing of miscarriage and partner risk. *Fertil Steril*. 2013 Jul 27. 62(8) (IF 4.295)

THE ARG16GLY POLYMORPHISM IN THE B2-ADRENERGIC RECEPTOR GENE IS ASSOCIATED WITH BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS AND ALLERGIC RHINITIS IN THE BULGARIAN POPULATION

Vanya Tsvetkova-Vicheva¹, Angelika Velkova², Petar Ivanov³, Regina Komsa-Penkova³

¹Medical University of Pleven, Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, Pleven, Bulgaria

²Medical University of Pleven, Department of Social and Preventive Medicine, Medical Statistics, Pedagogy and Psycho Pleven, Bulgaria

³Medical University of Pleven, Department of Chemistry and Biochemistry, Pleven, Bulgaria

Correspondence to: Vanya Tsvetkova-Vicheva

E-mail: vmtsvetkova@abv.bg

ABSTRACT

Bronchial Hyperresponsiveness (BHR) is a risk factor for asthma but it can be observed in allergic rhinitis (AR) and he subjects, too. The mechanisms of genetic susceptibility to BHR are unknown. In general, it is thought to result from both geneti environmental factors. Some studies have demonstrated that nonspecific airway hyperresponsiveness is associated with a sp β2-adrenergic receptor (β2-AR) genotype in asymptomatic healthy subjects. The present study was performed to determin impact of single nucleotide polymorphism (SNP) on allergic rhinitis patients with evidence for bronchial hyperresponsive One hundred allergic rhinitis patients analyzed for BHR and forty healthy controls were genotyped for polymorphism c β2-AR gene. Nonspecific airway hyperresponsiveness was measured using the methacholine bronchoprovocation (BPT) Polymerase chain reaction (PCR) was used to identify (Arg16/Gly) polymorphism at codon 16 in the β2-AR gene. It was obs that allergic rhinitis patients who are homozygous for the Gly16 allele are more responsive to methacholine than patients carry the Arg16 allele.

Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 2013, 27(2), 3700-3702

Keywords: bronchial hyperresponsiveness, single nucleotide polymorphism, arginine, glycine, methacholine, β2-adrenergic receptor gene

Introduction

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) represent a difference in a single nucleotide. DNA sequence changes observed in more than 1 % of the population are defined as polymorphisms. SNPs are the most common type of genetic variation among people. They occur normally throughout a person's DNA and may help in predicting an individual's response to particular drugs, susceptibility to environmental factors and predisposition to some diseases. The role of SNPs for complex diseases, such as allergic conditions simultaneously affecting the upper and lower airways, is unclear.

A significant amount of genetic research related to respiratory allergy, especially asthma, is devoted to SNPs in the coding region of the β2 adrenergic receptor (β2-AR) gene. ADRβ2 agonists alone or in combination with inhaled corticosteroids have extensive use (1) and variations in responses can, in part, be attributed to genetic variation with different polymorphisms. Clinical studies of ADRβ2 polymorphisms are predominantly pharmacogenetic, concerning effects on acute bronchodilator response to short-acting β-agonists or regular use of them and clinical response to regular long-acting β-agonists.

β2-AR is a product of a gene consisting of 1242 located on 5q31.32 chromosome long arm. The adrenergic receptor is a member of the seven-transmembrane, G-protein coupled receptor family (1). The adrenergic receptor is composed of 413 amino acid residues, 7 transmembrane spanning helices, 3 extracellular and 3 intracellular loop SNPs of β2-AR were first identified in 1993 and 49 different polymorphisms have been identified till now. Their importance remains controversial (1). Functional genetic polymorphisms may be clinically relevant in terms of susceptibility to disease, bronchial hyperresponsiveness or therapeutic response. observed polymorphisms are arginine 16 to glycine (Arg16/Gly) and glutamine 27 to glutamic acid (Gln27/Glu27). Clinical observations mainly focus on the receptor regulation ability on bronchial function and the possibility to downregulate the airways through bronchodilator responses (4). Since the diploid genome there are two copies of the β2-AR gene, an individual can be homozygous or heterozygous for a polymorphism. Recent clinical studies tracked gene specific response to monotherapy with long-acting B2 agonists or combined therapy with inhaled corticosteroids (8).

Bronchial hyperresponsiveness (BHR) is a hallmark of asthma and can be observed in normal subjects, too, probably because of genetic predisposition (2). A study on 120 healthy subjects analyzed for BHR and genotyped indicated that a specific β2-AR polymorphism at codon 16 might be a genetic determinant of airway hyperresponsiveness (3). To the best of our knowledge, data about the effect of β2-AR SNPs on BHR are limited.

31. Komsa-Penkova R, Golemanov G, Tsankov B, Ivanov P, Beshev L, Tonchev P. Rs5918ITGB3 polymorphism, smoking and BMI as risk factors for early onset and recurrence of DVT in young women, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2016 Jan 5. pii: 1076029615624778. (IF 2.096).

Original Article

Rs5918ITGB3 Polymorphism, Smoking, and BMI as Risk Factors for Early Onset and Recurrence of DVT in Young Women

Clinical and Applied
Thrombosis/Hemostasis
2017, Vol. 23(6) 585-595
© The Author(s) 2016
Reprints and permission:
sagepub.com/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1076029615624778
journals.sagepub.com/home/cas
SAGE

Regina Komsa-Penkova, PhD¹, Georgi Golemanov, MBMS¹,
Boris Tsankov, MD², Petar Ivanov, MD, PhD¹,
Lyubomir Beshev, MD, PhD², and Pencho Tonchev, MD, PhD²

Abstract

Objective: To evaluate the contribution of rs5918ITGB3 on the incidence and recurrence of deep venous thrombosis (DVT) in women and the relationship with body mass index (BMI) and smoking and to compare with data in men. **Results:** Rs5918(C) polymorphism in ITGB3 gene was assessed in 224 patients diagnosed with DVT and 216 controls. Thrombophilic genetic variant rs5918(C) was significantly pronounced in women ($\chi^2 = 7.565$, $P = .008$) and total patients ($\chi^2 = 9.266$, $P = .002$) but not in men. Women patients (<45 years) who were carriers of rs5918ITGB3 polymorphism had an early onset of DVT (34.5 vs 39.4 years, $\chi^2 = 7.027$, $P = .008$) as analyzed by Kaplan-Meier and a higher risk of the recurrent event ($\chi^2 = 3.405$, odds ratio = 2.581, $P = .044$). The period before recurrent venous thromboembolism event was related to smoking status and BMI in young female who were carriers of rs5918 polymorphism but not in the males. **Conclusions:** Carriage of genetic variant rs5918(C) polymorphism in ITGB3 gene in women contributes to higher risk of single and recurrent DVT events at younger age.

Keywords

DVT, glycoprotein IIb/IIIa/integrin B3, rs5918(C)/PIA1A2, recurrence, early onset

Introduction

Deep venous thrombosis (DVT) is a rather common but preventable cause of morbidity and mortality worldwide. The annual incidence of venous thromboembolism (VTE) is around 0.117% in the general population¹ in a proportion of 1:1.2 (males:females). Incidence rates are relatively higher in women during childbearing years, whereas incidence rates are higher in men after the age of 45.²

The presence of multiple risk factors is a prerequisite for VTE development with synergistic gene-gene and gene-environment interactions, moderately increasing the risk above the sum of individual risk factors.³ Being a critical element of the clot-forming process, platelet glycoprotein (GP) IIb/IIIa (ITGB3) and its rs5918 (PIA1/A2) polymorphism were discussed as possible factors for prothrombotic tendency, along with commonly recognised inherited thrombophilic factors factor V Leiden (FVL) and prothrombin gene G20210A.^{4,5}

The PIA2 polymorphism is a thymidine-to-cytosine substitution at position 1565 in exon 2 (1565T>C) of the GPIIIa gene (17 chromosome, segment q21-q23) resulting in a leucine-to-proline substitution at a residue 33 of the $\beta 3$ subunit of platelet GPIIb/IIIa.^{6,7} This polymorphism is present in approximately 15% to 20% of the healthy population. The A2 allele of the

platelet-specific alloantigen system is encoded by rs5918(C). It has been associated with the increased risk of myocardial infarction,⁸ heart disease,⁹ stroke,¹⁰ and resistance to blood-thinning benefits of aspirin.¹¹ It was also postulated as a risk factor for VTE,¹² with the prevalence in patients with VTE ranging from 14.5%¹³ to 31.6%.^{14,15}

The gender-related difference in platelet reactivity has been reported with the observed heightened responsiveness of platelets to thrombin in women, adenosine diphosphate (ADP), and binding more fibrinogen,^{16,17} resulting in the formation of larger aggregates¹⁸ and more expressed activated GPIIb/IIIa receptors.¹⁹ A substantial gender difference with respect to the incidence and mortality of thrombosis-related diseases including VTE was reviewed by Middeldorp²⁰ and Naess et al.²¹ A hormonal exposure of women at the first event has been

¹ Department of Biochemistry, Medical University-Pleven, Pleven, Bulgaria

² Department of Surgery, University Hospital, Medical University-Pleven, Pleven, Bulgaria

Corresponding Author:

Regina Komsa-Penkova, Department of Biochemistry, Medical University-Pleven, 1, Kl. Ohridski Str, Pleven 5800, Bulgaria.
Email: rkomsa@gmail.com

32. Todinova S, Komsa-Penkova R, Krumova S, Taneva SG, Golemanov G, Georgieva G, Tonchev P, Tsankov B, Beshev L, Balashev K, Andreeva TD. PIA2 Polymorphism in Glycoprotein IIb/IIIa Modulates the Morphology and Nanomechanics of Platelets. Clin Appl Thromb Hemost. 2017 Jan 1:1076029616687847. doi: 10.1177/1076029616687847. (IF 2.096).

Original Manuscript

PIA2 Polymorphism in Glycoprotein IIb/IIIa Modulates the Morphology and Nanomechanics of Platelets

Clinical and Applied
Thrombosis/Hemostasis
1-10
© The Author(s) 2017
Reprints and permission:
sagepub.com/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1076029616687847
journals.sagepub.com/home/cac
SAGE

Svetla Todinova, PhD¹, Regina Komsa-Penkova, PhD²,
Sashka Krumova, PhD¹, Stefka G. Taneva, DSc¹, Georgy Golemanov, MBMS²,
Galia Georgieva, MD², Pencho Tonchev, MD, PhD³, Boris Tsankov, MD³,
Lyubomir Beshev, MD, PhD³, Konstantin Balashev, DSc⁴,
and Tonya D. Andreeva, PhD¹

Abstract

Glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) is the most abundant platelet surface receptor for fibrinogen and von Willebrand factor. Polymorphism PIA1/A2 in the gene of GPIIb/IIIa is among the risk factors for the development of arterial and venous thrombosis. The aim of this study is to evaluate the effect of the carriage of PIA1/A2 on the size, topographic features, and membrane stiffness of platelets from healthy controls and patients with deep venous thrombosis (DVT). Atomic force microscopy (AFM) imaging and nanoindentation (force-distance curves) were applied to investigate the morphological and nanomechanical properties (Young's modulus) of platelets immobilized on glass surface. The surface roughness (R_a) and height (h) of platelets from patients with DVT, carriers of mutant allele PIA2 ($R_a = 30.2 \pm 6$ nm; $h = 766 \pm 182$ nm) and noncarriers ($R_a = 28.6 \pm 6$ nm; $h = 865 \pm 290$ nm), were lower than those of healthy carriers of allele PIA2 ($R_a = 48.1 \pm 12$ nm; $h = 1072 \pm 338$ nm) and healthy noncarriers ($R_a = 49.7 \pm 14$ nm; $h = 1021 \pm 433$ nm), respectively. Platelets isolated from patients with DVT, both carriers and noncarriers, exhibit much higher degree of stiffness at the stage of spreading ($E = 327 \pm 85$ kPa and 341 ± 102 kPa, respectively) compared to healthy noncarriers ($E = 198 \pm 50$ kPa). In addition, more pronounced level of platelet activation was found in polymorphism carriers. In conclusion, the carriage of PIA2 allele modulates the activation state, morphology, and membrane elasticity of platelets.

Keywords

polymorphism in glycoprotein IIb/IIIa, deep venous thrombosis, platelets morphology, Young's modulus, atomic force microscopy

Introduction

Platelets are major determinants of blood hemostasis and thrombosis. In the last years, a considerable progress has been made in the understanding of the relation between platelets behavior, changes in their shape and cytoskeleton, and their function.^{1,2} Various factors, including inherited ones, control the platelet morphology and thereby cause alterations in their nanomechanical properties.¹⁻⁶

Resting platelets are nonadhesive anucleate 2 to 5 μ m discoid cells,^{1,7} possessing thick wrinkled membrane and circulating in the bloodstream. They respond to vasculature damage and shear stress by simultaneous shape change—first they convert from compact discoid to asymmetrical spheres and then flatten and spread on the surface of damaged endothelium by extending actin-rich filopodia and lamellae.^{7,8} These morphological changes due to reorganization of the cell cytoskeleton involve interactions between distinct receptors and adhesive ligands, as well as changes in blood flow.^{9,10}

For a variety of cells, including stem cells, cancer cells, and inflammatory cells, it was shown that the cell membrane elasticity and the balance of biomechanical properties are vitally allied to the cell function and to cell differentiation, apoptosis, regeneration, specific cell activities, and so on.^{11,12} Stiffness tomography investigations demonstrated changes in the actin cytoskeleton on actin depolymerization in fibroblasts.¹³

¹Department of Biomacromolecules and Biomolecular Interactions, Institute of Biophysics and Biomedical Engineering, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

²Department of Biochemistry, Medical University, Plevna, Bulgaria

³Department of Surgery, University Hospital, Plevna, Bulgaria

⁴Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University, Sofia, Bulgaria

Corresponding Author:

Svetla Todinova, Institute of Biophysics and Biomedical Engineering, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str, bl 21, 1113 Sofia, Bulgaria.
Email: todinova@abv.bg

Публикации несвязанные с диссертацией:

33. Ралис Е.В., В.И. Краняускас, Ю. Ю.Кулис, Р. С. Комса, А. Малинаускас. Автоматическая поточно-непрерывная система определения глюкозы с использованием иммобилизованной глюкозооксидазы. В сборник: "Производство и применение ферментных препаратов". Вильнюс, 1978, Мокслас, стр.205-215.

DETERMINATION OF PROTEOLYTIC AND PEPTIDASE ACTIVITY BY TITRATION CONSTANT pH

A.B. Paulukonis, R.K. Vaitkevichius
A.A. Dikchiurviene, L.S. Pilka

34

The application of pH-stat method for determination of proteolytic activity on macromolecular substrates and peptidase activity on oligopeptide substrates is considered theoretically. The customary-made recording pH-stat is briefly described. The method was used for determination of activity of complex enzyme preparation Protosubtilin G10x on casein substrate.

УДК 65.011.56:577.150.87

АВТОМАТИЧЕСКАЯ ПОТОЧНО-НЕПРЕРЫВНАЯ СИСТЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММО- БИЛИЗОВАННОЙ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ

Э. В. Ралис, В. И. Краняускас, Ю. Ю. Кулис,¹
Р. С. Комса, А. А. Малинаускас¹

Исследована автоматическая поточно-непрерывная система определения глюкозы на основе иммобилизованной глюкозооксидазы с использованием реакторов колоночного и трубчатого типа и кислород-чувствительного мембранного электрода. Изучена зависимость показаний системы от времени, концентрации глюкозы, скорости прокачивания исследуемого раствора и способа иммобилизации фермента. Получена высокая чувствительность системы, позволяющая измерить концентрацию глюкозы вплоть до 30 мкМ. Обсуждается чувст-

¹ Институт биохимии АН ЛитССР.

34. Кулис, Ю. Ю., З.В. Ралис, В.И. Краняускас, Г. С. Швирмицкас, А.А. Малинаускас, Р.С. Комса, Р.З. Богдевич. Создание аналитических приборов на основе иммобилизованных ферментов. Тезис докладов II Всесоюзного симпозиума "Получение и применение иммобилизованных ферментов" 1978, стр. 111-112.

37

СОЗДАНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИХ ПРИБОРОВ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ

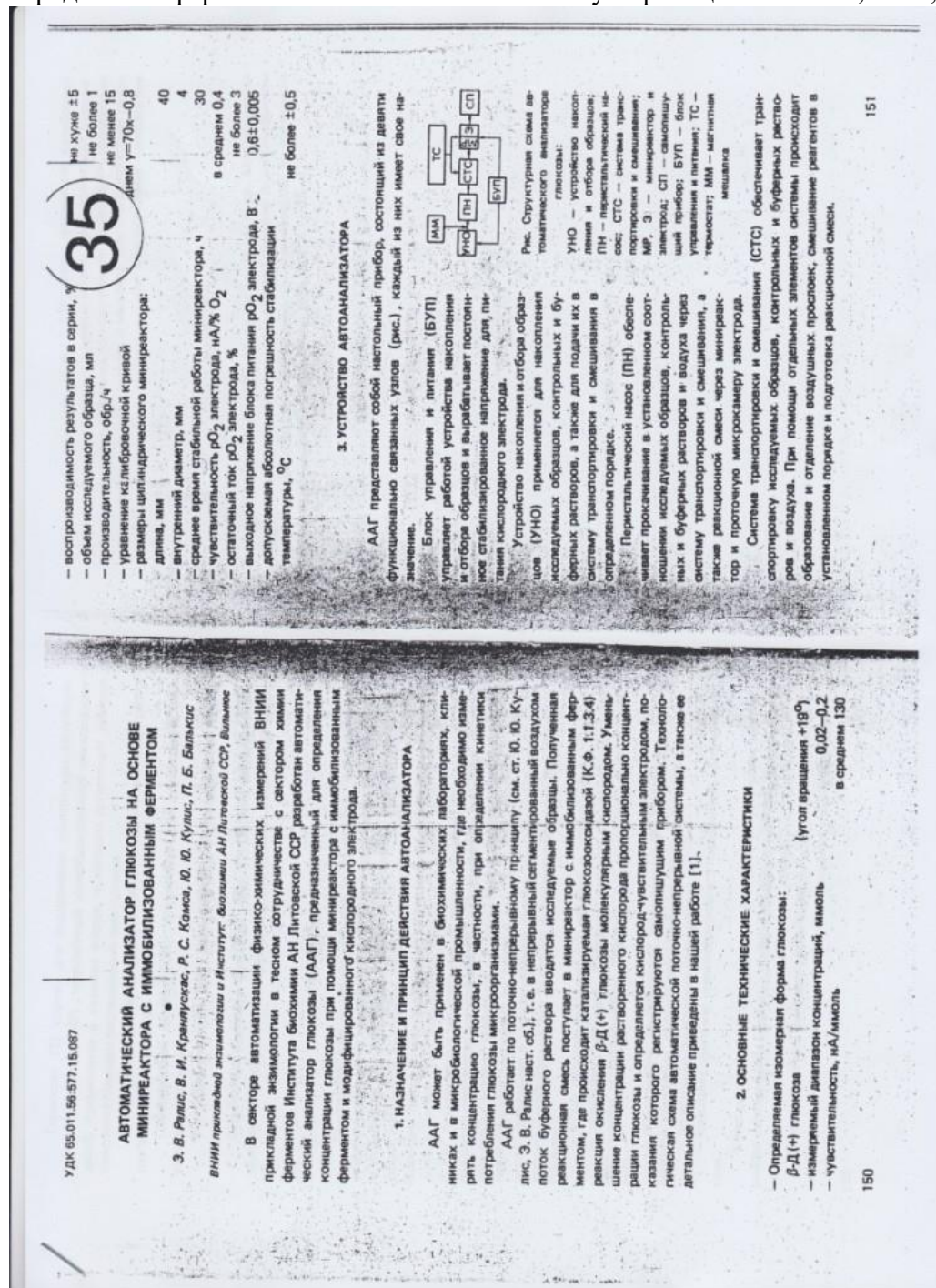
Ю.Ю.Кулис, З.В. Ралис, В.И.Краняускас, Г.С.Швирмицкас,
А.А.Малинаускас, Р.С.Комса, Р.З.Богдевич
Институт химии АН Литовской ССР, Вильнюс
ВНИИ Прикладной биохимии, Вильнюс

Сочетание высокой каталитической способности и специфичности иммобилизованных ферментов с современными методами физико-химического анализа создает предпосылки для конструирования новых аналитических приборов. В тезисах приводятся результаты работ по разработке опытных образцов таких приборов различного назначения (табл.).

Изготовленные аналитические анализаторы работают в постоянно-непрерывном режиме и состоят из функционально связанных узлов, основными из которых являются: автоматический отбор проб, многоканальный перистальтический насос, система транспортировки и смешивания, детектор, блок усиления и записи сигнала. В качестве детекторов применяли проточные ферментные электроды или микроаналитические ферменты. В последнем случае усилие субстратов или образование продуктов ферментативной реакции регистрировали электрохимическим или люминесцентным способом. В микроанализаторах анализаторов дисперсий реализован кондуктивный процесс превращения глюкозы в глюкозооксидазу. В анализаторе лактата в качестве применения пикнотометрии в качестве окислителя использован фермент лактатоксидаза. Для создания анализаторов субстратов НАД-зависимых дегидрогеназ разработана система с регенерацией кофактора химическим способом.

В работе рассматриваются принцип действия и сравнительные характеристики анализаторов различного назначения, приведены параметры микроаналитических и проточных ферментных электродов, а также результаты эксплуатации этих приборов.

35. Ралис Е.В., В.И. Крапяускас, Р.С. Комса, Ю.Ю.Кулис, П.Б. Балькис. Автоматический анализатор глюкозы на основе миниатора с иммобилизованным ферментом. Метод определения ферментативной активности и их унификация. Вилнюс, 1979, 4, 150-153.



36. Кулис Ю.Ю., Ралис З.В., Р.С. Комса. Автоматический анализатор сахарозы на основе иммобилизованных ферментов. Прикладная биохимия и микробиология. 1979, 15 (2), 282-290.

УДК 577.15.08 + 65.011.56

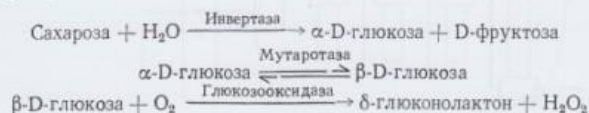
АВТОМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР САХАРОЗЫ НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ

Ю. Ю. КУЛИС, Э. В. РАЛИС, Р. С. ПЕНКОВА

Описан автоматический анализатор сахарозы, работающий в режиме непрерывного потока на основе мини-реакторов с иммобилизованной инвертазой, мутаротазой и глюкозооксидазой и проточного мембранного кислородного электрода. Производительность анализатора — 16 *обр/час*. Чувствительность при низких концентрациях метаболита — 5,9% потребленного кислорода на 0,1 *мМ* сахарозы. Обсуждаются параметры анализатора в зависимости от свойств иммобилизованных ферментов.

Ферментные методы анализа широко применяются в научной практике, медицине и технологии [1]. Разработка способов иммобилизации ферментов позволила по-новому подойти к этим методам. Благодаря высокой каталитической активности и специфичности иммобилизованных ферментов на их основе созданы принципиально новые аналитические приборы, такие, как ферментные электроды [2] и приборы с применением аналитических колоночных или трубчатых реакторов [3—6]. В этих приборах обычно применяется иммобилизованный фермент, катализирующий только одну реакцию превращения метаболита. Часто, однако, ни исходный метаболит, ни продукты его превращения не обладают свойством, необходимым для их детектирования электрохимическими чувствительными элементами. Эта задача может быть решена путем последовательного превращения метаболитов. Превращения должны осуществляться таким образом, чтобы последнюю стадию можно было контролировать электрохимическим путем. К таким метаболитам, для которых необходимо применение многостадийных реакций превращения, относятся, например, дисахариды — лактоза, мальтоза и сахароза. Создание автоанализаторов этих сахаров представляет интерес не только с теоретической точки зрения, но имеет и большое практическое значение в микробиологической и пищевой промышленности, а также в медицине.

В случае сахарозы последовательность ферментных реакций, при осуществлении которых образуются или расходуются электрохимически активные соединения, может быть осуществлена посредством инвертазы (β -фруктофуранозид фруктогидролаза К.Ф. 3.2.1.26), мутаротазы (альдозо-1-эпимераза К. Ф. 5.1.3.3) и глюкозооксидазы (β -D-глюконо: кислород оксидоредуктаза К.Ф. 1.1.3.4) согласно схеме



Анализатор сахарозы с использованием трубчатых реакторов с инвертазой и глюкозооксидазой предложен Инманом и Хорнби [4]. В работе [7] предложена конструкция электрохимического чувствительного элемента сахарозы на основе магнитных биферментных мембран. Однако чувствительность таких анализаторов низка из-за медленной мутаротации глюкозы [8]. Сообщение об исследованиях по созданию анализатора

37. Baitcev G, Delijski T, Davidov D, Komsa-Penkova R. Regional lymphotropic chemotherapy of breast cancer. Joint Meeting of European Society of Surgical Oncology, 1994. *Frontiers and Perspectives in Surgical Oncology, European Journal of Surgical Oncology*, vol. 20, N 3, p. 368.

progesterone receptor status. Patients with p53 staining, however, tended to have a worse disease-free pattern (chi sq = 3.037, $p < 0.10$) than patients with no staining. However, no significant correlation was found between p53 staining and patient overall survival.

Conclusions

p53 by immunohistochemistry was not a useful prognostic marker. In approximately 90% of mixed invasive and in situ breast cancers, similar staining for p53 is found in both components. This suggests that abnormal p53 expression occurs early in the pathogenesis of breast cancer.

Local recurrence after carcinoma of the breast—possibilities and pitfalls of therapy

C. Schreckenberger, R. R. Olbrisch

Department of Plastic Surgery, Diakoniekrankenhaus Kaiserswerth, 40489 Düsseldorf, Germany

An extremely difficult variety of problems for the surgeons as well as the patient creates the locoregional or axillary recurrence of breast carcinoma. A typical constellation of risks demands individually different strategies. In our clinic there are about 20 operations per year for recurrences in breast cancer. The years from 1990 to 1993 are reviewed.

Apart from a general analysis several problem cases are presented.

Regional lymphotropic chemotherapy of breast cancer

G. T. Baitcev, T. S. Deliiski, D. N. Davidov, R. I. Penkova

Department of Oncology, University of Medicine, Pleven, Bulgarian

Lymphotropic administration of Cyclophosphamide in 25 cases of breast cancer, as nonadjuvant chemotherapy or of regionally advanced carcinoma, unsuitable for radical treatment. Treatment schedule was as follows: injection of 30 E Hylase s.c. once a day, followed by introduction of 100 mg cyclophosphamide through the same needle 5 min afterwards. Sleeve compression (40mm Hg) was applied above the site of application (on the median middle third of the forearm) to increase lymph resorption for 60 min. The method is easy suitable for out-patient treatment and saves money.

Hepatic malignancy

Laparoscopic approach for laser-induced thermotherapy (LITT) of liver tumours

C. T. Germer, D. Albrecht, A. Bock, H. D. Foss, F. Frank, C. Isbert, A. Roggan

Department of Surgery, Universitätsklinikum Steglitz, Free University, Hindenburgdamm 30, 12200 Berlin, Germany

1. The aim of the study was primarily to ascertain whether laparoscopic approach for LITT using a specially developed multiple-fiber system might be of clinical use in the treatment of human liver tumours. A second question was if laparoscopic ultrasound (LUS) might be of use as an on-line-monitoring method. 2. The experiments were carried out using a Nd:YAG laser at a wavelength of 1064 nm. A special multi-fiber optical component was used, allowing the simultaneous use of four 600 μ m bare-fibers with 25 mm ring-mode applicators at the end inducing a circumferential distribution of the laser light. Ten German hybrid pigs served as experimental animals and video-assisted laparoscopic equipment was used. Intrahepatic placement of LITT-applicators was carried out under LUS control (7.5 MHz-transducer) using specially developed laparoscopic instruments. Laser-power input was 38 watt, leading to an output of 6 watt at the end of each applicator, and application-time was 540 sec. Sonographic changes occurring at the treatment site were monitored by LUS and recorded on video tape. All animals were sacrificed between one and four hours after the end of application and the livers were removed for histological examination. 3. A total number of 80 applications were performed. Laparoscopic approach for LITT was both feasible and reproducible with high accuracy, without mortality, or any severe complication. The

38. Baitcev G, Delijski T, Davidov D, Komsa-Penkova R., Stojanov R. Lymphotropic staining of the sentinel lymph nodes in breast cancer – with what, when, how? *Radiol Oncol* 1998;32(2):207-211.

Lymphotropic staining of the sentinel lymph nodes in breast cancer - with what, when, how?

George Baychev¹, Tashko Delijski¹, Regina Penkova², Rumen Stojanov¹

¹Dept. of Surgery, University Oncology Centre, Pleven, ²Dept. of Biochemistry, Medical University, Pleven, Bulgaria

The aim of the study is to define how to choose appropriate dye for marking sentinel lymph nodes in breast cancer. Pre- or intra operatively, dyes, such as Methylene Blue, Drimaren Brilliant Blue, Patent Blue V were applied around the tumor in 135 female patients. To enhance lymphotropism, Gelatin, Alvezin, Haemodex or HAES solutions were used as dye carriers in 92 patients. The volume applied varied from 1.0 to 3.0 ml, as in 25% of the cases Hylase was previously applied to increase absorption. The study also included 29 patients in whom a preoperative chemotherapy with Mitoxantrone was carried out, the cytostatic blue color being used for identification of the first filtrating lymph vessels and nodes. Most frequently, visualization was achieved with Mitoxantrone (80% of cases), Patent Blue V (76%), and the combination of Drimaren with Haemodex (57%).

Key words: breast neoplasms; lymph nodes - anatomy and histology; staining methods

Introduction

The small size of the axillary lymph nodes, their colourlessness, location in the fatty tissue as well as some anatomic-topographic features have necessitated the search for staining methods which would ensure a more precise identification.¹

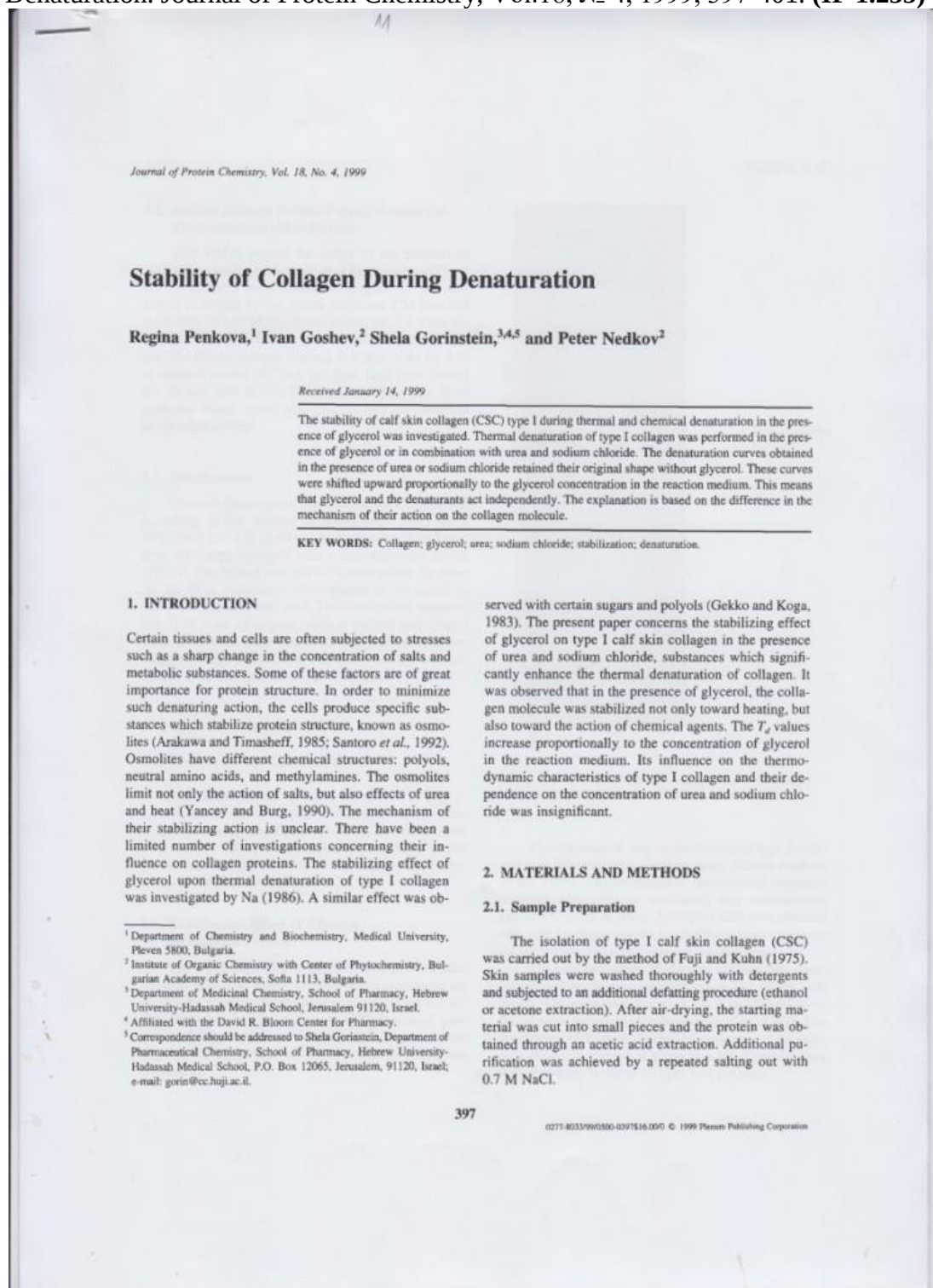
Until recently, perioperatively use of different dyes, such as Sky Blue, Pontamine Sky Blue etc, injected intramammarily, or the direct colour lymphography with either Lymphotrast or Chromolymphotrast, were used to visualize lymph nodes in order to facilitate their radical treatment.^{1,2}

Correspondence to: Prof. Dr. Tashko Delijski, University Oncology Centre, Medical University, 5800 Plevna, Bulgaria.

Adopting the hypothesis of the succession of axillary metastases from level one to three, and in search for less invasive methods for early breast staging, some reports for identification of the first lymph nodes draining the primary tumor (so called sentinel lymph nodes) by applying various dyes have appeared during the last years.

According to A. Giuliano^{3,4} and A. Barth⁵ after a peritumor application of Isosulfan Blue or Patent Blue V, it is possible to follow up the lymph vessels and the first lymph node (nodes), located on the way of the lymph drainage and after staining them to identify and histologically examine them. Selective biopsy from this "first station" of metastasis and the results obtained from this "strategic side" - negative or positive nodes,

39. Komsa-Penkova R, Goshev I, Gorinstein S, Nedkov P. Stability of Collagen During Denaturation. *Journal of Protein Chemistry*, Vol.18, № 4, 1999, 397-401. (IF 1.255)



40. Komsa-Penkova R, Goshev I, Gorinstein S, Nedkov P. Stabilizing effect of glycerol on collagen type I isolated from different species. *Food Chemistry* 66, 1999, 483-487. (IF 0.849)



Stabilizing effect of glycerol on collagen type I isolated from different species

R. Penkova^a, I. Goshev^b, S. Gorinstein^{c,*}, P. Nedkov^b

^aDepartment of Chemistry and Biochemistry, Medical University, 1 St Kliment Ohridski Str., Plevna 5800, Bulgaria

^bInstitute of Organic Chemistry with Center of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia 1113, Bulgaria

^cDepartment of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Hebrew University–Hadassah Medical School, PO Box 12065, Jerusalem 91120, Israel

Received 11 January 1999; received in revised form and accepted 3 March 1999

Abstract

The stabilizing effect of glycerol on type I collagens (C) from rat tail tendon (RTC), calf skin (CSC), human placenta (HPC), and sheep skin (SSC) at elevated temperature and in urea was investigated. The protein denaturation was followed by means of differential UV-spectroscopy. The denaturation temperatures (T_d) increased proportionally to the concentration of glycerol in the reaction medium. Equations for the dependence of T_d glycerol concentration were derived. The calculated thermodynamic characteristics do not change significantly with increasing glycerol concentration. It was observed that, in the presence of glycerol, the collagen molecule was stabilized, not only by heating, but also by the action of urea. © 1999 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Keywords: Collagen; Different species; Glycerol; Stabilization; Urea; Denaturation

1. Introduction

A sharp change of the concentration of salts and metabolic substances influences human tissues. These factors are important for the protein structure. In order to minimize any denaturing action, the cells produce specific substances, which stabilize the protein structure. There are many investigations concerning their influence on the collagen proteins. The stabilizing effect of glycerol on thermal denaturation of type I collagen was investigated by Na (1986). Sheep skin collagen (SSC) is a traditionally prepared collagen. Calf skin collagen (CSC) and rat tail tendon (RTC) are commonly used for different fundamental purposes (Fietzek & Kuhn, 1975; Gay, Walter & Khun, 1976). Human placenta (Mardi, Foellmer & Furthmayr, 1982) has been used for isolation of different collagens (types V, VI, XI). The mechanism of stabilizing action is unknown for the collagens from different species. Therefore, in this paper, the stabilizing effect of glycerol on type I collagens (C) from rat tail tendon (RTC), calf skin (CSC), human placenta (HPC), and sheep skin (SSC), during thermal denaturation in urea is presented.

2. Materials and methods

2.1. Materials

All reagents were of analytical grade. Deionized and distilled water was used throughout. All chemicals were purchased from Sigma chemical Co.

2.2. Sample preparation

The isolation of type I calf skin collagen (CSC) was carried out by the method of Fujii and Kuhn (1975), using modifications of Gay et al. (1976) and Fietzek and Kuhn, (1975). After a preliminary depilation and delipidation, the sample was cut into small pieces (1×1 cm) and treated with pepsin (1 mg/g wet weight) in 0.5 M acetic acid for 48 h. After centrifugation (2000 rpm/30 min) it was salted out with 0.7 M NaCl and dialyzed against 0.02 M Na₂HPO₄, pH 7.2. Finally, the preparation was purified by chromatography on DEAE-Sephacel in 0.05 M Tris-HCl–0.2 M NaCl–2 M urea, pH 8.6, dialyzed against 0.05 M acetic acid and freeze-dried. Rat tail tendon collagen (RTC) and human placenta collagen (HPC) were isolated by standard procedures, including acetic acid extraction in the presence of pepsin and salting out with sodium chloride.

* Corresponding author. Tel.: +972-2-6758690; fax: +972-2-6410740.

E-mail address: gorin@cc.huji.ac.il (S. Gorinstein).

41. Komsa-Penkova R, Koynova R, Kostov G, Tenchov B. Discrete reduction of type I collagen thermal stability upon oxidation. *Biophys Chem.* 2000 Jan 24;83(3):185-95. (IF 1.578)



Biophysical Chemistry 83 (1999) 185–195

Biophysical
Chemistry

www.elsevier.nl/locate/bpc

Discrete reduction of type I collagen thermal stability upon oxidation

Regina Komsa-Penkova^a, Rumiana Koynova^b, Georgi Kostov^b,
Boris Tenchov^{b,*}

^aDepartment of Biochemistry, Medical University of Plevan, 5802 Plevan, Bulgaria

^bInstitute of Biophysics, Bulgarian Academy of Sciences, 1113 Sofia, Bulgaria

Received 26 August 1999; received in revised form 4 November 1999; accepted 4 November 1999

Abstract

The oxidation of acid-soluble calf skin collagen type I caused by metal-dependent free radical generating systems, Fe(II)/H₂O₂ and Cu(II)/H₂O₂, was found to bring down in a specific, discrete way the collagen thermal stability, as determined by microcalorimetry and scanning densitometry. Initial oxidation results in splitting of the collagen denaturational transition into two components. Along with the endotherm at 41°C typical for non-oxidized collagen, a second, similarly cooperative endotherm appears at 35°C and increases in enthalpy with the oxidant concentration and exposure time, while the first peak correspondingly decreases. The two transitions at 35 and 41°C were registered by densitometry as stepwise increases of the collagen-specific volume. Further oxidation results in massive collagen destruction manifested as abolishment of both denaturational transitions. The two oxidative systems used produce identical effects on the collagen stability but at higher concentrations of Cu(II) in comparison to Fe(II). The discrete reduction of the protein thermal stability is accompanied by a decrease of the free amino groups, suggestive of an oxidation attack of the side chains of lysine residues. Since the denaturation temperature of collagen shifts from above to below body temperature (41°C–35°C) upon oxidation, it appears important to account for this effect in a context of the possible physiological implications of collagen oxidation. © 1999 Published by Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Oxidation; Collagen type I; Thermal denaturation; Fe ions; Thermal stability; Specific volume (DSC)

* Corresponding author. Tel.: +359-2-9713969; fax: +359-2-9712493.
E-mail address: tenchov@obzor.bio21.bas.bg (B. Tenchov)

42. Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Angelova S, Neykova A, Kamenova A, Carpentier Y, et al. Web-based system for world-wide education in nutrition of medical doctors: joined action of the European Union, University network and ESPEN. *Clinical Nutrition*. 2004; 23:753-4. (IF 2.019)

Clinical Nutrition (2004) 23, 753-754



Clinical
Nutrition

www.elsevier.com/locate/clnu

ESPEN NEWS

Web-based system for world-wide education in nutrition of medical doctors: joined action of the European Union, University network and ESPEN

Introduction

Rapid development of nutritional science provides important knowledge that is inadequately implemented into medical practice. Modern knowledge in nutrition is important for clinicians in a variety of speciality areas. Nutrition-related medical problems could not be recognized when physicians do not use nutritional assessment as part of physical diagnosis and initiate relevant nutritional cares. Therefore insufficient knowledge on nutrition is likely to be linked to greater morbidity, mortality and cost.

Rationale for a web-based education in nutrition

To increase the impact of clinical nutrition in medicine a lot of educational initiatives were undertaken by a variety of national and international nutritional societies and universities. Unfortunately, education in nutrition remains insufficiently available in Europe as well as in less industrialized countries.

We have developed a web-based life-long learning (LLL) system designed to assist medical professionals to improve their skills in nutritional assessment and care of patients. The project is funded by the Leonard Da Vinci European program (BG/03/PP/166039) until 2006. Then ESPEN will further support the project. Five European universities actively collaborate with ESPEN to develop computer based program

and organize courses. The program will be freely accessible through Internet, thus providing world-wide opportunity for training in nutrition.

