

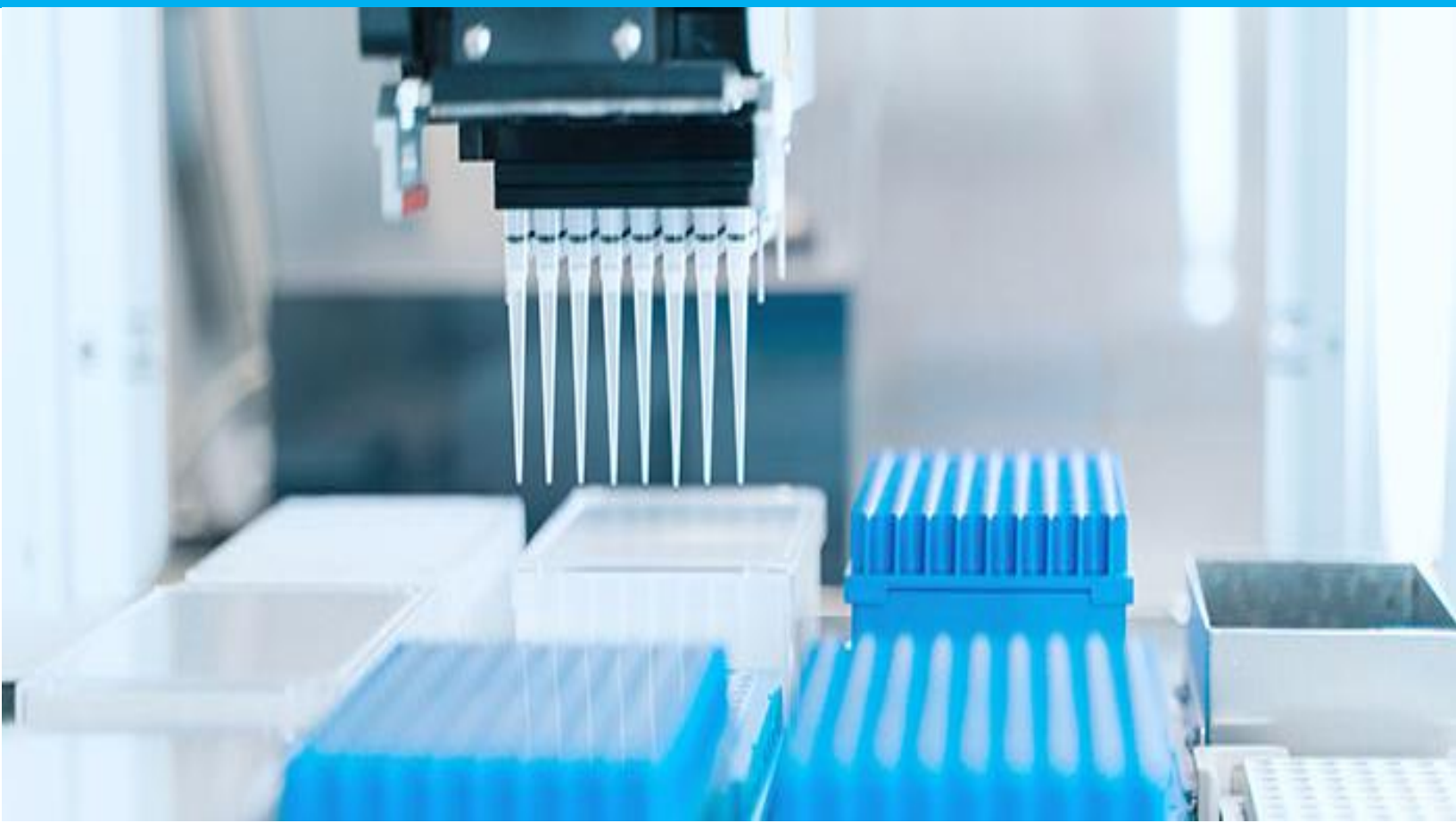


Р Е З Ю М Е Т А

на научните трудове на

доц. д-р Даниела Иванова Герова, д.м.

Катедра Клинична лаборатория, МУ Варна



Р Е З Ю М Е Т А
НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ НА БЪЛГАРСКИ И НА АНГЛИЙСКИ ЕЗИК
НА ДОЦ. Д-Р ДАНИЕЛА ИВАНОВА ГЕРОВА, Д.М.

представени за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „професор“ по научна специалност „Клинична лаборатория“, Област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.1 Медицина, съгласно обява в Държавен вестник, брой 30 от 08.04.2025 г.

Представените резюмета на научни трудове са общо **49 броя**, групирани в две части в съответствие с официалната Академичната справка, изготвена от МУ Варна (библиотека), както следва:

I. Научни трудове включени в Академична справка по образец, доказваща изпълнение на минималните изисквания за заемане на АД „професор“, съгласно Правилник за прилагане на ЗРАСРБ стр. 2

Критерий А

ПОКАЗАТЕЛ А1. Дисертационен труд за присъждане на ОНС „доктор“ – 1 брой стр. 2

Критерий В

ПОКАЗАТЕЛ В4. Хабилизационен труд = научни публикации (не по-малко от 10) в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация – 10 броя стр. 3

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г7. Научни публикации и доклади, публикувани в издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus) – общо 21 броя стр. 15

ПОКАЗАТЕЛ Г7. Пълнотекстови научни публикации – 8 броя..... стр. 15

ПОКАЗАТЕЛ Г7. Научни доклади – 13 броя..... стр. 22

ПОКАЗАТЕЛ Г8. Публикации и доклади, публикувани в нереперирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове – общо 13 броя стр. 43

ПОКАЗАТЕЛ Г8. Пълнотекстови научни публикации – 11 броя стр. 43

ПОКАЗАТЕЛ Г8. Научни доклади – 2 броя стр. 56

ПОКАЗАТЕЛ Г9. Публикувана колективна монография – 1 брой стр. 59

II. Пълнотекстови публикации в научни списания и сборници, извън участващите в доказателствения материал за покриване на минималните изисквания за заемане на АД „професор“ – 3 броя стр. 63

III. Приложение 1. Списък на публикациите и докладите със съответно точкуване по показателите. стр. 68

I. Научни трудове включени в Академична справка по образец, доказваща изпълнение на минималните изисквания за заемане на АД „професор“, съгласно Правилника за прилагане на ЗРАСРБ

Критерий А

ПОКАЗАТЕЛ А1. Дисертационен труд за присъждане на ОНС „доктор“

Даниела Герова. Определяне на витамин D статус и значение на субоптималните нива на витамин D за хода на някои хронични заболявания, Варна 2015 г.

Десетилетия наред витамин D се свързва предимно с костни заболявания. Като прохормон от стероидната суперфамилия, витамин D осъществява ефектите си чрез витамин D рецептора, разпространен в голям брой тъкани. Това доведе до разбирането, че витамин D упражнява и други, несвързани с костната обмяна ефекти, наречени още "некалциемични". Неадекватният витамин D статус се обвързва с разнообразни хронични заболявания като рак, автоимунни и сърдечно-съдови заболявания, диабет и др. Понастоящем все по-нарастващата в световен план честота на витамин D недостатъчността се определя като „пандемия“. В България отскоро съществува възможност за лабораторно мониториране на витамин D статуса най-често чрез имунохимични методи. Разработеният от нас „in house“ HPLC-UV метод за определяне на 25(OH)D като основен биомаркер за витамин D статуса, се отличава с висока аналитична надеждност. Това дава възможност да служи като арбитражен метод в случаите на съмнение в резултатите, получени с рутинните имунохимични методи. Все още липсват системни проучвания за честотата на витамин D недостатъчност, както сред здравото население, така и сред отделни групи индивиди с хронични заболявания. Доказаната от нас висока честота на витамин D недостатъчност при две хронични и социално значими заболявания като HCV-инфекция и простатен карцином и взаимовръзката с информативни клиничко-лабораторни параметри дава основание за включването на този показател към рутинните лабораторни изследвания. Общественото здраве би могло да се подобри като се определя и мониторира витамин D статуса на рискови групи и при доказване на недостатъчност да се препоръчва промяна в стила на живот и/или адекватно суплементиране с витамин D препарати.

For decades, vitamin D has been associated mainly with bone diseases. As a prohormone of the steroid superfamily, vitamin D performed its effects through VDR (vitamin D receptor), found in many tissues. This has led to the understanding that vitamin D exerts the so-called "non calcemic" effects. There is scientific evidence linking inadequate vitamin D status to a variety of chronic diseases such as cancer, autoimmune and cardiovascular diseases, diabetes and others. The growing incidence of vitamin D insufficiency worldwide is now recognized as a pandemic. In recent years, there is a possibility for laboratory monitoring of vitamin D status in Bulgaria, predominantly by immunochemical methods. Our newly developed "in-house" HPLC-UV method

for determination of 25-hydroxyvitamin D (25OHD), the best biomarker of vitamin D status, has shown a high analytical performance. It can be used in cases where there is doubt in the results obtained by immunochemical methods. There are still no systematic studies in Bulgaria on the incidence of vitamin D insufficiency among healthy population as well as among specific risk groups of individuals with chronic diseases. In our study we have found high incidence of vitamin D insufficiency in two chronic and socially significant diseases (HCV-infection and prostate cancer) and proved correlation with informative clinical/laboratory parameters. This is a reason 25OHD to be included as a routine laboratory parameter in monitoring the course of the mentioned diseases. Public health could be improved by determining and monitoring vitamin D status of risk groups, and recommending a change in lifestyle and/or adequate supplementation with vitamin D preparations.