Program overview

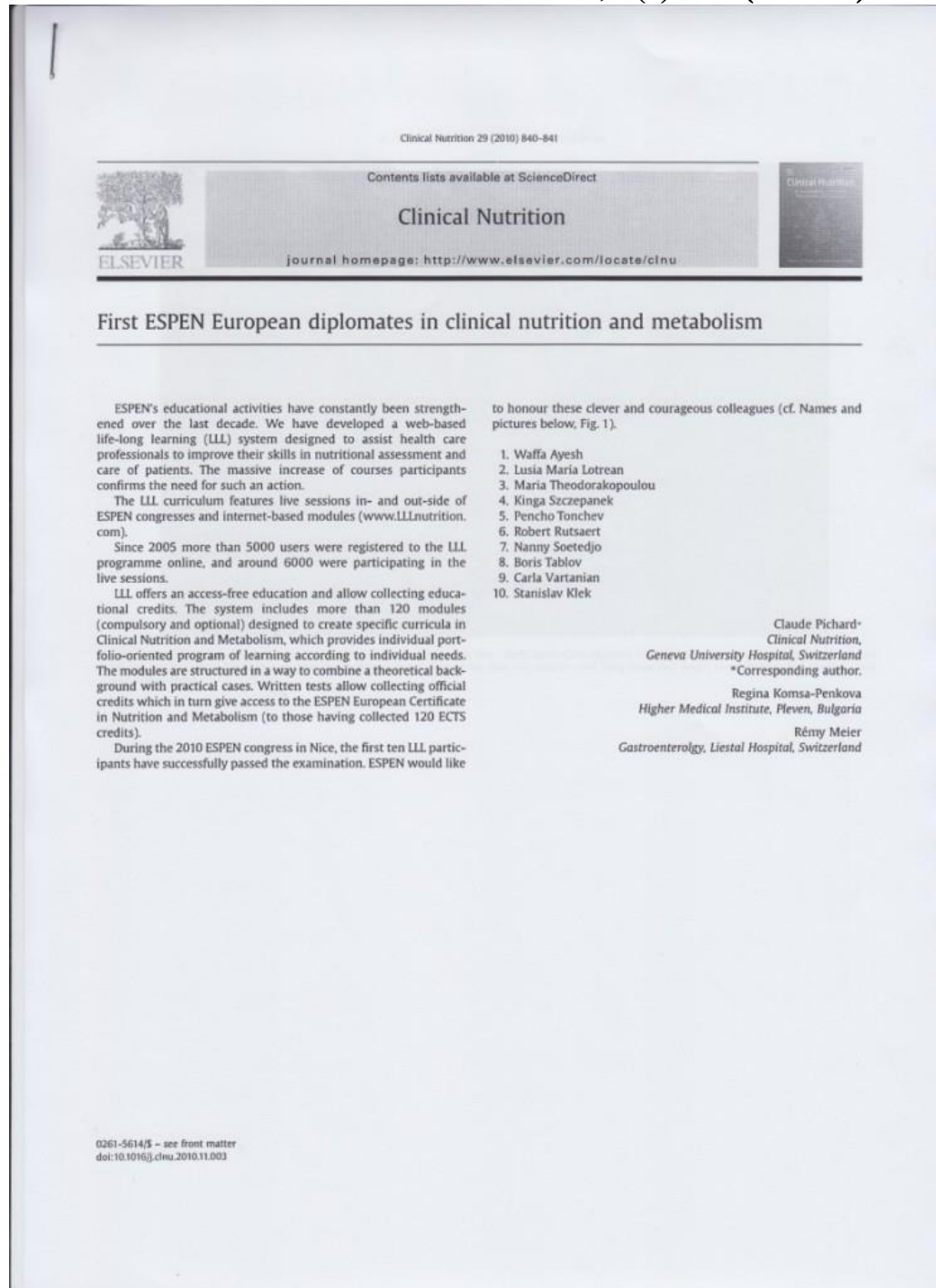
The program applies innovative problem-based training approach with attractive clinical cases. The system includes above 50 modules (compulsory and optional) assigned with credits organized in specific curricula, which provides individual portfolio-oriented program of learning. The modules are structured in a way to combine a theoretical background with practical cases. Scientific information about molecular mechanism of disease and genetic predisposition will contribute as well for prevention/delay the development of disease by means of nutrition. To access new skills each module is provided with questionnaires. Pass standard and special requirements are described for passing and certification with credits for each module. Credit accumulation allows certification at several levels: Certificate for nutritional module providing credits in national CME system, Diploma in Clinical nutrition.

Conclusion

The outcome of the system is that it will promote continual professional development of

doi:10.1016/j.clnu.2004.06.005

43. Pichard C, Komsa-Penkova R, Meier R. First ESPEN European diplomates in clinical nutrition and metabolism. *Clinical Nutrition*. 2010;29(6): 840. (IF 3.410)



44. Y.A. Carpentier, R.S. Komsa-Penkova, The place of nutrition in the prevention of cardiovascular diseases (CVDs), e-SPEN, The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism, 2011, Volume 6, Issue 6 , Pages e272-e282 (SJR 0.180)

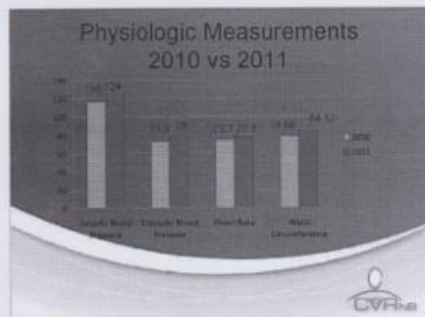


45. Bakardzhieva K, G.Naidenova, R. Komsa-Penkova, M Tzekova: Analysis of the levels of LC-PUFAs in patients with arterial hypertension. Canadian Journal of Cardiology. Volume:28, Issue:5 supplement:S Pages: S120-S121. Published: SEP-OCT 2012. (IF 3.122)

S120

Canadian Journal of Cardiology
Volume 28 2012

ical activity, as there was no strong correlation seen between reported activity levels and rates of cardiac risk factors.



AstraZeneca

087

LINKS BETWEEN SLEEP DISORDERED BREATHING AND THE TYPE OF ACUTE AORTIC DISSECTION IN THE ACUTE PHASE: DIFFERENCES IN PATENT VERSUS THROMBOSED FALSE LUMEN

T Inami, Y Seino, M Yamamoto, N Kimata, D Murakami, M Takano, T Ohba, C Ibuki, K Mizuno

Chiba, Japan

BACKGROUND: Sleep disordered breathing (SDB) has been closely linked to hypertension, which is a major risk factor for aortic dissection (AD). The impact of SDB to AD has not been revealed.

METHODS: We enrolled 60 consecutive AD patients who admitted to the division of Cardiology. We analyzed 23 subjects who were evaluated by an ambulatory polygraphic monitoring device within one month from the onset, in the aspect of SDB parameters' correlation with type and size of AD, and hemodynamics on arrival.

RESULTS: The patent false lumen group ($n = 10$) showed significantly higher apnea-hypopnea index (AHI; $p < 0.05$), lower average percutaneous oxygen saturation (SpO₂; $p < 0.05$) and significantly higher systolic blood pressure (BP) on arrival ($p < 0.05$) compared with those in thrombosed group. However, there found no significant correlations between AHI and AAD diameter. Systolic BP on arrival showed statistically significant correlations with AHI ($r = 0.457$, $p < 0.05$), central apnea index ($r = 0.451$, $p < 0.05$) and the minimum SpO₂ ($r = -0.537$, $p = 0.01$), which suggested severe SDB would relate to elevated high systolic BP on arrival.

CONCLUSION: The present study revealed that more severe SDB and hypoxia state existed in the patent false lumen group, and further higher AHI were associated with elevated systolic BP on arrival. The presence of activated sympathetic activity in cata-

strophic state of AD with high systolic SB might relate to appearance of central sleep apnea in acute phase of AD.

088

ANALYSIS OF THE LEVELS OF LONG CHAIN POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE ERYTHROCYTE MEMBRANES OF PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

KI Bakardzhieva, G Naidenova, R Komsa-Penkova, M Tzekova, P Jordanova

Pleven, Bulgaria

BACKGROUND: According to the recent studies, a high omega-6/omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs) ratio, promotes the pathogenesis of many diseases, including cardiovascular disease, cancer, osteoporosis, and inflammatory and autoimmune diseases. The aim of our study was to analyse the levels of LC-PUFAs of omega-3 and omega-6 series in the membranes of red blood cells of the patients and to determine whether there is an imbalance in the distribution of omega-3 and omega-6 series in the membranes of the patients with arterial hypertension as compared to nonhypertensive patients.

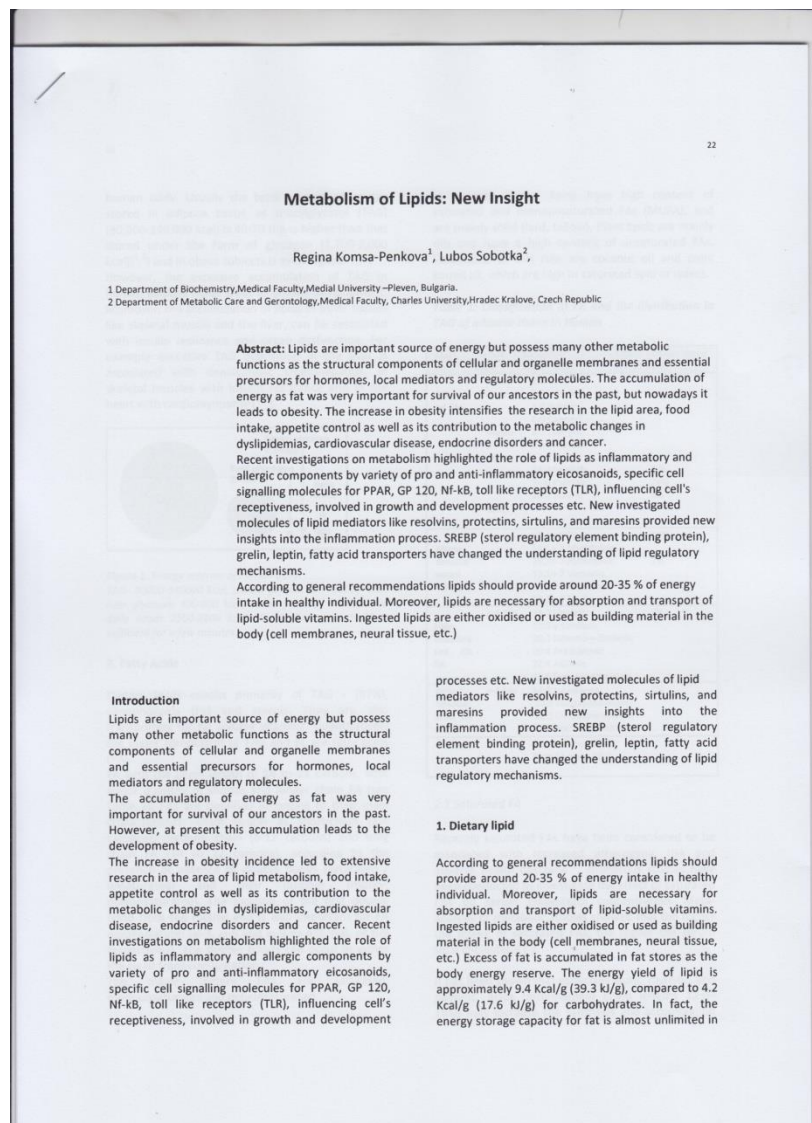
METHODS: We studied 55 patients, 35 of which with various degrees of hypertension and 20 without hypertension. We analysed the fatty acids composition of the erythrocyte membranes in the patients of both groups, using the method of gas chromatography lipid extraction.

RESULTS: The level of arachidonic acid (AA) from the omega-6 series was 13.96 ± 4.031 in the hypertensive group and 10.10 ± 2.66 in the control group. The level of eicosapentaenoic acid (EPA), from omega-3 series, was 1.38 ± 0.99 in the group of hypertensive patients and 1.64 ± 1.53 in the nonhypertensive group. The level of the docosahexaenoic acid (DHA), also from omega-3 series, was 1.77 ± 0.69 in hypertensive patients and 1.55 ± 0.74 in the nonhypertensive group.

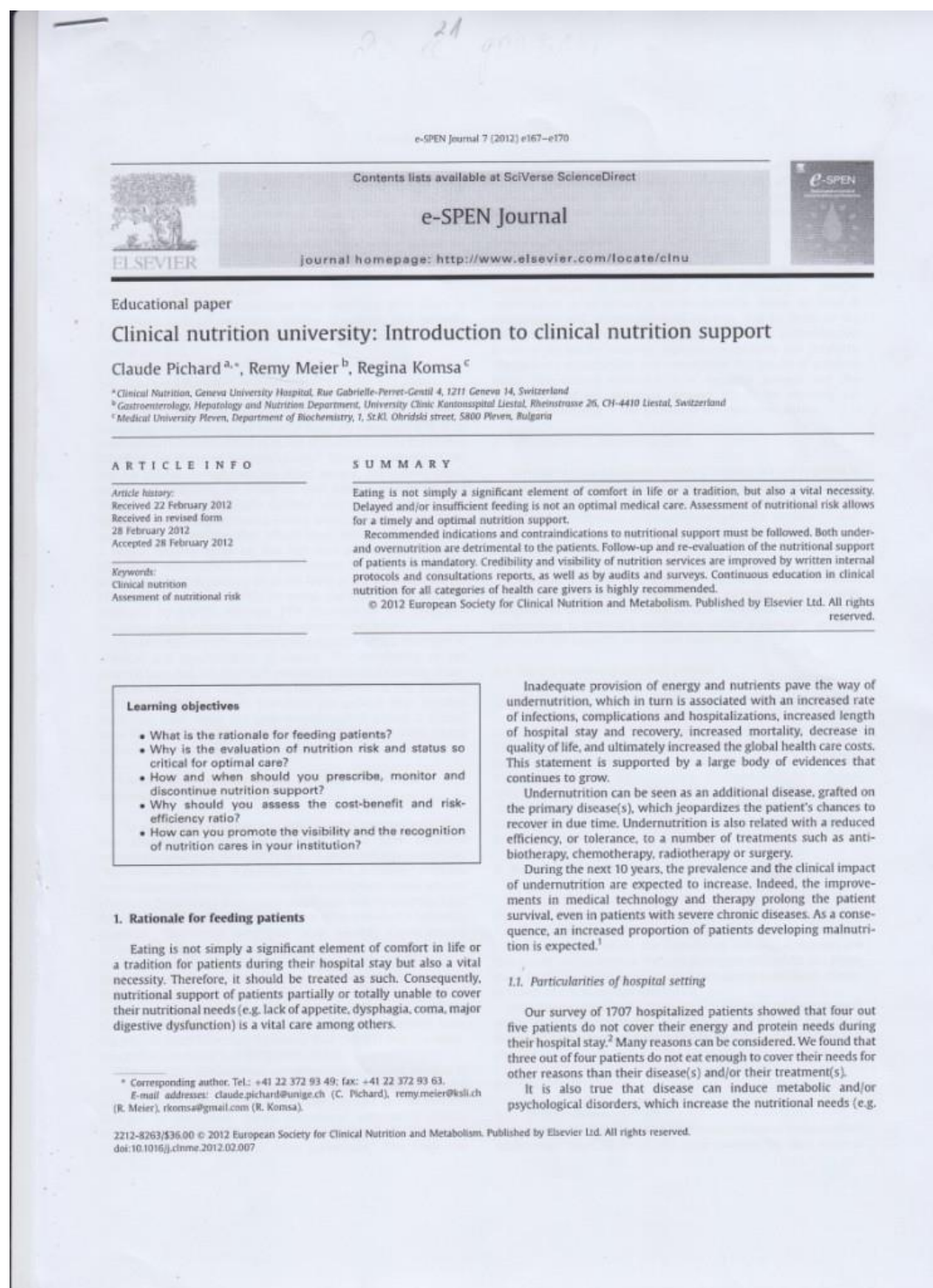
CONCLUSION: In the erythrocyte membranes of the patients with hypertension AA-level is significantly higher than in the patients without arterial hypertension ($p=0.002$). On the other hand, the level EPA is higher in the erythrocyte membrane of the nonhypertensive group but not statistically significant ($p=0.375$). The level of the DHA is lower in the group of nonhypertensive patients but not statistically significant ($p=0.131$). AA is a precursor of prostaglandins and leukotrienes with vasoconstrictive and proinflammatory properties. While EPA is a precursors of eicosanoids with vasodilatory and anti-inflammatory properties. According to the results of our study there is an imbalance between these two fatty acids leading to prevalence of vasoconstrictive and proinflammatory factors in the group of hypertensive patients. Over the past decade scientists have been studying the connection between the high bioavailability of AA and increased risk of myocardial infarction. Several large studies have shown that in patients with acute coronary syndrome have an increased bioavailability of AA. Question arises whether arterial hypertension is a risk factor for acute coronary syndrome in these patients or if it is a high level of AA, which determines both elevated blood pres-

- Also, it is important to underline that alcohol consumption can contribute to more than one type of disease or injury in the drinker. Overall, in 2012, about 3.3 million deaths were estimated to have been caused by alcohol consumption. This corresponds to 5.9% of all deaths, or one in every twenty deaths in the world (7.6% for men, 4.0% for

47. Regina Komsa-Penkova, Lubos Sobotka, Metabolism of Lipids: New Insight. Metabolism of Macro- and Micronutrients. ESPEN 2012, <http://jlnutrition.com/mod/url/view.php?id=1512>



48. Pichard C., Meier R., Komsa-Penkova R. Clinical nutrition university: Introduction to clinical nutrition support. ESPEN Journal. 2012, e167-e170. (SJR 0.167)



49. Tsvetkova-Vicheva V., Velkova A., Ivanov P., Komsa-Penkova R. The Arg16Gly Polymorphism in the B2-adrenergic Receptor Gene is Associated with Bronchial Hyperresponsiveness and Allergic rhinitis in the Bulgarian Population. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 2013, 27(2):3700-3703. (IF 0.379)

THE ARG16GLY POLYMORPHISM IN THE B2-ADRENERGIC RECEPTOR GENE IS ASSOCIATED WITH BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS AND ALLERGIC RHINITIS IN THE BULGARIAN POPULATION

Vanya Tsvetkova-Vicheva¹, Angelika Velkova², Petar Ivanov³, Regina Komsa-Penkova³

¹Medical University of Pleven, Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, Pleven, Bulgaria

²Medical University of Pleven, Department of Social and Preventive Medicine, Medical Statistics, Pedagogy and Psychology, Pleven, Bulgaria

³Medical University of Pleven, Department of Chemistry and Biochemistry, Pleven, Bulgaria

Correspondence to: Vanya Tsvetkova-Vicheva

E-mail: vmtsvetkova@abv.bg

ABSTRACT

Bronchial Hyperresponsiveness (BHR) is a risk factor for asthma but it can be observed in allergic rhinitis (AR) and healthy subjects, too. The mechanisms of genetic susceptibility to BHR are unknown. In general, it is thought to result from both genetic and environmental factors. Some studies have demonstrated that nonspecific airway hyperresponsiveness is associated with a specific β_2 -adrenergic receptor (β_2 -AR) genotype in asymptomatic healthy subjects. The present study was performed to determine the impact of single nucleotide polymorphism (SNP) on allergic rhinitis patients with evidence for bronchial hyperresponsiveness. One hundred allergic rhinitis patients analyzed for BHR and forty healthy controls were genotyped for polymorphism in the β_2 -AR gene. Nonspecific airway hyperresponsiveness was measured using the methacholine bronchoprovocation (BPT). Polymerase chain reaction (PCR) was used to identify (Arg16/Gly) polymorphism at codon 16 in the β_2 -AR gene. It was observed that allergic rhinitis patients who are homozygous for the Gly16 allele are more responsive to methacholine than patients carrying the Arg16 allele.

Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 2013, 27(2), 3700-3702

Keywords: bronchial hyperresponsiveness, single nucleotide polymorphism, arginine, glycine, methacholine, β_2 -adrenergic receptor gene

Introduction

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) represent a difference in a single nucleotide. DNA sequence changes observed in more than 1 % of the population are defined as polymorphisms. SNPs are the most common type of genetic variation among people. They occur normally throughout a person's DNA and may help in predicting an individual's response to particular drugs, susceptibility to environmental factors and predisposition to some diseases. The role of SNPs for complex diseases, such as allergic conditions simultaneously affecting the upper and lower airways, is unclear.

A significant amount of genetic research related to respiratory allergy, especially asthma, is devoted to SNPs in the coding region of the β_2 adrenergic receptor (β_2 -AR) gene. β_2 -AR agonists alone or in combination with inhaled corticosteroids have extensive use (1) and variations in responses can, in part, be attributed to genetic variation with different polymorphisms. Clinical studies of β_2 -AR polymorphisms are predominantly pharmacogenetic, concerning effects on acute bronchodilator response to short-acting β -agonists or regular use of them and clinical response to regular long-acting β -agonists.

β_2 -AR is a product of a gene consisting of 1242 bp located on 5q31.32 chromosome long arm. The adrenergic receptor is a member of the seven-transmembrane, G-protein coupled receptor family (1). The adrenergic receptor is composed of 413 amino acid residues, 7 transmembrane spanning helices, 3 extracellular and 3 intracellular loop. SNPs of β_2 -AR were first identified in 1993 and 49 different polymorphisms have been identified till now. Their importance remains controversial (1). Functional genetic polymorphism may be clinically relevant in terms of susceptibility to bronchial hyperresponsiveness or therapeutic response. Observed polymorphisms are arginine 16 to glycine (Arg16/Gly) and glutamine 27 to glutamic acid (Gln27/Glu27). Clinical observations mainly focus on the receptor regulation on bronchial function and the possibility to downregulate the airways through bronchodilator responses (4). Since diploid genome there are two copies of the β_2 -AR gene, an individual can be homozygous or heterozygous for a polymorphism. Recent clinical studies tracked gene specific response to monotherapy with long-acting β_2 agonists or combined therapy with inhaled corticosteroids (8).

Bronchial hyperresponsiveness (BHR) is a hallmark of asthma and can be observed in normal subjects, too, probably because of genetic predisposition (2). A study on 120 healthy subjects analyzed for BHR and genotyped indicated that a specific β_2 -AR polymorphism at codon 16 might be a genetic determinant of airway hyperresponsiveness (3). To our knowledge, data about the effect of β_2 -AR SNPs on BHR

50. Tsvetkova-Vicheva V., Konova E., Lukanov T., Gecheva S., Velkova A., Komsa-Penkova R. IL-17 producing T cells could be a marker for patients with Allergic Rhinitis. IMAJ 2014, 16: 358-362. (IF 1.013).

Interleukin-17 Producing T Cells could be a Marker for Patients with Allergic Rhinitis

Vanya Tsvetkova-Vicheva PhD¹, Emiliana Konova PhD^{1,4}, Tsvetan Lukanov PhD¹, Svetla Gecheva MD¹, Angelika Velkova PhD DSc² and Regina Komsa-Penkova PhD³

¹Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, Medical University of Plevan, Bulgaria

²Department of Social and Preventive Medicine, Medical Statistics, Pedagogy and Psychology, Medical University of Plevan, Bulgaria

³Department of Chemistry and Biochemistry, Medical University of Plevan, Bulgaria

⁴Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

ABSTRACT: **Background:** Interleukin-17A (IL-17A)-producing CD4⁺T helper cells have been implicated in allergic inflammation; however, the role of IL-17A in allergic rhinitis (AR) patients with different degrees of atopy and airway reactivity to methacholine (Mch) has not been examined. **Objectives:** To explore IL-17A-producing CD3⁺CD4⁺T cells in peripheral blood of patients with persistent AR and assess the degree of atopy, eosinophil count (Eo count), and bronchial hyper-responsiveness (BHR) to methacholine. **Methods:** The study involved 61 patients and 30 controls. The percentage of CD3⁺CD4⁺IL-17A⁺T cells in peripheral blood was measured by flow cytometry, bronchial challenges with Mch were performed, as were skin prick tests with standard inhalant allergens, and Eo count was measured. Atopic status was determined by the number of positive SPT results and wheal mean diameter. **Results:** A statistically significant difference in Th17 cell percentage was found in the AR and control groups ($2.59 \pm 1.32\%$ and $1.24 \pm 0.22\%$ respectively, $P = 0.001$). Forty-one patients (67.2%) were polysensitized to indoor and outdoor allergens, while 20 (32.8%) had positive skin prick tests to indoor allergens. CD4⁺T cells were significantly higher in the patient group compared to the control group ($2.91 \pm 1.5\%$ versus $1.91 \pm 0.62\%$, $P = 0.005$), as was Eo count (4.48 ± 2.13 vs. 2.32 ± 1.83) ($P = 0.0001$). Forty-one in the AR group (67%) and 7 (23%) in the control group were Mch-positive ($P = 0.001$). The percentage of IL-17A-producing CD4⁺T cells was significantly higher in males compared to females ($3.15 \pm 1.8\%$ versus $2.31 \pm 0.9\%$, $P = 0.02$). **Conclusions:** Polysensitized AR patients exhibited higher IL-17A-producing CD4⁺T cell levels and eosinophil counts. Male patients displayed a higher frequency of IL-17A-producing T cells.

IMAJ 2014, 16: 358-362

KEY WORDS: Th17, interleukin-17 (IL-17), allergic rhinitis (AR), flow cytometry, atopy, bronchial hyper-responsiveness, gender, eosinophils, methacholine

Sensitization to inhalant allergens is a specific feature of allergic rhinitis. An association between atopy and bronchial hyper-responsiveness was found in patients with allergic rhinitis: namely, exposure to multiple foreign substances increases BHR in atopic patients. Recently, interleukin 17A-producing T helper cells have challenged the classic Th1/Th2 paradigm, and have been implicated in a growing number of inflammatory conditions. Recent data have provided new insights into the pathogenesis of atopic diseases [1].

Current data suggest a central role of Th17 in orchestrating adaptive immune responses. Furthermore, there is growing evidence that IL-17A plays an important role in autoimmune diseases [2,3]. Consistent with the broad expression pattern of its receptor, IL-17A acts on a variety of cells that respond by up-regulating the expression of pro-inflammatory cytokines, chemokines and metalloproteinases (MMP1, MMP3, MMP13). Emerging evidence suggests active involvement of IL-17A in a range of pathologic conditions in humans, ranging from common asthma and allergic rhinitis to certain autoimmune diseases [2]. Indeed, one of the major questions in immunology remains: Why does an individual develop an autoimmune disease or allergy [3].

The number of studies on molecular mechanisms of the most prevalent allergic diseases – allergic rhinitis and bronchial asthma – are increasing. Over the past decades, the clinical symptoms in patients with allergic respiratory diseases tend to overlap those of upper and lower airways. Although the concept of combined upper and lower respiratory diseases is unanimously accepted, the border between clinical conditions relating to allergy of upper airways and those of latent immune inflammation of lower airways is not the focus of the latest research.

Bronchial hyper-responsiveness to methacholine in AR is a risk factor for the development of asthma [4]. Among rhinitis

BHR = bronchial hyper-responsiveness
Th = T helper cells
IL-17A = interleukin-17A
MMP = metalloproteinase
AR = allergic rhinitis

51. Tsvetkova-Vicheva V., Gecheva S., Komsa-Penkova R., Velkova A., Lukanov T. IL-17 producing T cells correlate with polysensitization but not with bronchial hyperresponsiveness in patients with allergic rhinitis. *Clinical and Translational Allergy* 2014, 4:3 (<http://www.ctajournal.com/content/4/1/3>) (SJR 0.294)

Tsvetkova-Vicheva et al. *Clinical and Translational Allergy* 2014, 4:3
<http://www.ctajournal.com/content/4/1/3>



Clinical and Translational
Allergy

RESEARCH

Open Access

IL-17 producing T cells correlate with polysensitization but not with bronchial hyperresponsiveness in patients with allergic rhinitis

Vanya M Tsvetkova-Vicheva^{1*}, Svetla P Gecheva¹, Regina Komsa-Penkova¹, Angelika S Velkova² and Tsvetan H Lukanov¹

Abstract

Background: Th2-type T cell response has a considerable role in atopic diseases. The involvement of Th17 and IL-17 in atopy process provided new understanding of allergic diseases. Bronchial hyperresponsiveness is quite common in allergic rhinitis. We aimed to explore the expression of IL-17 producing CD3⁺ CD4⁺ T cells in peripheral blood of rhinitic patients, with/without bronchial hyperresponsiveness and sensitized to common allergens, as this relationship has not been examined.

Methods: Sixty one patients with allergic rhinitis and thirty controls were examined. IL-17 producing T cells were detected by flow cytometry. IL-17, IL-4 and IL-13 levels in peripheral blood were evaluated by ELISA. Bronchial hyperresponsiveness was investigated with methacholine challenge test. Atopy was evaluated by skin prick tests with common allergens.

Results: IL-17 producing T cell percentage of AR group was significantly higher: 2.59 ± 1.32 than in controls 1.24 ± 0.22 , ($p = 0.001$). Significant sex related difference in CD3⁺ CD4⁺ IL-17 T cells was observed: respectively in male patients versus female $3.15 \pm 1.8\%$ and $2.31 \pm 0.9\%$, ($p = 0.02$). Rhinitics had greater bronchodilator responses compared to controls ($p = 0.001$), however the percentages of T cells in both groups appeared equal. Serum IL-17 levels in AR group were significantly higher (5.10 ± 4.40) pg/ml than in controls (3.46 ± 1.28) pg/ml, ($p = 0.04$). IL-4 levels (0.88 ± 1.27) and IL-13 levels (3.14 ± 5.85) in patients were significantly higher than in controls (0.54 ± 0.10) pg/ml, ($p = 0.001$) and (1.19 ± 0.64) pg/ml, ($p = 0.001$) respectively.

The percentages of T cells in patients sensitized to 5 allergens (group I) were significantly lower (1.91 ± 0.62) than those sensitized to more than 5 allergens (group II) (2.91 ± 1.5) ($p = 0.004$).

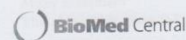
Conclusions: The observed higher levels of IL-17 producing T cells in polysensitized males suggest a role of IL-17 in pathogenesis of AR. The higher airway responsiveness in AR may not be Th17 dependent. The higher serum values of IL-17, IL-4 and IL-13 demonstrate the presence of cytokine balance in atopic diseases.

Keywords: IL-17, Th17, IL-4, IL-13, Allergic rhinitis, Atopy, Bronchial hyperresponsiveness

* Correspondence: vmitsvetkova@abv.bg

¹Department of Clinical Laboratory, Clinical Immunology and Allergology, Medical University of Pleven, Pleven, Bulgaria

Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Tsvetkova-Vicheva et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

52. D.Dimov, G. Golemanov, T. Tacheva, V. Ilieva, G. Prakova, M. Gulubova, R.Komsa-Penkova, T.Vlaykova. MTHFR 677C>T polymorphism in patients with COPD.DOI: 10.1183/13993003 European respiratory journal, Vol 46, 59, 2015(IF 8.322).



EUROPEAN RESPIRATORY *journal*

FLAGSHIP SCIENTIFIC JOURNAL OF ERS

MTHFR 677C>T polymorphism in patients with COPD

Dimo Dimov, Georgi Golemanov, Tanya Tacheva, Vanya Ilieva, Gospodinka Prakova, Maya Gulubova, Regina Komsa-Penkova, Tatyana Vlaykova
European Respiratory Journal 2015 46: PA4892; DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4892

- [Article](#)
- [Info & Metrics](#)

Abstract

COPD is a preventable and treatable disease associated with an enhanced chronic local and systemic inflammatory response. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a central regulatory enzyme in folate and methionine metabolism, which on turn play crucial role in DNA synthesis and methylation. MTHFR catalyzes the biologically irreversible reduction of 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, which supplies with the methyl group the process of remethylation of homocysteine to methionine. *MTHFR* gene is polymorphic gene as at least two SNPs (677 C > T and 1298 A > C) have been shown to result in decreased enzyme activity, which further may lead to increased tissue and plasma homocysteine levels and DNA hypomethylation. Recent studies suggested that COPD is associated with hyperhomocysteinemia and hypomethylation of a large number of CpG sites. So far no study has been reported to explore the role of *MTHFR* 677 C>T SNP in COPD. In this respect determined the *MTHFR* 677C>T genotype frequency in 142 patients with COPD and in 94 control individuals and aimed to evaluate its possible role for development of this disease.

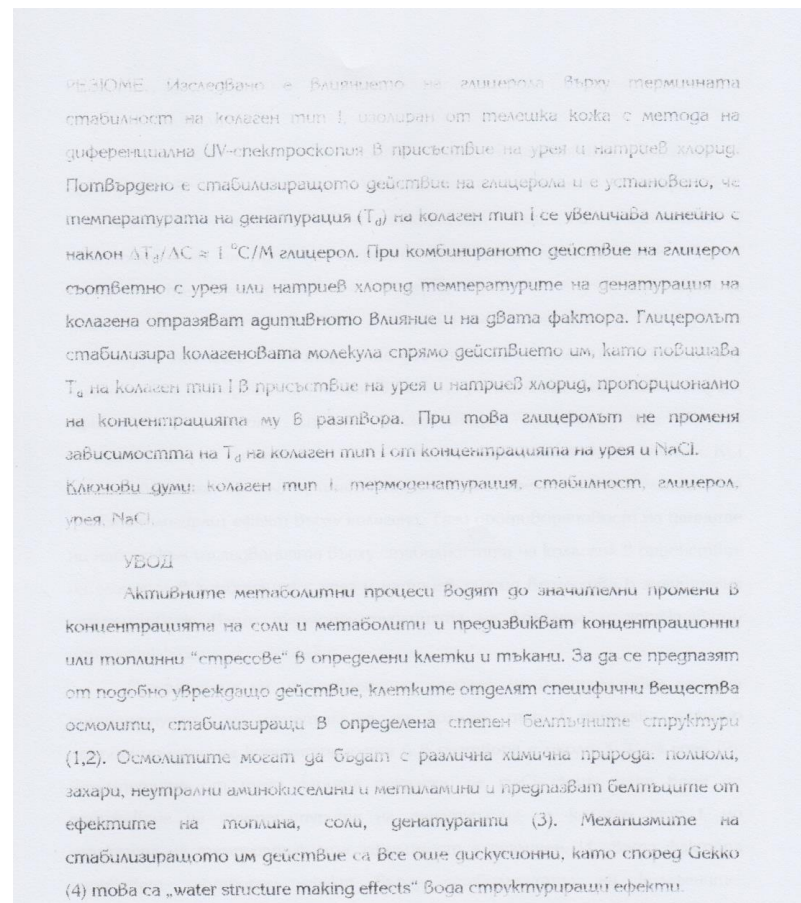
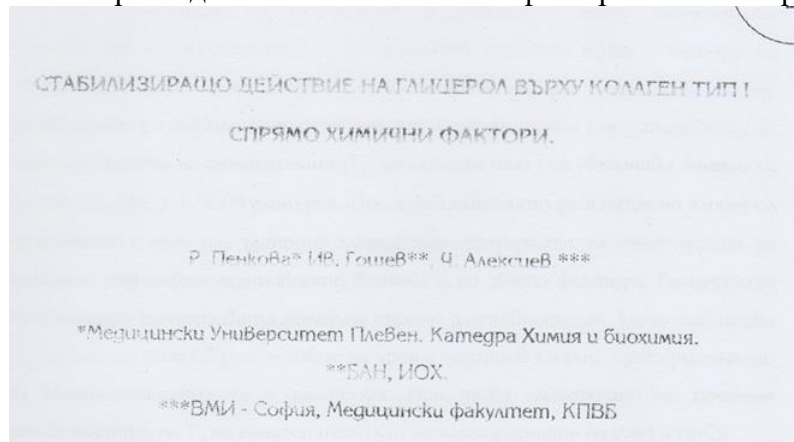
We did not find statistically significant difference between genotype and allele frequencies of COPD patients and controls ($p=0.815$, $p=0.927$). The polymorphism was not associated with the stage of the disease or with spirometric indexes. However, the carriers of *TT* genotype developed COPD earlier (57.99 ± 1.47 years) than the heterozygous (62.70 ± 8.47 years, $p=0.066$) and especially than carriers of *CC* genotype (63.20 ± 9.80 years, $p=0.045$).

These results suggest that *MTHFR* 677C>T polymorphism is not a risk factor for COP, but may contribute to early onset of the disease.

- Copyright ©ERS 2015

Публикации в български периодични списания, свързани с 1-та дисертация:

53. Пенкова Р, Гошев И, Алексиев Ч. Стабилизиращо действие на глицерол върху колаген тип I спрямо действието на химични фактори. Сп. Българска медицина. 1993г.



54. Komsa-Penkova R, Goshev I, Alexiev Ch. Influence of urea on thermal denaturation of collagen type I Isolated from different species Comp. Rend. Acad. Bulg. Acad. Sci. 1994, 47, No 11, 45-48. (IF 0.233)

Доклади на Българската академия на науките
Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences
Tome 47, N° 11, 1994

3

CHIMIE
Biochimie

INFLUENCE OF UREA ON THERMAL DENATURATION OF COLLAGEN TYPE I ISOLATED FROM DIFFERENT SPECIES

R. Komsa-Penkova, I. Goshev*, Ch. Alexiev**

(Submitted by Corresponding Member Ch. Ivanov on July 21, 1994)

The collagens are a family of proteins characterized by triple helix structure and mainly responsible for providing stability and rigidity of connective tissue. Collagens possess the unique periodicity in primary structure with orderly distributed glycine and iminoacid residues. Collagens structure is stabilized by monotonous hydrogen bonds — one hydrogen bond per tripeptide according to RICH and CRICK [1] or two per tripeptide involving water solvent molecules — RAMACHANDRAN et al. [2]. The numerous studies recognized the stabilizing effect of hydroxyproline in Yyy position [3]. But there is no unified opinion about the significance of other interactions in the stabilization of collagen molecules. There are some suggestions in literature, that collagens stability is additionally influenced by electrostatic and hydrophobic interactions, provided by other aminoacid residues [4].

The aim of our study was to evaluate the influence of urea upon the thermostability of collagen type I as a typical fibrillar collagen at neutral and acid pH, thus attempting to estimate the possible role of these additional interactions in the stabilization of collagen structure.

Materials and methods. Calf skin collagen (CSC), rat tail collagen (RTC), human placenta collagen (HPC) were isolated by the standard procedures, including acetic acid extraction in the presence of pepsin and salting out with sodium chloride. Sheep skin collagen (SSC) was isolated by the method of NEDKOV et al. [5], utilizing subtilysine instead of pepsin for the enzyme degradation of other proteins. All collagens were further purified by ion exchange chromatography on DFAE-Cellulose. The purity of collagens was checked by SDS - PAGE. The protein concentration was calculated from the hydroxyproline content according to the method of STEGEMANN [6] and by UV-absorbancy values at 230 nm. The amino acid analysis was accomplished by modified method of BOGOEVA et al. [7].

The thermal denaturation of collagen was investigated by differential UV-spectroscopy on UV-VIS SPECORD M40 (Carl Zeiss, Germany) according to DANIELSEN [8]. The thermal behaviour of solutions of collagen type I is characterized by the main transition peak at about 40°C and small pretransition peak at about 35°C (its nature is not specified yet). The average error is $\pm 0.2^\circ\text{C}$, the dynamic error is 0.4°C . The basic parameters: T_d (temperature of denaturation), ΔT (half of the transition interval) were determined from the first derivative curve. The estimation of these characteristics

55. Komsa-Penkova R, Goshev I, Aleksandrova Tz, Aleksiev Ch. Influence of urea and guanidine chloride on thermal denaturation of various collagens. Scientific Works of The Medical University of Pleven, 1995, XV, N 1, 5-8.

REFERENCES

1. Karmen, A., F. Wroblewski, J. La Due. Transaminase activity in human blood. *J. Clin. Invest.*, 34, 1955, 126-133.
2. Lowry, O. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, 265-275.
3. Matsumoto, M. et al. Effects of methyl(+)(3S)-1,2,3,4-tetrahydro-3-hydroxymethyl-beta-carboline-2-carbodithionate (THC), a new hepatoprotective agent, on acute liver injuries induced by various hepatotoxic substances in mice and rats. *J. Pharmacobiodyn.*, 10, 1987, 599-607.
4. Nash, T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, 55, 1953, 416-421.
5. Omura, T., R. Sato. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, 239, 1964, 2379-2385.
6. Shibayama, J. Prevention of hepatotoxic responses to chemicals by glycyrrhizin in rats. *Exp. Mol. Pathol.*, 51, 1989, 48-55.
7. Suzuki, H. et al. Effects of glycyrrhizin on biochemical tests in patients with chronic hepatitis. *Asian Med. J.*, 26, 1983, 423-438.

INFLUENCE OF UREA AND GUANIDINE CHLORIDE ON THERMAL DENATURATION OF VARIOUS COLLAGENS

R. Komsa-Penkova¹, I. Goshev², Tz. Alexandrova¹

¹Department of Chemistry and Biochemistry, Medical University, Pleven

²Institute of Organic Chemistry with Center of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Science, Sofia

ABSTRACT. The thermal stability of collagens type I, isolated from different sources: rat tail tendon, sheep skin and human placenta, was determined. The denaturation of collagens was studied by differential UV-spectroscopy in the presence of urea and guanidine hydrochloride. The difference in sensitivity of the collagens studied toward these chemical agents was established in acidic solutions. The denaturation temperatures of collagens decreased proportionally to the urea concentration, and exhibited linear dependence of denaturation temperatures on urea concentration. The destabilization of collagen by guanidine hydrochloride was more clearcut, especially at small concentrations of the agent. This fact points to the importance of electrostatic interactions in collagen stability. A correlation of the thermal stability of different collagens with their amino acid content was determined. The dependence of the thermal stability of collagens on their hydrophobic amino acid content demonstrated the contribution of hydrophobic interactions to collagen stability.

KEY WORDS: collagen type I, thermal stability, urea, guanidine hydrochloride

Collagens are a family of proteins characterised by triple helix-coiled structure and unique periodicity in amino acid sequence. The primary structure may be described as repeated tripeptide (Gly-Xxx-Yyy)_n. The triple helix is stabilised by monotonous hydrogen bonds — one hydrogen bond per tripeptide according to Rich and Crick [12], or two per tripeptide involving water molecules — Ramachandran et al [11]. Presumably, collagen stability is additionally influenced by electro-

static and hydrophobic interactions, provided by other amino acid residues [2, 10]. The importance of such interactions in collagen molecules may be determined by assaying its stability in the presence of denaturants.

The aim of our study was to evaluate the influence of urea and guanidine hydrochloride on thermostability of collagen type I; thus attempting to estimate the probable role of the additional interactions in the stabilization of collagen structure.

56. Байчев Г, Пенкова Р, Делийски Т. Лечение на бавно заздравяващи рани с колаген и растежни фактори. Хирургия, 1995, 3, 17-19.

Лечение на бавно заздравяващи рани с колаген и растежни фактори

Г. Байчев*, Р. Пенкова**, Т. Делийски*

*Медицински университет - Плевен, Катедра по пропедевтика на хирургичните болести

**Медицински университет - Плевен, Катедра по химия и биохимия

Delayed wound healing treated by collagen and growth factors

G. Baychev, R. Penkova, T. Dellisky

Резюме

Представен е опитът от локално приложение на колаген и аутоложни растежни фактори, изолирани от тромбоцити при 35 пациенти с хронични бавно заздравяващи рани, лекувани с конвенционални методи. В 24 случая раните в изследваната група са епителизирали за 6 седмици, в останалите 11 - в срок до 10 седмици. Резултатите показват по-бързо зарастване на рани при пациенти, третирани с растежни фактори в комбинация с колаген, в сравнение с контролната група, $p(t) > 0,05$.

Ключови думи: ХРОНИЧНИ РАНИ, ЛЕЧЕНИЕ, КОЛАГЕН, PDGF (ТРОМБОЦИТАРЕН РАСТЕЖЕН ФАКТОР)

Summary

Experience had with the local application of collagen and autologous growth factors, isolated from platelets, in 35 patients presenting chronic, slowly healing wounds, treated with conventional methods, is discussed. In 24 cases of the series reviewed the wounds undergo epithelization within six weeks, and in the remainder (11) - within 10 weeks. As shown by the results, the healing process is quicker in wounds of patients treated with growth factors in combination with collagen, as compared to the control group - $p(t) > 0.05$.

Key Words: CHRONIC WOUNDS, TREATMENT, COLLAGEN, PDGF (PLATELET GROWTH FACTOR)

Хроничните рани и тяхното лечение са сериозен клиничен проблем. Независимо от голямото разнообразие на използваните локални препарати само малка част от тях стимулират активно ранево заздравяване. От както Томас Хънт и Дейвид Найтън откриха тромбоцитните фактори през 1982 г. и съобщиха първите си клинични резултати (1986), а Келман Коен демонстрира подобен активиран макрофаген фактор, биохимията на раневото лечение получи една потенциално важна и практически приложима новост (1, 2, 3). Използването на растежни фактори днес се изследва клинично в много проучвания (4, 5). Досега са изолирани 5 локално действащи фактора, съдържащи се в тромбоцити, стимулиращи капилярна ендотелна миграция (ангиогенеза), пролиферацията и миграцията на фибробласти и колагеновата синтеза (2, 4).

Целта на проучването е да се изложи опитът ни от използването на локално действащи растежни фактори за стимулиране образуването на грануляционна тъкан и активна епителизация.

Материали и методи

Обект на рандомизирано проспективно изследване са 70 пациенти, лекувани в Катедрата по пропедевтика на хирургичните болести - МУ, Плевен, през периода 1989 - 1993 г., разпределени в две групи, лекувани съответно с аутоложни растежни фактори, изолирани от тромбоцити, и с традиционните способи за заздравяване на раните. Разпределението на пациентите по пол и възраст е дадено на табл. 1.

Всички пациенти са с хронични незаздравяващи рани с поне 10-седмична давност, с нормални стойности на тромбоцитите в периферната кръв. Повечето са диабетици, въглехидратната обмяна на които бе трайно компенсирана през целия лечебния процес. За включване в изследването се изискваше съгласие на пациента за предлагания от нас съвременен метод на лечение. Болните са преминали щателни клинични, лабораторни, микробиологични и рентгенологични изследвания.

57. Komsa-Penkova R, Stojanova A, Rashap R. Assessment of Collagenase Preparations, Isolated from Crab *Paralithodes Camchatica*. Scientific Works of Medical University of Pleven, 1995, 15, (1), 8-11.

and hydroxyproline only. More probably it is a mechanism of phylogenesis to preserve the

"rigidity" of the collagen molecule structure in its fibrillar regions.

REFERENCES

1. Bogoeva, A. A., P. T. Nedkov, I. Goshev. A simple procedure for quantitative determination of hydroxyproline in protein hydrolysates. *Comptes rendus de l'Acad. Bulg. des Sci* 31, 1978, 339-342.
2. Burjanadze, T. V. Evidence for the role of 4-hydroxyproline localized in the third position of the triplet (Gly-X-Y) in adaptational changes of thermostability of a collagen molecule and collagen fibrils. *Biopolymers*, 21, 1982, 1489-1501.
3. Danielsen, C.C. Precision Method to Determine Denaturation Temperature of Collagen using Ultraviolet Difference Spectroscopy. *Collagen Rel. Res.* 2, 1982, 143-150.
4. Dill, K. A. Denaturated states of proteins. *Ann. Rev. Biochem.* 60, 1991, 795-825.
5. Fietzek, P.P., K. Kuhn. The primary structure of collagen. *Int. Rev. Connect. Tiss. Res.* 7, 1976, 1-60.
6. Furthmayer, H. and R. Timpl. Characterization of collagen peptides by sodium dodecylsulfate-polyacrylamide electrophoresis. *Anal. Biochem.*, 41, 1971, 510-516.
7. Matsubara, M., D. Nohara, T. Sakai. Difference between guanidinium chloride and urea as denaturants of globular proteins: the possibility of application to improved refolding processes. *Chem. Pharm. Bull.*, 40, 1992, 550-552.
8. Miller, E. J. and R. K. Rhodes. Preparation and characterization of the different types of collagen. *Meth. Enzymol.*, 82, 1982, 33-64.
9. Nedkov, P., R. Glanville, I. Goshev, K. Kuhn. Isolierung und teilweise Charakterisierung von Schafshauptkollagen in Lösung gebracht mit Hilfe von Subtilisin DY. *Das Leder* 34, 1983, 49-64.
10. Nemethy, G. Energetics and thermodynamics of collagen structure. In: *Collagen*, M.E. Nimni, ed Roca Raton, CRS Press Inc, 1988, vol. 2, pp 79-94.
11. Ramachandran, G. N., M. Bansal, R. S. Bhatnagar. A hypothesis on the role of hydroxyproline in stabilizing collagen structure. *Biochim. Biophys. Acta.* 322, 1973, 166-198.
12. Rich, A., F.H.C. Crick. The structure of collagen. *Nature*, 176, 1955, 915-916.

ASSESSMENT OF COLLAGENASE PREPARATIONS ISOLATED FROM CRAB *PARALITHODES CAMTCHATICA*

R. Komsa-Penkova¹, A. Stoyanova¹, R. Rashap²

¹Department of Chemistry and Biochemistry

²Institute of Applied Enzymology, Vilnius, Lithuania

ABSTRACT. A biological preparation with collagenolytic properties from hepatopancreas of Crab *paralithodes camtschatica* was purified and fractionated. Three different fractions of the preparation were obtained by ion-exchange chromatography. The molecular masses of the fractions obtained were determined by SDS-PAGE, and were approximately 22 000, 27 000 and 29 000 kDa. The kinetic properties of different fractions were investigated with native and denatured collagen, as well as the action of inhibitors specific to different classes of collagenases. The substrate specificity of the preparation to different types of collagen was also studied. The three preparations differed in their ability to hydrolyze the native and denatured substrate, as well as in their sensitivity to EDTA and PMSF.

KEY WORDS: Crab *paralithodes camtschatica*, collagenase, kinetic, inhibitor

Collagenases constitute a class of highly specific enzymes capable of degrading triple helices of collagen molecules. There are two main classes of collagenases: classical mammalian

collagenases which are metaloproteases, and serine proteases capable of degrading collagens. Hepatopancreas of Crab *paralithodes camtschatica* contains a mixture of proteolytic

58. Komsa-Penkova R, Goshev I, Aleksandrova Tz. Influence of urea and guanidine hydrochloride on the thermal behavior of cartilage collagens type II and type XI. Scientific Works of The Medical University of Pleven, 1996, 16, (1).

INFLUENCE OF UREA AND GUANIDINE HYDROCHLORIDE ON THE THERMAL BEHAVIOR OF CARTILAGE COLLAGENS TYPE II AND XI

R. Komsa-Penkova¹, I. Goshev², Tz. Alexandrova¹

¹Department of Chemistry and Biochemistry, Medical University of Pleven

²Institute of Organic Chemistry with Center of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Science, Sofia.

ABSTRACT. The influence of urea and guanidine hydrochloride (Gu-HCl) on the stability of cartilage collagens types II and XI was studied. The UV-differential spectroscopy method, based on the hyperchromic effect on the collagen transition, was used. Collagen type II demonstrated higher stability in urea solutions, as compared to collagen type I, the denaturation temperature 41.5 °C linearly decreased with a slope 2.5 °C/mol in the concentration range of urea 0-3 mol/L. The thermal stability changes of collagen type II in Gu-HCl solutions were similar to those of collagen type I. The thermal behavior of collagen type XI in urea solutions differed from that of type II in the hyperchromic effect and in the stability of the different domains, and resembled a transition of multidomain proteins. Distinct domains of collagen type XI possessed different sensitivity to Gu-HCl action, the temperature of the main transition decreased sharply with 9°C/mol. At low Gu-HCl concentration, additional pretransition was observed.

KEY WORDS: collagen type II, collagen type IX, thermostability, urea, guanidine hydrochloride

INTRODUCTION

Protein analysis has convincingly shown that the three-dimensional structure and the resulting properties such as thermostability are the sum of the exact balance of different interactions: van der Waals interactions, hydrogen bonds, charge-charge interactions, hydrophobic effect. There is no unified opinion concerning the significance of these interactions on the stabilization of collagen molecules (1,10). The triple-helix model of the collagen molecule requires an obligatory arrangement (Gly-X-Y)_n in all three left-handed polypeptide chains, which are supercoiled in a right-handed manner. Most commonly, it is assumed that collagen structure is stabilized mainly by interchain hydrogen bonding between the amino group of glycine and the carbonyl group of X amino acid residue and hydroxyproline residues with water molecules (1).

The aim of our study on the thermal stability of fibrillar collagens was to evaluate the contribution of different weak interactions on triple helix stability. The role of the different interactions may be elucidated by investigating collagen thermal stability in the presence of substances promoting the unfolding of native structure such as urea and guanidine hydrochloride. Such investigations were made with collagen type I (4). Since cartilage fibrillar collagens differed in structure, matrix organization and glycosylation level from collagen type I (6), (these differences reflect the specialized functions of cartilage tissue), the study on the thermal behavior of collagens type II and XI would provide additional information on the stabilization of collagen structure.

MATERIALS AND METHODS

Collagens type II and type XI were isolated from human cartilage by acetic acid extrac-

59. Komsa-Penkova R, Spirova R. A new approach for collagen concentration measurement. *Anal. Laboratory*. 1996, 3, 77-80.

A NEW APPROACH FOR COLLAGEN CONCENTRATION MEASUREMENT

R. Komsa-Penkova and R. Spirova

Department of Chemistry and Biochemistry, Medical University, 5800 Pleven

Abstract

A method to determine collagen concentration is described. It is based on the modification of Lowry's method widely used for protein concentration measurements. The modification includes initial heating of the collagen sample in alkaline solution at 50°C, changes in the concentration of reagents used and in the order of the assay procedure. The method allows for high sensitivity, the slope is 1.55 absorbance units/mg.ml⁻¹ in a wide collagen concentration range, from 0.02 to 0.5 mg/ml. It is suitable for routine determinations of collagen concentration and may be applied for collagen type I, as well as for gelatin.

Keywords: Collagen concentration, Collagen type I, Gelatin

Introduction

The numerous investigations on connective tissue involve determination of collagen concentration. Traditional procedures for protein concentration measurements can hardly be applied to collagens because of their rigid, triple helical structure and specific amino acid content. Usually, for collagen concentration determination special methods, or modifications of standard assays are used.

A standard procedure for collagen concentration measurement is the method of Stagemann, based on hydroxyproline assay [1, 2]. It is a two-step procedure, including preliminary sample hydrolysis, hydroxyproline oxidation and specific reaction with dimethylaminobenzaldehyde. The method is sensitive and reliable, but time and effort consuming. Modifications of standard protein assays – of biuret [3] and Bradford [4] methods are also used for collagen determination. These are simple procedures which have low sensitivity. Another routine method for protein concentration measurements by monitoring their UV absorbance at 280 nm, has also been adapted for collagen.

Since collagen contains small quantities (< 1%) of aromatic amino acid residues, UV absorbance is measured at 230 nm [5]. The method, however, is not applicable to opalescent or turbid solutions. Moreover, in neutral and low alkaline solutions, the collagen tends to aggregate at room temperature, which results in significant increase of absorbance.

The aim of the study was to find a simple and sensitive procedure for routine assay of collagen concentration. The modification proposed is based on the Lowry's method [6], which otherwise gives a low response to collagen. It allows for high sensitivity in a wide collagen concentration range and does not require special equipment.

Materials and Methods

Materials:

Type I collagen was isolated from calf skin by acid extraction after pepsin proteolysis as described by Miller and Rhodes [7]. The purity of collagen (contaminations < 3%) was checked by SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis). The collagen was lyophilized and was

60. Komsa-Penkova R, Goshev Iv, Kamenova A. Change in the stability of early glycation products of calf skin collagen in urea. C. R. Acad. Bulg. Sci. кн.12, том 49, 1996г. pp.53-56 (IF 0.233)

CHANGE IN THE STABILITY OF EARLY GLYCATION PRODUCTS OF CALF SKIN COLLAGEN IN UREA

Regina Komsa-Penkova, Ivan Goshev* and Ani Kamenova.

INTRODUCTION

Glycation (nonenzymatic glycosylation) of proteins includes attachment of glucose molecules by non-enzymatic process proportionally to its concentration in solution^[1]. This process leads to formation of Schiff bases, which rearrange to Amadori products. At this stage the process is reversible and depends on the concentration of glucose. The Amadori products - fructoselysine (FL) can degrade to various very active ketoaldehydes, reacting among themselves and with other amino acid residues to form the cross-linked, advanced glycosylation end products (AGE) ^[2]. Glycation is important for proteins having low physiological turnover, including connective tissue proteins. The glycation of collagens leads to changes in their properties: increased thermal rupture time ^[3], mechanical strength ^[4], decreased solubility and sensitivity for collagenase digestion slower fibril formation ^[5], decreased ligand binding and changed cellular adhesion and platelet attachment ^[6]. Most of the changes studied are related to AGEs. The aim of this study was to investigate the changes in the thermal behavior of early glycation products of collagen.

MATERIALS AND METHODS

Materials: 2-thiobarbituric acid (TBA), quinine sulfate, trichloroacetic acid (TCA), sodium dodecyl sulfate (SDS), D(+) glucose and acetic acid were purchased from Fluka. 4-(2-hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid (HEPES), urea and collagenase from *Clostridium histolyticum* (EC 3.4.24.3) (Type XI, activity 1200 digestion units/mg) were from Sigma. Other reagents used were of analytical grade.

Isolation, purification and characterization of collagen type I: Calf skin collagen (CSC) type I was isolated by acetic acid extraction in the presence of pepsin and salting out with sodium chloride. Further purification by ion exchange chromatography

61. Байчев Г, Пенкова Р, Рашап Р, Делийски Т. Лечение на инфектирани рани с колагеназен препарат. "Съвременна медицина" 1996, 47 (1), 13-16.

Библиография

1. Аникин, В. В., А. Г. Плюхин и В. Ф. Егоршин. Нарушения сердечного ритма при синдроме пролабирувания митрального клапана. - Кардиология, 29, 1989, No. 7, 106-108.
2. Томов, Ил. Пропалс на митралната клапа. - В: Клинична кардиология. (Под ред. Ил. Томов). С., Мед. и физк., 1992, 569-582.
3. Томов, Ил. Пропалс на митралната клапа. - В: Ехографска диагностика на вътрешните болести. (Под ред. Ил. Томов и Н. Наумов). С., Мед. и физк., 1992, 258-264.
4. Arsari, A. Syndrome of mitral valve prolapse: current perspectives. - Prog. Cardiovasc. Dis., 32, 1989, No. 1, 31-72.
5. Gaze, P. C. Mitral valve prolapse. - In: Clinical Cardiology. Philadelphia, Lea and Febiger, 1990, 219-226.
6. Josephson, M. E., L. N. Horowitz et I. A. Kator. Paroxysmal supraventricular tachycardia in patients with mitral valve prolapse. - Circulation, 57, 1978, 111-115.
7. Perloff, I. K., C. S. Child et I. E. Edwards. New guidelines for the clinical diagnosis of mitral valve prolapse. - Am. J. Cardiol., 57, 1986, 1124.
8. Savage, D. D. et al. Mitral valve prolapse in general population. III. Dysrhythmia. The Framingham study. - Am. J. Cardiol., 36, 1975, 27-31.
9. Schwartz, M. H., L. E. Teicholz et E. Donoso. Mitral valve prolapse. A review of associated arrhythmias. - Am. J. Med., 62, 1977, 377-389.

Съвр. мед., XLVII, 1996, N 1 Постъпила - ноември 1993
Savr. med., XLVII, 1996, N 1 Received - November 1993

ЛЕЧЕНИЕ НА ИНФЕКТИРАНИ РАНИ С КОЛАГЕНАЗЕН ПРЕПАРАТ

Г. Байчев, Р. Пенкова¹, Р. Рашап² и Т. Делийски

Медицински университет - Плевен, Катедра по пропедевтика на хирургичните болести

¹Медицински университет - Плевен, Катедра по химия и биохимия

²BIOK, Vilnius, Lithuania

Резюме. Представен е опитът от приложението на *Streptomyces collagenase* за ензимно изчистване на инфектирани рани при 75 пациенти. Колагеназата е поставяна ежедневно на рани, покрити с фибрин и с наличие на обилен ексудат. При необходимост заедно с ензимния дебридман е извършвана и хирургична некректомия. Проследени са в динамика по предложена тристепенна скала следните параметри: раневи некрози, секрет и фибрин в раната, гранулации. Установено е изчистване на раните за срок от 5 до 8 дни. Резултатите показват по-бързо зарастване в сравнение с контролната група пациенти [$p(t) > 0.05$].

G. Baichev, R. Penkova, R. Rashap and D. Dellisky. TREATMENT OF SEPTIC WOUNDS WITH COLLAGENASE PREPARATION

Summary. The experience of the application of *Streptomyces collagenase* for enzymatic debridement of infected wounds in 75 patients is presented. The collagenase is applied daily on wounds covered with fibrin and having abundant exudate. Together with the enzymatic debridement a surgical necrectomy was carried out when necessary. In their dynamics the following parameters are traced out according to a proposed three-staged scale: wound necroses, exudation and fibrin in the wound, granulations. The cleaning of the wounds was found out to last from 5 to 8 days. The results reveal the quicker healing of the wounds in comparison with the control group [$p(t) > 0.05$].

Key words: wound infection; collagenases/therapeutic use; wound healing

Гнойните рани и тяхното лечение продължават да бъдат предизвикателство в хирургичната теория и практика [1, 2, 5]. Сред различните прилагани локални препарати важно място заемат средствата за ензимно изчистване. Най-популярните представители на тази група са трипсин, химотрипсин, колагеназа [2, 3]. В обичайната практика най-често използваният препарат е "Iruhol" (Knoll, Germany), представляващ Clostridopeptidase A с ензимна активност 6.0 UI в комбинация с хлорамфеникол.

Целта на проучването е да се изложи опитът ни от приложението на подобен препарат,

съдържащ ензим колагеназа, който е изолиран от *Streptomyces flavus* и притежава ензимна активност 50 UI (no Sigma). Препаратът е разработен съвместно с фирма BIOK - Vilnius, и МУ - Плевен. Колагеназа, изолирана от *Streptomyces flavus*, разгражда фибрилните колагени тип I, II, III, V, а също и нефибрилните тип IV и VI, като проявява значително по-голяма активност спрямо деструктуриращи форми и не притежава протеолитична активност. За разлика от клостридиалната колагеназа, тази колагеназа разгражда колагените до по-големи фрагменти [6]. Съществено значение има фактът,

62. Ivanov P, Gecheva S, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Konova E, Beshev L, Matkov O, Kamenova A. Recurrent vascular thrombosis on patient with genetic variant C677T of the methylentetrahydrofolate reductase gene. Clinical Application of Immunology, Vol.3, Number 3, Sept 2004: 420-423. **(SJR 0.120)**

Recurrent Vascular Thrombosis in Patient with Genetic Variant C677T of the Methylentetrahydrofolate Reductase Gene

Peter Ivanov¹, Svetla Gecheva⁵, Regina Komsa-Penkova¹, Katia Kovacheva²,
Emiliana Konova⁵, Lubomir Beshev⁴, Ognian Matkov⁴, Ani Kamenova¹

Department of Biochemistry, Medical University - Pleven, Bulgaria

Department of Medical Genetics, University Hospital - Plevan, Bulgaria.

*University Vascular Surgery Clinic, †Center of Clinical Immunology - Pleven, Bulgaria

Recent investigations have clearly demonstrated an association between carrier homozygosity status of genetic variant C677T in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and vascular disease [1-3]. The frequency of C677T homozygosity is increased in individuals with coronary artery disease (17%), arterial disease (19%), and venous thromboembolism (11%). The genetic variant C677T is also described in female with history of stillbirths, recurrent pregnancy losses and fetus with neural tube defects. The genetic variant of MTHFR enzyme is characterized by reduced enzyme activity more than 50%. Damaged function of MTHFR causes abnormalities in folate and homocysteine metabolism (fig. 1).

Homozygous status for genetic variant C677T in the MTHFR is reported in a 36-year-old female with recurrent artery thrombosis pregnancy complications and deep venous thrombosis.

The patient was hospitalized in emergency at Vascular Surgery department, University Hospital of Pleven. She was complaining of severe pain, formication and restricted mobility of the upper left limb fingers. The symptoms appeared six hours

Correspondence:
Regina Komsa-Penkova
Department of Biochemistry, Medical University
Pleven, Bulgaria
e-mail: rkomsa@el-sofi.com

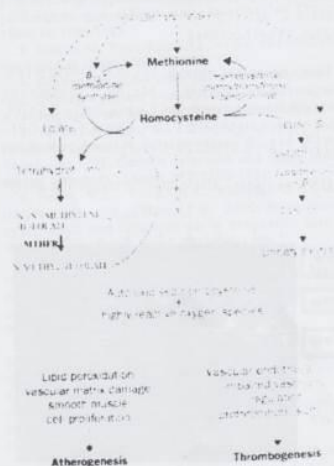


Fig. 1. Metabolism of methionine and homocysteine (Lancet Vol. 254).

before the hospitalization and got worse. Local status of the left hand: pale, cold, distally cyanosed, without palpable artery pulse. An emergency thrombectomy on the distal part of brachial artery was performed with Fogarty catheter. The patient received anticoagulant therapy with Low Molecular Weight Heparin and vasodilatation with

63. Иванов П, Ковачева К, Комса-Пенкова Р, Иванов Я, Павлов П, Ножаров В. Генетични фактори за тромбофилия при пациенти с белодробен тромбоемболизъм. Медицински преглед, vol. XLII- 2006, № 1, (78-83).

ГЕНЕТИЧНИ ФАКТОРИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С БЕЛОДРОБЕН ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ

П. Иванов¹, К. Ковачева², Р. Комса-Пенкова¹, Я. Иванов³, П. Павлов³ и В. Ножаров³

¹Сектор Биохимия, ²Сектор Медицинска генетика, Медицински университет – Плевен,

³Клиника по белодробни болести, УМБАЛ – Плевен

THROMBOPHILIC GENETIC FACTORS IN PATIENTS WITH PULMONARY EMBOLISM

P. Ivanov¹, K. Kovacheva², R. Komsa-Penkova¹, Y. Ivanov³, P. Pavlov³ and V. Nojarov³

¹Department of Biochemistry, ²Department of Medical Genetics, Medical University – Pleven

³University Lung Diseases Hospital – Pleven

Резюме:

Белодробният тромбоемболизъм (БТЕ) е състояние, започващо с периферна венозна тромбоза, последваща емболизация и ретромбоза в клоновете на белодробната артерия. Водеща роля в патогенезата му имат отклоненията в коагулационния статус, с повишена склонност към формиране на тромби (тромбофилия). Фактор V Leiden (FVL), мутация G20210A в протромбиновия ген, мутация C677T в гена на метилентетрахидрофолат редуктазата (MTHFR) и полиморфизмът PA1/PA2 в гена на тромбоцитния гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) са най-честите генетични фактори, водещи до предразположение към тромбози и тромбоемболични заболявания. Цел на проучването беше да се определят честотата на носителството на тези генетични фактори за тромбофилия сред пациенти с прояви на БТЕ и ролята им за по-ранното начало и по-често развитие на съдови инциденти. Чрез ДНК анализ бяха изследвани общо 32 пациенти с инциденти на БТЕ и 25 клинично здрави индивиди (контролна група). Общо при 18 (56%) от изследваните болни с БТЕ се доказа носителство на поне един от изследваните генетични дефекти в сравнение с 4 лица (16%) от контролната група ($p = 0.0005$). Най-честият генетичен дефект, открит в изследваната група, е FVL – с честота 25%, при честота в контролната група – 8% ($p = 0.04$). Носителство на поне един генетичен дефект беше установено при 65% от пациентите с рецидивираща форма на БТЕ и при 74% – с първи инцидент на БТЕ на възраст под 45 год. В тези групи особено висока, в сравнение с контролите, беше честотата на FVL и G20210A мутация в протромбиновия ген, което подчертава клиничната им значимост за тази патология. Изследването за носителство на генетични дефекти за тромбофилия позволява откриване на пациенти с по-висок риск за развитие на тромбози и изработване на индивидуален подход за терапия и профилактика на следващи съдови инциденти.

Ключови думи:

белодробен тромбоемболизъм, генетични фактори, предразположение, тромбофилия

Адрес за кореспонденция:

Д-р Петър Иванов, Сектор Биохимия, Медицински университет,
ул. "Г. Кочев" № 8А, 5800 Плевен

Summary:

Pulmonary embolism (PE) is a state started with deep venous thrombosis followed by embolisation and rethrombosis of pulmonary artery. The impairment of coagulation resulting in formation of thrombus (thrombophilic state) has an important role in pathogenesis of PE. Factor V Leiden (FVL), G20210A prothrombin gene mutation (PTM), genetic variant C677T in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and PA1/PA2 polymorphism in platelet Glycoprotein IIb/IIIa (PIA2) are more common genetic factors predisposing to thrombotic state. The aim of the study was to estimate frequency of thrombophilic genetic factors among patients with PE and contribution of these factors for recurrent development and onset of thrombotic incidences in carriers of the factors. Thirty two patients with PE and 25 healthy controls were tested with DNA analysis.

64. Иванов П, Комса-Пенкова Р, Иванов И, Божинова С, Стоянова А. Носителство на тромбофилични фактори сред жени с прееклампсия. . Акушерство и гинекология, 2007, vol 46, 8. (SJR 0.111)

2	Акушерство и гинекология - Брой 8, 2007	ISSN 0324-0959
СЪДЪРЖАНИЕ	CONTENTS	БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ BULGARIAN SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY
Иванов П., Комса-Пенкова Р., Иванов И., Божинова С., Стоянова А. - Носителство на тромбофилични фактори сред жени с прееклампсия	Ivanov P., Komasa-Penkova R., Ivanov I., Bojinova S., A. Stojanova, J. Popov - Inherited thrombophilic factor among women with preeclampsia	
Маркова Д., Баташки И., Мичев Н., Терзюманов Р., Гъргов А. - Индекс на телесна маса при бременни тийнейджъри	Markova D., Batashki I., Michev N., Terzumanov R., Garova A. - BMI at pregnant teenagers	
ОБЗОРИ	REVIEWS	
В. Велев, Илн. Велев - Ембрионални стволови клетки - получаване, охарактеризиране, приложение	V. Velez, Il. Velez - Embryonic stem cells - obtaining, characterizing, application	
К. Тодорова-Ананьева, К. Петкова, М. Стаменова - Белтъци на топлинен стрес (Hsp) и репродукция	K. Todorova-Ananieva, K. Petkova, M. Stamenova - Heat shock proteins and reproduction	
ЗА ПРАКТИКАТА	FOR THE PRACTICE	
Димитров А., А. Мъсева, Е. Шопова, В. Стойкова, Р. Русева, А. Николов - Инфекция с <i>Listeria monocytogenes</i> по време на бременност - съвременни аспекти	Dimitrov A., A. Masheva, E. Shopova, V. Stoykova, R. Ruseva, A. Nikolov - <i>Listeria monocytogenes</i> infection during pregnancy - contemporary aspects	
Стефан Иванов - Цитологичен скрининг - техниката на изследване на цитопоника и нейното влияние върху качеството на изследване	Stefan Ivanov - Cytological screening - the technique of Pap smear test and its influence on the quality of the method	
Я. Корновски, Генева П. - Хирургично лечение на карцином на маточната тръба с метастази по тазовия перитонеум, маточната шийка (septum rectovaginale) и colon transversum	Y. Konovski, Genev P. - Surgical management of tubal carcinoma with metastases in pelvic peritoneum, cervix uteri (septum rectovaginale) and colon transversum-case report	
П. Костова, В. Златков - Ваксини за предрак и рак на маточната шийка. II. Терапевтични HPV ваксини	P. Kostova, V. Zlatkov - Vaccines for precancer and cancer of uterine cervix. II. Therapeutic HPV vaccines	
Канаев С.В., Баранов С.В. - Клиничен опит с Tatum Rosa (Benzylamine hydrochloride) при профилактика и лечение на вагинити и проктити, предизвикани в следствие от лъчетерапия при пациентки с рак на вагината и пациентки с рак на матката	Kanasev S.V., Baranov S.B. - Clinical experience with Tatum rosa (Benzylamine hydrochloride) in prophylaxis and treatment of vaginitis and proctitis, following radiant therapy of cancer of the vagina and uterus	
Марков Д., Николов А., Бранков О., Димитров А., Диволов В., Иванов С.Т., Шишкова Р., Илчкова Н., Слънчева Б. - Вродена кистична аденоматозна малформация на белите дробове на плода - с принос на два случая	Markov D., Nikolov A., Brankov O., Dimitrov A., Divolov V., Ivanov S.T., Shishkova R., Ilchkova N., Sluncheva B. - Congenital cystic adenomatoid malformation of the lung-report of two cases	
КАЗУИСТИКА	CASE REPORTS	
Г. Козовски, М. Ангелова - Синдром на Morris с принос на един случай	G. Kozovski, M. Angelova - The Morris syndrome. Case report	

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

НОСИТЕЛСТВО НА ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ СРЕД ЖЕНИ С ПРЕЕКЛАМПСИЯ (предварително съобщение)

Иванов П.*, Комса-Пенкова Р.*, Иванов И.*, Божинова С.*, Стоянова А.*

* МУ - Плевен, Сектор Биохимия, Р-Л Катедра Катедра Химия и Биохимия & Физика и биофизика
Р-Л Катедра Дец. Ретина Комса-Пенкова
** МУ - Плевен, Катедра по Акушерство и гинекология, Р-Л Катедра - доц. Йордан Попов

Резюме. Целта на настоящото проучване бе да се определи значението на някои често срещани унаследени фактори водещи до тромбоза за отключването и развитието на умерена първична прееклампсия (ПЕ) при бременни жени. В тази връзка 25 жени с ПЕ и 49 контроли - жени без усложнения на бременността, бяха изследвани за носителство на мутация G1691A в гена на фактор V (FVL), полиморфизъм 4G/5G в гена на плазминоген-активатор инхибитор - 1 (PAI-1), мутацията C677T в гена на ензима метилентетрахидрофолат редуктаза (MTHFR) и полиморфизъм A1/A2 в гена на тромбозирен гликопротеин IIb/IIIa (GPIIb/IIIa A1/A2). Носителството на GPIIb/IIIa A1/A2 и генетичния вариант C677T в гена на MTHFR бяха намерено значително по-високо сред жените с ПЕ в сравнение с контролната група, съответно 32% и 12,2% с вероятното съотношение OR: 3.37 (95% CI: 0.883- 13.2), p< 0.05. Стойностите на OR и RR при жени носители на генетичния вариант C677T и/или GPIIb/IIIa A1/A2 ни позволяват да оценим риска като еволюиращ за развитие на ПЕ при носителство на тези генетични изменения. Носителството на FVL незначително превалява сред пациентите (8%) в сравнение с контролната група (6.1%), OR: 1.333 (95%CI 0.143 - 10.864). Подобни са и резултатите за полиморфизъм 4G/5G в гена на PAI-1 съответно 24% и 18.4% сред жените с прееклампсия в сравнение с контролната група (OR: 1.404, 95% CI 0.374-5.14). Получените резултати за изследваните мутации са неосигурителни (p> 0.05), което се дължи на малкия брой жени включени в проучването. За оценка на риска от развитие на ПЕ при носителство на тромбозирни фактори е необходимо провеждане на по-големи по обем проучвания, както и подбор на пациентите в зависимост от тежестта на клиничната картина.

Ключови думи: тромбозирни фактори: FVL, C677T в MTHFR, GPIIb/IIIa A1/A2, 4G/5G PAI-1, прееклампсия, риск.

65. Иванов П, Ковачева К, Комса-Пенкова Р, Конова Е, Симеонова М, Попов Й, Гечева С, Танчев С, М. Цафаров. Значение на генетичен вариант C677T MTHFR за ранни повтарящи се загуби на плода. Акушерство и гинекология, 2007, vol 46,4, 19-22. (SJR 0.111)

8 Акушерство и гинекология - Брой 4, 2007	Акушерство и гинекология - Брой 4, 2007 7
ЧЕСТОТА НА ПРЕЕКЛАМПСИЯ ПРИ БРЕМЕНИ ЖЕНИ С ТИП 1 ЗАХАРЕН ДИАБЕТ Тодорова К., Ст. Иванов, С. Захариева¹, И. Баташки² СБАЛАГ "Майчин дом" - София, Медицински директор – д-р. Н. Доганов, д-м Катедра по акушерство и гинекология, Ръководител – Проф. А. Димитров, д-м 1 - СБАЛГЕ "Акад. Ив. Пейчев" - София 2 - Изпълнителен директор УМБАЛ „Св. Георги“ - Пловдив Резюме: Преeklampсията (ПР), като уникално за човешката бременност усложнение се среща при жените с тип 1 захарен диабет (Т1ЗД) с непроменливо висока честота, достигаща до 39%. Предполага се, че хиперлипидемията и свързаната с нея ендотелната дисфункция е съдовата плацентална са водещите механизми за възникване на ПР. Цел: Да се проучи честотата на ПР на жени с Т1ЗД и се установи връзка с метаболитния контрол на диабета. Дизайн: Проспективно проучване върху 105 бременни жени с Т1ЗД с успешен изход на бременността, обхващащ периода 2002-2005 год. Проследени са препрандиална, постпрандиална глюкоза и апкоин хемоглобин (HbA1c) на жените с ПР в 12 а.с. и 36 а.с. и е извършена оценка на силата на действие на рисковите фактори. Резултати: Установената честота на ПР е 28.6%. Концентрация на HbA1c на жените с ПР през бременността е статистически по-висока (8.2±1.5 срещу 7.6±1.2; P=0.02). Оценката на рисковите фактори установи, че хиперлипидемията през бременността е достоверен маркер за предсказване на риска от възникване на ПР. Бързо нарастване на HbA1c с 1% се последва от увеличаване на риска за възникване на ПР с 1.43 (OR=1.43, е граници 1.11-1.72, 95% CI, P = 0.03). Хиперлипидемията през бременността, в съчетание с диабетна васкулопатия увеличава риска за ПР - OR=1.17, с точност на предсказване - 88.6% (P = 0.001). Заключение: Нормогликемичен контрол на диабета преди и през бременността би могъл да намали честотата на ПР. FREQUENCY OF PREECLAMPSIA IN PREGNANT WOMEN WITH TYPE1 DIABETES MELLITUS Todorova K., St. Ivanov, S. Zaharieva¹, I. Batashki² SHATOG "Maichin dom" - Sofia 1 - SHATEG" Ak. Iv. Peichev" - Sofia 2 - University Hospital "St. George" - Plovdiv Summary: Preeclampsia (PE) is a complication unique to human pregnancy. Up to 39% of pregnant women suffering from type 1 diabetes (T1DM) are affected. It is supposed that hyperglycemia, causing vascular endothelial dysfunction in placental vessels is the major mechanism, leading to PE. Objective: To study the incidence of PE in women with T1D and to study the correlation between development of PE and metabolic control of diabetes. Study design: 105 pregnant women with successful pregnancy outcome, suffering from T1D have been included in a prospective study during the period 2002-2005. Starving, postprandial blood glucose and HbA1c have been measured at 12 wks and at 36 wks of gestation. The influence of risk factors has been assessed. Results: The incidence of PE in the studied group is 28.6%. HbA1c in women developing PE is significantly higher (8.2±1.5 and 7.6±1.2, P=0.02 respectively). Hyperglycemia during pregnancy is a reliable predictor for development of PE. Elevation of HbA1c with 1% is associated with 1.43 times increased risk for PE (OR=1.43, 95%CI= 1.11-1.72, P = 0.03). Combination of hyperglycemia and diabetic vascular disease increases significantly the risk for PE- OR 1.17 with 88.6% predictive value (P = 0.001). Conclusions: Normoglycemic control of diabetes before and during pregnancy could reduce the incidence of PE.	ЗНАЧЕНИЕ НА ГЕНЕТИЧЕН ВАРИАНТ C677T MTHFR ЗА РАННИ ПОВТАРЯЩИ СЕ ЗАГУБИ НА ПЛОДА П. Иванов[*], К. Ковачева^{**}, Р. Комса-Пенкова[*], Е. Конова^{***}, М. Симеонова^{**}, Й. Попов^{****}, С. Гечева^{***}, С. Божинова^{****}, С. Танчев^{****}, М. Цафаров^{****} [*] Сектор Биохимия, Медицински университет Плевен, Р-та Катедра – Д-р. Регина Комса-Пенкова ^{**} Сектор Медицинска Генетика, Медицински университет Плевен ^{***} Център по Клинична Иммунология, УМБАЛ „Г. Страшки“, Плевен ^{****} Катедра по Акушерство и гинекология, Медицински университет Плевен Резюме: Целта на настоящото проучване е да установи съществува ли връзка между носителството на ТТ вариант на C677T едноклеотидна замяна в гена на ензима метилентетрахидрофолат редуктаза (MTHFR) и развитието на ранни спонтанни загуби на плода (PC3T) преди 10 гестационна седмица. В последно време се обсъжда идеята за значението на врождената тромбофилия като рисков фактор за развитието на ранни спонтанни загуби на плода (PC3T). Ние изследваме носителството на C677T едноклеотидна замяна в MTHFR сред 54 жени с PC3T преди 10 гестационна седмица и 67 жени без репродуктивни трудности. Беше установено статистически по-високо носителство на C677T генетичен вариант в сред жените с PC3T в сравнение с контроли (p=0.005). Въпреки че се необходими по-големи проспективни проучвания, установеният висок процент на носителство на C677T генетичен вариант, определя значение му за развитието на спонтанни загуби на плода в много ранна бременност. Ключови думи: тромбофилия, C677T генетичен вариант в MTHFR, ранни спонтанни загуби на плода GENETIC VARIANT C677T IN THE MTHFR IN WOMEN WITH RECURRENT EARLY FETAL LOSS Ivanov P., Kovacheva K., Komsa-Penkova R., Konova E., Simeonova M., Popov J., Gacheva S., Bojinova S., Tanchev S., M. Zafarov [*] Department of Biochemistry, University of Medicine Pleven ^{**} Department of Medical Genetics, University of Medicine Pleven ^{***} Center of Clinical Immunology, University hospital Pleven ^{****} Department of Obstetric and Gynecology, University hospital Pleven Resume: The aim of this study was to evaluate correlation of carrier status for thrombophilic gene mutation - C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and recurrent early pregnancy loss. Recently inherited thrombophilia was discussed as a predisposed factor for early recurrent fetal loss (ERFL). We investigated carrier status for C677T genetic variant in 54 women with ERFL before 10 week of gestation and 67 women with one or more successful pregnancy. It was found significant prevalence of C677T genetic variant in MTHFR in women with ERFL compared with controls (p=0.005). The significant high prevalence of C677T genetic variant in women with ERFL suggests that thrombophilia have an increased risk of early pregnancy loss and possibly, although the definition of the magnitude of risk will require prospective longitudinal studies. Key words: Thrombophilia, C677T genetic variant in MTHFR, early recurrent fetal loss

66. П. Иванов, Р. Комса-Пенкова, К. Ковачева, Е. Конова, К. Тодорова, М. Симеонова, Ив. Иванов, С. Стойков, Й. Попов, С. Танчев, Св. Божинова. Значение на носителство на генетични **дефекти** предразполагащи към тромбофилия за неуспешна асистирана репродукция. Акушерство и гинекология, vol 46, 2007, 6, 3-8. (SJR 0.111)

2	Акушерство и гинекология - Брой 6, 2007	ISSN 0324-0959
СЪДЪРЖАНИЕ	CONTENTS	БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ BULGARIAN SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY
Иванов П., Комса-Пенкова Р., Ковачева К., Конова Е., Тодорова К., Симеонова М., Иванов И., Стойков С., Попов Й., Танчев Ст., Божинова Св. - Значението на носителството на генетични фактори предразполагащи към тромбофилия за неуспешна асистирана репродукция	Ivanov P., Komsa-Penkova R., Kovacheva K., Konova E., Todorova K., Simeonova M., Ivanov I., Stojkov S., Popov J., Tanchev St., Bozhinova Sv. - Impact of thrombophilic genetic factors for development of unsuccessful assisted reproduction	АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
З. Калвачев, П. Драганов, П. Минков, И. Иванов, Д. Димкова, С. Шиликов - HPV и спонтанни аборт: резултати от вирусологично проучване	Z. Kalvachev, P. Draganov, L. Minkov, I. Ivanov, D. Dimova, S. Shishkov - HPV and spontaneous abortion: results from a virological study	ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ
С. Иванов, Н. Хаджилков, И. Баташки - Хирургично лечение при предрака и рака на ендометриума	S. Ivanov, N. Hadjilov, I. Batashki - Surgical treatment of Precancer and cancer of endometrium	ЗНАЧЕНИЕТО НА НОСИТЕЛСТВО НА ГЕНЕТИЧНИ ФАКТОРИ ПРЕДРАЗПОЛАГАЩИ КЪМ ТРОМБОФИЛИЯ ЗА НЕУСПЕШНА АСИСТИРАНА РЕПРОДУКЦИЯ
ОБЗОРИ	REVIEWS	Иванов П., Комса - Пенкова Р., Ковачева К., Конова Е., Тодорова К., Симеонова М., Иванов И., Стойков С., Попов Й., Танчев Ст., Божинова С.
Ан. Дуковски, Д. Георгиев - Хемодинамична оценка на ранната бременност - интервилозна циркуляция, литературен обзор - част първа	An. Dukovsky, D. Georgiev - Hemodynamic evaluation in early pregnancy - intervillous circulation, review - part one	* МУ - Плевен, Сектор Биохимия, Катедра Катедра Химия и Биохимия & Физика и биофизика Р-л катедра - доц. Регина Комса-Пенкова ** МУ - Плевен, Сектор Медицинска Генетика *** Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Страшки“, Плевен **** МУ - Плевен, Катедра по Акушерство и гинекология, Р-л катедра - доц. Йордан Попов ***** СБАЛАГ „Майчин дом“, МУ - София
С. Делмирева, Ил. Ватев - Причини за ранната загуба на човешки ембриони - приносът на изследваната възраст ембриони, получени in vitro	S. Delimireva, I. Vatev - Causes for early embryonic loss in human - the contribution of investigations of in vitro derived embryos	РЕЗЮМЕ. Целта на настоящото проучване е да се оцени значението на най-често срещаните унаследени генетични фактори предразполагащи към тромбофилия за развитие на повтарящи се неуспешни асистиран репродукции (ART) - in vitro фертилизация (IVF) и интрацитоплазматична сперматична инжекция (ICSI). Шестдесет и седем жени с неуспешни ART и 96 контроли - жени без репродуктивни трудности бяха изследвани за носителство на Фактор V Leiden (FVL), мутация G20210A в гена на протромбин (PTM), C677T еднонуклеотидна замяна в гена на метилентетрахидрофолат редуктаза MTHFR и на полиморфизъм A1/A2 в гена на тромбозен гликопротеин IIb/IIIa (GPIIb/IIIa A1/A2). Изследването на полиморфизъм A1/A2 в гена на тромбозен гликопротеин IIb/IIIa показа значително по-висок процент, при жени с неуспешна асистирана репродукция 26,1%, сравнено с контролната група 12,5% (OR: 2.571, 95% CI: 1.066-6.258, p=0.033). Носителството на G20210A мутация в гена на протромбин бе също така високо, но не достатъчно различно при пациентите, в сравнение с контроли (съответно 5,9% и 3,13%, OR: 1.968, 95% CI 0.356-11.539). Носителството на фактор FVL бе много по-високо при контролната група жени без репродуктивни трудности. Носителството на генетичния вариант C677T в гена на MTHFR бе практически еднакво при жени с неуспешна ART и контроли. Предполагаме че носителство на полиморфизъм A1/A2 и G20210A мутация може да повиши риска от неуспешна ART. Това предполага тестването на жени с предпоставя ART за носителство на полиморфизма A1/A2 и GPIIb/IIIa и мутация G20210A в гена на
ЗА ПРАКТИКАТА	FOR THE PRACTICE	
П. Костова - «Цена-ефективност» на цервикалния скрининг	P. Kostova - «Cost-effectiveness» of cervical screening	
Трифонов, И. - Грп и бременност	Trifonov, I. - Influenza and Pregnancy	
КАЗУИСТИКА	CASE REPORTS	
Марков Д., Ковачева Р., Иванов Ст. - Случай на АДАМ комплекс в 16 гестационна седмица	Markov D., Kovacheva R., Ivanov St. - ADAM complex at 16 weeks of gestation - a case report	
А. Валкова, К. Ковачева, Р. Росманова, М. Симеонова - Пенталогия на Cantrell - клиничен случай	A. Valkova, K. Kovacheva, R. Rosmanova, M. Simeonova - Pentology of Cantrell - a case report	
А. Налбански, М. Паневска, Б. Налбански - Struma ovarii при 14-годишно момиче	A. Nalbanski, M. Panevska, B. Nalbanski - Struma ovarii	

67. Ivanov P., Komsa-Penkova, R., Ivanov I., Bozhinova S., Stoianova A. Carriers of thrombophilic factor among women with preeclampsia (preliminary report). Akush Ginekol (Sofia). 2007;46(8):3-8.4. (SJR 0.111)

6

PubMed

Display Settings: Abstract

Performing your original search, *carriers of thrombophilic factor among with preeclampsia*, in PubMed will retrieve [15 records](#).