Критерий В

ПОКАЗАТЕЛ В4. Хабилизационен труд = научни публикации (не по-малко от 10) в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация

B4-01 M. Zhelyazkova-Savova, S. Gancheva, B. Galunska, **D. Gerova**. Vitamin K: the new faces of an old friend – a role in bone and vascular health. *Biomedical Reviews*. 2017 (28): 74-94.

Abstract

There is an exciting research expansion on the novel roles of vitamin K in the last decades. Subclinical deficiency in vitamin K is believed to be widely spread, possibly contributing to age-related diseases. The present review is focused on the effects of vitamin K on the skeleton and blood vessels, where it could be potentially useful in the prevention and treatment of osteoporosis and vascular calcification, both having a significant health impact in the society. The types (K1 and K2), nature and sources of vitamin K are reviewed as well as the mechanisms of action underlying their effects. Gamma-glutamic carboxylation of several vitamin K dependent proteins (VKDP), including clotting factors, is the primary mode of action of vitamin K, leading to activation of proteins with specific functions. Priority was given to those VKDP that are involved in maintaining bone and vascular health. Other recently identified cellular transduction pathways through which vitamin K acts are also outlined. Experimental in vivo data confirming the expected beneficial effects of vitamin K on bones and blood vessels have paved the way for clinical studies. So far, the evidence from clinical experience with vitamin K supplementation is promising, but still insufficient to recommend routine use of vitamin K as a preventive agent. Several prospective randomized controlled clinical studies currently in progress are expected to give more clear-cut results allowing the routine use of vitamin K as a reliable, cheap and safe medication in the prevention of bone loss and vascular calcification.

Резюме

През последните десетилетия се трупат множество вълнуващи научни разкрития относно новите роли на витамин К. Счита се, че субклиничният дефицит на витамин К е широко разпространен и вероятно е свързан с развитието на т.нар. „болести на стареенето“. Настоящият литературен обзор е фокусиран върху ефектите на витамин К върху костната система и кръвоносните съдове. Обсъжда се евентуалната му роля за превенция и лечение на остеопорозата и съдовата калцификация, които оказват значително въздействие върху общественото здраве. Разгледани са видовете витамин К (K1 и K2), тяхната природа и източници, както и механизмите на действие, осъществяващи ефектите им. Основният механизъм на действие на витамин К е гамакарбоксилацията на т.нар. витамин К-зависими протеини, включително фактори на кръвосъсирването, в резултат на което те се активират, за да изпълнят своите специфични функции. В обзора е даден приоритет на тези от тях, които участват в поддържането на костното и съдово здраве. Отбелязани са и някои наскоро идентифицирани вътреклетъчни трансдукционни сигнални пътища, чрез които витамин К осъществява ефектите си. Експерименталните *in vivo* изследвания потвърждават очакваните благоприятни ефекти на витамин К върху кости и съдова система и проправят пътя за провеждане и на клинични проучвания. Досегашните данни от клинични проучвания, разглеждащи ефектите от суплементиране с витамин К, макар и обещаващи, са все още недостатъчни, за да се препоръчва рутинната му употреба с цел превенция. Няколко проспективни рандомизирани контролирани клинични проучвания, които са в ход в момента, се очаква да дадат по-ясни резултати относно рутинната употреба на витамин К като надеждно, евтино и безопасно лекарствено средство за предотвратяване на костната загуба и съдовата калцификация.

B4-02 Yordanova M, Gerova D, Atanassova A, Galunska B. Adenosine Deaminase as a Useful Biomarker for Diagnosis and Monitoring of Inflammatory Bowel Disease. Clin Lab. 2020 Jul 1;66(7). doi: 10.7754/Clin.Lab.2019.191124. PMID: 32658411. (IF: 1.138).

Abstract

Background: Inflammatory bowel disease (IBD) is a multifactorial immunologically mediated disorder characterized by repeated cycles of exacerbations and remissions. Diagnosis and monitoring of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) as common types of IBD require the usage of unpleasant invasive methods such as colonoscopy and cross-sectional imaging. Development of a non-invasive biomarker panel including different inflammatory parameters for evaluation of various aspects of gut inflammation and disease course is a priority task. In addition to the well-known inflammatory markers serum C-reactive protein (CRP) and fecal calprotectin (FC), adenosine deaminase (ADA) could be a promising candidate biomarker. ADA has been shown to increase in several inflammatory conditions, but little is known about its significance in IBD. This preliminary research aims to study the serum levels of ADA in IBD patients and to evaluate its ability to adequately reflect the gut inflammatory process. **Methods:** Fifty-four IBD

patients (40 with UC and 14 with CD) and 50 controls were enrolled in the study. Routine laboratory parameters such as white blood cells (WBC) count, erythrocyte sedimentation rate (ESR), and CRP were used. The specific biomarker for intestinal inflammation FC was measured by sandwich immunoassay (BÜHLMANN) and ADA activity – by two-step enzyme method (BioSystems). *Results:* The median [IQR: 25th-75th percentile] ADA values in IBD patients were significantly higher than those in the controls (18.7 U/L [15.4-22.5] vs. 9.10 U/L [7.1-11.2] respectively; $p < 0.0001$). A significant difference was obtained when comparing median ADA values in patients with active disease (20.4 [17.8-25.3] U/L) with those in patients with mild form of the disease or in remission (15.3 [13.0-16.0] U/L; $p < 0.0001$). A strong positive correlation between ADA and FC ($r = 0.63$; $p < 0.0001$) and moderate positive correlation between ADA and CRP ($r = 0.46$; $p < 0.001$) were observed. ROC-curve analysis revealed good ability of ADA to discriminate not only IBD patients from healthy individuals, but also patients with active disease and those in remission/mild form. *Conclusions:* The present study revealed that ADA levels were significantly increased in IBD patients. Together with FC and CRP, ADA could be used as an effective biomarker for assessment of intestinal inflammation and as a potential indicator for disease activity.

Резюме

Възпалителните заболявания на червата (IBD) са многофакторни имуномедиирани заболявания, характеризиращи се с повтарящи се цикли на обостряния и ремисии. Диагностиката и проследяването на улцерозния колит (УК) и болестта на Crohn (БК) като често срещани видове IBD изискват използването на неприятни за пациентите инвазивни методи като колоноскопия и многосрезови образни изследвания. Разработването на панел от биомарки, включващ разнообразни параметри за оценка на различни аспекти на чревното възпаление, както и хода на заболяването, е приоритетна задача. В допълнение към добре познатите възпалителни маркери като серумен С-реактивен протеин (CRP) и фекален калпротектин (FC), аденозин дезаминазата (ADA) може да бъде обещаващ кандидат-биомаркер. Доказано е, че ADA се увеличава при различни възпалителни състояния, но се знае твърде малко за значението на този ензим при IBD. Това предварително изследване има за цел да проучи серумните нива на ADA при пациенти с IBD и да оцени способността ѝ да отразява адекватно възпалителния процес на червата. *Методи:* Петдесет и четири пациента с IBD (40 с УК и 14 с БК) и 50 индивида, служещи като контроли, са включени в проучването. Използвани са рутинни лабораторни параметри като брой на белите кръвни клетки (WBC), скорост на утаяване на еритроцитите (ESR) и CRP. Специфичният биомаркер за чревно възпаление, FC, е измерен чрез сандвичев имуноанализ (BÜHLMANN), а активността на ADA – чрез двустъпален ензимен метод (BioSystems). *Резултати:* Медианата [IQR: 25-ти - 75-ти персентил] на стойностите на ADA при пациенти с IBD са значително по-високи от тези при контролите (съответно 18.7 U/L [15.4-22.5] спрямо 9.10 U/L [7.1-11.2]; $p < 0.0001$). Значителна разлика се открива при сравнение на медианите за ADA при пациенти с активно заболяване (20.4 [17.8-25.3] U/L) спрямо пациентите с лека форма на заболяването или в ремисия (15.3 U/L [13.0-16.0] U/L; $p < 0.0001$). Наблюдава се силна положителна корелация между ADA и FC ($r = 0.63$; $p < 0.0001$).

и умерена положителна корелация между ADA и CRP ($r=0.46$; $p<0.001$). ROC-анализът разкрива доказва добрата способност на ADA не само да разграничава IBD-пациентите от здравите индивиди, но и пациентите с активно заболяване от тези с лека форма или в ремисия. *Заключения:* Настоящото проучване разкрива, че нивата на ADA са значително повишени при пациенти с IBD. Заедно с FC и CRP, ADA може да се използва като надежден биомаркер за оценка на чревно възпаление и като потенциален индикатор за активност на заболяването.

B4-03 Nikolova M, Nazifova-Tasinova N, Vankova D, **Geroва D**, Yotov Y, Atanasov A, Pasheva M, Kiselova-Kaneva Y, Galunska B. Vitamin D Status in Patients with Atrial Fibrillation and Heart Failure – Is there a Link? Clin Lab. 2021 Jun 1;67(6). doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200902. PMID: 34107623. (IF: 1.053)

Abstract

The disturbed pleiotropic functions of vitamin D are related to numerous chronic non-skeletal diseases. The role of vitamin D insufficiency/deficiency in cardiovascular diseases (CVD) is controversial. Therefore, the *aim* was to study the vitamin D status in CVD patients and to reveal possible relationships with CVD risk factors. *Materials and methods:* This prospective study includes 93 individuals divided into two groups – patients with CVD ($n=49$) and patients at risk for CVD ($n=44$) served as controls. The CVD patients were stratified into AF-group – with paroxysmal or persistent atrial fibrillation and HF group – with heart failure with preserved ejection fraction, in sinus rhythm. Vitamin D status was assessed by measurement of serum 25-hydroxy-vitamin D (25OHD) using liquid chromatography with mass detection. Gene expression of the regulatory enzyme of vitamin D metabolism, 1- α -hydroxylase (CYP27B1), was evaluated by two-step real-time qPCR. Coronary artery calcium scans were performed and coronary artery calcium score (CACS) was calculated. Routine biochemical parameters were extracted from the medical documentation. Standard statistical methods (descriptive statistics, unpaired Student's t-test, one-way ANOVA, simple and multiple linear regression analyses) were applied. Statistical significance was considered at $p<0.05$. *Results:* Serum 25OHD levels of the controls were higher than those of the CVD-patients (37.36 ± 15.10 ng/mL vs. 27.70 ± 11.80 ng/mL, $p=0.008$). The vitamin D status worsened with the severity of CVD pathology: significant decrease of 25OHD levels was found in the AF-group (29.56 ± 11.76 ng/mL, $p=0.044$) and HF-group (24.47 ± 11.61 ng/mL, $p=0.003$) vs. controls (37.36 ± 15.10 ng/mL). Significant reduction in circulating vitamin D levels with the increase of CACS ($p=0.007$) was also observed. Linear regression analysis revealed significant negative association for serum 25OHD with CACS for both the entire studied group ($p=0.008$) and for CVD patients ($p=0.049$). The gene expression of CYP27B1 was down regulated with both the severity of CVD pathology ($p=0.05$) and coronary calcium accumulation ($p=0.08$). Moreover, we found a significant positive relationship ($p=0.041$) between serum 25OHD levels and CYP27B1 gene expression. *Conclusion:* Vitamin D deficiency may be an independent cardiovascular risk factor associated with the severity of CVD pathology and increased coronary calcium deposition. The mechanism by which vitamin D itself can affect cardiovascular outcomes remains to be clarified.

Резюме

Нарушените плейотропни функции на витамин D са свързани с множество хронични заболявания. Ролята на дефицита на витамин D при сърдечно-съдови заболявания (ССЗ) е противоречива и не е напълно изяснена. *Цел:* Целта на настоящото проучване е да се проучи статусът на витамин D при пациенти със ССЗ, както и да се установят възможни връзки с рисковите фактори за ССЗ. *Материали и методи:* В това проучване бяха включени 93 лица, разделени в две групи – пациенти със ССЗ (n=49) и пациенти с риск от ССЗ (n=44), служещи като контроли. ССЗ-болните са стратифицирани в ПМ-група (с предсърдно мъждене) и в СН-група (сърдечна недостатъчност със запазена фракция на изтласкване). Нивата на витамин D бяха определени чрез измерване на серумния 25-хидрокси-витамин D (25OHD) с помощта на течна високоефективна мас-хроматография. Генната експресия на регулаторния ензим от метаболизма на витамин D, 1-алфа-хидроксилаза (CYP27B1), беше определена чрез количествен qPCR в реално време. Бяха проведени калциеви сканирания на коронарни артерии и беше изчислен калциевият скор на коронарните артерии (CACS). Рутинните биохимични параметри са взети от медицинската документация. Бяха приложени стандартни статистически методи, като статистическата значимост се разглежда при $p < 0.05$. *Резултати.* Серумните нива на 25OHD на контролите са по-високи от тези на пациентите със ССЗ (37.36 ± 15.10 ng/mL спрямо 27.70 ± 11.80 ng/mL, $p = 0.008$). Нивата на витамин D намаляват с тежестта на ССЗ патология. Установихме значително понижение на нивата на 25OHD в групата с предсърдно мъждене (29.56 ± 11.76 ng/mL, $p = 0.044$) и в групата със сърдечна недостатъчност (24.47 ± 11.61 ng/mL, $p = 0.003$) спрямо контролната група (37.36 ± 15.10 ng/mL). Наблюдавани са и значително намаляване нивата на циркулиращия витамин D с повишаване на калциевия скор ($p = 0.007$). Линеен-регресионният анализ разкри значителна отрицателна взаимовръзка между серумния 25OHD с калциевия скор както за цялата изследвана група ($p = 0.008$), така и за пациентите със ССЗ ($p = 0.049$). Установихме значителна положителна връзка ($p = 0.041$) между серумните нива на 25OHD и генната експресия на CYP27B1. *Заклучение:* Дефицитът на витамин D може да бъде независим сърдечно-съдов рисков фактор, свързан с тежестта на сърдечно-съдовата патология и повишеното коронарно отлагане на калций. Механизмът, чрез който витамин D може да влияе върху сърдечно-съдовите промени, остава да бъде изяснен.

B4-04 Nazifova-Tasinova NF, Atanasov AA, Pasheva MG, Yotov YT, **Gerova DI**, Vankova DG, Todorova MN, Ivanova DG, Kiselova-Kaneva YD, Galunska BT. Circulating uncarboxylated matrix Gla protein in patients with atrial fibrillation or heart failure with preserved ejection fraction. Arch Physiol Biochem. 2022 Dec;128(6):1619-1629. doi: 10.1080/13813455.2020. 1786130. Epub 2020 Jul 3. PMID: 32620059. (IF 4.076)

Abstract

Circulating uncarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) is possibly related to coronary arterial calcification (CAC) in cardiovascular disease (CVD) patients. *Aim:* We aimed to evaluate the relationships between circulating uncarboxylated matrix Gla proteins, cardiovascular pathology

and coronary arterial calcification. As well as what is the interplay with risk factors for cardiovascular diseases. *Materials and methods:* ucMGP was measured in 99 CVD-patients. CAC score was determined by multi-slice computed tomography. Circulating ucMGP, uncarboxylated (ucOC) and carboxylated osteocalcin (cOC) were assayed by ELISA kits. Vitamin-K status was evaluated by ucOC/cOC ratio. *Results:* A tendency for decreased ucMGP was observed for $CAC \geq 100$ AU vs. $CAC = 1-99$ AU after exclusion of the patients on vitamin K-antagonist anticoagulants. Significant inverse correlations between ucMGP and vitamin-K status were indicated for the entire cohort and according to CAC score. Significant associations were found between ucMGP and risk factors for CVD. *Conclusion:* Circulating ucMGP may reflect certain stages of CVD and CAC. Future studies are needed to clarify its role as potential biomarker.

Резюме

Циркулиращият некарбоксилиран матриксен Gla протеин (ucMGP) вероятно е свързан с коронарна артериална калцификация при пациенти със сърдечно-съдови заболявания. *Цел:* Целта на настоящото изследване беше да оценим връзките между нивата на циркулиращия некарбоксилиран матриксен Gla протеин със сърдечно-съдови патологии и коронарната артериална калцификация, както и взаимодействието му с рисковите фактори за сърдечно-съдови заболявания. *Материали и методи:* Изследвахме нивата на ucMGP при 99 пациента със сърдечно-съдови заболявания. Резултатите за коронарна артериална калцификация бяха определени чрез мулти-срезова компютърна томография. Циркулиращият ucMGP, некарбоксилираният (ucOC) и карбоксилиран остеокалцин (cOC) бяха анализирани с помощта на ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA). Статусът на витамин К е оценено чрез съотношението ucOC/cOC. *Резултати:* Наблюдава се тенденция за понижен ucMGP при пациенти с калциев скор $CAC \geq 100$ AU спрямо пациенти с калциев скор $CAC = 1-99$ AU след изключване на пациентите, приемащи антагонисти на витамин К като антикоагулантни медикаменти. Статистически значими обратни корелационни връзки между ucMGP и статуса на витамин К са установени за цялата кохорта. Намерени са и значими взаимовръзки между ucMGP и рисковите фактори за сърдечно-съдови заболявания. *Заключение:* Циркулиращият ucMGP може да отразява отделни етапи от развитието на сърдечно-съдови заболявания и коронарната артериална калцификация. За да се изясни ролята му като потенциален биомаркер при оценката на тези заболявания са необходими допълнителни проучвания в бъдеще.

B4-05 Bekyarova G, Kiselova-Kaneva Y, Madjova V, **Gerova D**, Bekyarov N, Todorova M, Stoeva S. The predictable role of ADMA and oxidative stress in endothelial dysfunction – a pilot study. J IMAB. 2022; 28:38–41

Abstract

The aim of the study was to examine the plasma levels of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), malondialdehyde (MDA) and lipid markers in people with metabolic syndrome (MetS) as well as in clinically asymptomatic people. We further studied whether such elevation of ADMA as marker of endothelial dysfunction was correlated with oxidative stress and conventional risk factors.

According to modified National Cholesterol Education Program Expert Panel and Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) criteria the participants (52 females, 8 males) of the study were divided into four groups: G1, n=19, people with MetS; G2, n=12, people with genetic predisposition and risk for MetS; G3, n=15, people with unhealthy life style and risk of MetS and Control group, n=14. The study revealed significant differences between groups with and without anamnestic data of MetS in terms of ADMA, MDA and lipid markers. Plasma levels of ADMA and MDA in G1 were significantly higher ($p<0.001$) compared to these of G3. The levels of lipid markers (TG, TChol, LDL-C and HDL-C) in G1 were close to those of the control group. The levels of ADMA significantly correlated with plasma MDA levels. These results suggest a link between plasma ADMA and MDA as indicator of oxidative stress and their role as predictive biomarkers for endothelial dysfunction and cardiometabolic risk.