[Akush Ginekol \(Sofia\). 2007;46\(8\):3-8.](#)

[Carriers of thrombophilic factor among women with preeclampsia (preliminary report)].

[Article in Bulgarian]

[Ivanov P.](#), [Komsa-Penkova R.](#), [Ivanov I.](#), [Bozhinova S.](#), [Stoianova A.](#)

Department of Biochemistry, University of Medicine Pleven.

Abstract

The aim of this study was to determine whether inherited thrombophilia increases the risk of mild preeclampsia. Twenty five women who developed mild preeclampsia and 49 controls--women with previous uneventful pregnancies, were tested for factor V Leiden, C677T gene variant of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), polymorphism 4G/5G in plasminogen activator inhibitor 1 (PAI 1), polymorphism A1/A2 in platelet glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa A1/A2). The higher but not significant prevalence of C677T gene variant and polymorphism A1/A2 in women with preeclampsia compared with controls was found: 32% and 12.2%, respectively for cases and controls for both factors, with OR: 3.37 (95% CI 0.883-13.2), $p > 0.05$. The values of OR and RR for these two thrombophilic factors show that platelet integrin polymorphisms (GPIIb/IIIa A1/A2) and C677T gene variant might be have an important role for development of preeclampsia. The carriage of FVL was with a very small prevalence in women with preeclampsia (8%) as compared to controls (6.1%), with OR: 1.333 (CI 95% 0.143-10.864), $p > 0.05$. The similar results were found for carriage of polymorphism 4G/5G in PAI-1: gene, respectively 24% u 18.4% in women with preeclampsia as compared to controls, OR: 1.404 (95% CI 0.374-5.14), $p > 0.05$. The results are not significant, because of the small group of selected patients. Larger case-control study should be executed for the evaluation of impact of inherited thrombophilic factors in the development of mild preeclampsia.

PMID: 18646302 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Publication Types, MeSH Terms, Substances

LinkOut - more resources

68. К. Ковачева, А. Антонов, П. Иванов, Н. Цветков, Р. Комса-Пенкова, В.Славчева, Л. Богданов, И. Христов, А. Каменова, И. Иванов. Генетични дефекти за тромбофилия и риск за тромботични усложнения при пациенти с Есенциална тромбocyтeмия и Полицитемия вера. I част – Честота на генетични дефекти за тромбофилия при пациенти с Есенциална тромбocyтeмия и Полицитемия вера. Клинична и трансфузионна хематология, 2007, vol. XLIII, №1-2, (87-91)

ГЕНЕТИЧНИ ДЕФЕКТИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ И РИСК ОТ ТРОМБОТИЧНИ
УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ЕСЕНЦИАЛНА
ТРОМБОЦИТЕМИЯ И ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА.

I ЧАСТ. ЧЕСТОТА НА ГЕНЕТИЧНИТЕ ДЕФЕКТИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ
ПРИ ПАЦИЕНТИ С ЕСЕНЦИАЛНА ТРОМБОЦИТЕМИЯ И ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА

К. Ковачева¹, А. Антонов², П. Иванов³, Н. Цветков², Р. Комса-Пенкова², В. Славчева²,
Л. Богданов², И. Христов², А. Каменова² и И. Иванов³

¹Секция „Медицинска генетика“, ²Клиника по хематология, ³Секция „Биохимия“
УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, Медицински университет – Плевен

GENETIC THROMBOPHILIC DEFECTS AND RISK OF THROMBOTIC COMPLICATIONS
IN PATIENTS WITH ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA AND POLYCYTHEMIA VERA.

PART I. PREVALENCE OF GENETIC THROMBOPHILIC DEFECTS IN PATIENTS
WITH ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA AND POLYCYTHEMIA VERA

К. Kovacheva¹, A. Antonov², P. Ivanov³, N. Tsvetkov², R. Komsa-Penkova², V. Slavcheva²,
L. Bogdanov², I. Hristov², A. Kamenova² and I. Ivanov³

¹Section of Medical Genetics, ²Clinic of Hematology, ³Section of Biochemistry
University Hospital, MU – Pleven

Резюме. Тромбозите са едни от най-сериозните усложнения в клиничното протичане на есенциалната тромбocyтeмия (ЕТ) и полицитемия вера (ПВ). С цел да оценим значението на наследствената тромбocyтeмия (НТ) за повишаване на риска от тромбози проспективно проучихме честотата на носителство на генетични дефекти при 20 пациенти с ЕТ и 22-ма – с ПВ. Честотата на отделните маркери в изследваната група (42-ма пациенти) и при контролите (112-ма здрави индивиди) беше: за фактор V Leiden – 4.8 и 6.2%, за мутация в протромбиновия ген – PR G20210A – 9.5 и 2.7%, мутация в гена на ензима метилентетрахидрофолат редуктаза – MTHFR C677T – 19% и 11.6%, и полиморфизъм – алел PIA2 в гена на тромбocyтния гликопротеинов рецептор IIb/IIIa – PIA2/GPIIb – 28.6 и 13.4%. PR показа особено висока честота както в подгрупата на пациенти с ЕТ (20%; $p = 0.009$; OR – 9.08), така и при тези от тях, които са с тромботични прояви (ТП) (18.2%; OR – 8.0), в сравнение с контролите (2.68%). Мутация MTHFR C677T беше установена при 25% от болните с ТП, като демонстрира асоциация с тромбози главно когато е в комбинация с PIA2/GPIIb. Най-висока степен на асоциация с ТП показва PIA2/GPIIb както в общата изследвана група (41.7%; $p = 0.004$; OR – 4.62), така и в частност особено за ПВ (46.2%; $p = 0.01$; OR – 5.54). Двойното носителство се срещаше с по-висока честота сред пациенти с ТП (15.3%; OR – 5.0 за ПВ; 27.3%; OR – 8.0 за ЕТ), в сравнение с контролите (4.5%). Данните като цяло показаха, че НТ се асоциира с тромбози ($p = 0.004$, OR – 4.17), честотата като носителството на поне един генетичен дефект беше 62.5% сред пациенти с ТП, в сравнение с 29.57% при контролите.

Ключови думи: наследствена тромбocyтeмия, генетични дефекти за тромбocyтeмия, тромбози, есенциална тромбocyтeмия, полицитемия вера

Summary. Thromboses (T) are the most serious complications in clinical course of essential thrombocythemia (ET) and polycythemia vera (PV). To evaluate the role of inherited thrombophilia (IT) in determining the risk of thrombotic complications, we investigated the prevalence of genetic thrombophilic defects in a prospective study of 20 patients with ET and 22 patients with PV. The prevalence of examined markers in study group (42 patients) compared with controls (112 healthy individuals) was: for factor V Leiden – 4.8 and 6.2%, for prothrombin (PR) G20210A – 9.5 and 2.7%, for MTHFR C677T – 19 and 11.6% and for PIA2/GPIIb – 28.6 and 13.4%. The mutation PR G20210A presented a higher prevalence in patients with ET (20%; $p = 0.009$; OR – 9.08) as well as in patients of ET who had T (18.2%; OR – 8.0), compared with controls (2.68%). The mutation MTHFR C677T

69. А. Антонов, К. Ковачева, П. Иванов, Н. Цветков, Р. Комса-Пенкова, В.Славчева, Л. Богданов, И. Христов, А. Каменова, И. Иванов. Генетични дефекти за тромбофилия и риск за тромботични усложнения при пациенти с Есенциална тромбоцитемия и Полицитемия вера. II част – Принос на генетичните дефекти за тромбофилия върху риска за тромботични усложнения. Клинична и трансфузионна хематология, 2007, XLIII, №1-2, 92-97.

ГЕНЕТИЧНИ ДЕФЕКТИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ И РИСК
ОТ ТРОМБОТИЧНИ УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ЕСЕНЦИАЛНА
ТРОМБОЦИТЕМИЯ И ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА
II ЧАСТ. ПРИНОС НА ГЕНЕТИЧНИТЕ ДЕФЕКТИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ КЪМ РИСКА
ОТ ТРОМБОТИЧНИ УСЛОЖНЕНИЯ

А. Антонов¹, К. Ковачева², П. Иванов³, Н. Цветков¹, Р. Комса-Пенкова³, В. Славчева¹,
Л. Богданов¹, И. Христов¹, А. Каменова³ и И. Иванов³

¹Клиника по хематология, ²Секция „Медицинска генетика“, ³Секция „Биохимия“

УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, Медицински университет – Плевен

GENETIC THROMBOPHILIC DEFECTS AND RISK OF THROMBOTIC
COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA
AND POLYCYTHEMIA VERA

PART II. CONTRIBUTION OF THE GENETIC THROMBOPHILIC DEFECTS
TO THE THROMBOTIC RISK

A. Antonov¹, K. Kovacheva², P. Ivanov³, N. Tsvetkov¹, R. Komsa-Penkova³, V. Slavcheva¹,
L. Bogdanov¹, I. Hristov¹, A. Kamenova³ and I. Ivanov³

¹Clinic of Hematology, ²Section of Medical Genetics, ³Section of Biochemistry

University Hospital, MU – Pleven

Резюме. Тромбозите са едни от най-сериозните усложнения в клиничното протичане на есенциалната тромбоцитемия (ЕТ) и полицитемия вера (ПВ). За да оценим значението на наследствената тромбофилия (НТ) за повишаване на тромботичния риск, проспективно изследвахме честотата на носителство на генетични дефекти при 42-ма пациенти с ЕТ и ПВ и различни клинични прояви и усложнения. Изследваните генетични маркери бяха: фактор V Leiden, мутация в протромбиновия ген – PR G20210A, мутация в гена на ензима метилентетрахидрофолат редуктаза – MTHFR C677T, и полиморфизъм – алел PIA2 в гена на тромбоцитния гликопротеинов рецептор IIb/IIIa – PIA2/GPIIa. PR показва висока честота сред пациенти с ЕТ (20%), от тях 50% имаха тромботични прояви (ТП). Мутацията MTHFR C677T демонстрира асоциация с тромбози главно в комбинация с PIA2/GPIIa. Честотата на ТП сред носителите на MTHFR C677T е 75%, в сравнение с 41% при неносителите (OR – 4.33). Носителството на PIA2/GPIIa е 6 пъти по-често при пациентите с ТП, в сравнение с асимптомни (p – 0.06, OR – 5.71). Като цяло то е свързано със 7 пъти по-висок риск от тромбози (p – 0.04; OR – 7.22), особено изразен при ПВ (OR – 8.40). Двойното носителство се среща с по-висока честота сред пациентите с ТП (20.8%, OR – 4.47), отколкото при асимптомните пациенти (5.6%) и е свързано с до 7 пъти по-висок риск от развитие на тромбози (83% от тях имат ТП срещу 41% при пациентите неносител на дефекти; OR – 7.22), особено при ЕТ. Данните като цяло показаха, че НТ се асоциира с тромбози (p – 0.004 OR – 4.17), като наличието на поне един генетичен дефект е свързано с около 4 пъти по-висок риск от тромбози при пациенти носители (75%, p – 0.05, OR – 4.33), в сравнение с неносителите (41%).

Ключови думи: наследствена тромбофилия, генетични дефекти за тромбофилия, тромбози, есенциална тромбоцитемия, полицитемия вера

Summary. Thromboses are the most serious complications in clinical course of essential thrombocythemia (ET) and polycythemia vera (PV). To evaluate the contribution of inherited thrombophilia (IT) to the thrombotic risk, we investigated the prevalence of genetic thrombophilic defects in a prospective study of 42 patients with ET and PV with different clinical complications. The examined genetic markers were: factor V Leiden, prothrombin (PR) G20210A, MTHFR C677T and PIA2/GPIIa. The mutation PR G20210A presented a higher prevalence in

70. К. Ковачева, П. Иванов, Е. Конова, М. Симеонова, Р. Комса-Пенкова .Генетични дефекти за тромбофилия (ФакторV Leiden, протромбин G20210A, MTHFR C677T) при жени с повтарящи се загуби на плода. Акушерство и гинекология, 2007, vol 46, 7, (10-16). (SJR 0.111)

In 36 cases the presence of nuchal cord(s) was suspected. Nuchal cords were classified as with one, two or three loops. The outcome of labor and delivery was obtained from hospital records. Results: The sensitivity of ultrasound for the presence of single-loop nuchal cord was 68.1%, while the specificity, positive and negative predictive value was 77.2%, 53.5% and 86.3%, respectively. Conclusions: The sensitivity and specificity of transabdominal ultrasound in diagnosing single-loop nuchal cord between 37 and 42 w.g. is relatively high. However, the detection rate for multiple loops of nuchal cord is even higher. Single-loop nuchal cords are not associated with increased risk of Cesarean section or vaginal instrumental delivery.

Key words: nuchal cord, ultrasound diagnosis

ГЕНЕТИЧНИ ДЕФЕКТИ ЗА ТРОМБОФИЛИЯ (ФАКТОР V LEIDEN, ПРОТРОМБИН G20210A, MTHFR C677T) ПРИ ЖЕНИ С ПОВТАРЯЩИ СЕ ЗАГУБИ НА ПЛОДА

К. Ковачева¹, П. Иванов², Е. Конова³, М. Симеонова³, Р. Комса-Пенкова²

1 - Сектор Медицинска генетика

2 - Сектор Биохимия

3 - Сектор Иммунология

УМБАЛ-Плевен, Изпълнителен директор - доц. В. Тодоров, д. м.

МУ-Плевен, Ректор-проф. Г. Горчев, д. м.

Резюме: Майчината тромбофилия (наследствената и придобитата) е най-честият предразполагащ фактор за тромбемболизъм по време на бременността, като тя може да съдейства за неблагоприятен изход на бременността и повтарящи се загуби на плода (ПЗП). За да определим асоциацията между наследствена тромбофилия и ПЗП, бяха изследвани три генетични дефекта за тромбофилия (Фактор V Leiden, протромбин G20210A, MTHFR C677T). Честотата на тромбофиличните маркери беше изследвана в 156 жени с история за загуби на плода (ЗП) в различен триместър на бременността и в контролна група от 80 фертилни жени. Носителство на поне един от генетичните дефекти беше установено в 28.2% от жените от общата група, сравнена с 16.2% в контролите ($p=0.002$; OR-9.0) и в 50% от жените със ЗП в III триместър ($p=0.008$; OR-5.15). Фактор V Leiden беше по-чест в групата на жените със ЗП в III триместър (37.5%), в сравнение с контролите (6.2%) ($p=0.002$; OR-9.0). Носителството на FVL асоциира със значително повишен риск за ЗП във II и III триместър (OR-6.25, $P<0.001$) и значителна защита по отношение на I триместър (OR-0.16, $P<0.001$). Мутацията - протромбин G20210A или MTHFR C677T бяха по-чести в групата на жени със ЗП в I триместър, в сравнение с контролите (съответно 28.3% и 11.2%, $p=0.009$; OR-3.11). Носителство за всеки един от тези маркери е свързано с незначително покачване на риска за ЗП предимно в I - и II триместър (OR-2.5). Генетичните дефекти за тромбофилия са чести сред жени с ПЗП, като показват асоциация с късни ЗП. Асоциацията е изразена предимно по отношение на FVL.

Ключови думи: наследствена тромбофилия, повтарящи се загуби на плода, Фактор V Leiden

GENETIC THROMBOPHILIC DEFECTS (FACTOR V LEIDEN, PROTHROMBIN G20210A, MTHFR C677T) IN WOMEN WITH RECURRENT FETAL LOSS

K. Kovacheva¹, P. Ivanov², E. Konova³, M. Simeonova³, R. Komsa-Penkova²

1 - Section of Medical Genetic, 2 - Section of Biochemistry, 3 - Section of Immunology

University Hospital, MU - Plevan

Summary: Maternal thrombophilia (inherited and acquired) has recently been identified as a major cause of thrombembolism, but it may also contribute to adverse pregnancy outcomes and recurrent pregnancy loss. To determine the association of specific inherited thrombophilias and recurrent fetal loss (RFL), three gene mutations (Factor V Leiden, prothrombin G20210A, MTHFR C677T) were investigated. The prevalence of the thrombophilic markers was compared in 156 women with history of fetal loss in different trimester of pregnancy and 80 matched controls. At least one thrombophilic defect was found in 28.2% of total study group women compared with 16.2% in controls ($p=0.006$; OR-2.02) and in 50% of women with RFL in third trimester ($p=0.008$; OR-5.15). Factor V Leiden was more common in the group of women with fetal loss in third trimester (37.5%) compared to the controls (6.2%) ($p=0.002$; OR-9.0). Presence of FVL was associated with a significant increased risk for RFL in second and third trimester (OR-6.25, $P<0.001$) and significant protection for RFL in first trimester (OR-0.16, $P<0.001$). Mutation prothrombin G20210A or MTHFR C677T was more common in group of women with fetal loss in first trimester compared to the controls (28.3% vs. 11.2% respectively, $p=0.009$; OR-3.11). The presence of either of these mutations was associated with no significant increased risk for RFL in first trimester (OR-2.5). Genetic thrombophilic defects are common in women with RFL and are associated with late fetal loss. This association is manifest by FVL, rather than total number of defects involved.

Key words: inherited thrombophilia, recurrent fetal loss, Factor V Leiden

71. Ivanov P., Y.Ivanov, R. Komsa-Penkova, I. Ivanov, O.Matkov, L.Beshev. A2 polymorphism in platelet glycoprotein IIb / IIIa in patients with deep venous thrombosis. Modern Medicine, vol 4 / 2008, (29-34)

ПОЛИМОРФИЗЪМ А2 В ТРОМБОЦИТЕН ГЛИКОПРОТЕИН IIb/IIIa ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДЪЛБОКИ...

ПОЛИМОРФИЗЪМ А2 В ТРОМБОЦИТЕН ГЛИКОПРОТЕИН IIb/IIIa ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДЪЛБОКИ ВЕНОЗНИ ТРОМБОЗИ

П. Д. Иванов¹, Я. И. Иванов², Р. С. Комса-Пенкова¹, Ив. Д. Иванов¹, О. К. Матков³, Л. Цв. Бешев³
¹ Сектор по биохимия, ² Клиника по белодробни болести, ³ Клиника по съдова хирургия – УМБАЛ,
Медицински университет – Плевен

Резюме:

Целта на настоящото проучване бе да се изследва значението на носителството на полиморфизъм А2 (PLA2) в тромбоцитния гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) за развитието на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и приноса на PLA2 за клиничната проява в комбинация с други тромбофилични фактори.

Седемдесет и четири пациенти с ДВТ и 80 здрави индивиди бяха изследвани за носителство на PLA2 в GP IIb/IIIa и тромбофиличните фактори фактор V Leiden (FVL) и G20210A мутация в протромбиновия ген (FII G20210A).

Установена е сигнификантна разлика в носителството на PLA2 при пациенти с ДВТ в сравнение със здрави индивиди съответно 40 и 16,3% (OR: 3,514; 95% CI 1,557- 8,022, p=0,002). Носителството на PLA2 в комбинация с други тромбофилични фактори FVL или FII G20210A значително увеличава честота на ДВТ и сигнификантно намалява възрастта на проява на първия инцидент. При носители на PLA2 в комбинация с FVL или G20210A със статистически достоверна разлика (p=0,039) се установи, че първият инцидент преди 45-годишна възраст настъпва по-често в сравнение с пациенти, носители само на FVL или FII G20210A. Средната възраст на изява на първия инцидент на ДВТ при пациентите, носители само на FVL или FII G20210A, беше 47,2 г., докато при тези с комбинирано носителство на PLA2 с FVL или FII G20210A беше сигнификантно по-ниска – 36,4 години.

В това изследване е установена значима връзка между носителството на PLA2 и риска от развитието на ДВТ, а също така повишен риск от развитие на ДВТ в млада възраст при носителството на PLA2 в комбинация с други тромбофилични фактори. Рутинното изследване за носителството на PLA2 би прецизирало риска от повторен инцидент на ДВТ и спомага за определяне на последваща профилактика на венозната тромбоза.

Ключови думи:

Полиморфизъм А2, тромбоцити, гликопротеин IIb/IIIa, дълбока венозна тромбоза, млада възраст

POLYMORPHISM A2 IN PLATELET GLYCOPROTEIN IIb/IIIa IN PATIENTS WITH DEEP
VENOUS THROMBOSIS

Р. Д. Иванов¹, Я. И. Иванов², Р. С. Комса-Пенкова¹, И. Д. Иванов¹, О. К. Матков³, Л. Ц. Бешев³
¹ Department of Biochemistry, ² Department of Lung Diseases, ³ Vascular Surgery Unit, University Hospital,
University of Medicine – Pleven

Summary:

The aim of this study was to assess the role of polymorphism A2 (PLA2) in platelet glycoprotein IIb/IIIa in the development of deep venous thrombosis and the contribution of this polymorphism to disease clinical manifestation, while in combination with other thrombophilic factors.

Seventy four patients with DVT and 80 healthy control subjects were tested for PLA2 factor V Leiden (FVL) and G20210A prothrombin gene mutation (FII G20210A).

72. П. Иванов, Р. Комса- Пенкова, К. Ковачева, Е. Конова, М. Симеонова, Влияние на носителството на фактор V LEIDEN за развитието на репродуктивни несполуки в различни периоди на бременността; Медицински преглед, vol. XLIV, 2008, №1, 68-72.

ВЛИЯНИЕ НА НОСИТЕЛСТВОТО НА ФАКТОР V LEIDEN ЗА РАЗВИТИЕТО НА РЕПРОДУКТИВНИ НЕСПОЛУКИ В РАЗЛИЧНИ ПЕРИОДИ НА БРЕМЕННОСТТА

П. Иванов¹, Р. Комса-Пенкова¹, К. Ковачева², Е. Конова³, Ив. Иванов¹, М. Симеонова², К. Тодорова⁵,
Св. Гечева², Св. Стойков⁴, Й. Попов⁴ и Ст. Танчев⁴

¹Сектор по биохимия, МУ – Плевен,

²Сектор по медицинска генетика, МУ – Плевен

³Център по клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“ – Плевен

⁴Катедра по акушерство и гинекология, МУ – Плевен,

⁵СБАЛАГ „Майчин дом“, МУ – София

DIVERGENT IMPACT OF FACTOR V LEIDEN ON DEVELOPMENT OF EARLY AND LATE FETAL LOSS

P. Ivanov¹, R. Komsa-Penkova¹, K. Kovacheva², E. Konova³, I. Ivanov¹, K. Todorova⁵, M. Simeonova²,
Sv. Gecheva², Sv. Stoykov⁴, Y. Popov⁴ and St. Tanchev⁴

¹Department of Biochemistry, Medical University – Pleven

²Department of Medical Genetics, Medical University – Pleven

³Center of Clinical Immunology, University Hospital – Pleven

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University – Pleven

⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University – Sofia

Резюме:

Целта на представеното изследване бе да се проучи връзката между носителството на фактор V Leiden (FVL) и развитието на повтарящи се ранни спонтанни загуби на плода (спонтанни аборт) и късни загуби на плода (мъртво раждане), като се проследи влиянието на мутацията за развитието на репродуктивни неуспехи в отделните срокове на бременността, в зависимост от стадия на развитие на плацентата. За носителство на FVL бяха изследвани жени със спонтанни аборт (СПА) до 10-а гестационна седмица (г.с.), със СПА между 11-а и 14-ата г.с. – период на развитие на плацентата, и жени с мъртви раждания и СПА след 14-а г.с., съотв. 71, 50 и 39 жени с репродуктивни неуспехи, както и 80 жени без репродуктивни неуспехи. Не се установи значимо по-голямо носителство на мутацията сред жени със СПА в много ранна бременност (преди 10-а г.с.). (8,4% и 6,3%, съотв. за пациентите и контролната група OR: 1.385; 95% CI : 0.353-5.539). FVL преобладаваше сигнификантно сред жени със СПА между 10-а и 14-а г.с., както и със СПА и мъртви раждания след 14-ата г.с., като FVL беше с по-голяма честота при жени с репродуктивни неуспехи след 14-ата г.с. (съотв. 20%, OR: 3.750; 95% CI: 1.078-13.671, $p = 0.035$, и 25,6%, OR: 5.172; 95% CI: 1.455-19.276, $p = 0.007$). Свободният протеин S – антикоагулант, участващ в инактивирането на фактор V, чиито плазмени нива намаляват през втория и третия триместър на бременността, може да обясни високия риск от развитието на късни повтарящи се спонтанни загуби на плода при носители на мутацията FVL. Установяването на високо носителство на FVL при жени с късна загуба на плода предполага рутинно тестване за носителство на мутацията при подобна патология, както и обсъждането на профилактична антикоагулантна терапия през следваща бременност.

Ключови думи:

спонтанни аборт, мъртво раждане, фактор V Leiden, риск

Адрес за кореспонденция:

Д-р Петър Иванов, Сектор по биохимия, Медицински университет,
ул. „Св. Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, e-mail: mlivanov@gmail.com

Summary:

The aim of this study was to evaluate the impact of inherited thrombophilic mutation Factor V Leiden (FVL) on development of early and late fetal loss (recurrent spontaneous abortions and stillbirths) depending on growing stage of placenta. We investigated 71 women with very early pregnancy loss before 10th week of gestation (w.g.), 50 women with spontaneous abortion from 10th to 14th w.g., 39

73. Иванов П., Стоянова А., Комса – Пенкова Р., Бешев И., Матков О., Иванов Ив.
Значение на повишените плазмени нива на хомоцистеин за развитието на дълбоки венозни
тромбози. Флебология и ангиология, кн.2/2008 ,66-71

ЗНАЧЕНИЕ НА ПОВИШЕНИТЕ ПЛАЗМЕНИ НИВА НА ХОМОЦИСТЕИН ЗА РАЗВИТИЕТО НА ДЪЛБОКИ ВЕНОЗНИ ТРОМБОЗИ

Иванов П.¹, Стоянова А.¹, Комса – Пенкова Р.¹, Бешев И.², Матков О.², Иванов Ив.¹

¹Сектор Биохимия, Медицински университет Плевен,

²Клиника по Съдова хирургия – УМБАЛ – Плевен

THE SIGNIFICANCE OF ELEVATED PLASMA HOMOCYSTEIN LEVELS FOR DEEP VENOUS THROMBOSIS DEVELOPMENT

Ivanov P.¹, Stoyanova A.¹, Komsa-Penkova R.¹, Ivanov I.¹, Beshev I.², Matkov O.²

¹Department of Biochemistry, University of Medicine,

²Vascular Surgery Department, University of Medicine

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящето проучване бе да се проследи връзка между носителството на полиморфизмът C677T (TT генотип) в гена на метилен-тетрахидрофолат редуктазата (MTHFR), повишените нива на хомоцистеин и развитието на дълбоки венозни тромбози (ДВТ).

От 80 пациенти с ДВТ и 145 здрави индивиди беше установено носителство на TT генотип при 15 (18.8%) от пациентите и 20 (13.8%) от контролите. Шестдесет процента от пациентите и 5% от контролите с TT генотип имаха повишено ниво на хомоцистеин в кръвта над 15.9 $\mu\text{mol/l}$ ($p=0.002$). Пациентите носители на други тромбофилични фактори, предразполагащи към ДВТ (фактор V Leiden, мутация G20210A в гена на протромбинна) имаха умерено повишени стойности на хомоцистеина (от 12.5 до 15.9 $\mu\text{mol/l}$), докато пациентите носители само на TT генотип имаха концентрация на хомоцистеина над 15.9 $\mu\text{mol/l}$.

Носителите на полиморфизмът C677T в MTHFR с повишен над 15.9 $\mu\text{mol/l}$ хомоцистеин в кръвта са с повишен риск от развитие на ДВТ. Налага се индивидуално прецизиране на риска от развитие на ДВТ при носители на полиморфизмът C677T и повишен плазмен хомоцистеин в зависимост от наличието на други вродени или придобити фактори, предразполагащи към тромбоза.

КЛЮЧОВИ ДУМИ

дълбока венозна тромбоза, MTHFR, хомоцистеин, вродени тромбофилични фактори

SUMMARY

The aim of the study was evaluation of relationship of serum homocysteine, TT genotype of C677T gene polymorphism in the methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) and development of deep venous thrombosis (DVT).

From 80 patients with DVT and 145 healthy control subjects 15 (18.8%) patients and 20 (13.8%) controls respectively were carriers of TT genotype. Sixty percent of patients and 5% of controls had hyperhomocysteinemia over 15.9 $\mu\text{mol/l}$ ($p=0.002$). Patients carriers of other thrombophilic mutation (Factor V Leiden and Factor II G20210A mutations) had moderate hyperhomocysteinemia (from 12.5 to 15.9 $\mu\text{mol/l}$) whereas patients carriers only of TT genotype had serum homocysteine over 15.9 $\mu\text{mol/l}$.

Carriers of the MTHFR C677T polymorphism with elevated homocysteine over 15.9 $\mu\text{mol/l}$ were at higher risk for DVT. An individual approach should perform evaluation of risk for DVT in carriers of TT genotype with hyperhomocysteinemia and additional inherited or acquired thrombophilic factors.

KEY WORDS

deep vein thrombosis, MTHFR, homocysteine, inherited thrombophilic factors.

74. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Ivanov I, Konova E, Kovacheva K, Stoikov S, Popov I. High risk of recurrent spontaneous abortion during second trimester in women carriers of polymorphism A2 in platelet glycoprotein IIb/IIIa. Akush Ginekol (Sofia). 2008;47(4):3-9. (SJR 0.108)

ПОЛИМОРФИЗЪМ А2 В ТРОМБОЦИТЕН ГЛИКОПРОТЕИН IIb/IIIa ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДЪЛБОКИ...

ПОЛИМОРФИЗЪМ А2 В ТРОМБОЦИТЕН ГЛИКОПРОТЕИН IIb/IIIa ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДЪЛБОКИ ВЕНОЗНИ ТРОМБОЗИ

П. Д. Иванов¹, Я. Й. Иванов², Р. С. Комса-Пенкова¹, Ив. Д. Иванов¹, О. К. Матков³, Л. Цв. Бешев³
¹ Сектор по биохимия, ² Клиника по белодробни болести, ³ Клиника по съдова хирургия – УМБАЛ,
Медицински университет – Плевен

Резюме:

Целта на настоящото проучване бе да се изследва значението на носителството на полиморфизъм А2 (PLA2) в тромбоцитния гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) за развитието на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и приноса на PLA2 за клиничната проява в комбинация с други тромбофилични фактори. Седемдесет и четири пациенти с ДВТ и 80 здрави индивиди бяха изследвани за носителство на PLA2 в GP IIb/IIIa и тромбофиличните фактори фактор V Leiden (FVL) и G20210A мутация в протромбиновия ген (FII G20210A). Установена е сигнификантна разлика в носителството на PLA2 при пациенти с ДВТ в сравнение със здрави индивиди съответно 40 и 16,3% (OR: 3,514; 95% CI 1,557- 8,022, p=0,002). Носителството на PLA2 в комбинация с други тромбофилични фактори FVL или FII G20210A значително увеличава честота на ДВТ и сигнификантно намалява възрастта на проява на първия инцидент. При носители на PLA2 в комбинация с FVL или G20210A със статистически достоверна разлика (p=0,039) се установи, че първият инцидент преди 45-годишна възраст настъпва по-често в сравнение с пациенти, носители само на FVL или FII G20210A. Средната възраст на изява на първия инцидент на ДВТ при пациентите, носители само на FVL или FII G20210A, беше 47,2 г., докато при тези с комбинирано носителство на PLA2 с FVL или FII G20210A беше сигнификантно по-ниска – 36,4 години. В това изследване е установена значима връзка между носителството на PLA2 и риска от развитието на ДВТ, а също така повишен риск от развитие на ДВТ в млада възраст при носителството на PLA2 в комбинация с други тромбофилични фактори. Рутинното изследване за носителството на PLA2 би прецизирало риска от повторен инцидент на ДВТ и спомага за определяне на последваща профилактика на венозната тромбоза.

Ключови думи:

Полиморфизъм А2, тромбоцити, гликопротеин IIb/IIIa, дълбока венозна тромбоза, млада възраст

POLYMORPHISM A2 IN PLATELET GLYCOPROTEIN IIb/IIIa IN PATIENTS WITH DEEP
VENOUS THROMBOSIS

Р. Д. Иванов¹, Я. Й. Иванов², Р. С. Комса-Пенкова¹, И. Д. Иванов¹, О. К. Матков³, Л. Ц. Бешев³
¹ Department of Biochemistry, ² Department of Lung Diseases, ³ Vascular Surgery Unit, University Hospital,
University of Medicine – Pleven

Summary:

The aim of this study was to assess the role of polymorphism A2 (PLA2) in platelet glycoprotein IIb/IIIa in the development of deep venous thrombosis and the contribution of this polymorphism to disease clinical manifestation, while in combination with other thrombophilic factors. Seventy four patients with DVT and 80 healthy control subjects were tested for PLA2 factor V Leiden (FVL) and G20210A prothrombin gene mutation (FII G20210A).

68

МЕДИЦИНСКИ ПРЕГЛЕД, 44, 2008, № 1

ВЛИЯНИЕ НА НОСИТЕЛСТВОТО НА ФАКТОР V LEIDEN ЗА РАЗВИТИЕТО НА РЕПРОДУКТИВНИ НЕСПОЛУКИ В РАЗЛИЧНИ ПЕРИОДИ НА БРЕМЕННОСТТА

П. Иванов¹, Р. Комса-Пенкова¹, К. Ковачева², Е. Конова³, Ив. Иванов¹, М. Симеонова², К. Тодорова⁴,
Св. Гечева⁵, Св. Стойков⁴, Й. Попов⁴ и Ст. Танчев⁴

¹Сектор по биохимия, МУ – Плевен,

²Сектор по медицинска генетика, МУ – Плевен

³Център по клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“ – Плевен

⁴Катедра по акушерство и гинекология, МУ – Плевен,

⁵СБАЛАГ „Майчин дом“, МУ – София

DIVERGENT IMPACT OF FACTOR V LEIDEN ON DEVELOPMENT OF EARLY AND LATE FETAL LOSS

P. Ivanov¹, R. Komsa-Penkova¹, K. Kovacheva², E. Konova³, I. Ivanov¹, K. Todorova⁴, M. Simeonova²,
Sv. Gecheva⁵, Sv. Stoykov⁴, Y. Popov⁴ and St. Tanchev⁴

¹Department of Biochemistry, Medical University – Pleven

²Department of Medical Genetics, Medical University – Pleven

³Center of Clinical Immunology, University Hospital – Pleven

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University – Pleven

⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University – Sofia

Резюме:

Целта на представеното изследване бе да се проучи връзката между носителството на фактор V Leiden (FVL) и развитието на повтарящи се ранни спонтанни загуби на плода (спонтанни аборт) и късни загуби на плода (мъртво раждане), като се проследи влиянието на мутацията за развитието на репродуктивни неуспехи в отделните срокове на бременността, в зависимост от стадия на развитие на плацентата. За носителство на FVL бяха изследвани жени със спонтанни аборт (СПА) до 10-а гестационна седмица (г.с.), със СПА между 11-а и 14-ата г.с. – период на развитие на плацентата, и жени с мъртви раждания и СПА след 14-а г.с., съотв. 71, 50 и 39 жени с репродуктивни неуспехи, както и 80 жени без репродуктивни неуспехи. Не се установи значимо по-голямо носителство на мутацията сред жени със СПА в много ранна бременност (преди 10-а г.с.), (8,4% и 6,3%, съотв. за пациентите и контролната група OR: 1.385; 95% CI: 0.353-5.539). FVL преобладаваше сигнификантно сред жени със СПА между 10-а и 14-а г.с., както и със СПА и мъртви раждания след 14-ата г.с., като FVL беше с по-голяма честота при жени с репродуктивни неуспехи след 14-ата г.с. (съотв. 20%, OR: 3.750; 95% CI: 1.078-13.671, $p = 0.035$, и 25,6%, OR: 5.172; 95% CI: 1.455-19.276, $p = 0.007$). Свободният протеин S – антикоагулант, участващ в инактивирането на фактор V, чиито плазмени нива намаляват през втория и третия триместър на бременността, може да обясни високия риск от развитието на късни повтарящи се спонтанни загуби на плода при носители на мутацията FVL. Установяването на високо носителство на FVL при жени с късна загуба на плода предполага рутинно тестване за носителство на мутацията при подобна патология, както и обсъждането на профилактична антикоагулантна терапия през следваща бременност.

Ключови думи:

спонтанни аборт, мъртво раждане, фактор V Leiden, риск

Адрес за кореспонденция:

Д-р Петър Иванов, Сектор по биохимия, Медицински университет,
ул. „Св. Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, e-mail: mdivanov@gmail.com

Summary:

The aim of this study was to evaluate the impact of inherited thrombophilic mutation Factor V Leiden (FVL) on development of early and late fetal loss (recurrent spontaneous abortions and stillbirths) depending on growing stage of placenta. We investigated 71 women with very early pregnancy loss before 10th week of gestation (w.g.), 50 women with spontaneous abortion from 10th to 14th w.g., 39

76. Иванов П., Иванов Я., Комса-Пенкова Р., Вродено предразположение към тромбоза (тромбофилия) и значението и при профилактиката и лечението на венозния тромбоемболизъм. Съвременна медицина, бр.1-2/2009, том 60.

ВРОДЕНО ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНИЕ КЪМ ТРОМБОЗА (ТРОМБОФИЛИЯ) И ЗНАЧЕНИЕТО МУ ЗА ПРОФИЛАКТИКАТА И ЛЕЧЕНИЕТО НА ВЕНОЗНИЯ ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ

П. Д. Иванов¹, Я. Й. Иванов², Р. С. Комса-Пенкова¹

¹ Сектор „Биохимия“, ² Клиника по белодробни болести, УМБАЛ, Медицински университет – Плевен

Резюме:
Венозният тромбоемболизъм обикновено е следствие на нарушен баланс между прокоагулантната, антикоагулантната и фибринолитичната системи. Множество придобити и вродени фактори повишават риска от тромбоза. Целта на настоящия обзор е да представи значението на вродената тромбофилия за развитието, лечението и профилактиката на венозния тромбоемболизъм. Най-често срещаните тромбофилични фактори: мутацията във фактор V от кравосъсирването – фактор V Leiden, и мутация G20210A в гена на протромбина, увеличават риска от поява на първи инцидент съответно 3 до 7 и около три пъти. Пациенти, носители на тези мутации, имат около 1,4 пъти повишен риск от повторение на епизод от заболяването спрямо неносители на тези генетични дефекти. Доказано е предимството на по-продължителната профилактична антикоагулантна терапия (поне 12 месеца) при носителство на тромбофилични мутации. Въз основа на относително високата честота на фактор V Leiden и мутацията G20210A в протромбиновия ген (съответно между 3 и 7% и 3%) в индоевропейската раса е препоръчителен скрининг за тези мутации при високо рискови пациенти, с цел предотвратяване на следващ инцидент на венозен тромбоемболизъм.

Ключови думи:
Венозен тромбоемболизъм, вродени тромбофилични фактори, риск от тромбоза, профилактика

INHERITED THROMBOPHILIA. PREVENTION AND TREATMENT OF VENOUS THROMBOEMBOLISM

Р. Д. Ivanov¹, Y. Y. Ivanov², R. S. Komsa-Penkova¹

¹ Department of Biochemistry, ² University Lung Diseases Hospital, University of Medicine – Pleven

Summary:
Venous thromboembolism (VTE) usually is the result of an imbalance among procoagulant, anticoagulant and profibrinolytic processes in blood. A number of acquired, as well as inherited thrombophilic factors, influences the risk of thrombosis. This paper discusses the impact of the various inherited thrombophilic defects on the risk of occurrence of VTE and the influence on prevention and treatment of thrombotic incidents. The most common inherited risk factors – mutation in factor V of the coagulation cascade – Factor V Leiden (FVL) and G20210A prothrombin gene mutation increased the risk of a first episode of thrombosis (3 to 7 and about 3 fold respectively). Patients, carriers of these two thrombophilic defects, have about 1.4 fold increased risk of recurrence of VTE. There is a trend toward longer durations of prophylactic anticoagulation therapy (at least 12 months) for these patients. Based on the relatively high occurrence of FVL and G20210A mutations in Caucasians (3 to 7% and about 3% respectively), screening for thrombophilic mutations should be applied in high risk patients to prevent further incidence of VTE.

Key words:
Venous thromboembolism, inherited thrombophilic factors, increased risk of recurrent thrombosis, prevention

99

77. Иванов П, Св. Гечева, Р. Комса-Пенкова, Я. Иванов, М. Иванов, Л. Бешев. Антикардиолин и анти-бета 2 гликопротеин I антители при пациенти с венозен тромбоемболизъм. Торакална Медицина, Том I, 2009, бр. 1, (17-21)

оригинални статии

Торакална Медицина, Том I, септември 2009, бр. 1

АНТИКАРДИОЛИПИН И АНТИ-БЕТА 2 ГЛИКОПРОТЕИН I АНТИТЕЛА ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВЕНОЗЕН ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ

П. Иванов¹, Св. Гечева², Р. Комса-Пенкова¹, Я. Иванов³,
М. Иванов¹, Л. Бешев⁴

¹ Научно-изследователска лаборатория по молекулярна биология
и биохимия, Сектор Биохимия,
Медицински университет Плевен

² Център по Клинична имунология,
Медицински университет Плевен

³ Клиника по Белодробни болести, УМБАЛ – Плевен,
Медицински университет – Плевен

⁴ Клиника по Съдова хирургия – УМБАЛ – Плевен
Медицински университет – Плевен

Една от формите на проява на първичния антифосфолипиден синдром (АФС) е развитието на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и белодробен тромбоемболизъм (БТЕ).

Целта на настоящето изследване е определяне значението на повишения титър на антикардиолипинови (ACL) и анти бета 2 гликопротеин I антители (anti-β2 GP I Ab) за повишаването на риска от възникване на венозен тромбоемболизъм (ВТЕ).

Петдесет и девет пациенти с ВТЕ (39 с БТЕ и 20 с ДВТ) бяха изследвани за наличие на повишени титри на ACL – клас IgG и IgM и anti-β2 GP I Ab (screen тест).

В 25,1% от пациентите се установиха високи титри на ACL – клас IgG, в 6,8 % ACL – клас IgM и един пациент беше с повишени титри на anti-β2 GP I Ab. Пациентите, развили първи инцидент на ВТЕ в младата възраст (под 45 г.) бяха в по-висок процент носители на повишени титри на ACL – както клас IgG, така и IgM, в сравнение с пациентите с първи инцидент на ВТЕ след 45 г. възраст (за IgM, съответно 10,7% и 3,2%, OR 3,6, 95% CI 0,3 – 94,5, p=ns). Пациентите с рецидивиращ ВТЕ също бяха в по-голям процент с повишени титри на ACL – IgM, в сравнение с пациенти с един инцидент на ВТЕ (съответно 13,3% срещу 4,5%, OR 3,2, 95% CI 0,29 – 37, p=ns).

Поради мултифакторната генеза на ВТЕ, множество фактори могат да бъдат обсъждани, като причина за неговото отключване и развитие. Проследяването на титрите ACL Ab при пациенти с ВТЕ би имало значение за определянето на риска от повторни тромбоемболични инциденти и съответно има отношение към продължителността на вторичната антикоагулантна профилактика.

Проучването е финансирано от Медицински Университет – Плевен

Ключови думи: антикардиолипинови антители, анти бета 2 гликопротеин I антители, венозен тромбоемболизъм.