Резюме

Целта на проучването е да се изследват плазмените нива на асиметричния диметиларгинин (ADMA), малондиалдехид (MDA) и липидните маркери при хора с метаболитен синдром (MetS), както и при клинично асимптоматични индивиди. Освен това проучихме дали повишаването на ADMA, като маркер за ендотелна дисфункция, е свързано с оксидативния стрес и конвенционалните рискови фактори. Според модифицираните критерии на National Cholesterol Education Program Expert Panel and Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) участниците (52 жени, 8 мъже) в проучването бяха разделени на четири групи: G1, n=19 индивида с MetS; G2, n=12 индивида, с генетично предразположение и риск за MetS; G3, n=15 индивида, с нездравословен начин на живот и риск за MetS и контролна група (n=14 индивида). Проучването разкри значителни разлики между групите с и без анамнестични данни за MetS по отношение на ADMA, MDA и липидните маркери. Плазмените нива на ADMA и MDA в група G1 са значително по-високи ($p<0.001$) в сравнение с тези в група G3. Нивата на липидните маркери (TG, TChol и LDL-C, HDL-C) в група G1 бяха близки до тези на контролните индивиди. Нивата на ADMA значително корелират с плазмените нива на MDA. Тези резултати предполагат връзка между плазмените ADMA и MDA като индикатори за оксидативен стрес и ролята им като прогностични биомаркери за ендотелна дисфункция и кардиометаболичен риск.

B4-06 Gerov V, **Gerova D**, Micheva I, Nikolova M, Pasheva M, Nazifova N, Galunska B. Circulating sRANKL, Periostin, and Osteopontin as Biomarkers for the Assessment of Activated Osteoclastogenesis in Myeloma Related Bone Disease. *Cancers (Basel)*. 2023 Nov 24;15(23):5562. doi: 10.3390/cancers15235562. PMID: 38067265; PMCID: PMC10705189. (IF 4.5)

Abstract

The hallmark of multiple myeloma (MM) is myeloma related bone disease (MBD). Interactions between myeloma plasma cells (MPCs), stromal cells, and the bone marrow (BM) microenvironment play a critical role in the pathogenesis of MBD. Bone remodeling is severely dysregulated with the prevalence of osteoclast activity. We aimed to assess circulating levels of

sRANKL, periostin, and osteopontin as osteoclast activators in newly diagnosed MM (NDMM) patients at diagnosis and in the course of treatment, correlations with clinical and laboratory data, and to evaluate their potential as additional biomarkers for the assessment of MBD. The current study involved 74 subjects (41 NDMM patients, 33 controls). MBD was assessed by whole-body low-dose computed tomography. sRANKL, periostin, and osteopontin were assayed by commercial ELISA kits. At diagnosis, all tested parameters were significantly higher in NDMM patients compared to the controls ($p < 0.0001$), correlating with disease stage, MBD grade, and BM infiltration by MPCs. During therapy, the serum levels of all tested proteins decrease, most prominently after autologous stem cell transplantation ($p < 0.0001$). A significant reduction was established in patients achieving complete and very-good partial response compared to all others ($p < 0.05$). In conclusion, sRANKL, periostin, and osteopontin reflect MBD severity and could be promising markers for MBD monitoring and the effect of myeloma treatment.

Резюме

Отличителен белег на множествения миелом (ММ) е свързаната с миелома костна болест (MBD). Взаимодействията между миеломните плазматични клетки (MPCs), стромалните клетки и микросредата на костния мозък (BM) играят решаваща роля в патогенезата на MBD. Костното ремоделиране е силно нарушено с преобладаваща активност на остеокластите. Целта ни беше да изследваме циркулиращите нива на sRANKL, периостин и остеопонтин като активатори на остеокластите при новодиагностицирани пациенти с ММ (NDMM) в динамика – при поставяне на диагнозата и в хода на лечението, да оценим корелациите им с клиничните и лабораторните данни и потенциала им като допълнителни биомаркери за оценка на MBD. Настоящото проучване включва 74 лица (41 пациента с NDMM и 33 здрави индивида като контроли). MBD е оценена чрез целотелесна нискодозова компютърна томография. sRANKL, периостин и остеопонтин са изследвани чрез търговски ELISA китове. При поставяне на диагнозата всички изследвани параметри са значително по-високи при пациентите с NDMM в сравнение с контролите ($p < 0.0001$), като корелират със стадия на заболяването, степента на MBD и инфилтрацията на BM от MPCs. По време на терапията серумните нива на всички тествани протеини намаляват, най-значимо след автоложна трансплантация на стволови клетки ($p < 0.0001$). Установено е значимо намаление на нивата им при пациенти, постигнали пълен и много добър частичен отговор в сравнение с всички останали ($p < 0.05$). В заключение, sRANKL, периостин и остеопонтин отразяват тежестта на MBD и се явяват обещаващи маркери за проследяване на MBD и ефекта от лечението на ММ.

B4-07 Gerov V, Gerova D, Micheva I, Nikolova M, Mihaylova G, Galunska B. Dynamics of Bone Disease Biomarkers Dickkopf-1 and Sclerostin in Patients with Multiple Myeloma. J Clin Med. 2023; 12(13):4440. <https://doi.org/10.3390/jcm12134440> (IF: 3.0)

Abstract

Dickkopf-1 (DKK-1) and sclerostin are essential Wnt/ β -catenin pathway inhibitors, playing an important role in multiple myeloma bone disease (MBD). We aimed to examine the serum DKK-1 and sclerostin variations in newly diagnosed multiple myeloma (NDMM) patients at diagnosis and in the course of therapy, including autologous stem cell transplantation (ASCT). This study included 41 NDMM-patients and 33 controls. MBD was assessed by whole-body low-dose computed tomography. DKK-1 and sclerostin were assayed by commercial ELISA kits. At diagnosis, NDMM patients revealed significantly higher DKK-1 and sclerostin values ($p < 0.0001$), showing dependence on disease stage (lowest in ISS-I and highest in ISS-III: $p < 0.0012$ and $p < 0.025$, respectively, for both proteins). Bone lesions revealed significant positive correlation with both DKK-1 ($p < 0.05$) and sclerostin ($p < 0.0001$). In the course of therapy, significant reduction, more prominent after ASCT, was observed for both parameters in each treatment point compared to the baseline ($p < 0.0001$). Markedly lower sclerostin ($p < 0.01$) and DKK-1 ($p < 0.05$) values were observed in patients with complete and very good partial response compared to those with partial response, stable, or progressive disease. Sclerostin and DKK-1 in NDMM patients reflect the MBD severity and the effect of therapy. Both proteins could represent a novel tool for better disease monitoring and effectiveness of therapy.

Резюме

Dickkopf-1 (DKK-1) и склеростин са основни инхибитори на Wnt/ β -катенин пътя, играещи важна роля за костната болест при множествен миелом (MBD). Целта ни беше да изследваме серумните нива на DKK-1 и склеростин при новодиагностицирани пациенти с множествен миелом (NDMM) при поставяне на диагнозата им, както и в хода на терапията, включително и след провеждане на автоложна трансплантация на стволови клетки (ASCT). Това проучване включва 41 пациента с NDMM и 33 контролни индивиди. MBD е оценена чрез целотелесна нискодозна компютърна томография. DKK-1 и склеростинът са изследвани с търговски ELISA китове. При поставяне на диагнозата, при NDMM пациентите са установени значително по-високи серумни нива на DKK-1 и склеростин ($p < 0.0001$), показващи зависимост от стадия на заболяването (най-ниски при ISS-I и най-високи при ISS-III: $p < 0.0012$ и $p < 0.025$ съответно за двата протеина). Костните лезии показват значима положителна корелация както с DKK-1 ($p < 0.05$), така и със склеростин ($p < 0.0001$). В хода на терапията се наблюдава значимо намаление на стойностите на двата параметъра във всеки един етап от лечението, като е най-изразено след ASCT в сравнение с изходното ниво ($p < 0.0001$). Значимо по-ниски стойности на склеростин ($p < 0.01$) и DKK-1 ($p < 0.05$) са наблюдавани при пациенти с пълен и много добър частичен отговор в сравнение с тези с частичен отговор, стабилно или прогресиращо заболяване. Склеростин и DKK-1 при NDMM пациенти отразяват тежестта на MBD и ефекта от терапията. Двата протеина биха могли да се прилагат като допълнителни биомаркери за по-ефективно проследяване на MBD, както и при оценката на ефекта от лечението.

B4-08 Bekyarova GY, Vankova DG, Madjova VH, Bekyarov NA, Salim AS, Ivanova DG, Stoeva SM, **Gerova DI**, Kiselova-Kaneva YD. Association between Nrf2, HO-1, NF- κ B Expression, Plasma ADMA, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 2;24(23):17067. doi: 10.3390/ijms242317067. (IF: 4.9)

Abstract

Endothelial dysfunction is one of the major factors in the pathogenesis of metabolic syndrome (MetS), and its molecular mechanisms are not completely understood. The present study aimed to examine the connection between nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), heme oxygenase 1 (HO-1), and plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and malondialdehyde (MDA) in people with MetS. Participants in the study were as follows: with MetS ($n = 30$) and without MetS (Controls, $n = 14$). Expression of Nrf2, NF- κ B, and HO-1 was measured in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Plasma ADMA was determined using the ELISA technique and MDA via the thiobarbituric acid method. Our study showed that mRNA of NF- κ B, Nrf2, and HO-1 levels in PBMCs in the MetS group were significantly higher than in the controls by 53%, 130%, and 185% ($p < 0.05$), respectively. Similarly, elevated levels of MDA (by 78%, $p < 0.001$) and ADMA (by 18.7%, $p < 0.001$) were established in the MetS group. Our findings show the importance of transcription factor Nrf2, playing an integral role in the protection of the endothelium, and of NF- κ B, a transcription factor mediating the inflammatory response in MetS. Knowledge of complex cellular-molecular mechanisms would allow the use of biomarkers such as Nrf2, NF- κ B, HO-1, and ADMA for the assessment of endothelial dysfunction in clinical practice.

Резюме

Ендотелната дисфункция е един от основните фактори в патогенезата на метаболитния синдром (MetS), но молекулярните ѝ механизми все още не са напълно изяснени. Целта на настоящото проучване е да се проучи връзката между ядрения фактор еритроиден 2-свързан фактор 2 (Nrf2), ядрения фактор капа-В (NF- κ B), хемооксигеназа 1 (HO-1) и плазмените асиметричен диметиларгинин (ADMA) и малондиалдехид (MDA) при хора с MetS. Участниците в проучването включват индивиди с MetS ($n = 30$) и индивиди без MetS, служещи като контроли ($n = 14$). Експресията на Nrf2, NF- κ B и HO-1 беше измерена в мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMCs). Плазменият ADMA беше определен с помощта на ELISA техника, а MDA – по метода на тиобарбитуровата киселина. Нашето проучване показва, че нивата на мРНК на NF- κ B, Nrf2 и HO-1 в PBMCs в групата с MetS са значително по-високи от тези в контролната група, съответно с 53%, 130% и 185% ($p < 0.05$). По подобен начин при индивидите с MetS бяха установени повишени нива на MDA (със 78%, $p < 0.001$) и ADMA (с 18.7%, $p < 0.001$). Нашите открития показват значението на транскрипционния фактор Nrf2, играещ интегрална роля в защитата на ендотела, и на NF- κ B, транскрипционен фактор, медиращ възпалителния отговор при MetS. Изясняването на ролята на Nrf2, NF- κ B, HO-1 и ADMA в сложните клетъчно-молекулярни патогенетични механизми на ендотелната дисфункция би позволило използването им в клиничната практика като биомаркери за оценка на ендотелна дисфункция.

B4-09 D. Gerova, M. Todorova, M. Nikolova, D. Vankova, B. Galunska. Serum methylmalonic acid as a valuable biomarker for assessment of vitamin B12 status in pregnancy. Turk J Biochemistry, 2024; 49 (S1): 252-263 (IF: 0.6)

Abstract

Objectives: Vitamin B12 is an essential micronutrient for pregnant women and its suboptimal levels are associated with an increased risk of adverse pregnancy outcomes. We aimed to investigate the vitamin B12 status of Bulgarian pregnant women using a combination of direct and metabolic biomarkers and to examine interrelations with clinical parameters assessing the course of pregnancy and foetal development.

Methods: A total of 259 pregnant women were divided into three groups: women with normal pregnancy (n=167), gestational diabetes mellitus (GDM, n=43) and pre-eclampsia (PE, n=49). Total vitamin B12 (TB12) and holotranscobalamin (AB12) were determined using routine chemiluminescence methods. The functional biomarker methylmalonic acid (MMA) was measured by liquid-chromatography mass-spectrometry.

Results: Women with suboptimal vitamin B12 levels were 24.2%. Significant difference in the frequency distribution of deficiency/insufficiency and in attitude towards vitamin B12 supplementation was observed among groups ($\chi^2=14.23$, $p=0.007$ and $\chi^2=16.81$, $p=0.0021$, respectively). MMA was the only parameter showing significant difference regarding pregnancy length (term vs. preterm birth: 224.6 vs 306.6 nmol/L, $p=0.041$) and birth weight (normal vs low birth weight: 221.5 vs 296.4 nmol/L, $p=0.025$). Higher serum levels of TB12 were established in cold months.

Conclusions: TB12 is the most commonly used parameter to assess vitamin B status and is influenced by many factors. The inclusion of a functional biomarker such as MMA in addition to the direct parameters TB12 and AB12 would add impact for more reliable evaluation of vitamin B12 deficiency/insufficiency and could be a good practice for routine assessment of vitamin B12 status in pregnant women.

Резюме

Витамин В12 е основен микроелемент за бременните жени, а субоптималните му нива са свързани с повишен риск от неблагоприятни последици за бременността. Целта ни е да оценим витамин В12 статуса на български бременни жени, като използваме комбинация от директни и метаболитни биомаркери, и да проучим техните взаимовръзки с клинични параметри, оценяващи протичането на бременността и развитието на плода.

Методи. Общо 259 бременни жени са разделени на три групи: жени с нормална бременност (n=167), с гестационен захарен диабет (ГЗД, n=43) и с прееклампсия (ПЕ, n=49). Общият витамин В12 (ТВ12) и холотранскобаламинът (АВ12) бяха определени чрез рутинни хемилуминесцентни методи. Функционалният биомаркер метилмалонова киселина (ММА) е измерен с помощта на течна хроматография с маспектрометрична детекция.

Резултати. Жените със субоптимални нива на витамин B12 съставляват 24.2%. Между групите се наблюдава значителна разлика в честотното разпределение на витамин B12 дефицит/недостатъчност, както и в нагласата на изследваните жени към допълнително приемане на витамин B12 препарати (съответно $\chi^2=14.23$, $p=0.007$ и $\chi^2=16.81$, $p=0.0021$). MMA е единственият параметър, показващ значима разлика по отношение на продължителността на бременността (раждане на термин спрямо преждевременно раждане: 224.6 nmol/L спрямо 306.6 nmol/L, $p=0.041$) и теглото при раждане (нормално спрямо ниско тегло: 221.5 спрямо 296.4 nmol/L, $p=0.025$). По-високи серумни нива на TB12 са установени през студените месеци.

Заклучения. Въпреки че определянето на TB12 се влияе от множество фактори, той е най-често използваният параметър за оценка на витамин B12 статуса. Включването на функционален биомаркер като MMA в допълнение към директните параметри TB12 и AB12 би допринесло за по-надеждна оценка на дефицита или недостатъчността на витамин B12, което би допринесло за утвърждаване на добра практика за рутинна оценка на витамин B12 статуса при бременни жени.

B4-10 Gerova D. Vitamin D – a potential modifiable factor in neurodegenerative diseases. General Medicine. 2025;27(1):48–51

Abstract

Neurodegenerative diseases are severe debilitating diseases characterized by progressive loss of structure or function of neurons. They are currently considered incurable and age-related. Their incidence is expected to increase with serious health and socio-economic consequences. It is therefore essential to search for factors that could prevent their onset or delay their progression. Vitamin D, through its multiple pleiotropic “noncalcemic” functions, may prove to be an important modifiable factor in alleviating the severe symptomatology of neurodegenerative diseases. The aim of this review is to examine the pathogenetic relationship between vitamin D deficiency and the most common neurodegenerative diseases and to summarize the results of clinical trials investigating the effects of vitamin D supplementation.

Резюме

Невродегенеративните заболявания са тежки инвалидизиращи заболявания, които се характеризират с прогресивна загуба на структурата и/или функцията на невроните. Понастоящем се считат за нелечими. Поради застаряването на населението, се очаква честотата им да нарасне, което би довело до тежки здравни и социално-икономически последици. Търсенето на фактори, с помощта на които да се предотврати появата им или да се забави тяхното развитие се оказва жизнено необходимо. Витамин D, чрез множеството си плеiotропни „некалциемични“ функции, би могъл да се окаже важен модифицируем фактор, облекчаващ тежката симптоматика на невродегенеративните заболявания. Целта на обзора е да се разгледа патогенетичната връзка между витамин D дефицитните състояния и най-честите невродегенеративни заболявания, както и да се обобщят резултатите от клиничните проучвания, изследващи ефектите от витамин D суплементирането.

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г7. Пълнотекстови научни публикации, публикувани в издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

Г7-01 Georgieva M, Koleva K, Rasheva N, Krasnaliev I, Atanasova A, **Gerova D**, Pancheva-Dimitrova R, Moskova M. Non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents. Pediatrics, 2017 (1): 13-17.

Abstract

This review is encompassing non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in children and adolescents. The incidence, etiology, pathogenesis, clinical features, comorbidities, diagnosis, treatment, and prognosis are discussed. The prevalence of NAFLD in children is 13-20%, and of NASH – 3%. It is a disease of everyone – regardless of gender (although women are more affected), ethnicity, age (peak 40-59 years). Risk factors of NAFLD include obesity, type 2 diabetes, insulin resistance, hypertriglyceridemia, rapid weight loss or overeating, etc. NAFLD is a “silent” liver disease, with no specific clinical signs, even in childhood. The subjects exhibit fatigue (60%), pain under the right ribcage (35%) or no complaints (25%). Hepatomegaly is present in 40-50% of cases. The triad of arterial hypertension, elevated ALT and insulin resistance is a clinico-biological marker for NASH. Among the biomarkers, cytokeratin-18 (CK-18) is considered as the most promising non-invasive biomarker for NASH in children with fatty liver disease. However, liver biopsy is the essential method to diagnose NAFLD. Algorithms for the diagnosis of NASH and NAFLD are presented. There are two main strategies for the disease treatment: the antisteatotic and the anti-inflammation treatment. NAFLD and NASH progress slowly to cirrhosis (65-75% of cryptogenic cirrhosis result from NASH progression) and its complications, including hepatocellular carcinoma.

Резюме

Обзорът е посветен на неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) и неалкохолния стеатохепатит (НАСХ) в детска възраст. Разгледани са честотата, етиологията, патогенезата, клиничните характеристики, съпътстващите заболявания, диагнозата, лечението и прогнозата. Честотата в детска възраст на НАМЧБ е 13-20%, на НАСХ – 3%. Това е болест на всички – независимо от пол (но по-често боледуват жените), етническа принадлежност, възраст (пик 40-59г.). Рисковите фактори за НАМЧБ са затлъстяването, захарния диабет тип 2, инсулиновата резистентност, хипертриглицеридемията, бързото отслабване или прехранване и др. НАМЧБ е „тихо“ чернодробно заболяване, без никакъв специфичен клиничен белег, вкл. и в детска възраст. Болните имат лесна уморямост (60%), тежест в дясно подребрие (35%) или нямат никакви оплаквания (в около 25%). В 40-50% от случаите се установява хепатомегалия. Триадата от артериална хипертония, повишени стойности на АЛАТ и инсулинова резистентност е клинично-биологичен маркер за НАСХ. Сред биомаркерите, цитокератин 18 (СК-18) се разглежда като най-обещаващ маркер за откриване на НАСХ. Диагнозата на НАМЧБ може обаче да бъде поставена единствено

хистологично. Представени са алгоритми за диагностика на НАМЧБ и НАСХ. Има две основни направления за лечението на заболяването: 1. намаляване на стеатозата и 2. намаляване на възпалението. Болестта прогресира бавно до цироза (65-75% от криптогенните цирози са в резултат от прогресия на НАСХ) и нейните усложнения, включително и до хепатоцелуларен карцином.