78. Иванов П., Комса-Пенкова Р., Конова Е., Ковачева К., Иванов М., Танчев Ст. Фактори предразполагащи към тромбофилия при жени с анамнеза за загуби на плода след 20-та гестационна седмица. Акушерство и гинекология, vol 48, 2009, 4, 3-7. (SJR 0.103)

ISSN 0324-0959

БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
BULGARIAN SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

ФАКТОРИ, ПРЕДРАЗПОЛАГАЩИ КЪМ ТРОМБОФИЛИЯ ПРИ ЖЕНИ С АНАМНЕЗА ЗА ЗАГУБИ НА ПЛОДА СЛЕД 20-та ГЕСТАЦИОННА СЕДМИЦА

Иванов П.¹, Комса-Пенкова Р.¹, Конова Е.^{2,3}, Ковачева К.⁴, Иванов Ив.¹,
Иванов М.¹, Танчев Ст.⁵

- 1 Сектор Биохимия, Медицински университет, Плевен, Р-л Катедра Доц. Регина Комса-Пенкова
- 2 Клиничен институт по репродуктивна медицина (КИРМ), гр. Плевен
- 3 Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен
- 4 Сектор Медицинска Генетика, Медицински университет, Плевен
- 5 Катедра по Акушерство и гинекология, Медицински университет, Плевен,
Р-л Катедра – доц. Стоян Танчев

Резюме. Изследване имаше за цел проследяване на връзката между носителството на вродените тромбофилични фактори: фактор V Leiden (FVL) и мутацията в гена за протромбина 20210 G>A (PTM 20210 G>A) и развитието на повишен риск от интраутеринна смърт на плода след 20 гестационна седмица и мъртво раждане (MP).

Тридесет и три жени с MP бяха изследвани за носителство на FVL и PTM 20210 G>A. Жени с многоплодна бременност, вродени аномалии на женска полова система, интраутеринни инфекции, хорионамнионит бяха изключени от изследването. Контролна група се състоеше от 79 жени без анамнеза за репродуктивни неудачи.

Носителството на FVL се различаваше статистически значимо между пациенти и контролна група (съответно 21,1% и 6,3%, OR=3,98; 95% CI 1,02 – 16,14, $p = 0,045$). Носителството на PTM 20210 G>A беше по-високо при жените с MP, в сравнение с контролна група (съответно 10% и 2,5%, OR 3.85, 95% CI 0,49 – 35,08, $p - ns$). Всичките седем жените с интраутеринна смърт на плода, имащи и други акушерски усложнения, предхождащи MP (пreeклампсия, интраутеринно изоставане в развитието на плода, преждевременно отлежаване на плацентата) имаха носителство на тромбофилични фактори.

Установихме висока корелация между развитието на интраутеринна смърт на плода, MP и носителството на FVL и PTM 20210 G>A ($p - ns$ за PTM 20210 G>A, поради рядка честота на тромбофиличния фактор и малка група изследвани жени. Получените данни ни позволяват да препоръчаме рутинно тестване за носителството на тромбофилични фактори при жени с

79. Иванов П, Р. Комса-Пенкова, Цв. Луканов, Я. Иванов, Я. Иванов, О. Матков. **Значение** на придобити и вродени тромбофилични фактори към риска от развитие на белодробен тромбоемболизъм и дълбока венозна тромбоза. Торакална Медицина, Том I, 2009, бр. 2, (23-28)

оригинални статии

Торакална Медицина, Том I, декември 2009, бр.2

ОТНОШЕНИЕ НА ПРИДОБИТИ И ВРОДЕНИ ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ КЪМ РИСКА ОТ РАЗВИТИЕ НА БЕЛОДРОБЕН ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ И ДЪЛБОКА ВЕНОЗНА ТРОМБОЗА

П. Иванов^{1,2}, Р. Комса – Пенкова^{1,2}, Цв. Луканов³, Я. Иванов⁴, О. Матков⁵

¹Научно-изследователска лаборатория по молекулярна биология и биохимия, Медицински университет, Плевен

²Сектор Биохимия, Медицински университет, Плевен

³Център по Клинична имунология, Медицински университет, Плевен

⁴Клиника по Белодробни болести,
УМБАЛ – Плевен, Медицински университет, Плевен

⁵Клиника по Съдова хирургия,
УМБАЛ – Плевен, Медицински университет, Плевен

Резюме

Ефективността на мерките за предотвратяване на инциденти на венозен тромбоемболизъм (ВТЕ) най-често се свързват с установяването характера на действащите предразполагащи и отключващи тромбозата и емболия рискови фактори.

Целта на настоящето изследване е оценка на взаимоотношенията, както на вродените (фактор V Leiden – FVL, мутация в гена на протромбина 20210 G>A (FII 20210 G>A), така и на придобитите рискови фактори (оперативна намеса, травма, обездвижване и др.) за риска от отключаването и развитието на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и белодробен тромбоемболизъм (БТЕ).

Общо 86 пациенти с диагноза ДВТ и 66 пациенти с диагноза БТЕ бяха изследвани за носителство на FVL и FII 20210 G>A. На пациентите беше снета щателна анамнеза за наличие, характер и продължителност на действие на отключващи тромбоза/емболия рискови фактори.

Наличието на провокиращи тромбозата/емболията фактори при пациентите с ДВТ и БТЕ бе съответно 32,2% и 56,1%. В 75,7% от случаите на въздействие на външни провокиращи фактори при пациентите с БТЕ, това не е съчетано с носителство на вродена тромбофилична мутация (FVL или FII 20210 G>A). Обратно, в 64,5% от случаите на носителство на тромбофилична мутация при пациентите с ДВТ не се установява анамнеза за придобити провокиращи тромбозата фактори.

Оперативната намеса е около два пъти по-често срещан рисков фактор при пациентите с БТЕ, в сравнение с пациентите с ДВТ (съответно 37,8% и 21,4%). Анамнезата за преживяна травма се намира над 2,5 пъти по-често при пациентите с ДВТ, в сравнение с тези с БТЕ (съответно 42,9% и 16,2%).

80. Иванов П, Р. Комса-Пенкова, Я. Иванов, Ив. Иванов, О. Матков, Л. Бешев. Полиморфизъм 4G/5G в гена на плазминоген активатор инхибитор-1 при пациенти с дълбока венозна тромбоза. Съвременна Медицина, бр. 1-2/2009, Том 60, (35-39).

ПОЛИМОРФИЗЪМ 4G/5G В ГЕНА НА ПЛАЗМИНОГЕН АКТИВАТОР ИНХИБИТОР-1 ПРИ ...

ПОЛИМОРФИЗЪМ 4G/5G В ГЕНА НА ПЛАЗМИНОГЕН АКТИВАТОР ИНХИБИТОР-1 ПРИ ПАЦИЕНТИ С ДЪЛБОКА ВЕНОЗНА ТРОМБОЗА

П. Д. Иванов¹, Р. С. Комса-Пенкова¹, Я. Й. Иванов², Ив. Д. Иванов¹, О. К. Матков³,
Л. Цв. Бешев³

¹ Сектор „Биохимия“, ² Клиника по белодробни болести,

³ Клиника по съдова хирургия, УМБАЛ, Медицински университет – Плевен

Резюме:

Изследването имаше за цел да проучи ролята на 4G/5G полиморфизма (генотип 4G/4G) в гена на плазминоген активатор инхибитор (PAI-1) за възникване и развитие на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и значението на полиморфизма за ранното и повторно развитие на ДВТ.

Шестдесет и трима пациенти с ДВТ и 66 здрави индивида бяха изследвани за носителство на 4G/4G генотипа, както и за носителство на фактор V Leiden, мутация 20210 G>A в про-тромбиновия ген, C677T полиморфизъм в гена на метилентетрахидрофолат редуктаза и полиморфизъм A1/A2 в гена на тромбоцитния гликопротеин IIb/IIIa.

Намерена бе положителна, но не статистически значима разлика в носителството на 4G/4G генотипа сред пациенти с ДВТ сравнено с контроли (съответно 28,8% и 25,8%, OR 1,15, 95% CI 0,49- 2,7). Средната възраст на изява на първи инцидент на ДВТ при пациенти носители само на 4G/4G генотипа и пациенти без носителство на петте изследвани мутации бе съответно: 51,8 и 45,1 години, което не се различаваше значимо. Носителството на 4G/4G генотипа сред пациенти с повтарящи се инциденти на ДВТ бе по-високо от това на контролната група, но разликата не бе статистически значима.

Установи се, че 4G/4G генотип на полиморфизма 4G/5G в гена на PAI-1 е относително слаб рисков фактор за развитие на ДВТ. Носителството на полиморфизма 4G/5G в комбинация с други тромбофилични фактори може да увеличи допълнително риска за развитието на тромбози. Прецизирането на риска за развитието на ДВТ определя индивидуален подход към продължителността на терапията и профилактиката на последващ инцидент на тромбоза.

Ключови думи:

Полиморфизъм 4G/5G, PAI-1, дълбока венозна тромбоза, вродена тромбофилия

4G/5G POLYMORPHISM OF PAI-1 GENE IN PATIENTS WITH DEEP VEIN THROMBOSIS

P. D. Ivanov¹, R. S. Komsa-Penkova¹, Y. Y. Ivanov², I. D. Ivanov¹, O. K. Matkov³, L. Tz. Beshev³

¹ Department of Biochemistry, ² University Lung Diseases Hospital,

³ Vascular Surgery Unit, University of Medicine – Plevan

Summary:

This study evaluated the role of 4G/5G polymorphism in plasminogen activator inhibitor – 1 (PAI-1) (genotype 4G/4G) in the development of deep venous thrombosis (DVT) and the contribution of this polymorphism to early and recurrent appearance of venous thrombosis.

Sixty three patients with DVT and 66 healthy control subjects were tested for carrier status of 4G/5G polymorphism, as well as of Factor V Leiden, 20210 G>A prothrombin gene mutation, C677T in methylenetetrahydrofolate reductase gene and polymorphism A1/A2 in platelet surface glycoprotein IIb/IIIa.

81. М. Иванов, Б. Стаменов, Р. Комса-Пенкова. Повтарящи се исхемични мозъчни инсулти при пациент с повишено ниво на плазмен хомоцистеин, асоциирано с генетичен вариант С677Т в генът за синтез на ензима метилентетрахидрофолатредуктаза Невросонология и мозъчна хемодинамика, том 6, 2010, бр. 1: 29-32.

Повтарящи се исхемични мозъчни инсулти при пациент с повишено ниво на плазмен хомоцистеин, асоциирано с генетичен вариант С677Т в гена за синтез на ензима метилентетрахидрофолатредуктаза

М. Иванов¹, Б. Стаменов¹, Р. Комса-Пенкова²

¹Втора неврологична клиника, Университетска болница – Плевен

²Лаборатория по молекулярна биология и биохимия, Медицински университет – Плевен

Ключови думи:
генетичен вариант С677Т,
исхемичен мозъчен инсулт,
хомоцистеин

Исхемичният мозъчен инсулт е синдром, резултат от различни патологични процеси, водещи до локална мозъчна увреда поради нарушен мозъчен кръвоток. Повишените нива на тоталния плазмен хомоцистеин (Хц) се причиняват от генни мутации, недостиг на витамини, бъбречни и други заболявания, както и от напредналата възраст. Голям брой проучвания намират строга дозо-зависима връзка между плазмените хомоцистеинов нива и мозъчно-съдовата болест. Една от най-честите причини за хиперхомоцистеинемия е генетичен вариант С677Т в генът за синтез на ензима метилентетрахидрофолатредуктаза (МТХФР).

Представяме случай на 36-годишна жена с повтарящи се исхемични мозъчни инсулти, хомозиготно носителство на генетичен вариант С677Т и повишено ниво на плазмен Хц.

Независимо от връзката между плазмения Хц и исхемичния мозъчен инсулт, трябва да се изчакаят резултатите от провежданите проучвания, за да се знае дали редукцията на хомоцистеиновите нива с витаминотерапия води до клинично подобрене.

Recurrent Ischemic Stroke in Patient with Elevated Level of Plasma Homocysteine, Associated with Genetic Variant C677T in the Methylentetrahydrofolate Reductase Gene

M. Ivanov¹, B. Stamenov¹, R. Komsa-Penkova²

¹Secondary Clinic of Neurology, University Hospital – Pleven

²Department of Biochemistry, University of Medicine – Pleven

Key Words:
homocysteine,
genetic variant C677T
in MTHFR gene,
ischemic stroke

Ischemic stroke is a syndrome of different pathological processes all resulting in focal cerebral damage due to disturbance of cerebral blood flow. Raised total plasma homocysteine (Hcy) concentrations are caused by genetic mutations, vitamin deficiencies, renal and other diseases, and increasing age. An important number of studies have found a strong dose dependent link between levels of Hcy and cerebrovascular disease. One of the most common causes for hyperhomocysteinemia (hyper-Hcy) is the genetic variation C677T in methylentetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene.

The case report represents a 36-year-old woman with recurrent ischemic stroke, homozygous status for genetic variant C677T and elevated level of plasma Hcy.

Despite the relationship between plasma Hcy and ischemic stroke, we should wait for the results of the ongoing trials to know if the reduction of Hcy levels with vitamin therapy is of clinical benefit.

Резултатите от множество проучвания случай-контрол намират строга дозо-зависима връзка между повишените нива на плазмения хомоцистеин (Хц) и мозъчно-съдовата болест,

а други епидемиологични проучвания – със заболяемостта от исхемичен инсулт [3, 4, 5]. Повишените нива на плазмения тотален Хц повишават риска от атеротромбоза и са неза-

82. П.Иванов, Р.Комса-Пенкова, Ив. Иванов, Е. Конова, К. Ковачева, М. Симеонова, Ст. Танчев. Активност на плазминоген активатор инхибитор-1 при жени с повтарящи се ранни спонтанни аборти. Акушерство и гинекология, 5'2010, Volume 49, (3-8). (SJR 0.104)

ISSN 0324-0959

БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
BULGARIAN SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

АКТИВНОСТ НА ПЛАЗМИНОГЕН АКТИВАТОР ИНХИБИТОР - 1 ПРИ ЖЕНИ С ПОВТАРЯЩИ СЕ РАННИ СПОНТАННИ АБОРТИ

Иванов П.¹, Комса-Пенкова Р.¹, Иванов Ив.¹, Конова Е.^{2,3}, Ковачева К.⁴, Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

1 МУ - Плевен, Сектор Биохимия

2 Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Страшки“, Плевен

3 Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

4 МУ - Плевен, Сектор Медицинска Генетика

5 МУ - Плевен, Катедра по Акушерство и гинекология

Резюме. Целта на настоящето проучване бе да проследи връзката между носителството на полиморфизъм 4G/5G - генотип 4G/4G в гена на плазминоген активатор инхибитор тип 1 (PAI-1) и повишаването на риска от развитие на повтарящи се спонтанни аборт преди 10 гестационна седмица (гс).

Полиморфизмът 4G/5G, както и фактор V Leiden (FVL), мутацията в гена на протромбина (FII) 20210 G>A и еднонуклеотидната замяна 677 C>T в гена на метилентетрахидрофолат редуктазата (MTHFR) бяха изследвани при 110 жени с два или повече спонтанни аборта преди 10 гс и при 97 жени без репродуктивни неудачи, имащи поне една бременност, завършила с раждането на здраво дете.

Сигнификантна разлика беше установена при сравнението на носителството на PL 4G/5G между жените със спонтанни аборти и контролна група (носителство на полиморфизма съответно 41,8% и 26,8%, OR: 1,96, 95% CI: 1,05-3,69, p=0,034). Статистически значимата разлика между двете групи се запази и след изключване на жените носители на FVL, FII 20210 G>A и 677 C>T в MTHFR (носителство на полиморфизма съответно 44,1% и 24,7%, OR: 2,5, 95% CI: 1,15-5,45, p=0,018).

Установената връзка между носителството на PL 4G/5G и повишаване риска от развитие на ранни спонтанни аборти предразполага включването на този полиморфизъм в панела от тромбофилични фактори, изследвани при анамнеза за репродуктивни неудачи. Резултата има връзка с обсъждане профилактичното приложение на ниско-молекулярни хепарини при следващи бременности, с цел предотвратяване на спонтанен аборт.

83. Иванов П., Комса – Пенкова Р., Конова Е., Гечева Св., Иванов Ив., Ковачева К., Симеонова М., Танчев Ст. Съчетано носителство на тромбофилични фактори при жени с късни спонтанни аборти. Акушерство и гинекология, 2011;3:8-12. (SJR 0.113)

СЪЧЕТАНО НОСИТЕЛСТВО НА ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ЖЕНИ С КЪСНИ СПОНТАННИ АБОРТИ

Иванов П.^{1,3}, Комса-Пенкова Р.¹, Конова Е.^{2,3}, Гечева Св.², Иванов Ив.¹, Ковачева К.⁴, Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

1 МУ – Плевен, Сектор Биохимия

2 Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Страшки“, Плевен

3 Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

4 МУ – Плевен, Сектор Медицинска Генетика

5 МУ – Плевен, Катедра по Акушерство и гинекология

Резюме. Целта на настоящето проучване бе да оцени ролята на комбинираното носителство на два или повече вродени тромбофилични фактора за риска от развитие на повтарящи се късни спонтанни аборти.

За носителство на полиморфизъм 4G/5G (PL 4G/5G) – генотип 4G/4G в гена на плазминоген активатор инхибитор тип 1 (PAI-1), Фактор V Leiden (FVL) и мутацията 20210 G>A в гена на протромбин (FII) бяха изследвани 52 жени с два или повече спонтанни аборта между 10 и 20 гестационна седмица (гс), както и 125 жени без репродуктивни неудачи имащи поне една нормално протекла бременност завършила с раждането на жив доношен плод.

Съчетаното носителство на два фактора се срещаше по-често при жените с репродуктивни неудачи (7,7%) в сравнение с носителството в контролна група (3,2%), (OR=2,52, 95% CI (0,5 – 12,62), $p>0,05$). Най-често срещаната комбинация от фактори беше съчетаното носителство на FVL с PL 4G/5G – съответно 5,8% и 0,8% при жени с репродуктивни неудачи и контролна група (OR=7,59, 95% CI (0,68 – 191,04, $p>0,05$). Поради относително малката група изследвани жени, резултатите не достигат статистически значима разлика при сравнение носителството на тромбофилични фактори при пациенти и контролна група.

Потвърждаването в по-големи проучвания на установената слаба зависимост между съчетаното носителство на два тромбофилични фактора и повишаване риска от настъпване на спонтанен аборт след 10 гс има отношение към по-прецизното провеждане на антикоагулантна профилактика при последваща бременност при жени с вродена тромбофилия.

Ключови думи: повтарящи се спонтанни аборти между 10 и 20 гестационна седмица, съчетано носителство на тромбофилични фактори, антикоагулантна профилактика през бременността

Проучването е финансирано от Медицински Университет – Плевен.

COMBINED THROMBOPHILIC FACTORS AMONG WOMEN WITH LATE RECURRENT SPONTANEOUS ABORTIONS

Ivanov P.^{1,3}, Komsa-Penkova R.¹, Konova E.^{2,3}, Gecheva Sv.², Ivanov I.¹, Kovacheva K.⁴, Simeonova M.⁴, Tanchev St.⁵

1 Department of Biochemistry, University of Medicine of Plevan

2 Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan

3 Clinical Institute of Reproductive Medicine, Plevan

4 Department of Medical Genetics, University of Medicine of Plevan

5 Department of Obstetric and Gynecology, University Hospital of Plevan

Abstract. The aim of this study was to assess the role of combined thrombophilic factors carrier status for development of late recurrent pregnancy loss (RPL).

The polymorphism 4G/5G (PL 4G/5G) – genotype 4G/4G in plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1), Factor V Leiden (FVL) and prothrombin (FII) gene mutation 20210 G>A in 52 women with recurrent pregnancy loss between 10 and 20 weeks of gestation and in 125 healthy women with at least one uncomplicated full-term pregnancy was investigated.

Combined carrier status for thrombophilic factors was more pronounce among women with RPL (7.7%) compared to control subjects (3.2%), (OR=2.52, 95% CI (0.5 – 12.62), p -ns). The most common association

84. М. Иванов, Св. Гечева, П. Иванов, П. Лалева, Б. Стаменов, Р. Комса-Пенкова, И. Иванов и Вл. Иванов. Носителство на полиморфизъм А1/А2 в тромбоцитен гликопротеин ІІВ/ІІІа при пациенти с исхемичен мозъчен инсулт. Медицински преглед, 48, 2012, № 4, 41-45.

НОСИТЕЛСТВО НА ПОЛИМОРФИЗЪМ А1/А2 В ТРОМБОЦИТЕН ГЛИКОПРОТЕИН ІІВ/ІІІа ПРИ ПАЦИЕНТИ С ИСКЕМИЧЕН МОЗЪЧЕН ИНСУЛТ

М. Иванов¹, Св. Гечева², П. Иванов¹, П. Лалева³, Б. Стаменов⁴,
Р. Комса-Пенкова¹, И. Иванов¹ и Вл. Иванов³

¹Сектор „Биохимия, Медицински университет – Плевен

²Сектор „Клинична имунология, Медицински университет – Плевен

³Медико-диагностична клинична лаборатория, УМБАЛ „Г. Странски“, Медицински университет – Плевен

⁴Катедра неврология и неврохирургия, Медицински университет – Плевен

CARRIER STATUS FOR POLYMORFISM A1/A2 IN PLATELET GLYCOPROTEIN ІІВ/ІІІа OF PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

M. Ivanov¹, S. Gecheva², P. Ivanov¹, P. Laleva³, B. Stamenov⁴,
R. Komsa-Penkova¹, I. Ivanov¹ and Vl. Ivanov³

¹Department of Biochemistry, Medical University – Pleven

²Department of Clinical Immunology, Medical University – Pleven

³Clinical Laboratory, UMHAТ „G. Stranski“, Medical University – Pleven

⁴Department of Neurology and Neurosurgery, Medical University – Pleven

Резюме:

Наред с класическите рискови фактори за развитие на исхемичен мозъчен инсулт (ИМИ), като тютюнопушене, аритмия от предсърдно мъждене, сърдечна недостатъчност, дислипидемия, артериална хипертония, в последно време се обсъжда значението на унаследени генетични фактори за риска от развитие на артериални оклузивни заболявания. Възможен рисков фактор за ИМИ може да бъде полиморфизмът А1/А2 (PL А1/А2) в тромбоцитния гликопротеин ІІb/ІІІа, повишаващ тромбоцитната агрегация. Проучваме зависимостта между носителството на PL А1/А2 и развитието на ИМИ при 30 пациенти с мозъчно оклузивно заболяване, сравнено с носителството при 60 индивиди без анамнеза за артериални и венозни тромбози. Сигнификантна разлика в носителството на PL А1/А2 бе открита при сравнение на генетичния статус сред пациенти с ИМИ и контролна група (съответно 43,3% и 18,3%, OR = 3,41, 95% CI (1,16-10,14, p = 0,02). Носителството на полиморфизма сред пациентите жени бе значително по-високо в сравнение с това при мъжете (съответно 63,6% и 31,6%). Изследвания, проведени в по-голям мащаб, включващи проучването на други вродени предразполагащи към тромбоза фактори, допълнително биха потвърдили установената връзка между PL А1/А2 и развитието на ИМИ. Установяването на носителството на PL А1/А2 при индивиди с преживян ИМИ има отношение към провеждането на антиагрегантна терапия предвид установената резистентност към аспирин при наличие на полиморфизма.

Ключови думи:

полиморфизъм А1/А2, тромбоцитна агрегация, исхемичен мозъчен инсулт

Благодарности:

Проучването е финансирано от Медицински университет – Плевен.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Петър Иванов, Сектор „Биохимия“, Медицински университет,
ул. „Св. Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, e-mail: mdivanov@gmail.com

Summary:

The classic risk factors for ischemic stroke (IS) include smoking, heart failure, atrial fibrillation, advanced age, dyslipidemia, hypertension and diabetes, but the role of genetic risk factors in IS development has been recently discussed. The platelet fibrinogen receptor glycoprotein (GPIIb/IIIa) A1/A2 polymorphism (PL A1/A2) affects platelet aggregation and could be a possible risk factor for cerebral artery occlusion. This study explored the association of PL A1/A2 polymorphism with ischemic stroke in 30 patients with cerebral artery occlusion and 60 healthy controls without a history of arterial or venous thrombosis. A

85. Ivanov P, Gecheva S, Tsvyatkovska T, Izmailov A, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Konova E, Simeonova M, Tanchev S. Platelet integrin beta3 A1/A2 polymorphism in women with stillbirth. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2012; 51(4):8-12. (SJR 0.104)

ПОЛИМОРФИЗЪМ A1/A2 В ГЕНА НА ТРОМБОЦИТЕН ИНТЕГРИН БЕТА3 ПРИ ЖЕНИ С ИНТРАУТЕРИННА СМЪРТ НА ПЛОДА

Иванов П.¹, Гечева Св.³, Цвятковска Цв.¹, Измаилов Ал.¹, Комса-Пенкова Р.¹, Ковачева К.⁴,
Конова Е.^{2,3}, Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

1 - МУ – Плевен, Сектор Биохимия

2 - Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

3 - Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

4 - МУ – Плевен, Сектор Медицинска Генетика

5 - МУ – Плевен, Катедра Акушерство и гинекология

Резюме. Носителството на тромбофилични мутации от страна на майката се определя като рисков фактор за настъпване на репродуктивни неудачи, но до момента значението на не всички фактори е добре изяснено. Значението на носителството на полиморфизъм A1/A2 (PL A1/A2) в тромбоцитния интегрин бета3 е тема на настоящото проучване.

Седемдесет жени с интраутеринна смърт на плода (ИУСП) и мъртво раждане след 20 гестационна седмица и 100 жени без анамнеза за репродуктивни неудачи бяха изследвани за носителството на PL A1/A2.

Носителството на PL A1/A2 бе по-високо сред жените с ИУСП в сравнение с контролна група, без разликата да достига статистическа значимост (съответно 28,3% and 17%, OR = 1,93; 95% CI: 0,84 – 4,45). След рандомизиране на пациентите по отношение носителството на Фактор V Leiden (FVL) и мутацията 20210 G>A в гена на протромбина (FII), носителството на PL A1/A2 остана по-високо при жените с ИУСП без да достига статистически значима разлика (28,2% OR= 1,92; 95% CI: 0,78 – 4,75). Комбинираното носителство на PL A1/A2 с FVL или FII 20210 G>A беше достоверно по-високо при пациенти в сравнение с контроли (съответно 20% and 2%, p<0,0001).

Независима значението на PL A1/A2 за възникването и развитието на ИУСП не се установи, но може да се приеме ролята му като допълнителен фактор при комбинирано носителство на тромбофилични фактори.

Ключови думи: полиморфизъм A1/A2 в тромбоцитен гликопротеин бета3, интраутеринна смърт на плода, комбинирано носителство на тромбофилични фактори.

PLATELET INTEGRIN BETA3 A1/A2 POLYMORPHISM IN WOMEN WITH STILLBIRTH

Ivanov P.^{1,2}, Gecheva Sv.³, Tsvyatkovska Tsv.¹, Izmailov A.¹, Komsa-Penkova R.¹, Kovacheva K.⁴,
Konova E.^{2,3}, Simeonova M.⁴, Tanchev St.⁵

1 - Department of Biochemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

2 - Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

3 - Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan, Bulgaria

4 - Department of Medical genetics, Medical University, Plevan, Bulgaria

5 - Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Plevan, Bulgaria

Abstract. Maternal thrombophilia was recently discussed as possible cause for pregnancy complication, although the roles of some coagulation factors have not been clarified. Carrier status for platelet integrin beta3 polymorphism A1/A2 (PL A1/A2) was considered as possible risk factor for pregnancy complication.

Seventy women with one or more stillbirth (intrauterine fetal death after 20 week of gestation) and 100 healthy control subjects were evaluated for PL A1/A2 to assess the impact of polymorphism for late pregnancy loss.

The prevalence for PL A1/A2 in women with stillbirth was higher but not significantly differs from carrier status in control subjects (respectively 28.3% and 17%, OR= 1.93; 95% CI: 0.84 – 4.45). After adjustment for carrier status for Factor V Leiden (FVL) and Prothrombin (FII) gene mutation 20210 G>A the prevalence of PL A1/A2 remains a similar (28.2% OR= 1.92; 95% CI: 0.78 – 4.75). Combined carriers status for PL A1/A2 with FVL or FII 20210 G>A have had significantly higher prevalence in investigated group comparing with control subjects (respectively 20% and 2%, p<0.0001).

86. Ivanov P, Gecheva S, Tsvyatkovska T, Georgieva G, Komsa-Penkova R, Konova E, Simeonova M, Tanchev S. Inherited thrombophilic factors in women with secondary infertility. Akush Ginekol (Sofia). 2012; 51(4):3-7. (SJR 0.104)

ISSN 0324-0959

БЪЛГАРСКО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
BULGARIAN SCIENTIFIC SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

ВРОДЕНИ ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ЖЕНИ С ВТОРИЧЕН ИНФЕРТИЛИТЕТ

Иванов П.¹, Гечева Св.³, Цвятковска Цв.¹, Георгиева Г.¹, Комса-Пенкова Р.¹, Конова Е.^{2,3},
Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

1 - МУ – Плевен, Сектор Биохимия

2 - Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

3 - Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

4 - МУ – Плевен, Сектор Медицинска Генетика

5 - МУ – Плевен, Катедра Акушерство и гинекология

Резюме. Поради наличието на допълнителни усложняващи протичането на бременността фактори, като цервикална недостатъчност и прекарани вътрематочни инфекции изясняването на причините за вторичния инфертилитет (ВИ) е трудно постижима цел.

В настоящето проучване се оцени значението на пет тромбофилични фактора за възникването на вторичен инфертилитет при 35 жени с два или повече спонтанни аборта преди 14 гестационна седмица, настъпили след раждането на поне един жизнеспособен плод, при сравнение с носителството при 70 жени без репродуктивни неудачи.

Осем от 35 жени с вторичен инфертилитет (25,7%) бяха носители на Фактор V Leiden (FVL) или мутация 20210 G>A в гена на протромбина (FII) сравнено с 8,6% носителство в контролна група (6 от 70 жени), (OR: 3,7, 95% CI: 1,05-13,2, p=0,038). FVL се установи при пет жени с ВИ (14,3%), а FII 20210 G>A при четири (11,4%), сравнено съответно с 5,7% и 2,9% носителство при контроли. Носителството на останалите три тромбофилични фактора 677 C>T (TT генотип) в MTHFR, полиморфизъм A1/A2 в тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa и полиморфизъм 4G/5G (4G/4G генотип) в PAI-1 беше съответно 11,4%, 28% и 30,8% при пациенти и 14,3%, 17,1% и 24,3% при контроли, без сигнификантна разлика в носителството между двете групи.

87. Иванов П., Конова Е., Гечева Св., Цвятковска Цв., Измайлов А., Комса-Пенкова Р. Иванов И., Големанов Г., Ковачева К., Симеонова М., Танчев Ст. Фактор V Leiden при асистиран репродуктивни технологии. Акушерство и гинекология, 2013;6:11-14. (SJR 0.117)

ФАКТОР V LEIDEN ПРИ АСИСТИРАНИ РЕПРОДУКТИВНИ ТЕХНОЛОГИИ

Иванов П.^{1,2}, Конова Е.^{2,3}, Гечева Св.³, Цвятковска Цв.¹, Измайлов А.¹, Комса-Пенкова Р.¹, Иванов И.¹, Големанов Г.¹, Ковачева К.⁴, Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

1 МУ – Плевен, Сектор Биохимия

2 Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

3 Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

4 МУ – Плевен, Сектор Медицинска Генетика

5 МУ – Плевен, Катедра Акушерство и гинекология

Резюме. Множество фактори имат значение за настъпването на имплантацията и развитието на ембриона. Повторните репродуктивни неуспехи след асистирана репродукция налагат търсене на фактори, имащи отношения към ендометриалната рецептивност и имплантацията на ембриона. Тромбофилични фактори като Фактор V Leiden (FVL) се предполага, че имат значение за имплантацията, като повлияват ендометриалната рецептивност по механизъм, различен от хемостатичната им функция.

В настоящето изследване се проучи носителството на Фактор V Leiden (FVL) сред 188 жени с една или повече неуспешни IVF процедури и контролна група от 97 жени без репродуктивни неуспехи, реализирали поне една успешна бременност.

Не се установи сигнификантна разлика в носителството на тромбофиличния фактор сред пациенти и контролна група: съответно 5,9% и 7,2%, OR 0,80, 95% CI (0,26–2,73, $p>0,05$). Носителството на FVL сред здрави индивиди бе в незначително по-високо в сравнение с жените с неуспешен IVF.

Набелязан е позитивен ефект върху имплантацията при носителство на FVL. Познаването на тромбофиличния статус при жени с повтарящи се имплантационни загуби след IVF има отношение към правилното прецизиране на нуждата и началото на приложение на антикоагулантна терапия за профилактика на следващи имплантационни загуби.

Ключови думи: тромбофилия, IVF, антикоагулантна терапия.

Проучването е финансирано от Медицински Университет – Плевен.

FACTOR V LEIDEN IN WOMEN WITH REPEATED IVF FAILURES

Ivanov P.^{1,2}, Konova E.^{2,3}, Gecheva Sv.³, Tsvyatkovska Tsv.¹, Izmailov A.¹, Komsa-Penkova R.¹, Ivanov I.¹, Golemanov G.¹, Kovacheva K.⁴, Simeonova M.⁴, Tanchev St.⁵

1 Department of Biochemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

2 Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

3 Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan, Bulgaria

4 Department of Medical genetics, Medical University, Plevan, Bulgaria

5 Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Plevan, Bulgaria

Abstract. A plenty of factors have been connected with embryo implantation and further fetus development. Recurrent implantation failure (RIF) after assisted reproductive technology (ART) forces seeking the causes of decreased endometrial receptivity. A non-haemostatic function of thrombophilic mutations such as Factor V Leiden (FVL) was considered a factor related with endometrial receptivity.

One hundred eighty eight women with two or more RIF after in vitro fertilization procedures investigated for carrier status for FVL was compared with carrier status of 97 women without reproductive failure who give a birth of at least one health child.

There was no significant difference in carrier status for FVL in patients and controls (5.9% and 7.2% respectively, OR 0.80, 95% CI (0.26–2.73, $p>0.05$). Negligible higher prevalence of FVL was found in health subjects compared with women with RIF.

A slightly positive relationship was found between FVL and embryo implantation. A preliminary determination of thrombophilic status in RIF women could specify needing or rejection of anticoagulant therapy during implantation period.

Key words: thrombophilia, IVF, anticoagulant therapy

88. П. Иванов, Цв. Цвятковска, Р. Комса-Пенкова, З. Камбурова, Е. Конова и Ст. Танчев. Обсъждане значението на вродени тромбофилични фактори съобразно популационната им честота – Медицински преглед 49, 2013, № 4, 50-54.

ОБСЪЖДАНЕ ЗНАЧЕНИЕТО НА ВРОДЕНИ ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ СЪОБРАЗНО ПОПУЛАЦИОННАТА ИМ ЧЕСТОТА

П. Иванов^{1,2}, Цв. Цвятковска¹, Р. Комса-Пенкова¹, З. Камбурова⁴, Е. Конова^{2,3} и Ст. Танчев⁵

¹Сектор „Биохимия“, МУ – Плевен

²Клиничен институт по репродуктивна медицина – Плевен

³Център по клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“ – Плевен

⁴Сектор „Медицинска генетика“, МУ – Плевен

⁵Катедра „Акушерство и гинекология“, МУ – Плевен

SIGNIFICANCE OF INHERITED THROMBOPHILIC FACTORS ACCORDING TO THEIR PREVALENCE IN THE POPULATION

P. Ivanov^{1,2}, Tsv. Tsvyatkovska¹, R. Komsa-Penkova¹, Z. Kamburova⁴, E. Konova^{2,3} and St. Tanchev⁵

¹Department of Biochemistry, Medical University – Pleven

²Clinical Institute for Reproductive Medicine – Pleven

³Center of Clinical Immunology, University Hospital – Pleven

⁴Department of Medical Genetics, Medical University – Pleven

⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University – Pleven

Резюме:

Вроденото предразположение към развитие на артериални и венозни тромбози (тромбофилия) се обсъжда като важна част от определянето на риска от повторни съдови инциденти. Носителството на тромбофилични фактори варира в широки граници сред отделните раси и географски региони, което налага изясняване на конкретното носителство за съответната популация, за да се уточни мястото на вродената тромбофилия за развитието на тромбоза. В нашето проучване бяха изследвани 155 души (70 мъже и 85 жени) на средна възраст 38,9 г., без анамнеза за венозни или артериални тромбози, за носителство на фактор V Leiden (FVL) и мутация в гена на протромбин (FII) 20210 G>A. Установи се 7,1% носителство на FVL сред изследвана група здрави хора. Разпределението на FVL бе еднакво при мъжете и жените. Един индивид беше носител на FVL в хомозиготно състояние (0,6%). FII 20210 G>A се установи при 3,9% от изследваните. Не беше установено хомозиготно носителство на мутацията. Поради мултифакторната генеза на вроденото предразположение към тромбоза и относително високата честота на FVL и FII 20210 G>A сред здравата популация се налага индивидуализиране на подхода при консултация на пациенти с преживени съдови инциденти и установено носителство на тромбофилични фактори.

Ключови думи:

тромбофилични фактори, популационно разпределение

Адрес за кореспонденция:

Д-р Петър Иванов, дм, Сектор „Биохимия“, Медицински университет, ул. „Св. Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, факс 064 801398, e-mail: mdivanov@gmail.com

Проучването е финансирано от Медицински университет – Плевен

Summary:

Inherited predisposition to arterial and venous thrombosis (thrombophilia) has been discussed as an important part of the recurrent thrombosis risk evaluation. There is a need to establish the real distribution of thrombophilia in healthy subjects because of the wide fluctuation of thrombophilic polymorphisms among different populations. Carrier state for factor V Leiden (FVL) and prothrombin (FII) 20210 G>A has been determined in 155 healthy subjects (70 men and 85 women) with a mean age of 38.9 years, and without previous history of arterial or venous thrombosis. FVL was found in 7.1% of the investigated healthy

89. Regina Komsa-Penkova, Pencho T. Tonchev, Katya S. Kovacheva, Galya B. Georgieva, Yavor Y. Ivanov, Petar D. Ivanov, Georgi M. Golemanov, Sergey D. Iliev. Predisposition to thrombophilia and hypofibrinolysis in pulmonary embolism: Analysis of inherited factors. Journal of Biomedical & Clinical Research. Volume 6, Number 2, 2013.

Penkova R., et al. Predisposition to thrombophilia and hypofibrinolysis...

Original Article

PREDISPOSITION TO THROMBOPHILIA AND HYPOFIBRINOLYSIS IN PULMONARY EMBOLISM: ANALYSIS OF INHERITED FACTORS

**Regina Komsa-Penkova,
Pencho T. Tonchev¹,
Katya S. Kovacheva²,
Galya B. Georgieva,
Yavor Y. Ivanov³,
Petar D. Ivanov,
Georgi M. Golemanov,
Sergey D. Iliev¹**

*Department of Chemistry and
Biochemistry,
Physics and Biophysics,
Medical University - Pleven
Clinic of Surgery,
University Hospital "Dr. Georgi
Stranski"
Section of Medical Genetics,
Medical University - Pleven
University Lung Diseases Hospital,
Medical University,
Pleven, Bulgaria*

Corresponding Author:
Regina Komsa-Penkova
Department of Chemistry and
Biochemistry,
Physics and Biophysics,
Faculty of Medicine,
Medical University - Pleven
1, Kliment Ohridski str.
Pleven, 5800
Bulgaria
e-mail: rkomsa@gmail.com

Received: July 01, 2013
Revision received: December 09, 2013
Accepted: December 27, 2013

Summary

Pulmonary embolism (PE) is a relatively common cardiovascular emergency, though its exact incidence is difficult to assess. Accurate diagnosis is critical because of the high 30-day mortality in patients in whom the diagnosis is missed on admission. Doubt for PE is often raised by the presence of risk factors for venous thromboembolism (VTE), which are categorized into inherited and acquired. Among these, the importance of inherited/genetic thrombophilic factors is increasingly recognized. The most frequent markers of inherited thrombophilia are Factor V Leiden (FVL) and G20210A prothrombin gene mutation. Among the inherited factors causal to thrombophilia, the C677T variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene as well as factors like PIA1/PIA2 polymorphism in platelet glycoprotein IIb/IIIa (PIA2) and hypofibrinolytic polymorphism 4G/4G in PAI-1 gene are discussed with controversial results. In our study, thrombophilic and hypofibrinolytic genetic variants were identified in 54.2% of 115 patients with PE. The most common significant genetic defects were FVL – 16.5% in patients versus 6.2% in controls (OR=3.102; $p=0.05$), G20210A PT 5.7% versus 2.1% (OR=2.983; $p>0.05$). PIA2 was found in 27.3% patients versus 19.9% in controls (OR=1.523, $p>0.05$) and PAI-1 27.8% versus 22.6% (OR = 1.501 $p>0.05$). MTHFR C677T carriage was inverse: 6.7% in patients versus 13.4% in controls. (OR=0.461 $p=0.05$). Of all the patients studied, 15.65% had a history of recurrent embolic incidents. The risk of recurrence was higher for the carriers of FVL and G20210A prothrombin gene mutation. The association between carriage of thrombophilic genetic factor and the early onset of the first embolic episode was found in the patients with PE. The awareness of risk factors and risk stratification is a critical issue in treatment and prevention policy. Preventive measures should be taken in particular medical conditions.

Key words: thrombophilia, hypofibrinolysis, FVL, PTA G20210A, MTHFR, GLPR IIb/IIIa, PAI-1, pulmonary embolism

Introduction

Pulmonary embolism (PE) is a relatively common cardiovascular life-threatening disease. Accurate diagnosis is critical because of the high 30-day mortality in patients in whom the diagnosis is missed

90. Ivanov P, Konova E, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Nikolov N, Simeonova M, Tanchev S. Preplacental pregnancy loss in cases of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2014;53(4):12-6. (SJR 0.124).

ЗАГУБИ НА ПЛОДА В ПЕРИОДА ПРЕДИ ПЛАЦЕНТАЦИЯ СВЪРЗАНИ С ВРОДЕНИ ПРОМЕНИ В АНГИОТЕНЗИН-КОНВЕРТИРАЦИЯ ЕНЗИМ

Иванов П.^{1,2}, Конова Е.^{2,3}, Комса-Пенкова Р.¹, Ковачева К.⁴, Николов Н.⁵, Симеонова М.⁴, Танчев Ст.⁵

¹ МУ - Плевен, Сектор Биохимия

² Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

³ Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

⁴ МУ - Плевен, Сектор Медицинска Генетика

⁵ МУ - Плевен, Катедра Акушерство и гинекология

Балансът между коагулация и фибринолиза е един от ключовите процеси свързани с имплантацията на човешкия ембрион. Ангиотензин-конвертиращия ензим (ACE) регулира активността на плазминоген активатор инхибитор тип 1, който директно опосредства протеолитичната активност на трофобласта по време на имплантацията. Промените в активността на ACE могат да нарушат трофобластната активност и с това да са причина за ранна (преди развитието на плацентата) загуба на плода.

Това изследване проучва връзката между носителството на полиморфизъм I/D в гена на ACE, повишаващ активността на ензима и риска от загуба на плода между 10 и 14 седмица на бременността.

Седемдесет и една жени с две или повече загуби на плода между 10 и 14 седмица на бременността и 75 жени без усложнения на бременността с поне една бременност завършила с раждането на живе доношен плод бяха изследвани за носителство на полиморфизъм I/D в гена на ACE.