Г7-02 M. Yordanova, **D. Gerova**, M. Boncheva. Saliva – a known and unknown diagnostic biofluid. Medical review, 2018, 54(3), 36-43

Abstract

As a diagnostic tool, saliva is not a sufficiently used biological material. Although saliva testing dates back to ancient times, it is still overlooked in the diagnostic process. The large number of analytes present in saliva (some secreted from salivary glands and some transported from blood by diffusion or ultrafiltration) provide an additional possibility for monitoring and diagnosing not only various oral diseases, but also different systemic disorders. Apart from reflecting different metabolic, hormonal, psychological, immunological and toxicological changes in the body, another advantage is that it is obtained through a noninvasive and easy procedure without discomfort for the patient. This makes it a valuable biofluid with great potential for the diagnostic process. The present review aims to characterize saliva as a biofluid, to define its physiological mechanisms of formation, composition and the basic functions that it performs in order to be better used in clinical practice.

Резюме

Като диагностично средство слюнката не е достатъчно използван биологичен материал. Макар, че изследването ѝ датира от дълбока древност, в наши дни тя все още е пренебрегвана в диагностичния процес. Съдържащите се в този биофлуид аналити, една част секретирани от слюнчените жлези, други пренесени от кръвта чрез дифузия и ултрафилтрация, дават допълнителна възможност за изследване не само на дентални и пародонтни, но и на системни заболявания. Освен че отразява различни метаболитни, хормонални, психически, имунологични и токсикологични промени в организма, друго нейно предимство е, че се добива посредством неинвазивна и лесна процедура без дискомфорт за пациента. Това я превръща в ценен биофлуид, който крие в себе си голям потенциал за диагностичния процес. С настоящия обзор се цели да се охарактеризират слюнката като биофлуид, физиологичните ѝ механизми на образуване, състав и основни функции, с оглед да бъде пълноценно използвана в клиничната практика.

Г7-03 Sv. Hristova, Sv. Dimitrov, J. Ruseva, **D. Gerova**, Y. Stefanov, V. Madjova, Vl. Kadinov. Radiological progression in patients with rheumatoid arthritis. General Medicine, 2018, 20(4): 48-51

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease that occurs with joint damage and destruction. In addition to being a diagnostic criterion, the x-ray can be followed over time, thus detecting the disease progression. It was found that the most pronounced X-ray changes were observed in the first years after the diagnosis has been made, especially for untreated patients. Numerous studies have shown that joint damage correlates with the duration and activity of the disease. In recent years, we have witnessed significant changes in the therapy of RA, as the use of biological disease-modifying anti-rheumatic drugs (bDMARDs) has been introduced in practice. Evaluating patients with regard to the available radiographic changes at the beginning and after a defined treatment period can be done to objectify the effect of this treatment on the radiographic progression of the disease

Резюме

Ревматоидният артрит (РА) е хронично възпалително заболяване, протичащо с увреждане и деструкция на ставите. Освен като диагностичен критерий, рентгенографските промени могат да бъдат проследени във времето и така се отчита прогресията на заболяването. Установява се, че най-изразени рентгенографски промени се наблюдават през първите години след диагностициране на РА, особено за нелекувани пациенти. Проведените многобройни проучвания показват, че ставното увреждане корелира с продължителността и активността на заболяването. През последните години сме свидетели на значителни промени в терапията на РА, тъй като в практиката се въведе използването на биологични болестопроменящи антиревматични медикаменти (bDMARDs). Оценяването на пациентите по отношение на наличните рентгенографски промени в началото и след определен период на лечение може да обективизира ефекта от това лечение върху рентгенографската прогресия на заболяването.

Г7-04 Sv. Hristova, Sv. Dimitrov, J. Ruseva, **D. Geroва**, Y. Stefanov, V. Madjova, Vl. Kadinov. Rheumatoid arthritis – the nature of the disease and assessment of its activity. General Medicine, 2019, 21(2): 73-76

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic chronic inflammatory disease of unknown etiology characterized by pain, stiffness and swelling of the joints due to inflammation of the synovium. A number of different interleukins and inflammatory cells play a role in the joint inflammation that leads to the formation of erosions in the subchondral bone with subsequent joint destruction. This is a disease with autoimmune genesis, as antibodies are produced in the body and attacking their own structures. The major antibodies are different fractions of rheumatoid factor (IgA, IgM, IgG), antibodies against cyclic citrullinated peptides (anti-CCP), antibodies against mutated citrullinated vimentin (anti-MCV). The presence or absence of these antibodies can be used for both diagnostic and prognostic criteria of the disease as it has been shown that patients with positive RF and/or presence of anti-CCP antibodies are at a higher risk of developing erosions and functional disorders, which determines the need for faster and more aggressive treatment. The disease has a

different activity in individual patients. The evaluation of this activity makes it possible to assess the progression of the disease and the applied treatment response. Different methods have been introduced for this purpose and they can be divided into three main groups: clinical, radiographic and laboratory.

Резюме

Ревматоидният артрит (РА) е системно хронично възпалително заболяване с непозната етиология, характеризиращо се с болка, скованост и оток на ставите, дължащи се на възпаление на синовиата. В ставното възпаление играят роля различни интерлевкини и възпалителни клетки, които водят до формиране на ерозии в субхондралната кост с последващо унищожаване на ставата. Това е заболяване с автоимунен произход, тъй като в организма се изработват антитела, атакуващи собствените структури. Основните антитела са различни фракции на ревматоидния фактор (IgA, IgM, IgG), антителата срещу циклични цитрулинирани пептиди (anti-CCP), антителата срещу мутирал цитрулиниран виментин (anti-MCV). Наличието или липсата на тези антитела може да се използва както за диагностичен, така и за прогностичен критерий за заболяването, тъй като е доказано, че пациенти с положителен РФ и/или наличие на anti-CCP антитела са с по-висок риск от развитие на ерозии и функционални нарушения, което определя необходимостта от по-бързо и агресивно лечение. РА има различна активност при отделните пациенти. Оценката ѝ дава възможност да се преценят прогресията на заболяването и отговорът от прилаганото лечение. За тази цел са въведени различни методи, които могат да бъдат разделени в 3 основни групи: клинични, рентгенографски и лабораторни.

Г7-05 Sv. Hristova, Sv. Dimitrov, J. Ruseva, **D. Geroва**, Y. Stefanov, V. Madjova, Vl. Kadinov. Assessment of factors for clinical course and treatment efficacy in patients with rheumatoid arthritis. General Medicine, 2019, 21(3): 59-61

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is systemic chronic inflammatory disease with unknown etiology and autoimmune genesis. Its course depends on the individual characteristics of the patient, external factors and/or factors associated with treatment. Early onset of medication is crucial to achieve positive long-term effect. However, in a proportion of patients, despite the treatment, there is a persistence of high clinical and laboratory activity. It is difficult to determine the individual course of every patient with RA at the outset, but there are some factors that are associated with an unfavorable prognosis in regard to joint damage and patients' disability. Establishing them allows differentiation the group of patients with worse prognosis for disease progression and early disability. Those cases require early aggressive treatment, including biological disease-modifying drugs to suppress inflammatory activity and stop rapid destruction of the joints.

Резюме

Ревматоидният артрит (РА) е системно хронично възпалително заболяване с непозната етиология и автоимунна генеза. Ходът му зависи от индивидуалната характеристика на

пациента, от външни фактори и/или фактори, свързани с лечението. Ранното започване на терапия е решаващо за постигане на положителен дългосрочен ефект. При част от болните обаче (въпреки лечението), персистира висока клинична и лабораторна активност. Да се определи ходът на всеки отделен случай на РА в самото начало е трудно, но съществуват някои фактори, които са свързани с неблагоприятна прогноза по отношение на ставното увреждане и инвалидизирането на болния. Установяването им дава възможност за диференциране на група болни с по-лоша прогноза за протичане на заболяването и за ранна инвалидизация, при които е необходимо ранно агресивно лечение, включително и с биологични болест-модифициращи медикаменти, за да се потисне възпалителната активност и да се спре бързата деструкция на ставите.

Г7-06 Pasheva M, Yotov Y, Nikolova M, **Gerova D**, Angelov A, Galunska B. Asymptomatic hyperuricemia as a potential metabolic risk factor for coronary artery calcification in patients with atrial fibrillation or heart failure. *Journal of IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers*. 2021; 27:1, 3634-3642

Abstract

Purpose: To assess the role of asymptomatic hyperuricemia for the presence and severity of coronary arterial calcium (CAC) in adults with different cardiovascular (CV) pathology and its association with conventional CV risk factors.

Material/Methods: Adults (n=81) of both genders were divided into controls: with moderate- to high risk without known CVD; AF-group: CVD-patients with paroxysmal or persistent atrial fibrillation in sinus rhythm, HF-group: heart failure subjects with preserved ejection fraction. A structured interview was performed at admittance for evaluation of the classical CVD risk factors. CAC score (CACS) was determined by multislice computed tomography. Routine laboratory parameters, including uric acid (UA), were extracted from medical documentation. Descriptive statistics, Mann-Whitney U-test, one-way ANOVA, chi-square test, Spearman's correlation, and multiple linear regression analysis were applied. The predictive power of serum UA was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) analysis. Statistical significance was considered at $p < 0.05$.

Results: Serum UA was significantly higher in subjects with $CACS = 1-99AU$ ($p = 0.030$), and with $CACS \geq 100AU$ ($p = 0.067$) vs. patients without CACS. Within the UA tertiles, highest CACS was found in the tertile with highest serum UA. UA revealed positive relation with CACS ($r = 0.35$, $p = 0.002$), age ($r = 0.25$, $p = 0.027$), body mass index ($r = 0.27$, $p = 0.017$), waist circumference ($r = 0.44$, $p < 0.0001$), triglycerides ($r = 0.29$, $p = 0.001$), and creatinine ($r = 0.54$, $p < 0.0001$). Multiple linear regression analysis revealed significant association between UA as dependent variable and waist circumference ($\hat{\alpha} = 0.63$, $p = 0.061$), serum triglycerides ($\hat{\alpha} = 0.37$, $p = 0.028$), creatinine levels ($\hat{\alpha} = 0.45$, $p < 0.0001$).

Conclusions: Asymptomatic hyperuricaemia could be an important metabolic factor negatively affecting the chronic cardio-vascular pathology besides the conventional risk factors.

Резюме

Цел: Да се оцени ролята на асимптоматичната хиперурикемия за наличието и тежестта на коронарния артериален калций (КАК) при възрастни с различна сърдечносъдова патология и връзката ѝ с конвенционалните рискови фактори.

Материал/методи: Възрастни индивиди (n=81) от двата пола бяха разделени на контроли: с умерен до висок риск без известни ССЗ; АФ-група (с атриална фибрилация): пациенти със ССЗ с пароксизмално или персистиращо предсърдно мъждене в синусов ритъм, СН-група: лица със сърдечна недостатъчност със запазена фракция на изтласкване. При постъпването е проведено структурирано интервю за оценка на класическите рискови фактори за ССЗ. Коронарният калциев скор (CACS) е определен чрез многослойна компютърна томография. Рутинните лабораторни параметри, включително пикочната киселина (UA), бяха извлечени от медицинската документация. Приложени бяха описателна статистика, U-тест на Mann-Whitney, one-way ANOVA, тест Хи-квадрат, Spearman корелация и множествен линеен регресионен анализ. Прогнозната сила на серумните нива на UA беше оценена с помощта на ROC-анализ. Статистическа значимост се установява при $p < 0.05$.

Резултати: Серумните нива на UA са значително по-високи при лицата с CACS=1-99AU ($p=0.030$) и с CACS ≥ 100 AU ($p=0.067$) спрямо пациентите без CACS. В рамките на тертилите на UA най-високият CACS е установен в тертила с най-високи серумни нива на UA. Установена е положителна корелационна връзка на UA с CACS ($r=0.35$, $p=0.002$), възрастта ($r=0.25$, $p=0.027$), индекса на телесна маса (0.27 , $p=0.017$), обиколката на талията ($r=0.44$, $p<0.0001$), триглицеридите ($r=0.29$, $p=0.001$) и креатинина ($r=0.54$, $p<0.0001$). Множественият линеен регресионен анализ разкри значима връзка между UA като зависима променлива и обиколката на талията ($\hat{\alpha}=0.63$, $p=0.061$), серумните триглицериди ($\hat{\alpha}=0.37$, $p=0.028$), нивата на креатинина ($\hat{\alpha}=0.45$, $p<0.0001$).

Заклучения: Освен конвенционалните рискови фактори, асимптоматичната хиперурикемия е важен метаболитен фактор, влияещ негативно върху хроничната сърдечно-съдова патология.

Г7-07 V. Gerov, **D. Gerova**, I. Micheva, B. Galunska. Dysregulation of bone remodeling – a major pathogenetic mechanism of multiple myeloma bone disease. Hematology, vol. LIX, 2022, № 3-4:12-21

Abstract

Bone remodeling is an important process that occurs throughout human life in order to maintain bone homeostasis. In multiple myeloma (MM), the second most common hematologic malignancy, clonal plasma cells (myeloma plasma cells, MRCs) accumulate in the bone marrow, which profoundly affect the bone remodeling processes. Myeloma-induced bone disease (MBD) is a hallmark of the disease. Up to 80% of newly diagnosed patients have osteolytic bone lesions, leading to a significantly increased risk of pathological fractures and impaired quality of life. An imbalance in the processes of bone remodeling with a predominance of bone resorption over bone

formation underlies the pathogenesis of MBD. Multiple intra- and intercellular signaling pathways such as RANKL/RANK/OPG, Notch and Wnt/ β -Catenin signaling are involved, as well as a variety of chemokines, signaling and effector molecules such as DKK-1, sclerostin, periostin, activin A and transcription factors. The purpose of this review is to present some of the main pathogenetic mechanisms for the development of MBD.

Резюме

Костното ремоделиране е важен процес, осъществяващ се през целия живот на човека с цел запазване на костната хомеостаза. При множествения миелом (ММ), второто най-често срещано хематологично злокачествено заболяване, в костния мозък се натрупват клонални плазматични клетки (myeloma plasma cells, MPCs), които засягат дълбоко процесите на костно ремоделиране. Миелом-индуцираната костна болест (myeloma-induced bone disease, MBD) е отличителен белег на заболяването. До 80% от новодиагностицираните пациенти са с остеолитични костни лезии, водещи многократно увеличен риск от възникване на патологични фрактури и влошено качество на живот. Дисбаланс в процесите на костното ремоделиране с превалиране на костната резорбция над костното формиране стои в основата на патогенезата на MBD. Включват се множество интра- и интерцелуларни сигнални пътища като RANKL/RANK/OPG, Notch и Wnt/ β -Catenin сигнализиране, както и разнообразие от хемокини, сигнални и ефекторни молекули като DKK-1, склеростин, периостин, активин А и транскрипционни фактори. Целта на настоящия обзор е да се представят някои от основните патогенетични механизми за развитие на MBD.

Г7-08 Gerov V, Gerova D. Treatment of newly diagnosed myeloma patients – past, present, future. General Medicine. 2024;26(4):29–37

Abstract

Multiple myeloma is one of the most common neoplastic hematological diseases, which incidence has steadily increased in recent decades. At the same time, worldwide, there has been a decrease in the mortality rate of the disease. The reasons for reduced mortality and improved patient survival are many, but an important one is the introduction of new and more effective drugs for multiple myeloma treatment. The purpose of this review is to briefly review the therapeutic protocols used in the past and to shed light on the current treatment by clarifying the therapeutic algorithm, risk-adapted therapy, and the impact of including proteasome inhibitors and monoclonal antibodies into therapeutic protocols. As an extremely rapidly evolving field of medicine, in the hematology practice, a continuous renewal of treatment regimens for multiple myeloma by incorporating new drugs with different mechanisms of action is noted. It is hoped that in the future the so-called personalized approach will be applied and this inherently heterogeneous disease can be successfully treated.

Резюме

Множественият миелом е едно от най-често срещаните неопластични хематологични заболявания, чиято честотата през последните десетилетия е с тенденция за непрекъснато нарастване. В същото време в световен мащаб, се наблюдава намаляване на смъртността от заболяването. Причините за намалената смъртност и увеличената преживяемост на пациентите са разнообразни, но една основна сред тях е навлизането на нови и по-ефективни медикаменти за лечение. Целта на настоящия обзор е да се направи кратък преглед на терапевтичните протоколи, използвани в миналото, както и да се хвърли светлина върху съвременното лечение на мултиплиения миелом, като се изяснят алгоритъмът на терапевтично поведение, риск-адаптираната терапия, ефектите от включване в протоколите на протеазомните инхибитори и моноклоналните антитела. Като изключително бързоразвиваща се област от медицината, в хематологичната практика се наблюдава непрекъснато обновяване на схемите на лечение на мултиплиения миелом, като се включват нови медикаменти с различен механизъм на действие. Очаква се в бъдеще да се прилага т.нар. персонализиран подход и това хетерогенно по своята същност заболяване да може да се лекува успешно. Ключови думи: мултиплен миелом, протеазомни инхибитори, имунотерапия, моноспецифични и биспецифични моноклонални антитела, CAR-T клетъчна терапия

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г7. Научни доклади, публикувани в издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus)

Г7-09 B. Roussev, **D. Gerova**, P. Kossev, A. Hinev, B. Galunska, D. Svinarov. Suboptimal vitamin D status in chronic prostate diseases. Clin Chem Lab Med 2017; 55, Special Suppl, S1008 (IF: 3.556)

Abstract

Background. Mounting evidence for the “nonmineral” effects of vitamin D (VD) and the connection of its deficiency with different chronic diseases was accumulated. Chronic prostate diseases (CPD) such as prostate cancer (PCa) and benign prostate hyperplasia (BPH) are leading cause of morbidity and mortality among men. Normal and malignant prostate cells contain VD receptors and 1-alpha-hydroxylase responsible for the formation of the active form of VD. Therefore, the antiproliferative and immunomodulatory effects of VD could play a beneficial role in CPD. We aimed to determine the VD status in patients with CPD and to examine its relationship with clinical and laboratory parameters related to disease severity and progression.

Methods. The study encompassed 85 PCa patients (mean age 66.76 ± 6.25 years) and 37 BPH patients (mean age 67.14 ± 7.77 years) who consented to participate. Diagnosis was confirmed

histologically, PCa patients were graded by Gleason grading system, and risk for biochemical recurrence of localized and locally advanced PCa was assessed according to European Association of Urology Guidelines (EAU-guidelines). Prostate specific antigen (PSA) was measured immunochemically, and VD status was assessed by measuring 25-hydroxy-VD (25OHVD) with a validated LC-MS/MS method. Variation and correlation analysis were used for data handling, level of significance $p < 0.05$.