Генотип DD по полиморфизма беше установен съответно в 31% и 24% от жените с повторна загуба на бременността и контролна група. Хетерозиготното носителство (генотип ID) се установи съответно в 47,9% и 54,7%. Съобразно доминантен модел на сравнение DD генотипа преобладаваше несигнификантно сред изследваната в сравнение с контролна група (OR=1,42, 95% CI (0,64-3,15)).

I/D полиморфизмът в гена на ACE може да се определи като допълнителен фактор повлияващ риска от ранна загуба на плода. Неговото значение може да се оцени след вземане предвид влиянието на други придобити и вродени фактори имащи значение за процеса на имплантация на ембриона.

Ключови думи: ACE полиморфизъм, повторни загуби на плода, имплантация.

PREPLACENTAL PREGNANCY LOSS IN CASES OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INSERTION/DELETION POLYMORPHISM

Ivanov P.^{1,2}, Konova E.^{2,3}, Komsa-Penkova R.¹, Kovacheva K.⁴, Nikolov N.⁵, Simeonova M.⁴, Tanchev St.⁵

¹ Department of Biochemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

² Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

³ Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan, Bulgaria

⁴ Department of Medical genetics, Medical University, Plevan, Bulgaria

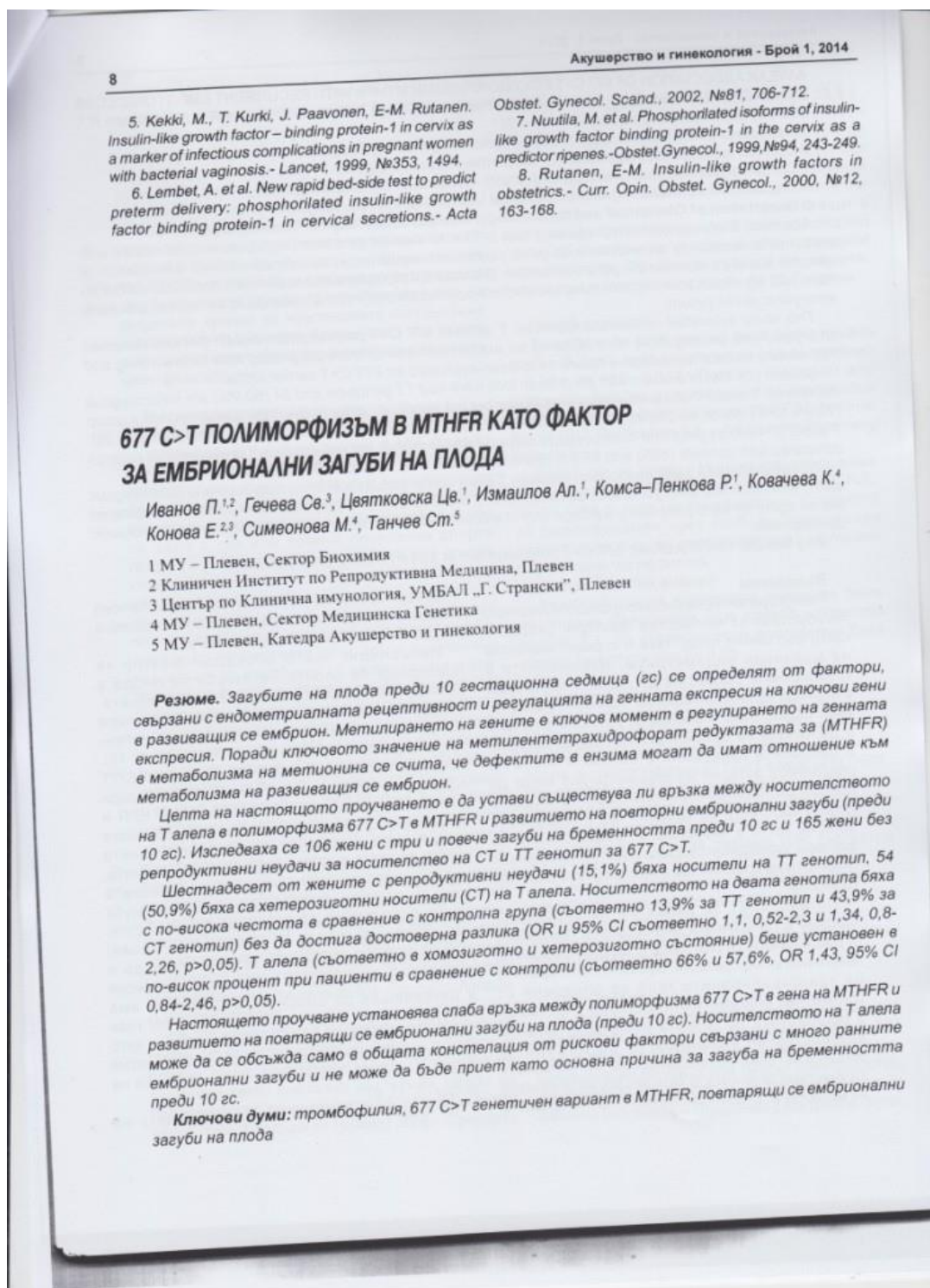
⁵ Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Plevan, Bulgaria

The balance between coagulation and fibrinolysis processes is critical for establishment and development of early pregnancy. Angiotensin-converting enzyme (ACE) is related with plasminogen activator inhibitor-1 activity which is a key regulator in embryo implantation. Therefore polymorphisms in ACE gene and variation in ACE activity could be associated with an early pregnancy wastage risk.

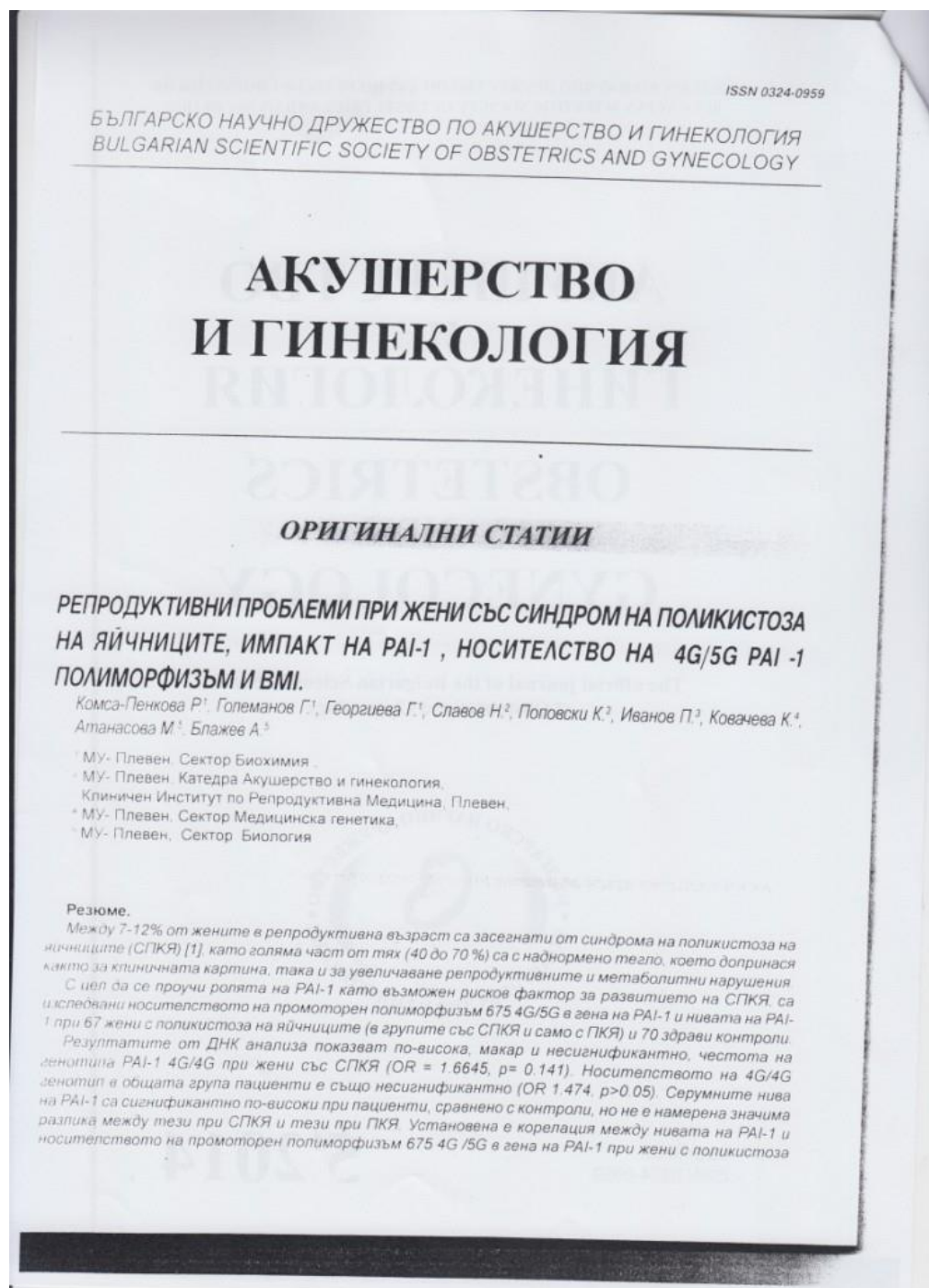
This study investigated carrier status for insertion/deletion (I/D) polymorphism in intron 16 of ACE gene in 71 women with two or more pregnancy loss in preplacental period (between 10 and 14 weeks of gestation) and 75 women without pregnancy complications.

DD genotype for I/D polymorphism was found respectively in 31% and 24% in patients and controls.

91. Ivanov P, Gecheva S, Tsvyatkovska T, Izmailov A, Komsa-Penkova R, Kovacheva K, Konova E, Simeonova M, Tanchev S. A weak association of 677 C>T polymorphism in MTHFR with recurrent embryonic loss. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2014;53(1):8-12. (SJR 0.124).



92. Комса-Пенкова Р., Големанов Г., Георгиева Г., Славов Н., Поповски К., Ковачева К., Атанасова М., Блажев А. Репродуктивни проблеми при жени със синдром на поликистоза на яйчниците, импакт на PAI-1, носителство на 4G/5G PAI-1 полиморфизъм и BMI. *Акушерство и Гинекология*. Volume 53(6): 15-21. ISSN 0324-0959: 05.2014. (SJR 0.124).



93. Ivanov P, Ivanov P, Gacheva S, Konova E, Komsa-Penkova R. Implication of PAI-1 4G/5G polymorphism in recurrent implantation failure after IVF. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2014; 53(3):25-9. (SJR 0.124).

ПОЛИМОРФИЗЪМ 4G/5G В ГЕНА НА PAI-1 КАТО РИСКОВ ФАКТОР ПРИ ПОВТОРНИ ИМПЛАНТАЦИОННИ ЗАГУБИ СЛЕД IVF

Иванов П.^{1,2}, Иванов Вл.³, Гечева Св.⁴, Конова Е.^{2,4}, Комса - Пенкова Р.¹,
Рилчева В.², Симеонова М.⁵, Николов Н.⁶

¹ МУ - Плевен, Сектор Биохимия

² Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

³ Централна клинична лаборатория, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

⁴ Център по Клинична имунология, УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен

⁵ МУ - Плевен, Сектор Медицинска Генетика

⁶ МУ - Плевен, Катедра Акушерство и гинекология

Резюме

Процесът на имплантация на човешкия зародиш се свързва с активиране на коагулацията, натрупване на фибрин, фибринолиза и деструкция на извънклетъчния матрикс в ендометриума. Инхибиране на фибринолизата се наблюдава в случаите на повишени нива на плазминоген активатор инхибитор тип 1 (PAI-1). Настоящото проучване проследява възможната връзка между повишените нива на PAI-1, вследствие носителство на полиморфизъм (PL) 4G/5G в гена на протеина и развитието на повтарящи се имплантационни загуби при жени с неуспешни IVF процедури.

Шестдесет и една жени с два или повече неуспешни IVF процедури, при които е направен трансфер на ембриони с добър потенциал за развитие и 97 жени без репродуктивни неудачи бяха изследвани за носителство на PL 4G/5G (генотип 4G/4G) и повишени титри на антитела срещу кардиолипини и бета2-гликопротеин (класове IgG и IgM).

Около два пъти по-високо носителство на генотип 4G/4G се установи при жените с повторни неуспешни IVF процедури в сравнение с това в контролна група (съответно 41% и 26.8%, OR 1.9, 95%CI 0.91-3.96, $p=0.09$). След изключване на жените с повишени титри на антитела към фосфолипиди, процента на носителство на генотип 4G/4G остана незначително променен (съответно при пациенти и контроли 42.1% and 26.8%, OR 1.99, 95%CI 0.94-4.21, $p=0.075$).

Повишените нива на PAI-1 вследствие на полиморфизъм в гена на фактора са вероятно свързани с имплантационни загуби след IVF процедура. Резултатът от изследването трябва да се обсъжда в комплекс с останалите множество фактори повишаващи риска от много ранните загуби на бременността след IVF.

Ключови думи: плазминоген активатор инхибитор тип 1, повторни имплантационни загуби, IVF.

IMPLICATION OF PAI-1 4G/5G POLYMORPHISM IN RECURRENT IMPLANTATION FAILURE AFTER IVF

Ivanov P.^{1,2}, Ivanov Vl.³, Gecheva Sv.⁴, Konova E.^{2,4}, Komsa-Penkova R.¹,
Rilcheva V.², Simeonova M.⁵, Nikolov N.⁶

¹ Department of Biochemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

² Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

³ Clinical laboratory, University Hospital of Plevan, Bulgaria

⁴ Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan, Bulgaria

⁵ Department of Medical genetics, Medical University, Plevan, Bulgaria

⁶ Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Plevan, Bulgaria

Abstract

During implantation, an accurate balance of coagulation, fibrin deposition and fibrinolysis is mandatory for trophoblastic invasion. Inhibition of fibrinolysis after increased activity of plasminogen activator inhibitors such as PAI-1 could impair proper deep trophoblastic invasion. This study investigated correlation between increased PAI-1 levels due to gene polymorphism (PL) 4G/5G and recurrent implantation failure after IVF procedure.

94. Komsa-Penkova, R., G. Golemanov, B. Tsankov, L. Beshev, P. Ivanov, P. Tonchev, T. Andreeva, S. Todinova, SND rs1799889(-) in the promotor of the plasminogen activator inhibitor – 1 gene contributes to the risk of dvt in women. JOURNAL OF BIOMEDICAL AND CLINICAL RESEARCH (JBCR), Vol. 8 number 2, 2015.

J Biomed Clin Res Volume 8 Number 2, 2015

Original Article

SND rs1799889(-) IN THE PROMOTOR OF THE PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 GENE CONTRIBUTES TO THE RISK OF DVT IN WOMEN

Regina S. Komsa-Penkova,
Georgi M. Golemanov,
Boris D. Cankov¹,
Lubomir C. Beshev¹,
Petar D. Ivanov²,
Pencho T. Tonchev¹,
Tonja D. Andreeva³,
Svetla J. Todinova³

Department of Biochemistry,
Medical University - Pleven

¹Department of Surgery,
Medical University - Pleven
²Clinical Institute for Reproductive
Medicine - Pleven

³Institute of Biophysics and
Biomedical Engineering,
Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia,
Bulgaria

Summary

The incidence of deep venous thrombosis (DVT) depends on the specific genotype, inheritance of prothrombotic polymorphisms and the influence of environmental risk factors. Rs1799889(-) polymorphism in the promotor of PAI-1 gene has been described as a risk factor for hypercoagulable state. Objective: To evaluate the contribution of thrombophilic rs1799889 (-) in the promotor of PAI-1 gene on the incidence of DVT in women and men in groups below and above 45 years of age. There was significantly higher rs1799889 (-) polymorphism carriage among female patients with DVT vs controls (Chi squared = 5.506, OR = 2.170, p = 0.021) but not in male patients (Chi squared = 0.090 OR = 1.147, p = 0.825). A significant contribution of rs1799889 (-) polymorphism to early onset of the disease was found in female patients aged 45+ and carriers of the polymorphism (Chi squared = 7.476, p = 0.006), but not in young women.

Key words: deep venous thrombosis, thrombophilia, Rs1799889(-), PAI-1

Introduction

Deep venous thrombosis is a relatively common but preventable cause of morbidity and mortality worldwide, leading to complications such as pulmonary embolism (PE), post-phlebotic syndrome and death. According to a population based study, deep venous thrombosis (DVT) has an estimate of annual incidence of about 0.67 per 1000 among general populations. The presence of multiple risk factors is a prerequisite for venous thromboembolism (VTE) development with synergistic gene-gene and gene environment interactions, often increasing the risk above the sum of individual risk factors [1]. The most common risk factors associated with VTE are as follows: non-modifiable factors as age and inheritance [2]; modifiable factors of lifestyle (tobacco smoking, obesity, and oral contraceptives), clinical parameters (multiple trauma, major surgery, pregnancy, and central venous catheters) and medical conditions (nephrotic syndrome, myocardial infarction, stroke,

Corresponding Author:
R. Komsa-Penkova
Department of Chemistry and
Biochemistry,
Medical University - Pleven,
1, Sv. Kl. Ohridski Str.
Pleven, 5800
Bulgaria
e-mail: rkomsa@gmail.com

Received: May 11, 2015
Revision received: September 25, 2015
Accepted: December 01, 2015

95. Ivanov P, Konova E, Blajeva S, Lukanov T, Angelova P, Georgieva V, Totev V, Komsa-Penkova R. Sex hormone influence on peripheral natural killer cells count. Akush Ginekol (Sofia). 2015;54(7):3-7. (SJR 0.119)

установи среден брой от 12,1%, вариация от 5,1% и медиана 11,8%. Не се установи статистически значима разлика в средната стойност на броя pNK в двете фази на менструалния цикъл (t-test, $p < 0,05$) въпреки определения по-висок брой на pNK в лутеална фаза на цикъла.

Незначителното вариране на броя на pNK в различните фази на менструалния цикъл отхвърля предположението за изследването на този, свързан с бременността, имунологичен фактор в специфична фаза на цикъла.

Ключови думи: NK клетки, менструален цикъл, естрадиол.

Проучването е финансирано от Медицински Университет – Плевен.

SEX HORMONE INFLUENCE ON PERIPHERAL NATURAL KILLER CELLS COUNT

Ivanov P.^{1,2}, E Konova^{2,4}, Tsv. Lukanov³, Sv. Blajeva³, P. Angelova⁴, V. Georgieva⁵, V. Totev⁴, R. Komsa-Penkova¹

¹ Department of Biochemistry, Medical University, Plevan, Bulgaria

² Clinical Institute for Reproductive Medicine, Plevan, Bulgaria

³ Center of Clinical Immunology, University Hospital of Plevan, Bulgaria

⁴ Department of Medical genetics, Medical University, Plevan, Bulgaria

⁵ Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University of Plevan, Bulgaria

⁶ SBALAG "St. Marina", Hospital, Plevan, Bulgaria

Summary. Proper evaluation of immunological factors connected with pregnancy establishment increased the possibility for exact treatment in high risk gestation cases. Hormonal changes during an ovarian cycle may affect immune response, which is crucial for the embryonic implantation. Peripheral Natural killer (pNK) cells are key components of immune systems and their activities could be regulated by sex hormones.

In the present study we investigated the effects of estrogen fluctuation on the number of NK cells in vivo during the early follicular and middle luteal phase of menstrual cycle.

In 63 healthy women with at least one full term pregnancy and regular menstrual cycle with duration between 24 and 32 days, blood samples have been collected twice for investigation of CD3/CD16/CD56 positive lymphocytes.

The mean pNK count in follicular phase was 11.6% with 4.7% variation. The median was 10.6%. The mean pNK count in luteal phase was 12.1% with 5.1% variation, respectively median for cell number 11.8%. The two-tailed t-test comparison did not find any statistical difference despite the slight elevation of pNK cells count in luteal phase.

The insignificant variation in pNK cells count objected the suggestion to evaluate immunological status in women with adverse pregnancy outcome in specific phase of menstrual cycle.

Key words: NK cells, menstrual cycle, estradiol.

This investigation was supported by grant of University of Medicine – Plevan.

ВЪВЕДЕНИЕ

Част от неспецифичният имуен отговор при човека се оказва тясно свързан с възникването и развитието на ранната бременност. Natural killers (NK) клетки представляват основната част (около 70-80%) от левкоцитите в ендометриума, особено в неговата втора фаза – лутеална. Децидуалните или утеринни NK клетки (uNK клетки), които се определят като производни на периферните NK клетки (pNK клетки) са основен фактор в процеса на контролиране на трофобластната инфазия и ремоделирането на съдовото русло разположено в ендометриума и т.нар. junctional zone на миометриума. NK клетките чрез отделяните от тях цитокини и комуникацията с трофобластта имат ключова роля в развитието на имunosупресивни и имуномодулиращи процеси в ендометриума, които

определят т.нар. Th2 имуен отговор, така важен за установяването и развитието на бременността между четвърта и десета гестационна седмица (1).

Регулацията на активността на pNK клетки се оказва свързана, както с имунни, така и с фактори извън имунната система. Наред със значението на секретираниите от В клетъчната популация цитокини се счита че директно влияние върху броя и активността на NK клетките оказват женските полови хормони, в частност нивото на 17 бета естрадиола. При човека, както и при повечето бозайници се установяват два основни вида естрадиолови рецептори: алфа и бета. В женската половова система са заложили основно бета естрадиоловите рецептори. По същество те са структурно и функционално много подобни на другите рецептори за стероидни хормони:

96. Комса-Пенкова Р., Ковачева К., Иванов П. „Фетални загуби на периода на узряване на плацентата и връзката им с някои прокоагулационни нарушения“. Акушерство и Гинекология. Vol.55, number 5, 2016г. (SJR 0.133)

ISSN 0324-0959

БЪЛГАРСКО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
BULGARIAN SCIENTIFIC SOCIETY OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

ФЕТАЛНИ ЗАГУБИ В ПЕРИОДА НА УЗРЯВАНЕ НА ПЛАЦЕНТАТА И ВРЪЗКАТА ИМ С НЯКОИ ПРОКОАГУЛАЦИОННИ НАРУШЕНИЯ

Комса-Пенкова Р.¹, К. Ковачева², П. Иванов³

МУ-Плевен

¹ МУ-Плевен, Сектор Биохимия,

² МУ-Плевен, Сектор Медицинска генетика,

³ Клиничен Институт по Репродуктивна Медицина, Плевен

Резюме

Сред основните причини и рискови фактори за фетални загуби са някои хромозомни аномалии, генетични синдроми, плацентарни аномалии, тромбофилия (FVL, FII G20210A, C677T MTHFR, PAI-1 4G/5G), инфекции и възпаление (IL-3, IL-4, IL-17, IL-10), антифосфолипиден синдром, майчините заболявания, като хипертония, диабет и затлъстяване. Бременността е протромботично състояние, в резултат от специфични физиологични промени, с мултифакторна етио-патогенеза, водещо до увеличаване на прокоагулантните фактори и структурни промени, свързани със стаза, възпалителна компонента и допълнително участие на индивидуални генетични и придобити рискови тромбофилични фактори. Познаването на механизмите на молекулярен контрол върху процесите на ембриогенеза, плацентация и фетално развитие и участието в тях на факторите на хемостаза, възпаление и апоптоза, позволяват прилагането на подходяща терапия и повишават шанса за успешно завършване на бременността.

Ключови думи: фетални загуби, възпаление, тромбофилични фактори, апоптоза, микрочастици

Контакт: Р. Комса-Пенкова, rkomsa@gmail.com

97. Komsa-Penkova R, Andreeva T, Krumova S, Taneva S, Golemanov G, Georgieva G, Tonchev P, Mihaylova N, Tchorbanov A, Todinova S. Alterations in platelet activity and elasticity modulus of healthy subjects, carriers of G20210A polymorphism in the prothrombin gene. JOURNAL OF BIOMEDICAL AND CLINICAL RESEARCH (JBCR), Vol. 9 number 1, 2016.

Original Article

ALTERATIONS IN PLATELET ACTIVITY AND ELASTIC MODULUS OF HEALTHY SUBJECTS, CARRIERS OF G20210A POLYMORPHISM IN THE PROTHROMBIN GENE

Regina Komsa-Penkova,
Svetla J. Todinova¹,
Tonya D. Andreeva¹,
Sashka B. Krumova¹,
Stefka G. Taneva¹,
Georgi M. Golemanov,
Galia A. Georgieva,
Nikolina M. Mihaylova²,
Andrey I. Tchorbanov³,
Pencho T. Tonchev³

Department of Biochemistry, Medical
University – Pleven, Bulgaria

¹Institute of Biophysics and
Biomedical Engineering, Bulgarian
Academy of Sciences

²Laboratory of Experimental
Immunology, Institute of
Microbiology,

Bulgarian Academy of Sciences

³Department of Surgery, Medical
University – Pleven, Bulgaria

Summary

Platelet activation is a complex process in which platelet reorganization takes place associated with changes in the cell shape, topology, membrane elasticity and microparticle production. The aim of this study was to investigate the changes/aberrations in the platelet activity, elasticity and morphology in healthy subjects, carriers of A allele of prothrombin G20210A polymorphism. Blood samples from 18 healthy subjects were used for platelet analysis by force-mode atomic force microscopy. Restriction analysis was used to investigate the carriage of G20210A polymorphism in the prothrombin gene. Flow-cytometry was applied to evaluate platelet activation. Young's modulus of the plasma membranes of platelets derived from healthy subjects, carriers of variant A allele of prothrombin 20210G>A polymorphism (407±69 kPa) is two times higher than the one determined for non-carriers (195.4±48.7 kPa; $p<0.05$). The background activity of platelets measured as an interrelation of Cd41/Cd61 and CD62 by flow cytometry was also higher in carriers of variant A allele of prothrombin 20210G>A polymorphism (5.0%) than in non-carriers (1.3%). Platelets isolated from healthy carriers of variant A allele of prothrombin 20210G>A polymorphism exhibited a higher level of activity and a higher degree of stiffness at the stage of spreading as compared to platelets from non-carriers.

Key words: platelet activity, elasticity modulus, G20210A polymorphism

Introduction

Platelet activation and spreading represent a multistep process resulting in reorganization of the platelet membrane, cytoskeleton, organelles, as well as a remarkable change in the platelets' shape, occurring at distinct morphological steps [1, 2]. On activation, platelets undergo a remarkable shift from anucleate 2-5 μm discs to smaller spheres with extended actin-rich lamellae and filopodia [3]. Platelets possess particular nano-mechanical properties and might exhibit either viscous or elastic characteristics determined by the physical state of the cell membrane and other cell components [4]. The alterations in platelet topology and its impact on platelet activity phase/stage are affected by the environment and inheritable factors. The morphology and elasticity of platelets exert a strong

Corresponding Author:

Regina Komsa-Penkova
Department of Biochemistry
Medical University – Pleven
1, St. Kl. Ohridski Str.
Pleven, 5800
Bulgaria
e-mail: rkomsa@gmail.com

Received: June 15, 2016

Revision received: June 24, 2016

Accepted: September 15, 2016

98. Dimitrov B, Gincheva V, Simeonova I, Ivanova A, Petkova M, Gospodinov D, Komsa-Penkova R. Recurrent arterial and venous thrombotic events in a Patient with psoriasis. Impact of pai-1 polymorphism: A Case report. J Biomed Clin Res Volume 9 Number 2, 2016.

Dimitrov B, et al. Recurrent arterial and venous thrombotic events...

Case Report

RECURRENT ARTERIAL AND VENOUS THROMBOTIC EVENTS IN A PATIENT WITH PSORIASIS. IMPACT OF PAI-1 POLYMORPHISM: A CASE REPORT

**Borislav T. Dimitrov,
Veronika H. Gincheva¹,
Iva G. Simeonova²,
Anika I. Ivanova²,
Maria P. Petkova²,
Dimitar K. Gospodinov¹,
Regina Komsa-Penkova**

*Department of Chemistry,
Biochemistry, Physics and Biophysics,
Medical University – Pleven,
Bulgaria*

*¹Department of Dermatology,
Venereology and Allergology,
Medical University – Pleven,
Bulgaria*

*²Student of Medicine,
Medical University – Pleven,
Bulgaria*

Summary

Psoriasis is a chronic autoimmune multisystem disease, mainly affecting the skin and joints. Its origin is related to both environmental and genetic factors. The condition affects 1-3% of the population worldwide. Psoriasis is also associated with cardiovascular risk factors, atherothrombotic events, and markers of hypercoagulation (platelet activation and hyperhomocysteinemia). Venous thromboembolism (VTE) is a widespread severe disease. Both VTE and psoriasis are connected with risk factors for cardiovascular disorders (obesity and hypertension). The incidence of VTE events in patients with psoriasis is higher. Patients with psoriasis should be checked for risk factors (metabolic disorders and cardiovascular diseases). We report a case of a 53-year old man, diagnosed with plaque psoriasis 20 years ago, and a five-year history of hypertension. In 2006, he had a stroke, and in 2011 - a heart attack. In 2013 he was diagnosed with thrombophlebitis. The patient was recently diagnosed with Type II diabetes, dyslipidemia and metabolic syndrome. The DNA analysis revealed that the patient was a homozygous carrier of 4G/4G (rs1799889) polymorphism in plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) – a risk factor for thrombophilia. This case is important because of the major comorbidities, more particularly thrombotic events in combination with a prothrombotic mutation.

Key words: psoriasis, venous thromboembolism, PAI-1, comorbidities, thrombosis

Introduction

Psoriasis is a chronic autoimmune disease with multisystemic manifestations, involving mainly the skin and joints. Its complex origin is associated with environmental and genetic factors. The condition affects 1-3% of the world's population [1]. Psoriasis provokes epidermal hyperproliferation, abnormal keratinocyte differentiation, angiogenesis with inflammation and dilatation of blood vessels due to excess of T-helper cells – Th1 and Th17. It is related to atherothrombotic events, cardiovascular risk factors and increased coagulability markers like activation of platelets and increased homocysteine [2]. Psoriasis has a major influence on the kidneys, lungs and the cardiovascular system. It can be

Corresponding Author:

Borislav T. Dimitrov
Department of Chemistry, Biochemistry,
Physics and Biophysics,
Medical University – Pleven
1, St. Kliment Ohridski Str.
Pleven, 5800
Bulgaria
e-mail: bobi.tsvetanov@gmail.com

Received: December 12, 2016

Revision received: December 19, 2016

Accepted: December 20, 2016

Публикации в български периодични издания, несвързани с дисертациите:

99. Salovski P, Natchev H, Shopova V, Markova M, Stojanov K, Rachin E, Rachina V, Penkova R, Shopova Ts, Grozeva M. Changes in rat lungs upon isolated chronic treatment with sulfur dioxide and in combination with ionizing radiation. Scientific Works of High Medical Institute. 1987, 7, 45-49.

CHANGES IN RAT LUNGS UPON ISOLATED CHRONIC TREATMENT WITH SULFUR DIOXIDE AND IN COMBINATION WITH IONIZING RADIATION

P. Salovsky, H. Nechev, V. Shopova, M. Markova, K. Stoyanov, E. Rachin, V. Rachina, R. Penkova, Tz. Shopova, M. Grozeva

Combined radiation lesions to the organism may occur in break down radiation events, and especially in extreme situations. In many instances ionizing radiation acts against the background of a continuous exposure to rather small doses of toxic compounds. Such is the case of the combination of whole-body irradiation with exposure to sulfur dioxide which is the most widespread chemical agent of atmospheric air pollution. In large industrial centres it is one of the factors underlying the ever increasing incidence rate of chronic pulmonary diseases /5/. We made it our aim to estimate the effect of isolated chronic exposure to sulfur dioxide in combination with 2 and 4 Gy ionizing radiation on certain biochemical, enzymic, cytologic and other parameters in the lungs.

Materials and Methods

The experiment was conducted on 250 male albino rats with 160 ± 20 g/body mass. The animals were distributed into six groups, as follows: I — control, II — irradiated with 2 Gy, III — irradiated with 4 Gy, IV — poisoned with sulfur dioxide, V and VI — exposed to combined treatment with sulfur dioxide + irradiation with 2, respectively 4 Gy. The chemical noxa was administered via inhalation in a dynamic poisoning chamber, at concentration 21.2 mg/m^3 , for 5 hours daily, five times weekly over a period of 4 months. At termination of the poisoning, the animals were subjected to single, whole-body irradiation with ionizing radiation at doses 2 and 4 Gy respectively, using a linear accelerator Neptun 10 P with photon energy 9 Mev and power 2 Gy/minute. Eight animals of each group were sacrificed on the 1st, 5th, 15th, 30th and 60th postirradiation day.

Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was obtained from dissected lung with 5 ml physiological saline, and lung homogenate (LH) — following intracapillary perfusion with physiological saline. Homogenization was done at a 1:10 ratio in 0.25 M sucrose, containing 50 mM Tris-HCl, at pH = 7.4. The listed below investigations were performed: integral — $a/\text{body mass}$, weight coefficient of the lungs; $b/\text{hematologic — leukocyte count}$; $c/\text{in BALF —}$

100. Penkova R, Shopova V, Stojanova A, Salovsky P, Aleksandrova Tz. Effect of external ionizing radiation and CdCl_2 on collagen destruction in rat bronchoalveolar lavage fluid. Scientific Works of Medical University - Pleven. 1992, 14, (1) 21-26.

EFFECT OF EXTERNAL IONIZING RADIATION AND CdCl_2 ON COLLAGEN DESTRUCTION IN RAT BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID

R. Penkova, V. Shopova, A. Stojanova, P. Salovsky, Tz. Alexandrova

Over the past few years, ecological problems arising in various regions worldwide necessitate the undertaking of active researches into the action exerted by certain chemical polluting agents and ionizing radiation on the lungs. So far, conclusive dose-dependent effects, characterized by definite enzyme constellations, have been established /1/.

Affection of some structural elements of the lungs not infrequently results in pulmonary fibrosis development as an ultimate sequel /8/. This explains the particular interest of a great number of investigators in collagen metabolism studies /2, 4, 8, 10/.

Having in mind that this studies usually cover late observation terms, we made it our aim to evaluate enzymic activities linked to collagen destruction, as well as the underlying factors of the disturbed balance between collagen degradation and synthesis in the early terms after exposure to CdCl_2 and ionizing radiation treatment.

Material and Methods

The experiment was conducted on seventy-five male rats of the Wistar breed, with average weight 200 ± 20 g, divided up in one control and three experimental groups, as follows: group one – control, group two – irradiated with 4 Gy radiation, group three – poisoned with CdCl_2 , and group four – exposed to the combined effect of both factors.

CdCl_2 was administered in the form of water solution, introduced via metal probe into the stomach over eight days at dose $1/20 \text{ LD}_{50}$, equivalent to 8.5 mg/kg. External whole-body irradiation at dose 4 Gy was performed a single time immediately after termination of poisoning, using IGUR-1 apparatus, with source radioactive cesium at $R_d = 91.5 \text{ rad/min}$. The animals experimented upon were sacrificed at 1, 5, 15 and 30 post-irradiation day through exsanguination, under sodium pentobarbital narcosis.

Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lavage cells were obtained according to methods previously described /1/. The listed below parameters were followed up:

- a) determination of protein concentration in BALF according to the methods of Lowry and Bredford /7, 3/;
- b) protease activity in BALF and lavage cells according to Peterkovsky /9/;
- c) assessment of collagenase activity in BALF and lavage cells in one of two ways – with stained substrate and by electrophoretic separation of the products /9/.

101. Rashap R., Komsa-Penkova R. Orange gelatin as substrate for express collagenolytic activity determination. Scientific Works of The Medical University of Pleven, Volume XVI, 1996, 12-16.

ORANGE GELATIN AS SUBSTRATE FOR EXPRESS COLLAGENOLYTIC ACTIVITY DETERMINATION

Rimma Rashap¹, Regina Komsa-Penkova²

¹ Institute of Applied Enzymology, Vilnius, Lithuania

² Dept. Chem. Biochem., Medical University of Pleven, Bulgaria

ABSTRACT. An express method for determination of collagenase activity utilizing dye-labeled gelatin is proposed. For the purpose, gelatin was labeled with the dye active orange, under soft conditions. The substrate obtained was assessed with collagenase produced from *Clostridium histolyticum* and proteases: trypsin and subtilisin DY. The kinetic parameters obtained for *Clostridium histolyticum* and orange gelatin substrate - K_M 25 μM and k_{cat}/K_M $41.1 \times 10^2 \mu M/min^{-1}$, are comparable with those found for native collagen, and show high sensitivity and affinity of collagenase to orange gelatin. The dye-labeled gelatin does not possess high specificity for collagenases such as collagen, but its sensitivity to protease action is significantly lower as compared to reference azocoll method. The proposed method features the following advantages: it is a sensitive, short and versatile procedure and allows direct spectrophotometric product registration. It can be used for express measurement of a large number of samples.

KEY WORDS: orange gelatin, collagenase activity, express method

Collagenases (EC 3.4.24..) are highly specific proteases degrading the native collagen molecule. However, high specificity of collagenases makes it difficult to find an assay method for them. The methods used can be divided into three large groups. The first are two-stage methods with native substrate, using additional specific assays for digestion product registration (1,5). These methods are specific, but time- and effort-consuming. The second group of methods use fluorescence (6) or radio-labeled (3) collagen. They are more available, but the substrate preparation and products registration are effort-consuming and expensive procedures. The third group use synthetic chromogenic substrates (7), containing amino acid sequence identical to those in collagenase sensitive region of collagen. The methods in the third group are rapid and convenient for everyday work, but possess a low specificity.

The aim of the study was to find an express, yet sufficiently specific method for collagenase activity testing, applicable to a

large number of samples and accessible for investigating the efficiency of a variety of chromatographic techniques and other procedures in enzyme isolation and purification. For the purpose, we used dye labeling of gelatin - soluble denatured collagen, as it possesses the advantages of the easy reaction products registration. Moreover, its solubility makes the measurements more convenient. As a reference method the labeled, denatured, insoluble substrate -azocoll (2) was used.

MATERIALS AND METHODS

Collagenase from *Clostridium histolyticum*, Type XI, 1200 digestion units (Cl.hyst.), trypsin, Tris, gelatin and azocoll were purchased from Sigma. Other reagents used were of analytical grade.

Substrate labeling: Active orange GT with brute formula $C_{19}H_{17}N_2O_{14}S_4Na$; M_W 648.58 and molar absorption coefficient ϵ_{490} $2.02 \cdot 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ was used. Gelatin (1.0g) was swelled in 40 ml dH_2O for 2 hrs at room

102. Бакърджиева К, Е Мекенян, И Герчев, Н Станчева, С Тишева, Р Комса-Пенкова: Докозахексасеновата и ейкозапентаеновата киселина-значението им за артериалната хипертония, "Българска Кардиология", 2011, том XVII, бр.1, 20-25

	БЪЛГАРСКА КАРДИОЛОГИЯ ТОМ XVII, 2011, № 1	ОБЗОРИ REVIEWS
ДОКОЗАХЕКСАЕНОВАТА И ЕЙКОЗАПЕНТАЕНОВАТА КИСЕЛИНА – ЗНАЧЕНИЕТО ИМ ЗА АРТЕРИАЛНАТА ХИПЕРТОНИЯ		
К. Бакърджиева¹, Е. Мекенян¹, И. Герчев¹, Н. Станчева¹, С. Тишева¹ и Р. Комса-Пенкова²		
¹ Катедра по кардиология, пулмология и ендокринология, МУ – Плевен		
² Катедра по химия, биохимия, физика и биофизика, МУ – Плевен		
DOCOSAHEXAENOIC AND EICOSAPENTAENOIC ACIDS – IMPLICATIONS FOR HYPERTENSION		
K. Bakardzhieva¹, E. Mekenyan¹, I. Gerchev¹, N. Stancheva¹, S. Tisheva¹ and R. Komsa-Penkova²		
¹ Department of Cardiology, Pulmology and Endocrinology, MU – Pleven		
² Department of Chemistry, Biochemistry and Physics, MU – Pleven		
Резюме:	Хипертонията е важен и безспорен рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания. Проучени са многобройни фактори от околната среда, начина на живот, както и от вътрешната среда на организма, за които има категорични доказателства, че повишават риска от възникване на артериална хипертония. За други фактори, като например нивото на DHA (докозахексасенова киселина) и EPA (ейкозапентаенова киселина) в диетата, все още са в процес на изследване. През последните две десетилетия се натрупаха данни, доказващи важното значение на полиненаситените мастни киселини (ПНМК или PUFA) за нормалното протичане и баланса между физиологичните и патологичните процеси в организма. PUFA в състава на фосфолипидите и други сложни липиди изпълняват важни пластични и регулаторни функции, участвайки в структурата на биомембраните. Съществуват доказателства за връзката между нивото на DHA и EPA в диетата на спонтанно хипертензивни плъхчета и развитието на хипертония при тези експериментални модели, както и резултати от епидемиологични проучвания сред популации от хора, в чиято диета съдържанието им е по-високо.	
Ключови думи:	артериална хипертония, DHA, EPA, полиненаситени мастни киселини	
Адрес за кореспонденция:	Д-р Красимира Бакърджиева, докторант, Клиника по кардиология, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, бул. „Г. Кочев“ 8А, Плевен, тел.: 064 886140, GSM: 0893444398, e-mail: kbakardzhieva@abv.bg	
Summary:	Hypertension is an important and indisputable risk factor for cardiovascular disease. Studied are numerous environmental factors of the life-style and the internal environment of the organism for which there is a clear evidence that increase the risk of hypertension. Other factors, i.e. the level of DHA and EPA in the diet, are still accumulating evidence. Over the past two decades data have been accumulated demonstrating the important plastic and regulatory role of polyunsaturated fatty acid: (PUFA) as a component of the biomembranes in the organism. There is an evidence of the relationship between DHA and EPA levels in the diet of spontaneously hypertensive rats and the development of hypertension in these experimental model as well as results of epidemiological studies in human populations, in whose diet the DHA and EPA contents are higher.	
Key words:	hypertension, DHA and EPA polyunsaturated fatty acids	
Address for correspondence:	Krassimira Bakardzhieva, M. D., Department of Cardiology, UMHAT „G. Stranski“, 8A „G. Kochev“, Pleven, tel.: 064 886140, GSM: 0893444398, e-mail: kbakardzhieva@abv.bg	
Хипертонията е важен и безспорен рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания [7]. Според последните проучвания в България 42,8% от мъжете и 39,7% от жените на възраст между 25- и 64-годишна възраст са с артериална хипертония. Около 2 250 000 души (30-31% от българското население) имат повишени стойности на артериалното налягане [1]. Проучени са многобройни фактори от околната среда, стила и начина на живот, както и от въ-		

103. Бакърджиева К, Ф Григоров, Р Комса-Пенкова: LC_PUFA, генетични полиморфизми и артериална хипертония. МП-Сърдечно-съдови заболявания, 2, 2011 г. 24-27.

ОБЗОРИ
REVIEWS

LC-PUFA, ГЕНЕТИЧНИ ПОЛИМОРФИЗМИ И АРТЕРИАЛНА
ХИПЕРТОНИЯ

К. БАКЪРДЖИЕВА¹, Ф. ГРИГОРОВ¹ И Р. КОМСА-ПЕНКОВА²

¹Катедра по кардиология, пулмология и ендокринология

²Катедра по химия, биохимия, физика и биофизика, Медицински университет – Плевен

LC-PUFA, GENETIC POLYMORPHISMS AND HYPERTENSION

K. BAKARDZHEVA¹, F. GRIGOROV¹ AND R. KOMSA-PENKOVA²

¹Department of Cardiology, Pulmology and Endocrinology

²Department of Chemistry, Biochemistry, Physics and Biophysics, Medical University – Plevan

Резюме. Маслнокиселияният състав на клетъчните мембрани има важна роля в редица процеси и е свързан с етиологията на многофакторни заболявания. Клетките на човешкия организъм са загубили способността да синтезират някои дълговерижни полиненаситени мастни киселини (LC-PUFA), като линолевата (LA) и алфа-линоленовата (ALA). Поради този факт те са незаменими или есенциални за човека и трябва да се приемат с храната. LC-PUFA имат важно значение за нормалното протичане и баланса между физиологичните и патологичните процеси в организма, участвайки в процесите на клетъчен сигналинг, регулация на генната експресия, посредством нуклеарните PPAR или GSP рецептори. Като субстрати на COX ейко-/запентаеновата (EPA) и докозахексаеновата (DHA) са прекурсори на биологично активните ейко-/докозаноиди и съответно на проинфламаторните фактори, като простагландини, простациклини, левкотриени и тромбоксани или антиинфламаторните резолвини, протектини и др. Чрез тези механизми те повлияват процесите на апоптоза, гладкомускулна пролиферация, съдово ремоделиране и стареене, които са в основата на патогенезата на артериалната хипертония. Наличността на LC-PUFA има ключова роля за здравето и зависи както от хранителния прием, така и от ендогенния синтез от есенциални предшественици. Полиморфизми в гените на участващите десатурази FADS1 и FADS2 също така имат влияние върху нивата на LC-PUFA. В експериментални модели на спонтанно хипертензивни плъхчета е установена връзка между нивото на DHA и EPA в диетата им и развитието на хипертония. Резултатите от епидемиологични проучвания сред популации от хора с високо съдържание на LC-PUFA в диетата също отчитат ефекта им върху хипертонията.

Ключови думи: артериална хипертония; DHA, EPA, десатурази на мастните киселини, генетични полиморфизми

Summary. Fatty acid composition of cell membranes plays an important role in many processes and is related to the etiology of multifactorial diseases. Human cells have lost the ability to synthesize some of the long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) such as linoleic (LA) and alpha-linolenic acid (ALA). For this reason they are essential to humans and should be taken with food. PUFA are important for the balance between physiological and pathological processes in the body. They are involved in the cellular signaling and regulation of gene expression through coupling with PPAR or GSP receptors. As substrates for COX, eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) are precursors of biologically active eico-/docosanoids and like proinflammatory factors such as prostaglandins, prostacyclin, leukotrienes and thromboxanes, or antiinflammatory factors – resolvins, protectins etc. Through these mechanisms they affect the processes of apoptosis, smooth muscle proliferation, vascular remodeling and aging that underlie the pathogenesis of hypertension. Availability of LC-PUFA plays a key role in health and depends both on dietary intake and endogenous synthesis. Variants in FADS1 FADS2 genes also affect the levels of LC-PUFA. In experimental models of spontaneously hypertensive rats, the relevance between levels of DHA and EPA in their diet and the development of hypertension is established. The results of epidemiological studies in populations of people with a high content of PUFA in the diet also support their effect on hypertension.

Key words: hypertension; DHA, EPA, fatty acid desaturases, genetic polymorphisms

Обезитет, артериална хипертония, PUFAs

К. Бакърджиева¹, Г. Найденова¹, Р. Комса-Пенкова², М. Цекова¹

¹Катедра по кардиология, пулмология и ендокринология

²Катедра по химия, биохимия, физика и биофизика, МУ - гр. Плевен

Нарастващата честота на обезитета и метаболитния синдром през последните години е обезпокояващ факт. Активирането на възпалителните процеси, което при други условия е нормална защитна реакция на организма, стои в основата на този сериозен проблем. Вероятно има повече от една причина за тригерирането на този патогенетичен механизъм. До момента се приема, че метаболитното претоварване на адипоцитите води до дисфункция на клетъчните им органи и абнормна реакция от тяхна страна, генерираща порочен кръг, в който централно място заема повишената продукция на проинфламаторни субстанции.

Ключови думи: обезитет, артериална хипертония, метаболитен синдром, PUFA, възпаление.

В хода на еволюцията в диетата е съществувал баланс между приема на омега-3 (ω -3) и омега-6 (ω -6) полиненаситени мастни киселини (PUFAs). Десетки години съотношението ω -6: ω -3 в диетата е било 1:1. Днес обаче, особено в т.нар. Западни общества, това съотношение е над 16:1 в полза на ω -6 PUFAs. Арахидоновата киселина (AA) - представител на ω -6 PUFA, е прекурсор на проинфламаторни субстанции, а ейкозапентаеновата (EPA) и докозахексаеновата (DHA), представители на ω -3 PUFA, са прекурсори на антиинфламаторни субстанции. Дисбалансът между про- и антиинфламаторните субстанции би могъл да бъде причина за доказаното хронично нискостепенно възпаление в мастната тъкан при метаболитен синдром.

Обезитетът е глобален проблем, засягащ все повече хора. Честотата му нараства с възрастта, но през последните години все по-често този проблем се наблюдава и в детска възраст. Така например до 2010 г. приблизително 43 милиона деца в света на възраст до пет години са били с наднормено тегло^[1]. Затлъстяването безспорно е свързано с хипертонията, глюкозната метаболитизъм и дислипидемията, които в съчетание оформят т.нар. метаболитен синдром, описан за първи път от Reaven^[2].

■ Връзката между отделните компоненти на метаболитния синдром е безспорна, но кой от тях е водещият, предшестваш останалите?

Различните изследователски групи подчертават значението на един или друг компонент като водещ, от който произлизат останалите. Така например, Американската асоциация по ендокринология подчертава важноста на инсулиновата резистентност като ключов елемент на метаболитния синдром^[3]. Дълги години акцент се поставяше и на затлъстяването като основно патогенетично звено. По-

късно стана ясно, че съществува т.нар. доброкачествено затлъстяване, при което въпреки високите стойности на BMI над 30, рискът от сърдечно-съдови инциденти при тези пациенти остава нисък^[4,5]. През последните години се отделя внимание на т.нар. абдоминално или висцерално затлъстяване и свързаното с него хронично нискостепенно възпаление^[6,7]. Ключовата му роля в патогенезата на метаболитния синдром на този етап е безспорна^[8].

■ Кой е провокиращият момент, водещ до хронично активиране на имунната система и поддържане на нискостепенно хронично възпаление при пациентите с абдоминално затлъстяване и метаболитен синдром?

В широкия смисъл възпалението е физиологичен отговор на организма спрямо увреждащите стимули. В този процес главна роля изпълняват макрофагите в мястото на увредата, които чрез произведените от тях хемокини, цитокини, простагландини, интерлевкини и др. медиатори на възпалението неутрализират увреждащия агент. На следващия етап се осъществява превключване на клетъчния отговор от синтеза на проинфламаторни към синтеза на антиинфламаторни фактори - резолвини и протектини и възстановяване на увредената тъкан^[9]. Клетките, участващи във възпалителния процес претърпяват апоптоза и след фагоцитирането им от макрофагите се осъществява възстановяване на увредените тъкани. Ако някои от тези механизми не функционират пълноценно, възпалителният процес преминава в хронично протичане и имунната система остава продължително активирана.

Според някои автори метаболитното претоварване на адипоцитите, провокирано от съвременната диета, богата

105. М. Иванов, Р. Комса-Пенкова, Б. Стаменов. Ишемичен мозъчен инсулт и генетично детерминирана повишена тромбоцитна агрегация. Невросонология и мозъчна хемодинамика. Том 7/бр.2. 2011.

Ишемичен мозъчен инсулт и генетично детерминирана повишена тромбоцитна агрегация

М. Иванов^{1,2}, Р. Комса-Пенкова², Б. Стаменов¹

¹Катедра по неврология и неврохирургия, Медицински университет – Плевен

²Лаборатория по молекулярна биология и биохимия, Медицински университет – Плевен

Ключови думи:

ишемичен мозъчен инсулт, полиморфизъм, тромбоцитна агрегация, тромбоцитни рецептори

Ишемичният мозъчен инсулт не е хомогенно заболяване. Повечето инсулти са спорадични, резултат на полигенни и мултифакторни влияния, при което множество гени упражняват влиянието си в комбинация с факторите на околната среда. Тромбоцитите имат ключова роля при реализиране на спонтанната хемостаза. Промяната в броя на тромбоцитите или активността на техните рецептори за агрегация и адхезия са част от причините, които заедно с процеси, водещи до директна увреда на ендотелиума, могат да създадат условия за нефизиологично образуване на тромби – състояние, известно като хиперкоагулация или тромбофилия. Известни са полиморфизми в тромбоцитните рецептори, които опосредстват повишена тромбоцитна агрегация и склонност към тромбози при индивидите носители. Изследването за такова носителство и респективно откриването на генетично предразположени индивиди позволява изработване на индивидуален подход за терапия, както и предприемане на превантивни мерки чрез избягване на провокиращи рискови фактори.

Ischemic Cerebral Stroke and Genetic Increased Platelet Aggregation

M. Ivanov^{1,2}, R. Komsa-Penkova², B. Stamenov¹

¹Department of Neurology and Neurosurgery, Medical University – Pleven

²Department of Biochemistry, Medical University – Pleven

Key Words:

ischemic stroke, platelet aggregation, platelet receptors, polymorphism

Ischemic stroke is not a single disease. Most strokes appear to be sporadic. They are thought to arise as a consequence of polygenic and multifactorial influences where multiple genes exert an influence together with the environmental factors.

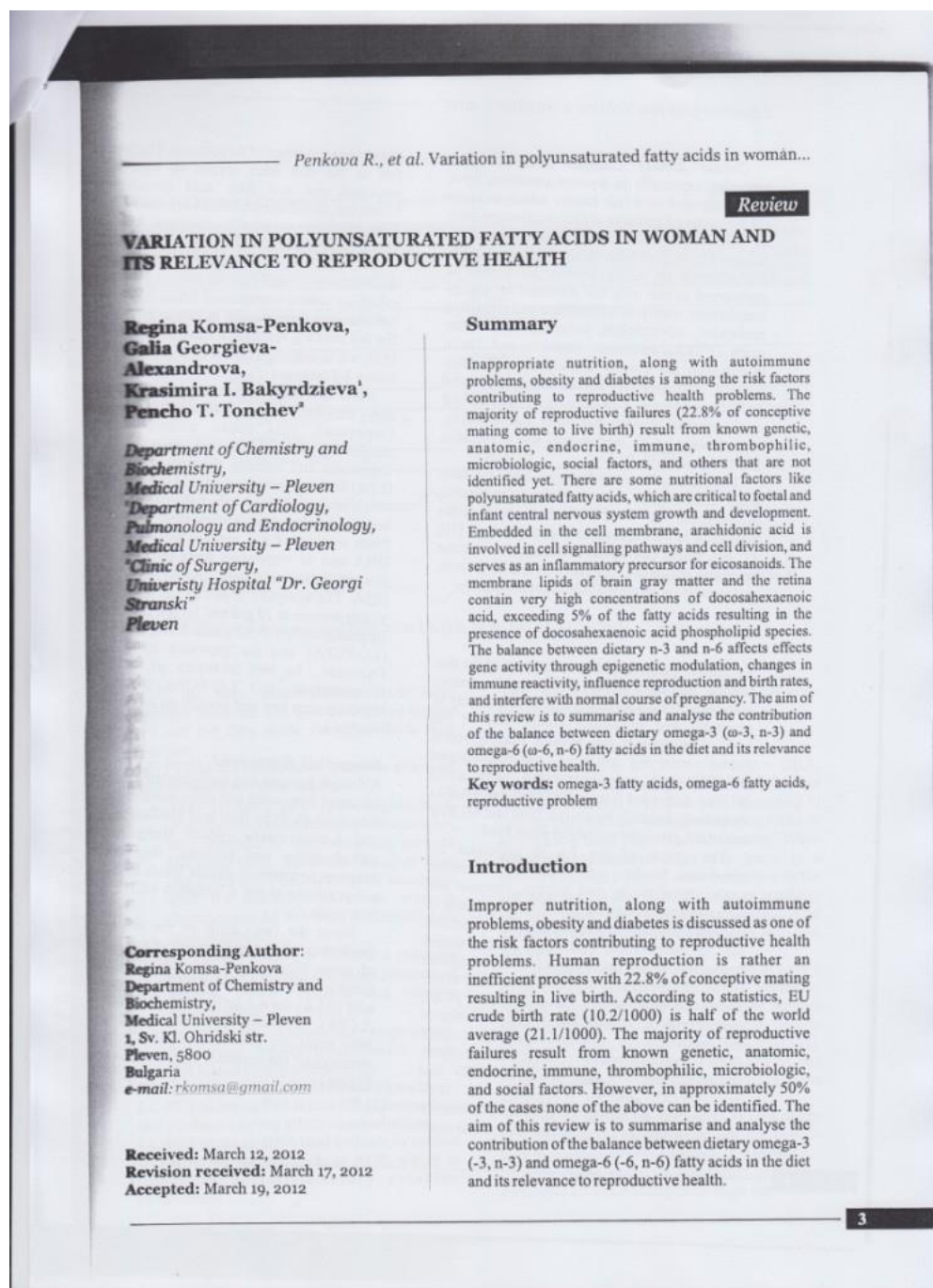
Platelets play key role of spontaneous hemostasis. The change in platelet count or activity of their receptors for aggregation and adhesion are part of the reason that together with the processes leading to direct damage to the endothelium, may create for the formation of abnormally blood clot – a condition known as thrombophilia. Are known polymorphisms in the platelet receptors that mediate platelet aggregation and increased tendency to thrombosis in carriers. Carrier testing and detection of genetically individuals allows the development of personalized therapy and preventive measures by avoiding provoking risk factors.

През последните години е налице тревожна тенденция за поява на мозъчносъдови инциденти в млада възраст. Доказано е, че редица фактори (хиперхолестеролемия, хиперлипидемия, артериална хипертония, хиперхомоцистеинемия и др.) самостоятелно или в съчетание увреждат съдовата стена и увеличават риска от съдови заболявания [1, 3, 29, 34]. Генетично-детерминираният риск за тяхното развитие е обект на интензивни проучвания [6, 27, 35, 36].

In recent years there has been a disturbing trend for the occurrence of cerebrovascular accidents in young age. It has been shown that several factors (hypercholesterolemia, hyperlipidemia, hypertension, hyperhomocysteinemia etc.). Alone or in combination vessel wall damage and increased risk of cardiovascular disease [1, 3, 29, 34]. Genetically determined risk for their development is the subject of intensive studies [6, 27, 35, 36].

Today it is assumed that ischemic stroke is multifactorial sporadic disease in which inheri-

106. Komsa-Penkova, R, G. Georgieva, K. Bakyrdzieva, P. Tonchev. Variation in polyunsaturated fatty acids in woman and its relevance to reproductive health. JBCR, 2012, 1, 3-12.



107. Tonchev P., Iliev S., Bogdanov S., Radev R., Stoikov D., Rachev I., Komsa-Penkova R. A case of ICU treatment of anorexia with BMI<10. Can we afford faster weight gain? JBCR, 2012, 5, 68-73.

Case Report

A CASE OF ICU TREATMENT OF ANOREXIA WITH BMI<10. CAN WE AFFORD FASTER WEIGHT GAIN?

**Pencho T. Tonchev,
Vladimir R. Radev¹,
Sergey.D. Iliev²,
Slavejko H.Bogdanov³,
Radko N.Radev¹,
Dimitar J. Stoikov²,
Strahil A. Strashilov,
Ivajlo P. Rachev,
Regina Komsa-Penkova³**

*First Surgical Clinic, University
Hospital,
Medical University - Pleven
¹ICU, University Hospital,
Medical University - Pleven
²Second Surgical Clinic, University
Hospital,
Medical University - Pleven
³Biochemistry Department,
Medical University - Pleven*

Corresponding Author:
Pencho T. Tonchev
Second surgical clinic
University Hospital – Pleven
8^a, Georgi Kochev str.
5800, Pleven
Bulgaria
e-mail: ptonchev@gmail.com

Received: November 15, 2012
Revision received: November 20, 2012
Accepted: November 27, 2012

Summary

Treating anorexic patient with BMI<10 is a difficult task. Recommendations for nutrition include prescription of daily calories according to the 'starting low and going slow' rule, and a goal for the initial weight gain <1kg /week to prevent a re-feeding syndrome. We present a patient with BMI=8.8 and severe re-feeding syndrome admitted in ICU, with more rapid initial weight gain in 14 days (5kg) under continuous monitoring of vital functions and parameters in ICU. Before transfer to ICU a re-feeding syndrome developed, with liver dysfunction with cytolysis, severe muscle weakness, encephalopathy and neuropathy, bradycardia and hypotension.

Treatment in ICU was 14 days with parenteral, enteral and oral nutrition, correction of electrolyte disturbances and vitamin deficiencies. Human serum albumin and fresh frozen plasma in moderate amounts in the first 10 days were applied. The weight gain for 2 weeks was 5 kg. The electrolytes were balanced, as well as liver tests and vital functions. No signs of edemas and fluid overload were present. The patient was able to sit, stand and walk and was transferred to a gastroenterology department for inpatient treatment. After 2 months a weight of 45 kg (BMI=15) was achieved. The approach to reach greater weight gain by providing protein as human serum albumin and fresh frozen plasma plus enteral nutrition, avoiding high carbohydrates has an important implication for the safety and efficiency of treatment in severely malnourished patients with anorexia nervosa.

Keywords: anorexia nervosa, refeeding syndrome, ICU, albumin

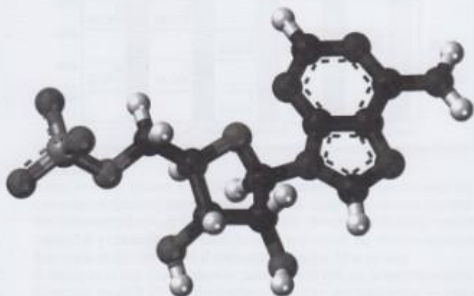
Introduction

Anorexia nervosa (AN) is a severe and chronic disturbance in eating, most common in young women and adolescents. It is characterized by disturbances in eating behavior, excessive concern about body shape or weight, and deliberate weight loss. After 10-year disease about 5-15% of the AN patients die. This is mainly due to malnutrition, and particularly to the restricting type of the disease [1, 2]. AN is the most frequent cause of malnutrition in girls and young women. Body mass index (BMI) lower than 13 kg/m² is common in patients with a

108. Цветкова-Вичева В., Иванов П., Терзиев Л., Гечева С., Комса-Пенкова Р. Генетичен полиморфизъм на ангиотензин конвертиращ ензим при пациенти с алергичен ринит и придружаващи бронхиална астма, медикаментозна и хранителна алергия в българска популация. Медикарт 2013, 6:59-61.

АЛЕРГОЛОГИЯ

Генетичен полиморфизъм на ангиотензин конвертиращия ензим при пациенти с алергичен ринит и придружаваща бронхиална астма, медикаментозна и хранителна алергия в българска популация



В. Цветкова-Вичева, П. Иванов, Л. Терзиев,
С. Гечева, Р. Комса-Пенкова
УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ – Плевен

Въведение
Ангиотензин конвертиращият ензим (ACE) превръща ангиотензин I в ангиотензин II. Последният предпазва кръвообращението от внезапно спадане на кръвното налягане. Хиповолемията е компонент на системните IgE медираните реакции, познати като анафилактични. Антиген анти тяло зависимите алергични реакции от бърз тип се обуславят от масивно освобождаване на фармакологично активни субстанции – хистамин, серотонин, леукотриени и др. от мастоцити и базофили. Установява се, че хистаминолиберацията се влияе и от вътрешни фактори (1). Ренин ангиотензиновата система (РАС) оказва въздействие върху активността и динамиката на хистамина при atopичните реакции. Ангиотензин конвертиращият ензим инактивира брадикинина, субстанция Р и неврокинин А, участва в патогенезата на редица възпалителни болести и се влияе от специфичен генотип. ACE I/D е единичен нуклеотиден полиморфизъм (SNP) на ACE. Генът на ACE е разположен върху 17q23.3 хромозома. Има две алелни форми: въмъкване I или отпадане D на 287 базова двойка в интрон 16 (3). Полиморфизъм ACE I/D регулира експресията на ензима, влияе върху силата на имунологичния отговор и е от съществено значение за клиничната изява на atopичните болести (5). Индивиди, които са хомозиготи по отношение на генотип D (D/D) проявяват висока степен на ензимна активност в сравнение с генотип I (I/I). Към днешна дата поредица от изследвания са фокусирани върху връзката между ACE I/D полиморфизъм и риска от проява на алергичен ринит (АР) (5). Алергичният ринит е типичен представител на atopичните болести, характеризира се с персонална и/или фамилна склонност за развитие на сенситизация към агенти от външната среда и производство на IgE-антитела в отговор на обичайна експозиция на алергени, най-често протеини. Приема се, че АР може да бъде резултат от взаимодействие на генетични фактори. 40% от пациентите с АР имат и придружаваща бронхиална астма (БА). Значителна част от популацията на астма-тиците се представят с клинични и серологични доказателства за atopия (2). В случаите, когато астмата е съпътстващо заболяване, рискът от клинична изява на тежки алергични реакции е по-висок. Не са добре проучени обаче рисковите фактори за развитие на системна анафилаксия при други придружаващи atopични болести. През 1993 г. Hermann и Ring за пръв път показват резултати за възможната роля на РАС в анафилактични реакции, предизвикани от ужиране от насекоми (1). Summers et al. изследват 1094 пациенти със съпътстваща сенситизация към фъстъци и орехи за наличие на клинични и лабораторни параметри, прогнозиращи вероятността за системни анафилактични реакции. Установява се зависимост между серумните концентрации на ACE и склонност към животозастрашаващи реакции (1).
Цел
Проучване честотата на ACE I/D полиморфизъм при болни с алергичен ринит (АР) и/или придружаващи atopични болести – бронхиална астма (БА), медикаментозна алергия (МА) и хранителна алергия (ХА) в българска популация.
Материали и методи
В изследването бяха включени 121 лица (81 пациенти и 40 здрави). Кожноалергично тестване чрез skin prick test (SPT) беше осъществено на пациенти и контроли. Пациентите бяха разделени на 4 групи: I група – с АР, II група – с АР и БА, III група – с АР и МА, IV група – с АР и ХА. Девет от пациентите имаха анамнеза за преживяна анафилактична реакция от медикаменти, а 7 – от храни. Пациентите и контролите бяха генотипизирани чрез алел специфичен PCR метод. D и I алели бяха идентифицирани чрез PCR амплификация на съответните фрагменти от 16 интрон в гена на ACE. ДНК беше екстрахирана от периферна кръв чрез стандартна техника. Използваните праймери имаха следните последователности: 5'CTGGAGACCACTCCCATCTTTCT3', 5'GATGTGGCCATCATTCTGTCAGA3'. Никое от изследваните лица не приемаше ACE инхибитори или ангиотензин рецепторни антагонисти. Chi-square test беше използван за определяне на генотипната честота. Информационно съгласие беше подписано от всички участници в изследването.
Резултати
На табл. 1 са представени демографските характеристики на групите пациенти и здравите лица. По-голяма част от пациентите се представят самостоятелно с АР (48%). Над половината от пациентите (52%) имат асоциирана atopична болест. Най-често придружаващо заболяване е БА (32%). Анализът на SPT показва алергенна сенситизация към инхалаторни, медикаментозни и хранителни алергени при всички пациенти, включени в изследването.
ACE генотипът не се влияе от средната възраст. В групата на АР статистическа разлика по пол се установява при жените и мъжете в сравнение със здравите контроли. Съществено различие по пол в групата на БА се доказва само при мъжете. Таблица 2 представя разпределението на генотипната честота. В групата на АР честотата на D/D, I/D и I/I генотипи респективно е 51,28%, 43,59% и 5,13%. В контролната група кореспондиращите стойности респективно са 25%, 52,5% и 22,5%. D/D генотип

109. Иванов П., Лалева П., Иванов М., Комса-Пенкова Р., Измаилов А., Бешев Л. Вродени промени в тромбоцитната агрегация като рисков фактор за венозна тромбоза. Медицински преглед 50, 2014, № 1, 33-37.

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ
ORIGINAL ARTICLES

ВРОДЕНИ ПРОМЕНИ В ТРОМБОЦИТНАТА АГРЕГАЦИЯ
КАТО РИСКОВ ФАКТОР ЗА ВЕНОЗНА ТРОМБОЗА

П. Иванов¹, П. Лалева², М. Иванов¹, Р. Комса-Пенкова¹, А. Измаилов¹ и Л. Бешев³

¹Сектор „Биохимия“, Медицински университет – Плевен

²Медико-диагностична клинична лаборатория, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, Медицински университет – Плевен

³Клиника по съдова хирургия, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, Медицински университет – Плевен

INCREASED INHERITED PLATELET AGGREGATION
AS A RISK FACTOR FOR VEIN THROMBOSIS

P. Ivanov¹, P. Laleva², M. Ivanov¹, R. Komsa-Penkova¹, A. Izmailov¹ and L. Beshev³

¹Department of Biochemistry, Medical University – Plevan

²Clinical Laboratory, UMBAL „Dr. G. Stranski“, Medical University – Plevan

³Vascular Surgery Unit, UMBAL „Dr. G. Stranski“, Medical University – Plevan

Резюме:

Дълбоката венозна тромбоза (ДВТ) като самостоятелна нозологична единица или усложнение на друг патологичен процес често остава без изяснена причина. Освен известните провокиращи рискови фактори често ДВТ може да е свързана с вродени промени в кръвосъсирването. Наред с типични за венозната тромбоза тромбофилични фактори, като фактор V Leiden (FVL) и мутацията в гена на протромбин (FII G20210 G>A) се обсъждат и други вродени предразположения. Целта на настоящото проучване бе да се изследва значението на носителството на полиморфизъм A1/A2 (PL A1/A2) в тромбоцитния гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) за развитието на дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и приносът на PL A1/A2 за клиничната проява в комбинация с други тромбофилични фактори. Осемдесет пациенти с ДВТ и 103 здрави индивиди бяха изследвани за носителство на PLA2 в GP IIb/IIIa и тромбофиличните фактори фактор V Leiden (FVL) и G20210A мутация в протромбиновия ген (FII G20210A). Установена е сигнификантна разлика в носителството на PLA2 при пациенти с ДВТ в сравнение със здрави индивиди съответно 41,3% и 17,5% (OR: 3,5; 95% CI 1,7-7,4, p = 0,001). Носителството на PL A1/A2 в комбинация с други тромбофилични фактори FVL или FII G20210 G>A значително увеличава честота на ДВТ и значимо намалява възрастта на проява на първия инцидент. При носители на PL A1/A2 в комбинация с FVL или G20210A със статистически достоверна разлика (p = 0,022) се установи, че първият инцидент преди 45-годишна възраст настъпва по-често в сравнение с пациенти, носители само на FVL или FII G20210 G>A. Средната възраст на изява на първия инцидент на ДВТ при пациентите, носители само на FVL или FII G20210A, беше 47,2 г., докато при тези с комбинирано носителство на PL A1/A2 с FVL или FII G20210A беше значимо по-ниска – 36,4 г. В това изследване е установена сигнификантна връзка между носителството на PL A1/A2 и риска от развитието на ДВТ, а също така повишен риск от развитие на ДВТ в млада възраст при носителството на PL A1/A2 в комбинация с други тромбофилични фактори. Използването на PL A1/A2 в панела от тромбофилични изследвания допълнително уточнява риска от развитие на тромбоза при пациенти с ДВТ и има отношение към профилактичните мерки за предотвратяване на следващи инциденти на венозна тромбоза.

110. Михайлова М., Комса-Пенкова Р., Богданов С., Радев Р. Изследване на фруктозамин като иновативен биохимичен показател на гликемичния контрол в периоперативния период – повлияване на фруктозамин от анестетици. Анестезиология и интензивно лечение, Год. XLIV, 42-46, кн.1/2015.

АНЕСТЕЗИОЛОГИЯ И ИНТЕНЗИВНО ЛЕЧЕНИЕ

ИЗСЛЕДВАНЕ НА ФРУКТОЗАМИН КАТО ИНОВАТИВЕН БИОХИМИЧЕН ПОКАЗАТЕЛ НА ГЛИКЕМИЧНИЯ КОНТРОЛ В ПЕРИОПЕРАТИВНИЯ ПЕРИОД - ПОВЛИЯВАНЕ НА ФРУКТОЗАМИН ОТ АНЕСТЕТИЦИ

Михайлова М. *, Комса-Пенкова Р. *, Богданов С. *, Радев Р. *

Сектор Биохимия* МУ-Плевен; Катедра Анестезиология и реаниматология*, МУ-Плевен, България

INVESTIGATION OF FRUCTOSAMINE AS A NEW BIOCHEMICAL MARKER OF THE PERIOPERATIVE GLYCEMIC CONTROL - RESPONSE OF FRUCTOSAMINE TO ANESTHETICS

Mihaylova M. *, Komsa-Penkova R. *, Bogdanov S. L. *, Radev R. *

*Department of Biochemistry, Medical University – Pleven, Bulgaria

*Dep. of Anesthesiology and Intensive care, Medical University, Plevan, Bulgaria

Резюме

Оптимизирането на гликемичния статус в периоперативния период има съществен принос за терапевтичното поведение и прогнозата при пациенти с интензивно лечение. Европейската асоциация по клинична медицина препоръчва изследването на серумна глюкоза при всички хоспитализирани пациенти, а не само при тези със захарен диабет.

Фруктозаминът, маркер на неензимно гликирани серумни белтъци, е интегрален израз на гликемичния статус за кратък ретроспективен период и има информационна значимост по отношение транспортните функции на серумния албумин за медикаменти и анестетици. Собствени изследвания за динамиката на фруктозамин в периоперативния период при пациенти с холелитектомия показват, че пациенти с анестезия Propofol показват по-високи концентрации на фруктозамин в сравнение с други видове анестезия. Въвеждането на фруктозамин като съвременен маркер на гликемичния контрол в периоперативния период би допринесло за оптимизиране на анестезиологичната медикация и нутритивния съпорт.

Abstract

The optimization of glycemic control in the perioperative period is an important part of patient care. According to the ESHM guidelines, serum glucose have to be estimated in patients with or without diabetes mellitus. Fructosamine, a marker of nonenzymatic glycated serum proteins, could be used as an objective integral expression of short-term glycemic control and also as a measure of functional capacity of albumin to bind certain drugs and anesthetics.

The dynamics of the fructosamine levels shows a tendency to elevation in the postoperative period by patients with cholecystectomy. Patients with anesthesia of propofol demonstrate higher levels of fructosamine, than the group with other anesthetics.

The investigations of fructosamine in the perioperative period could be useful for optimization of anesthesia and nutritional support.

Оптимизирането на гликемичния статус в периоперативния период има съществен принос за терапевтичното поведение и прогнозата при пациенти с интензивно лечение. Европейската асоциация по клинична медицина (ESHM) /3/ препоръчва изследването на серумна глюкоза при всички хоспитализирани пациенти, независимо от наличието или не на данни за захарен диабет, като стойности $> 7,8 \text{ mmol/L}$ налагат мониториране с прицелни нива $4.0 - 6.1 \text{ mmol/L}$. Особено внимание се обръща на стрес-индуцирани и медикаментозно-провокирани хипергликемии. Сравнените показатели за верифициране на гликемичния статус включват и тези, отразяващи степента на неензимно гликиране на белтъците - гликиран хемоглобин (HbA_{1c}) и Фруктозамин (ФА).

Биохимичен механизъм на неензимното гликиране на белтъците

Неензимното гликиране (НЕГ) е посттранслационна модификация на белтъците, при която глюкозата се свързва с $\epsilon\text{-NH}_2$ на лизин и $\gamma\text{-NH}_2$ на аргинин, както и с N^α -края на полипептидните вериги, до формиране на лабилна Шифова база (Фиг. 1). Част от образуваните алдими се дегликира спонтанно, а друга се превръща в стабилен реакционен Амадорн-продукт, наречен още кетозамин или фруктозамин /2/. Последващите метаболитни процеси на кетозамините зависят от структурата и полуживота на засегнатия белтък, степента и продължителността на хипергликемията и съпътстващите фактори.

При персистираща хипергликемия, патофизиологичните механизми включват: а) необратими реакции на кондензация и циклизиране

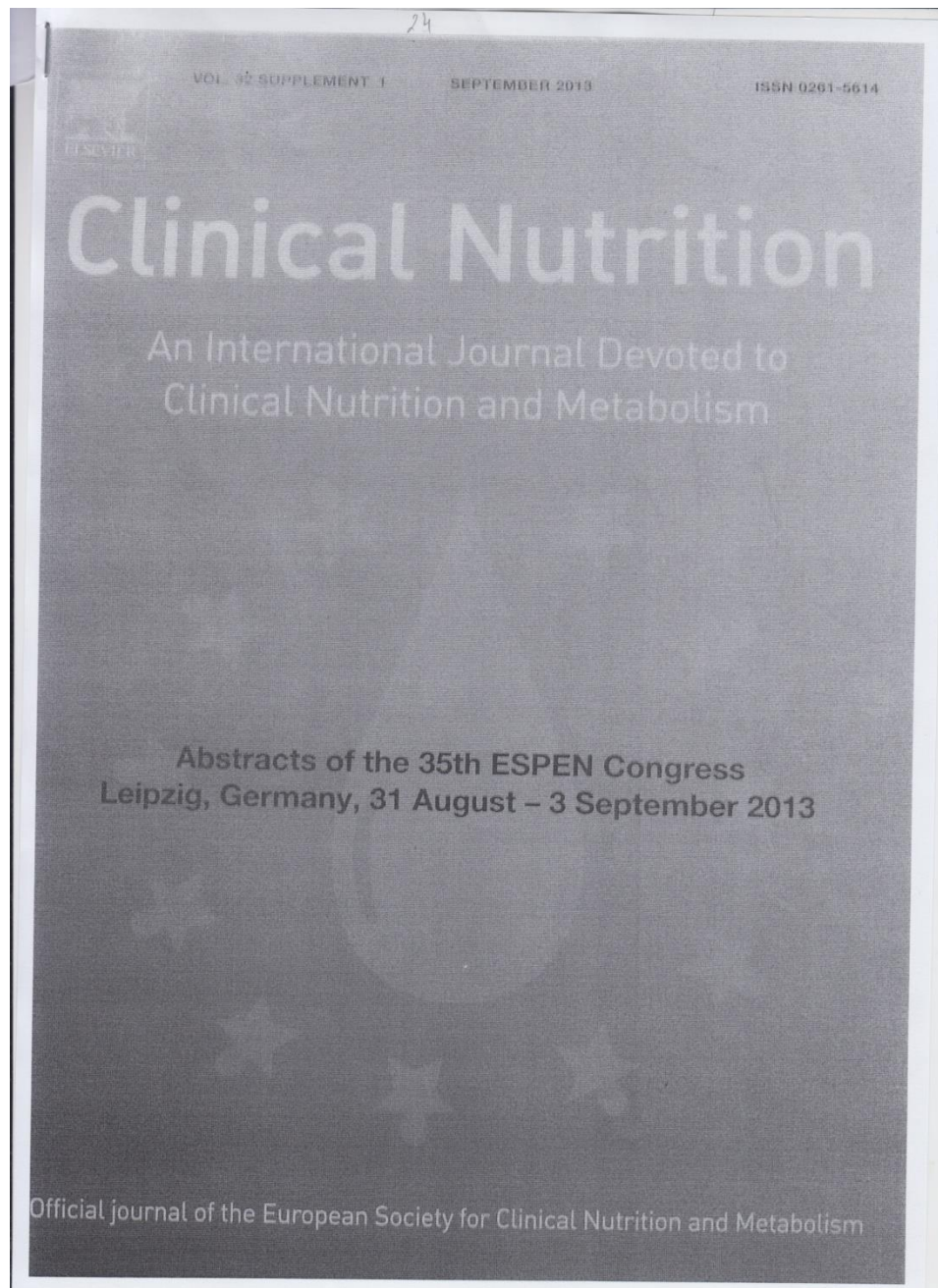
до високомолекулен AGEs (късни продукти на НЕГ); б) пероксидно окисление до карбоксиметилилини, еритронова киселина, лигнанолатат и глицеринова киселина. AGEs са надмолекулярни структури, неподлежащи на протеолитично разграждане и стоят в основата на тъканни дегенеративни процеси при високостепенни персистиращи хипергликемични състояния /55, 30, 12, 10, 31, 52, 49, 15, 31, 51/.



Фигура № 1. Биохимичен механизъм на неензимното гликиране на белтъците

Публикации (пълнотекстови) в сборници от научни форуми в България и чужбина, несвързани с дисертациите:

111. Tonchev P., S. Iliev , R. Komsa Penkova , V. Radev, D. Stoikov .“ A new score combining nrs2002 and post operative score for mortality and complications after GI surgery“ ; Clinical Nutrition 2013 Vol. 32Supplement 1, Page S112. Leipzig, Germany, 31 August-3September 2013 (IF 4.487)



A NEW SCORE COMBINING NRS2002 AND POSSUM OPERATIVE SCORE FOR MORTALITY AND COMPLICATIONS AFTER GI SURGERY

P. T. Tonchev¹, S. Iliev¹, R. Komsa Penkova², V. Radev³, D. Stoikov¹

¹ Dept. Surgery, Medical University of Pleven, BG-5800, Bulgaria

² Dept Biochemistry, Medical University of Pleven, BG-5800, Bulgaria

³ Dept. ICU, Medical University of Pleven, BG-5800, Bulgaria

Rationale: Survival of surgical patients with complications after GI surgery depends on surgery, ICU care and adequate nutrition. Risk evaluation must include assessment of their state before first operation, complexity of surgery and some evaluation of adequacy of nutritional support during first weeks. Purpose of this study: To evaluate novel risk score indices combining POSSUM operative score with elements of NRS2002 and a nutritional debt score in first 9 days.

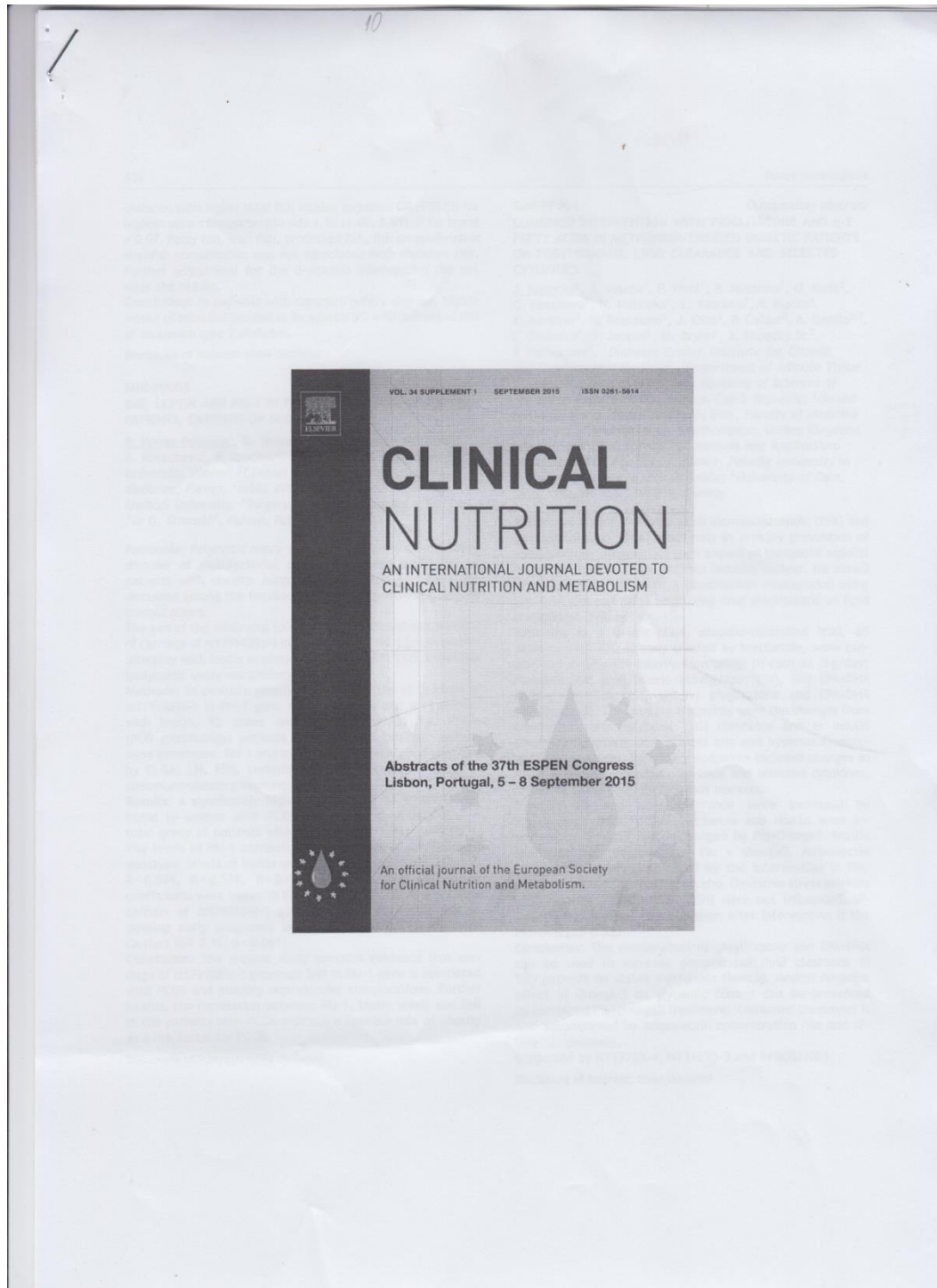
Methods: The study was performed at University Hospital Pleven. 101 patients included in the study were with complicated upper GI surgery. Nutritional risk was assessed with NRS 2002, operative risk with operative part of POSSUM scale. Energy "debt" at 3, 6, 9 days were evaluated and scored. New indices combining NRS 2002 with POSSUM scale and energy debt score was investigated as a predictors for death and complications. Energy goals were set to 25 kcal/kg/day. Statistical tests as T test, exact test, Chi squared, linear regression, ROC curves were used.

Results: 32 patients (31.7%) died. In 59 (58%) several complications develop. Mean POSSUM score was 19.80 (17.90 survived vs 24 dead $p < 0.05$). Mean NRS 2002 was 4.92. Mean caloric supply by day 3, 6, and 9 was 30%, 52%, 73% of calculated needs and does not differ significantly between death and survived. New scores summarizing POSSUM operative with NRS2002-SC1, POSSUM operative with NRS2002 and negative score for nutrition adequacy SC2 were compared with POSSUM alone and albumin level as a predictors. Scores tested POSSUM NRS2002 Albumin SC1 SC2 Area Under the Curve 0.75 0.507 0.257 0.736 0.75 Asymptotic Sig. 0 0.907 0 0 0

Scores tested	POSSUM	NRS2002	Albumin	SC1	SC2
Area Under the Curve	0.75	0.507	0.257	0.736	0.75
Asymptotic Sig.	0	0.907	0	0	0

Conclusion: With best predictive values for survival in our series are albumin, POSSUM and a score combining POSSUM with NRS2002 and nutrition adequacy (SC2). Constructing a predictive instrument combining complexity of surgery, patient state and nutrition parameters needs more data

112. Komsa-Penkova, R. G. Golemanov, P. Ivanov, N. Slavov, K. Kovacheva, P. Tonchev, BMI, leptin and PAI-1 in polycystic ovary syndrome patients, carriers of *snd* rs1799889, *Clinical Nutrition*, vol. 34, p S24, 37th ESPEN Congress, Lisbon, Portugal, 5th-9th September 2015. (IF 4.476)



BMI, LEPTIN AND PAI-1 IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME PATIENTS, CARRIERS OF SND RS1799889 (-)

Regina Komsa-Penkova*¹, Georgy Golemanov¹, Peter Ivanov², Nikolaj Slavov³, Katya Kovacheva⁴, Pencho Tonchev⁵

¹ Dept. Biochemistry, MU-Pleven, Pleven, Bulgaria

² Clinical Institute for Reproductive Medicine, Pleven, Bulgaria;

³ MBAL AVIS-MEDIKA, Pleven, Bulgaria;

⁴ Dept. Genetics, MU-Pleven, Pleven, Bulgaria;

⁵ Department of Surgery, University hospital "dr G. Stranski", L, Pleven, Bulgaria;

Abstract :

Rationale: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disorder of multifactorial origin, associated in 60- 70 % of patients with obesity. Adipocytokines leptin and PAI-1 are discussed among the feasible factors related to PCOS and its complications. The aim of the study was to evaluate genetic influence of the of carriage of rs1799889 (-) in PAI-1 gene on PAI-1 levels and its interplay with leptin in obese and non-obese PCOS and PCOM (polycystic ovary morphology) patients.

Methods: To evaluate genetic influence of the of carriage of rs1799889 (-) in PAI-1 gene on PAI-1 levels and its interplay with leptin , 92 obese and non-obese PCOS and PCOM (PCOMorphology) patientspatients with and 102 healthy controls were genotyped.

PAI-1 and leptin plasma levels were analysed by ELISA; LH, FSH, testosterone and prolactin by Electrochemiluminescence immunoassay.

Results: A significantly higher carriage of rs1799889 (-) was found in women with PCOS (OR1.739; p=0.042) and in total group of patients with high BMI (OR1.843, p=0.037). The levels of PAI-1 correlated with carriage of rs1799889 (-) genotype, levels of leptin and BMI, (correspondingly Pearson R= 0.534, R = 0.574, R = 0.418; p=0.03), like correlation coefficients were higher in the group with PCOS. The patients carriers of rs1799889 (-) genotype were at higher risk to develop early pregnancy losses as compared to the non-carriers (OR 2.12; p=0.061).

Conclusion: The present study provides evidence that carriage of rs1799889 (-) genotype SNP in PAI-1 gene is associated with PCOS and possibly reproductive complications. Further to this, the correlation between PAI-1, leptin levels and BMI in the patients with PCOS indicate a feasible role of obesity as a risk factor for PCOS.

Key words: PCOS, BMI, Leptin, PAI-1 4G/5G polymorphism

*Corresponding Author: Regina S. Komsa-Penkova
Department of Biochemistry, Medical University – Pleven
1, St. Kl. Ohridski Str. Pleven, 5800, Bulgaria
e-mail: rkomsa@gmail.com*

Disclosure of Interest: None

*Abbreviations: PCOS – polycystic ovaries syndrome, PCOM - polycystic ovary morphology
BMI – body mass index , PAI-1 - plasminogen activator inhibitor 1, PCR - Polymerase Chain Reaction, ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay, uPA – urokinase plasminogen activator,*

diabetes with higher total fish intake; adjusted OR (95% CI) for highest versus lowest tertile was 1.58 (1.00, 2.51), P for trend = 0.07. Fatty fish, lean fish, processed fish, fish on sandwich or shellfish consumption was not associated with diabetes risk. Further adjustment for the B-vitamin intervention did not alter the results.

Conclusion: In patients with coronary artery disease, higher intake of total fish tended to be associated with increased risk of incidence type 2 diabetes.

Disclosure of Interest: None declared

SUN-PP003 *Outstanding abstract*
BMI, LEPTIN AND PAI-1 IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME PATIENTS, CARRIERS OF SNP rs1799889(-)

R. Komsa-Penkova¹, G. Golemanov¹, P. Ivanov², N. Slavov³, K. Kovacheva⁴, P. Tonchev⁵. ¹Biochemistry, Medical University, Pleven, ²Clinical Institute for Reproductive Medicine, Pleven, ³MBAL AVIS-MEDIKA, ⁴Med. Genetics, Medical University, ⁵Surgery, University hospital "dr G. Stranski", Pleven, Bulgaria

Rationale: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disorder of multifactorial origin, associated in 60–70% of patients with obesity. Adipocytokines leptin and PAI-1 are discussed among the feasible factors related to PCOS and its complications.

The aim of the study was to evaluate genetic influence of the carriage of rs1799889(-) in PAI-1 gene on PAI-1 levels and its interplay with leptin in obese and non-obese PCOS and PCOM (polycystic ovary morphology) patients.

Methods: To evaluate genetic influence of the carriage of rs1799889(-) in PAI-1 gene on PAI-1 levels and its interplay with leptin, 92 obese and non-obese PCOS and PCOM (PCO morphology) patients with and 102 healthy controls were genotyped. PAI-1 and leptin plasma levels were analysed by ELISA; LH, FSH, testosterone and prolactin by Electrochemiluminescence immunoassay.

Results: A significantly higher carriage of rs1799889(-) was found in women with PCOS (OR 1.739; $p=0.042$) and in total group of patients with high BMI (OR 1.843, $p=0.037$). The levels of PAI-1 correlated with carriage of rs1799889(-) genotype, levels of leptin and BMI, (correspondingly Pearson $R=0.534$, $R=0.574$, $R=0.418$; $p=0.03$), like correlation coefficients were higher in the group with PCOS. The patients carriers of rs1799889(-) genotype were at higher risk to develop early pregnancy losses as compared to the non-carriers (OR 2.12; $p=0.061$).

Conclusion: The present study provides evidence that carriage of rs1799889(-) genotype SNP in PAI-1 gene is associated with PCOS and possibly reproductive complications. Further to this, the correlation between PAI-1, leptin levels and BMI in the patients with PCOS indicate a feasible role of obesity as a risk factor for PCOS.

Disclosure of Interest: None declared

SUN-PP004 *Outstanding abstract*
COMBINED INTERVENTION WITH PIOGLITAZONE AND n-3 FATTY ACIDS IN METFORMIN-TREATED DIABETIC PATIENTS ON POSTPRANDIAL LIPID CLEARANCE AND SELECTED CYTOKINES

J. Kopecky¹, J. Veleba¹, P. Wohl¹, P. Janovska², O. Kuda², O. Horakova², H. Malinska¹, L. Kazdova¹, P. Flachs², K. Bardova², M. Rossmeisl², J. Olza³, P. Calder³, A. Gardlo^{2,4}, E. Fiserova⁴, J. Jensen⁵, M. Bryhn⁶, J. Kopecky Sr.², T. Pelikanova¹. ¹Diabetes Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, ²Department of Adipose Tissue Biology, Institute of Physiology Academy of Sciences of the Czech Republic v.v.i., Prague, Czech Republic; ³Human Development & Health Academic Unit, Faculty of Medicine University of Southampton, Southampton, United Kingdom; ⁴Department of Mathematical Analysis and Applications of Mathematics, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc, Olomouc, Czech Republic; ⁵University of Oslo, Oslo, ⁶Silentia A.S., Svelvik, Norway

Rationale: Marine n-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids help in primary prevention of cardiovascular disease, but their impact on metabolic aspects in type 2 diabetic (T2D) patients remains unclear. We aimed to evaluate the effect of a combination intervention using EPA+DHA and an insulin-sensitizing drug pioglitazone on lipid and glucose metabolism.

Methods: In a double-blind, placebo-controlled trial, 69 patients with T2D already treated by metformin, were randomized to 24-week-intervention using: (i) corn oil (5 g/day; Placebo), (ii) pioglitazone (15 mg/day; Pio), (iii) EPA+DHA (2.75 g/day; Omega3), or (iv) pioglitazone and EPA+DHA (Pio+Omega3). The primary endpoints were the changes from baseline in triacylglycerol (TG) clearance and in insulin sensitivity assessed using a meal test and hyperinsulinemic-isoglycemic clamp. Secondary endpoints included changes in HbA1c, glucose and NEFA clearance and selected cytokines, oxidative stress and inflammation markers.

Results: TG and NEFA clearance were increased by Pio+Omega3. Both fasting glycaemia and HbA1c were increased by Omega3, but unchanged by Pio+Omega3. Insulin sensitivity was improved by Pio + Omega3. Adiponectin concentrations were increased by the intervention in Pio, Pio+Omega3 and Omega3 vs placebo. Oxidative stress markers (SOD activity, TBARS, GSSG/GSH) were not influenced. sP-selectin had a lower concentration after intervention in the Pio+Omega3 group.

Conclusion: The combination of pioglitazone and EPA+DHA can be used to increase postprandial lipid clearance in T2D patients on stable metformin therapy. Modest negative effect of Omega-3 on glycemic control can be prevented by combined Pio+Omega3 treatment. Combined treatment is also accompanied by adiponectin concentration rise and sP-Selectin decrease.

Supported by NT13763-4, NT14250-3 and IN 00023001

Disclosure of Interest: None declared

Резюмета от участие в международни научни форуми:

1. Penkova R. and Iv. Goshev. Physicochemical Characteristics of Collagen Type I in Different Buffer Systems, XIIth FECTS Meeting, 9-13.06.1990, Bjalystok-Poland, Conference Proceed. 43.
2. Penkova R. Rasap R. Two collagenases and their mode of action. The Third International Jerusalem Symposium on Extracellular Matrix molecules. 9-12.VIII.1991
3. Penkova R. and Iv. Goshev. Influence of the buffer system and chemical agents on the thermal denaturation of type I collagen from different sources. 9th BBBD, 21-23 05.1992, Thessaloniki, Greece, Abstracts, 70.
4. Ivanov, Y., V. Andreev, R. Penkova, P.Petrova, A. Petrov. Alpha-1-Antitrypsin and pulmonary fibrosis. 58* Annual International Scientific Assembly. 25-29 October 1992, Chicago, Blinois, USA.
5. Tzinlikov I., R. Penkova and I. Tzinlikova. Immune response to type II collagen in patients with osteoarthritis. Congress of the Osteoarthritis Research Society, Paris, 10-12, XII, 1992. Osteoarthritis and Cartilage, 1, 1993, p. 66.
6. P. Ivanov, K. Kovacheva, R. Komsa-Penkova, Y. Ivanov, P. Pavlov, V. Nojarov. Analysis of inherited thrombophilic factors in patients with pulmonary trombembolism. Sixth Balkan Meeting on Human Genetics, Thessaloniki, Greece, 28-31.08.2004, Abstracts: 145.
7. R. Komsa-Penkova, K. Kovacheva, S. Angelova, A. Neykova, A. Kamenova, Y. Carpentier, L. Sobotka, C. Pichard; "A new approach for training in nutrition of medical doctors. A joined action of the European Universities and ESPEN" VI Zjazd I XVIII Miedzynarodowa Konferencja, Naukowo-Szkoleniowa, Polskiego Towarzystwa, Zywienia Pozajelitowego I Dojelitowego, Streszczenia, 25- 27 czerwca 2004.
8. R. Komsa-Penkova, K. Kovacheva, S. Angelova, A. Neykova, A. Kamenova, Y. Carpentier, L. Sobotka, S. Pichard. WEB-based system for Education of Medical Doctors in Nutrition: Joint Action of European Universities and ESPEN Featuring abstracts, of the 26th Congress of ESPEN, Lisbon, 11th – 14th September Portugal, 2004.
9. Carpentier Y., Komsa-Penkova R., Kovacheva K., Preiser J. Life long learning programme – A European Leonardo Da Vinci education project. Joint Action of European Universities and ESPEN Featuring abstracts, of the 26th Congress of ESPEN, Lisbon, 11th–14th September, Portugal, 2004.
10. P. Ivanov, K. Kovacheva, R. Komsa-Penkova, J. Popov, M. Simeonova, S. Stojkov. Trombophilic Genetic factors in women with history of spontaneous fetal loss. The 7th world congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility, Athens, Greece, April 14- 17, 2005.

11. P. Ivanov, K. Kovacheva, R. Komsa-Penkova, Y. Ivanov, P. Pavlov, V. Nojarov. Contribution of thrombophilic genetic factors in development and recurrent manifestation of pulmonary embolism in young patients. European Respiratory Society Annual Congress, September 17-21, 2005, Copenhagen, Denmark.
12. Tisheva S., A. Neykova, R. Komsa, N. Ignatov. Cholesterol ester transfer protein (CETP) polymorphism and mild dyslipidemia in a closed population. *Atherosclerosis Supplements* 06/2006; XIV International Symposium on Atherosclerosis.7(3):134-134. DOI:10.1016/S1567-5688(06)805. ARTICLE: MoP6:402. June 18 - 22, 2006; Rome, Italy
13. Komsa-Penkova R. Global nutritional education programmes. 3rd Basic Course of Enteral and Parenteral Nutrition – ACCN Belgrade, 21st -22nd April 2007.
14. Комса-Пенкова Р. Система обучения медицинских специалистов-нутрициологов. Одиннадцать конгресс с международным участием. Парантеральное и Энтеральное питание. 14-15 Ноября 2007г. Москва.
15. Komsa-Penkova R. Global nutritional education programs.4th ACCN Course of Clinical Nutrition 11th -13th April 2008 – Brijuni islands, Croatia.
16. Ivanov P.,Gecheva S. , Konova E., Komsa-Penkova R., Kovacheva K., Todorova K., Ivanov I., Lukanov Tz., Aleksovska T., Simeonova M., Stojkov Sv., Popov J., Tanchev St. Preventing adverse obstetric outcomes in women with acquired and inherited trombophilia.5th Balkan Congress of Immunology, Macedonian Journal of medical Sciences, 1-3 June 2008, Ohrid (Suppl. 1):S1-S58.
17. Gesheva S., M. Ivanov, P. Ivanov, B. Stamenov, Tz. Lukanov, I. Ivanov, R. Komsa-Penkova. Polymorfism A2 In Platelet Glycoprotein IIb/IIIa in Platelets With Ishaemic Stroke. 2nd World Congress on Controversies In Neurology CONy, Athens, Greece, October 23- 26, 2008, Abstract book, A-77- постер.
18. Komsa-Penkova R. Oxidative stress and metabolism in ICU patients. 6th ACCN course of Clinical Nutrition, 13 – 15 November 2010 Ohrid, Republic of Macedonia.
19. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Konova E, Tsvyatkovska Tsv, Ivanov I, Kovacheva K, Simeonova M. Combined Thrombophilic Mutations in Women with Recurrent Early and Late Spontaneous Pregnancy Loss. The 6th Congress of the Asia Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis. Grand Hyatt Hotel - Nusa Dua, Bali, October 13 – 16, 2010.
20. Ivanov P, Konova E, Komsa-Penkova R, Tsvyatkovska Tsv, Ivanov I, Kovacheva K, Emin A, Korsachki G. Effect of inherited thrombophilic factors on secondary infertility. The 13th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI) Maritim Hotel, Berlin, Germany, November 4-7, 2010.
21. Ivanov M, Stamenov B., Ivanov P, Komsa-Penkova R., Gecheva S., Simeonova M., Kovacheva K., Stoianova A. Importance of elevated plasma homocysteine levels and

methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism for ischemic stroke development. 7th World Stroke Congress, Seoul, Korea, October 13-16, 2010.

22. Ivanov M, Stamenov B, Komsa-Penkova R, Gecheva S, Ivanov P. Significance of carrier A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIb/IIIa for ischemic stroke development in young age. The Vth World Congress on CONy, October 13-16, 2011; Beijing, China.

23. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Konova E, Tsvyatkovska Tsv, Ivanov I, Kovacheva K, Simeonova M, Tanchev St. Polymorphism 4G/5G in plasminogen activator inhibitor type 1 as a factor for early recurrent pregnancy loss development. XIII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis –July 23-28, 2011; Kyoto, Japan. Abstract Number P-MO-138.

24. Komsa-Penkova R. Carbohydrates and lipids metabolism. 18th ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolic Care. 6-12 October 2011, Vilnius, Lithuania.

25. Komsa-Penkova R. Introduction to LLL. 18th ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolic Care. 6-12 October 2011, Vilnius, Lithuania.

26. Komsa-Penkova R. Oxidative stress in critically ill patients. 18th ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolic Care. 6-12 October 2011, Vilnius, Lithuania.

27. Komsa-Penkova R. Biochemistry of love. 18th ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolic Care. 6-12 October 2011, Vilnius, Lithuania.

28. R. Komsa-Penkova. Substrates in parenteral and enteral nutrition - proteins and amino acids. 8-th Basic course of clinical nutrition – ACCN. 20-22 April 2012. Belgrade, Serbia.

29. Georgieva G., R. Komsa-Penkova, E. Konova, S. Ohri. “The relationship between BMI, diet and very early (embrionic) miscarriages, 34th ESPEN Congress of the European Society of Clinical Nutrition and Metabolism, September 8th-11th, 2012. Barcelona, Spain.

30. Tonchev P., S. Iliev, V. Radev, D. Stoikov, G. Georgieva, L. Kovachev, S. Ohri, R. Komsa-Penkova. Feeding jejunostomy in complicated and emergency upper gastrointestinal surgery, 34th Congress of the European Society of Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), 8th-11th, 2012, Barcelona, Spain.

31. Ohri S., Komsa-Penkova, R., Tonchev P., Tisheva S., Izmaylov A. Impaired Quality of Life according to EURO QOL-5D QUESTIONNAIRE conducted on patients with obesity and hypertension. 17th World Congress on Clinical Nutrition (WCCN) 7th International Congress on Cardiovascular Diseases (ICCD) 24 - 26 октомври 2013, гр. София, България.

32. Ohri Sh., R. Komsa-Penkova, P. Tonchev, S. Tisheva, da Silva T, A. Izmaylov. „Evaluation of the parameters of the euro qol-5d questionnaire under normal clinical practice conditions on hypertensive patients with normal and elevated BMI“. Clinical Nutrition. 2013 Vol. 32 Supplement 1, Page S112. Leipzig, Germany, 31 August - 3 September 2013 (IF 4.487).

33. Komsa- Penkova R. Advances in Metabolism and Clinical Nutrition.15th Congress on Enteral and Parenteral Nutrition. 27th-29th September 2013. Bali, Indonesia.
34. Komsa-Penkova, R. Increasing awareness and Resources for Education in Clinical Nutrition and Metabolism. 17th World Congress on Clinical Nutrition (WCCN) 7th International Congress on Cardiovascular Diseases (ICCD) 24 - 26 october,2013, Sofia, Bulgaria.
35. Komsa-Penkova R., D. Vranesic. Nutrition Support Team, ESPEN of Clinical Nutrition and Metabolism. 6-th Basic course in clinical nutrition BCCN. 13th–14th September 2013, Warsaw, Poland.
36. Komsa-Penkova R. 20-th ESPEN, Amino acid and Protein Metabolism. Clinical Nutrition and Metabolic Care. 10th-16th November 2013. Gödöllő, Hungary.
37. Ivanov P, Komsa-Penkova R, Konova E, Ivanov V, Gecheva S, Kovacheva K, Simeonova M. Plasminogen activator inhibitor type 1 activity: impaired fibrinolysis and early pregnancy wastage. 23rd Biennial International Congress on Thrombosis, MLTD Congress, May 14-17, 2014; Valencia, Spain.
38. Komsa-Penkova R, Georgieva G, Golemanov G, Slavov N, Popovski K, Ivanov P, Kovacheva K, Atanasova M, Blajev A, Rathee S. Carriage of 675 4G/5G polymorphism in PAI - 1 gene; association with early pregnancy losses in patients with polycystic ovary syndrome, International Conference on Obstetrics and Gynaecology. 26th-27th September, 2014 London, United Kingdom.
39. Komsa-Penkova R. Nutritional assessment and indications of clinical nutrition 10-th ACCCN Basic Course of clinical nutrition. 28th – 30th March 2014, Kusadasi, Turkey.
40. Komsa-Penkova R. Metabolism of protein and amino acid. Role of Microelements in Metabolism. 21 ESPEN Course on Clinical Nutrition. 5th-11th October 2014, Hradec Králové, Czech Republic.
41. Komsa-Penkova R. Nutritional Support Team. Adriatic CCN, 11th Course of Clinical Nutrition. 17th-19th April 2015. Dubrovnik, Croatia.
42. Komsa-Penkova R. Microelements in obesity. Nutritional Support Team. 8th Baltic course in clinical nutrition BCCN. 25th-27th September 2015. Vilnius, Lithuania.
43. Komsa-Penkova R. History of parenteral Nutrition. A conceptual system to guide training at Virtual University of Clinical Nutrition. 2nd Asia Pacific Home Parenteral Nutrition Workshop. 3th-10th October 2015 Bangkok, Thailand.
44. Stoyanov T.I., P. Cascales-Sanchez, A. Martinez-Moreno, E. Garcia-Blazquez, A. Prat-Calero, S. Usero-Rebollo, D.G. Stoikov, K.T. Ivanov, R. Komsa Penkova, P.T. Tonchev, Vitamins and mineral deficiencies after biliopancreatic diversion with duodenal switch 9 years

follow up, Clinical Nutrition, vol. 34, p S20, 37th ESPEN Congress, Lisbon, Portugal, 5th-9th September 2015. (IF 4.476)

45. Stoyanov T.I., Cascales-Sanchez P., Garcia-Blazquez E., Martinez-Moreno A., Prat-Calero A., Stoikov D., Ivanov K.T., Komsa Penkova R., Tonchev P. Diabetes type 2 and dyslipidemia resolution in patients with morbid obesity after biliopancreatic diversion with duodenal switch. Clinical Nutrition.vol. 34, 215,suppl.1, 37th ESPEN Congress, Lisbon, Portugal, 5th-9th September 2015. (IF 4.476)

46. Dimov D., G. Golemanov, T. Tacheva, V. Ilieva, G. Prakova, M. Gulubova, R. Komsa-Penkova, T. Vlaykova. MTHFR 677C>T polymorphism in patients with COPD, Abstracts/ 25th International Congress ERS, Amsterdam, Netherlands 26th –30th September 2015,

47. Komsa-Penkova R. Micronutrients. 23rd ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolism. Wieliczka, 16-21 October 2016.

48. Komsa-Penkova R. Water and electrolytes. 23rd ESPEN Course of Clinical Nutrition and Metabolism. Wieliczka, 16-21 October 2016.

49. Komsa-Penkova R. Clinical Nutrition University: Incidence and recognition of malnutrition in community and hospital awareness on clinical nutrition support. 6-th World Nursing and Healthcare conference. August 15th – 17th 2016. London, UK.

50. Celik A., P. Tonchev, M. Petrova, L. Beshev, I. Simeonova, A. Ivanova, R. Komsa-Penkova, T.Andreeva, G. Golemanov, B. Tsankov, S. Todinova. Characterization of topographic and elastic properties of platelets in patients with deep vein thrombosis. 27-th European students conference. 28-th September – 1-st October, Berlin, Germany.2016

51. Komsa-Penkova R. Microelements in obesity and after bariatric surgery. XIX Congreso Nacional de Nutrición Clínica AMAEE. 6-9 October 2016. Acapulco, Mexico.

52. Komsa-Penkova R. The pleiotropic effects of vitamin D and prevention of disease. XIX Congreso Nacional de Nutrición Clínica AMAEE. 6-9 October 2016. Acapulco, Mexico.

53. Komsa-Penkova R. Cancer Cachexia. 9th Baltic course in clinical nutrition BCCN.11-13 November 2016. Riga, Latvia.

54. Hristova M.T, Emin E, Gyokova E, Dochkova A, Komsa-Penkova R. Georgieva H. Alterations in platelet activity and elasticity modulus of healthy subjects, carriers of G20210A polymorphism in the prothrombin gene. 18th Craiova International Medical Students' Conference, 10th-13th November 2016. Craiova, Romania.

**Резюмета от участие в български научни форуми с
муждународно участие:**

55. Байчев, Г., Р. Пенкова, Л. Ковачев, П. Луканов. Лечение на хронични рани с растежни фактори, изолирани от тромбоцити. Втора международна конференция на млади медици. 6-8 Септември 1993г., Сборник резюмета. Варна.
56. Комса-Пенкова Р., К. Ковачева, А. Каменова, С. Ангелова, П. Тончев, С. Илиев, А. Нейкова, П. Иванов; WEB- базирана система за обучение на медици по хранене. II-ри Национален конгрес по парентерално и ентерално хранене (с международно участие), 13 - 15 Май 2004, курортен комплекс Боровец.
57. Комса-Пенкова Р., К. Ковачева, А. Каменова, С. Ангелова, А. Нейкова, М. Симеонова; WEB- базирана система за обучение на медици по хранене. VII Варненски Международен симпозиум по затлъстяване и съпътстващи заболявания, Сателитен симпозиум на европейския конгрес по затлъстяване- Прага 2004, 30 май – 1 юни, 2004, Албена, България.
58. Komsa-Penkova R. Energy Balance. 5th ACCN Course in Clinical Nutrition с международно участие, 19 – 22 Февруари 2009. Плевен, България.
59. Иванов П., Св. Гечева, Р. Комса-Пенкова, М. Иванов, Ив. Иванов. Сигнификантно значимо носителство на генетични фактори предразполагащи към тромбози, като рискови фактори при различни нозологични единици. V-та национална конференция по клинична лаборатория с международно участие, България, Слънчев бряг, 24- 26 Септември 2009, Abstract book. p. 47- 49- постер.
60. Иванов М., Б. Стаменов, Р. Комса-Пенкова, П. Иванов, Св. Гечева. Изследване носителството на полиморфизъм A2 в тромбоцитен глокопротеин IIb/IIIa при пациенти с исхемичен мозъчен инсулт. Пета юбилейна среща на Българската асоциация по невросонография и мозъчна хемодинамика с международно участие, 1- 3 Октомври 2010, София, хотел Родина.
61. Иванов М., Р. Комса-Пенкова, Б. Стаменов, М. Вълкова, С. Гечева. Полиморфизъм a2 в тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa за развитието на исхемичен мозъчен инсулт в млада възраст. XII Национален конгрес по неврология с международно участие. 19 - 21 май 2011 г., хотел „Самоков“, к.к. Боровец.
62. Radev V., P. Tonchev, S. Iliev, D. Stoikov, R. Radev, S. Bogdanov, A. Izmajlov, R. Komsa-Penkova. ICU treatment of anorexia with bmi<10-can we afford faster weight growth? iv – ти Национален конгрес по Парентерално и Ентерално хранене с международно участие, Несебър, 26-28 Октомври, 2012, България.
63. Tonchev P., S. Iliev, V. Radev, D. Stoikov, G. Georgieva, L. Kovachev, S. Ohri, Al. Izmajlov, R. Komsa-Penkova. Combined enteral and parenteral feeding in complicated and emergency upper gastrointestinal surgery. IV – ти Национален конгрес по Парентерално и Ентерално хранене с международно участие, Несебър, 26-28 Октомври, 2012, България.

64. Mihaylova M., Veleva Ts., Alexandrova S., Bogdanov S., Radev V., Komsa-Penkova R., Radev R. Fructosamine test – a new glycaemic marker for parenteral nutritional support. IV – ти Национален конгрес по Парентерално и Ентерално хранене с международно участие, Несебър, 26-28 Октомври, 2012, България.

65. Georgieva G, Ohri S., Komsa-Penkova R, Izmaylov A, Konova E, I. Byrzashki, Ivanov P. Reproductive problems in obesity. IV – ти Национален конгрес по Парентерално и Ентерално хранене с международно участие, Несебър, 26-28 Октомври, 2012, България.

66. Vylcheva M., B. Stamenov, Al. Izmajlov, R. Komsa-Penkova. The impact of yoghurt probiotic intake on cognitive parameters after hemispheric ischemic stroke in elderly patients. IV – ти Национален конгрес по Парентерално и Ентерално хранене с международно участие, Несебър, 26-28 Октомври, 2012, България.

67. Стоянов Т., Комса-Пенкова Р., Тончев П., Измайлов А. Недостатъчност на микроелементи и витамини при пациенти след бариатрична хирургия. III Национална конференция по парентерално и ентерално хранене с международно участие (БУЛСПЕН). 14-15 Ноември 2014, ВМА-София, България.

68. Mihaylova M., Bogdanov S., Komsa-Penkova R., Todorova T., Radev R. Perioperative glycaemic fructosamine control in patients with choledocholithiasis calculosa exacerbate and cholecystectomy. III Национална конференция по парентерално и ентерално хранене с международно участие (БУЛСПЕН). 14-15 Ноември 2014, ВМА-София, България.

69. Комса-Пенкова Р., Тончев П., Илиев С., Стойков Д. Хирурзите във виртуалния университет по клинично хранене. III Национална конференция по парентерално и ентерално хранене с международно участие (БУЛСПЕН). 14-15 Ноември 2014, ВМА-София, България.

70. Стоянов Т., P. Cascales Sanchez, A. Martinez Moreno, П. Тончев, К. Иванов, Р. Комса, Д. Стойков. Малабсорбция след билиопанкреатична деривация с дуоденално превключване – 9-годишно проследяване – X-ти Национален конгрес по хранене с международно участие ще се проведе в Международен дом на учените “Фредерик Жолио - Кюри”, к.к. „Свети Константин и Елена“, гр. Варна, в периода от 27 до 30 май 2015 г.

71. Atanasova B, Atanasova M, Dzhepkova A, Golemanov G, Ivanov P, Komsa-Penkova R. Possible molecular mechanism in anovulation of PCOS women. Шеснадесети международен конгрес по медицински науки за студенти и млади лекари (International Congress of Medical Sciences – ICMS 2017), 11 - 14 май, 2017г. Медицински университет – София.

Резюмета от участие в научни форуми в България:

72. Пенкова Р., Ив.Гошев, Ц. Александрова, М. Николова. Получаване на различни типове колаген от човешка плацента, Юбилейна сесия на ВМИ, Плевен, 24-25.11.1989. Сборник резюмета, стр. 7

73. Goshev I, Penkova R. Thermal Stability of Collagen. Influence of Urea on Collagen Denaturation. FECS Fifth International Conference on Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products. 18-23.09.1989, Varna-Bulgaria, Conference Proceedings, Vol. 1, p. 336-342.

74. Байчев Г., Р.Пенкова, Л. Ковачев, Т. Делийски. Използване на Streptomyces Collagenase при лечение на гнойни рани на крайниците. Научна сесия на ВМИ-Пловдив, 15-17, X, 1992, Сборник резюмета, стр. 162.

75. Пенкова Р., И. Цинликова, И. Цинликов. Колаген тип II и остеоартроза. IV Национален конгрес по ревматология. 5-6 ноември 1993, София. Ревматология, 1993, год. 1 кн. 3, стр. 50.

76. Penkova R. and Iv.Goshev. On the "red shifting" observed in UV-spectra of collagen solutions. BBBD, 22-25 may, 1994, Varna. Abstracts. A-10, p. 64.

77. Penkova R., Iv. Goshev, C. Aleksiev. Increased stability of in vitro glycated Type I collagen towards chemical agents. BBBD, 22-25 may, 1994 Varna, Abstracts. A-11, p. 65.

78. Байчев Г., Т. Делийски, Р. Комса-Пенкова, И. Михайлов. Локално лечение на бавно заздравяващи рани - сравнително проучване между "Solcoseryl " ointment, автоложни растежни фактори, изолирани от тромбоцити и конвенционални превръзки. VI Национален конгрес по дерматология и венерология. 11-13 май, 1995, Плевен. Сборник резюмета, П 69.

79. Байчев Г., Т. Делийски, Р. Комса-Пенкова. Лимфотропно оцветяване на сентинелни лимфни възли при рак на млечната жлеза - с какво, кога, как ? Breast Cancer Conference, 26-28.09.1996г., София

80. Байчев Г., Делийски Т., Иванова Н., Комса-Пенкова Р., Стоянов Р., Бойков М. Възможности за периперативно регионално приложение на mitoxantrone при рак на млечната жлеза. Breast Cancer Conference, 26-28.09.1996г., София.

81. Байчев Г., Т. Делийски, Р. Комса-Пенкова. Лимфотропно маркиране и биопсия на сентинелни лимфни възли при T-1 тумори- нов подход за стандартизиране на аксилата при рак на млечната жлеза. Breast Cancer Conference, 26-28.09.1996г., София.

82. Комса-Пенкова Р., Р. Койнова, П. Иванов. Изследване на термостабилност на човешки аортален колаген тип I. XII Научна сесия на ВМИ-Плевен, 16-18 май 2002.

83. Komsa-Penkova R. Opioids – history, receptors, addiction. SECOND MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 15 – 17 May 2003, Pleven, Bulgaria.

84. П.Иванов, К. Ковачева, Р. Комса-Пенкова, Сборник резюмета: 67. WEB-Базирана система за обучение на лекари и студенти медици в областта на храненето: съвместна

инициатива на европейски университети и ESPEN. Юбилейна научна конференция, 30 години ВМИ-Плевен, 15- 17 Октомври, 2004.

85. P. Ivanov, K. Kovacheva, R. Komsa-Penkova, Y. Ivanov, P. Pavlov, V. Nojarov, Beshev. Prevalence of the platelet glycoprotein IIb/IIIa A1/A2 polymorphism in patients with venous thrombosis. Third medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, 14- 16 October 2004, Abstracts: 123.

86. P. Ivanov, S. Gecheva, R. Komsa-Penkova, O. Matkov, K. Kovacheva, A. Kamenova. Genetic variant C677T in Methylenetetrahydrofolate reductase gene in patient with recurrent incidence of arterial and venous thrombosis. Third medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, 14- 16 October 2004, Abstracts: 139.

87. П.Иванов, К. Ковачева, Р. Комса-Пенкова, Я. Иванов, П. Павлов, В. Ножаров, Сборник резюмета: 67. Изследване носителството на вродени генетични фактори предразполагащи към тромбофилия при пациенти с белодробен тромбемболизъм. Юбилейна научна конференция, 30 години ВМИ-Плевен, 15- 17 Октомври, 2004

88. Georgieva Z., Mehmedova F., Temov K., Micevski D., Spasova M., Komsa – Penkova R. Drug use among teenagers in Bulgaria. 5 – th MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 19 - 21 october 2006, Pleven, Bulgaria

89. P. Ivanov, E. Konova, K. Kovacheva, R. Komsa-Penkova, S. Gecheva, Sv. Stoykov, M. Simeonova, J. Popov. Impact of inherited thrombophilia and antiphospholipid syndrome in recurrent early pregnancy losses. 11th International Symposium of the International Coordination Committee for Immunology of Reproduction – 2-4 June, 2006, Varna, Bulgaria.

90. Ковачева К, Антонов А, Иванов П, Цветков Н. Проучване на генетични дефекти за тромбофилия и приноса им върху риска за тромботични усложнения при пациенти с есенциална тромбоцитемия и полицитемия вера. VII национална конференция по клинична хематология, 12-14 Октомври 2006.

91. M. Ivanov, B. Stamenov, P. Ivanov, S. Gesheva, R. Komsa-Penkova, A. Stoyanova, Tz. Lukanov, E. Konova, I. Ivanov. Combination of Thrombophilic factors as a cause of ischemic stroke in young age- a clinical case. VI international medical scientific conference for student and young doctors, Bulgaria, Pleven, 15- 18 Oct. 2008, Abstract book, 69.

92. Михайлов В., Недкова В., Шентов Б., Михайлова М. и Комса-Пенкова Р. Приложение на парентерално и ентерално хранене при дете на 4 год. и 7 мес. с тежка Черепномозъчна травма. Трети конгрес на БУЛСПЕН по парентерално и ентерално хранене, 5-7 юни 2008г, София.

93. Комса-Пенкова Р., Майер Р., Тончев П. Програма за обучение през целия живот в областта на клиничното хранене и метаболизма. Трети конгрес на БУЛСПЕН по парентерално и ентерално хранене, 5-7 юни 2008г, София.

94. Antonov A, Kovacheva K, Ivanov P, Komsa-Penkova R, Tsvetkov N. Genetic variant 677C>T MTHFR and blood levels of homocystein in patients with Essencial thrombocythemia and Polycythemia vera, and thrombotic complications. 4th Balkan meeting of haematology.National conference of haematology. 18-20 September 2009, Sofia, Bulgaria.
95. Komsa-Penkova R.. Метаболитен профил на критичното заболяване. Юбилейна конференция по клинично хранене. Слънчев Бряг, 1-3 октомври, 2010.
96. Иванов П., Комса-Пенкова Р., Конова Е., Ковачева К., Гечева Св., Симеонова М, Танчев Ст. Полиморфизъм А1/А2 в гена на тромбоцитен гликопротеин IIb/ IIIa: ново приложение на антитромботичната терапия при повтарящи се спонтанни аборти. Плевенски имунологични дни 2010, 29 Април – 1 май 2010, Плевен.
97. Izmajlov A., Stamenov B., Tonchev P., Komsa – Penkova R., Georgieva G., Bojadgieva N., Stefanov I., Stoev Pl. Nutritional support in stroke. 8 – th INTERNATIONAL MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 20 - 23 October 2010, Pleven, Bulgaria.
98. Gencheva RO, Atanasova TS, Nejdets AM, Ivanov P, Komsa-Penkova R. Molecular biology techniques as a method for increased platelet aggregation establishment. 9th International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, Pleven, Bulgaria 12th-15th October 2011.
99. Tonchev P., Iliev S., Radev V., Stoikov D., Georgieva G., Kovachev L., Ohri S., Izmajlov A, Komsa – Penkova R. Combined enteral and parenteral feeding in complicated and emergency upper gastrointestinal surgery. 10-th INTERNATIONAL MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 17 – 20 October 2012, Pleven, Bulgaria.
100. Veleva Ts., Mihaylova M., Alexandrova S., Bogdanov S., Radev V., Komsa-Penkova R., Radev R. Determination of fructosamine as a glycaemic marker by parenteral nutritional support. 10-th INTERNATIONAL MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 17 – 20 October 2012, Pleven, Bulgaria.
101. Radev V., Tonchev P., Iliev S., Stoikov D., Radev R., Bogdanov S., Izmajlov A, Komsa-Penkova R. ICU treatment of anorexia with BMI<10-CAN we afford faster weight growth? 10-th INTERNATIONAL MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 17 – 20 October 2012, Pleven, Bulgaria.
102. Georgieva G., Ohri S., Komsa-Penkova R., Izmajlov A, Konova E, Byrzaszki I., Ivanov P. The association between lifestyle, dietary habits and early pregnancy losses. 10-th INTERNATIONAL MEDICAL SCIENTIFIC CONFERENCE FOR STUDENTS AND YOUNG DOCTORS. 17 – 20 October 2012, Pleven, Bulgaria.
103. Иванов П, Конова Е, Комса – Пенкова Р, Гечева Св, Цвятковска Цв, Ковачева К, Симеонова М, Танчев С. Носителство на Фактор V Leiden и ефекта му върху

имплантацията на ембриона след IVF процедура. Плевенски дни на репродуктивната медицина 2012, 27 Април – 29 Април 2012.

104.П. Тончев, Ц. Илиев, Вл. Радев, Л. Бешев, Р. Комса –Пенкова, Г. Георгиева, Р. Радев. Анорексия с ИТМ < 10 клинични и реанимационни проблеми. IV Конференция по хранене, Жолио-Кюри, Варна, 16-18 Септември, 2013.

105.Georgieva G., Ohri S., Komsa-Penkova R., Izmaylov A., Konova E., Byrzashki I., Ivanov P. Reproductive problems in obesitas. XIIth International Medical Scientific conference for students and young doctors. 8th-11th October, 2014, Pleven, Bulgaria.

106.Mihaylova M., Bogdanov S., Komsa-Penkova R., Todorova T., Radev R. Perioperative glycaemic fructosamine control in patients with choledocholytiasis calculosa exacerbate and cholecystaectomy. XIIth International Medical Scientific conference for students and young doctors. 8th-11th October, 2014, Pleven, Bulgaria.

107.R. Komsa-Penkova, Y. Ivanov, P. Tonchev, P. Ivanov, G. Golemanov, K. Kovacheva, S. Iliev. Predisposition to Thromophilia and hypofibrinolysis in pulmonary embolism: analysis of inherited factors” Юбилейна научна конференция – 40г. МУ-Плевен, 30.10- 01.11 2014г. гр. Плевен, България.

108.Р. Комса-Пенкова, Г. Големанов. Репродуктивни проблеми при жени със СПКЯ, импакт на PAI-1, носителство на 4G /5G PAI -1 полиморфизъм и BMI, Трета Национална Научна Среца по Биохимия, Асоциация на биохимичните катедри в България 14 – 16 ноември 2014 год. Хотел и СПА „Терма Палас”, с. Кранево, Община Балчик.

109.R. Komsa- Penkova, G.Golemanov, G. Georgieva- Alexandrova, N. Slavov, K. Popovski, P. Ivanov, K. Kovacheva, M. Atanasova, A. Blajev. Reproductive problems in women with PSOS, the impact of PAI–1 carriers of 4G PAI-1 polymorphism and BMI. Journal of Biomedical and Clinical Research. Vol. 7, No. 1, Suppl. 2, 30.10-1.11.2014.

110.Todorov A ,Todorieva V, Kovacheva K, Tzvetkov N, Velkova A, Ivanov P, Penkova R, Panayotova S, Popova V, Golemanov G. A Study on the role of genetic thrombophilic disease as a risk factor for thrombotic complications in patients with myeloproliferative disorders. XII Medical Scientific Conference for Students& Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 8-11 October, 2014.

111.T. Vlaykova, G.Golemanov, D. Dimov, T.Tacheva, V. Ilieva, G. Prakova, R. Komsa-Penkova. ROLE OF MTHFR C677T SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH COPD, Юбилейна научна конференция „Наука за здраве” 70 г. МУ-Пловдив 20-22.05.2015 г.

112.Г. Големанов, Р. Комса-Пенкова,, Риск от дълбока венозна тромбоза и рецидиви при млади жени носители на rs 5918 полиморфизъм в интегрин В3, свързани с BMI и тютюнопушене”- доклад презентация, Четвърта Национална Научна Среца по

Биохимия, 16-18 Октомври 2015г, Планински рехабилитационен център „Цигов Чарк“, България.

113. Комса-Пенкова. Р. Плеотропните ефекти на витамин Д и превенция на сърдечно-съдовите заболявания. Научен симпозиум Превенция на сърдечно-съдови заболявания, организиран от Дружеството на кардиолозите в България. 13-15 май 2016 - КК Албена.

114. Petkova M, Simeonova I, Ivanova A, Andreeva T, Todinova S, Komsa-Penkova R, Golemanov G, Ivanov P, Beshev L, Tonchev P. Elasticity modulus of platelets in patients with deep venous thrombosis. XIV Medical Scientific Conference for Students & Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 10-15 October, 2016.

115. Simeonova I, Ivanova A, Petkova M, Komsa-Penkova R, Golemanov G, Ivanov P, Tonchev P, Kovacheva K, Slavov N. A novel risk factor of polycystic ovary syndrome. XIV Medical Scientific Conference for Students & Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 10-15 October, 2016.

116. Dimitrov B., Ivanova A., Simeonova I., Petkova M., Gospodinov., Komsa-Penkova R. Recurrent arterial and venous thrombotic events in patients with psoriasis. Impact of PAI-1 polymorphism. Clinical case. XIV Medical Scientific Conference for Students & Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 10-15 October, 2016.

117. Atanasova B., Dzhepkova A., Atanasova M., Ivanov P., Komsa-Penkova R. Management of reproductive health control. PAI-1, MTHFR mutation and anovulation. Scripta Scientifica Vox Studentium, vol.1, suppl.1, 6-9 April 2017, Varna, Bulgaria.

118. Komsa-Penkova R, Golemanov G, Ivanov P, Slavov N, Kovacheva K, Tonchev P. BMI, LEPTIN AND PAI-1 IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME PATIENTS, CARRIERS OF SNR RS1799889(-). Седма работна среща „Репродуктивна медицина 2017 – противоречия и консенсус“, 28-30 Април, 2017 г., Хотел Ростов, Плевен.

119. Atanasova B., Atanasova M., Dzhepkova A., Golemanov G., Komsa-Penkova R., Ivanov P. Folic acid metabolism as a factor for early recurrent pregnancy loss. XV International Medical Scientific Conference for Students & Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 9-14 October, 2017.

120. Komsa-Penkova R., Golemanov G., Ivanov P., Tzankov B., Kamenov V.M. Synergistic effects of SNR5918(C) polymorphism, smoking and obesity in the development of DVT. XV International Medical Scientific Conference for Students & Young Doctors, held in Pleven, Bulgaria 9-14 October, 2017.