Results. The mean 25OHVD ($54.98 \pm 21.93 \text{ nmol/L}$ vs $42.85 \pm 18.88 \text{ nmol/L}$ for BPH and PCa patients respectively, $p < 0.05$) was below the optimal cut-off of 75-80 nmol/L, responsible for its noncalcemic effects. BPH patients with $\text{PSA} < 4 \text{ ng/ml}$ had higher 25OHVD ($59.21 \pm 17.21 \text{ nmol/L}$) compared to those with $\text{PSA} > 4 \text{ ng/ml}$ ($46.12 \pm 23.76 \text{ nmol/L}$), $p = 0.063$. PCa patients always remained VD deficient when stratified by their PSA, $p > 0.05$. No associations between 25OHVD and PSA were found for both groups. Stratification by the risk of biochemical recurrence and by tumor grade revealed worse VD status for the highest risk group and in patients with Gleason score > 7 ($36.64 \pm 18.16 \text{ nmol/L}$ and $37.84 \pm 19.71 \text{ nmol/L}$, respectively). Strong negative correlations between 25OHVD versus Gleason score and versus risk were found only during the warm season (Spearman $r = -0.44$, $p < 0.01$; $r = -0.60$, $p < 0.001$, respectively).

Conclusion. Improving VD status may have beneficial role for CPD patients.

Резюме

Все повече доказателства са натрупани за „неминералните“ ефекти на витамин D (VD) и за връзката на дефицита му с различни хронични заболявания. Хроничните заболявания на простатата (ХЗП), като рак на простатата (РП) и доброкачествена хиперплазия на простатата (ДХП), са водеща причина за заболяемост и смъртност сред мъжете. Нормалните и злокачествени клетки на простатата съдържат както VD рецептори, така и 1-алфа-хидроксилаза, ензим отговорен за образуването на активната форма на VD. Следователно антипролиферативните и имуномодулиращите ефекти на VD биха могли да играят благоприятна роля при ХЗБ. Целта ни е да определим VD статуса при пациенти с ХЗП и да проучим връзката му с клинични и лабораторни параметри, свързани с тежестта и прогресията на заболяването.

Методи. Проучването обхваща 85 пациента с РП (средна възраст 66.76 ± 6.25 години) и 37 пациента с ДХП (средна възраст 67.14 ± 7.77 години), които са дали съгласието си за участие. Диагнозата е потвърдена хистологично. Пациентите с РП са класифицирани според класификационната системата на Gleason и е оценен рискът за биохимичен рецидив на локализирания и локално напреднал РП в съответствие с насоките на европейската асоциация по урология (EAU-guidelines). Простатният специфичен антиген (PSA) е измерен имунохимично, а VD статусът е оценен чрез измерване на 25-хидрокси-VD (25OHVD) с валидиран LC-MS/MS метод. За обработка на данните бяха използвани вариационен и корелационен анализ, а за ниво на значимост е избрана стойност на $p < 0.05$.

Резултати. Средните нива на 25OHVD за пациентите с ДХП и РП ($54.98 \pm 21.93 \text{ nmol/L}$ и $42.85 \pm 18.88 \text{ nmol/L}$ съответно, $p < 0.05$) са под оптималната стойности 75-80 nmol/L, над които се счита, че се проявяват некалциемичните ефекти на витамина. Пациентите с ДХП

и с PSA<4ng/ml имат по-високо ниво на 25OHVD (59.21 ± 17.21 nmol/L) в сравнение с тези с PSA>4ng/ml (46.12 ± 23.76 nmol/L), $p=0.063$. Стратификацията според нивото на PSA не води до различия в нивата на VD ($p>0.05$) при пациентите с РП и всички те са с VD недостатъчност. И при двете изследвани групи не са установени връзки между 25OHVD и PSA. Стратификацията според риска от биохимичен рецидив и според степента на инвазивност на тумора показва по-лош статус на VD за групата с най-висок риск и при пациентите с оценка по Gleason>7 (съответно 36.64 ± 18.16 nmol/L и 37.84 ± 19.71 nmol/L). Силни отрицателни корелации между 25OHVD спрямо степента по Gleason и спрямо риска от рецидив бяха установени само през топлия сезон (Spearman $r=-0.44$, $p<0.01$; $r=-0.60$, $p<0.001$, съответно).

Заклучение. Подобряването на състоянието на VD може да има благоприятна роля за пациентите с ХЗП.

Г7-10 Dimitrova S, Micheva I, **Gerova D**, Gercheva L. The role of hepcidin and dysregulated iron homeostasis in the pathogenesis of anemia in myelofibrosis. HemaSphere. 2019, 3(S1): p 286, DOI: 10.1097/01.HS9.0000560952.60646.d7 (**IF:0.86**)

Abstract

The aim is to analyze hepcidin, IL-6, IL-8 levels and parameters of iron metabolism in a random cross-section of patients with different forms and stages of myelofibrosis. We analyzed 36 patients with MF – 75% with primary MF(PMF) (prefibrotic PMF – 38.9% and overt PMF – 36.1%) and 25% with secondary MF (post-PV -11.1% and post-ET – 13.9%); median age of the group was 68.5 years (range 39-88); male: female ratio- 1.57:1. According to DIPSS: 5.6% were Low; 52.8% were Intermediate 1; 33.3% were Intermediate 2 and 8.3% were High risk. Regarding treatment 30.6% of the patients received hydroxyurea, 8.3% – Interferon, 19.4% – Ruxolitinib and 41.7% – best supportive care. Patients who were transfused with ≥ 3 RBC units/month were 19.5% and those receiving < 3 RBC units/month – 80.5%. All patients were divided in 3 groups according to the time from diagnosis: newly diagnosed (30.6%), 1 to 5 years (47.2%) and > 5 years (22.2%) from diagnosis. Serum ferritin, Fe, TIBC and parameters of CBC were measured as a part of routine clinical assessment. Serum hepcidin and serum concentrations of IL-6 and IL-8 were measured in duplicate by ELISA (My BioSource, San Diego, USA) in all patients and in 14 healthy controls. The levels of hepcidin in MF patients are not found statistically different from levels in healthy controls. No difference is found in hepcidin level within the three risk groups according to DIPSS (Intermediate 1, Intermediate 2 and High), neither between the subtypes of disease (proliferative or fibrotic stage of primary myelofibrosis and secondary myelofibrosis). However, we find significant difference between hepcidin levels within the three groups according to disease duration. Patients with newly diagnosed MF have higher levels of hepcidin compared to those with prolonged evolution ($F=7.09$, $R=-0.476$, $R^2=0.226$, $p=0.003$). Patients receiving >3 RBC transfusions/month present with lower hepcidin compared to transfusion independent patients (10.10 ± 6.67 ; 31.15 ± 44.37 ; $p<0.05$). We also find significantly lower hepcidin level in patients receiving cytoreductive or target treatment compared to patients without any therapy

(17.74 ± 21.99 ; 43.05 ± 58.46 ; $p < 0.05$). Unexpectedly, higher levels of ferritin and serum iron are associated with low hepcidin. In multivariate analysis a significant straight correlation between hepcidin level and IL-6 ($R=0.427$, $p=0.009$) and between IL-6 and IL-8 levels in the whole cohort ($R=0.500$, $p=0.002$) is found.

Резюме

Целта на анализа е изследване нивата на хепсидин, IL-6, IL-8 и параметрите на желязната метаболитизъм при пациенти с различни форми и стадии на миелофиброза. Анализирани са 36 пациенти с МФ – 75% с първична МФ (ПМФ) (префибротична ПМФ – 38.9% и явна ПМФ – 36.1%) и 25% с вторична МФ (след полицитемия вера (PV) – 11.1% и след есенциална тромбоцитемия (ЕТ) – 13.9%); средната възраст на групата е 68.5 години (диапазон 39-88); съотношение мъже:жени – 1.57:1. Според DIPSS: 5.6% са с нисък риск; 52.8% са с интермедиерен риск, ниво 1; 33.3% са с интермедиерен риск, ниво 2 и 8.3% са високорискови. По отношение на лечението 30.6% от пациентите са получили хидроксурея, 8.3% – интерферон, 19.4% – руксолитиниб и 41.7% – най-добра поддържаща терапия. Пациентите, на които са трансфузирани ≥ 3 RBC единици/месец са 19.5%, а тези, които получават < 3 RBC единици/месец – 80.5%. Всички пациенти са разделени в 3 групи според времето от поставяне на диагнозата: новодиагностицирани (30.6%), 1 до 5 години (47.2%) и > 5 години (22.2%) от диагнозата. Нивата на хепсидин при пациенти с МФ не се различават статистически от нивата при здрави контроли. Не се установява разлика в нивото на хепсидин в рамките на трите рискови групи според DIPSS (интермедиерен риск, ниво 1, интермедиерен риск, ниво 2 и висок риск), нито между подтиповете на заболяването (пролиферативен или фиброзен стадий на първична миелофиброза и вторична миелофиброза). Въпреки това, се открива значителна разлика между нивата на хепсидин в трите групи според продължителността на заболяването. Пациентите с новодиагностициран МФ имат по-високи нива на хепсидин в сравнение с тези с продължителна еволюция ($F=7.09$, $R=-0.476$, $R^2=0.226$, $p=0.003$). Пациентите, получаващи > 3 трансфузии на RBC/месец, са с по-нисък хепсидин в сравнение с пациентите, независими от трансфузия (10.10 ± 6.67 ; 31.15 ± 44.37 ; $p < 0.05$). Също така установяваме значително по-ниско ниво на хепсидин при пациенти, получаващи циторедуктивно или таргетно лечение в сравнение с пациенти без никаква терапия (17.74 ± 21.99 ; 43.05 ± 58.46 ; $p < 0.05$). Неочаквано по-високи нива на феритин и серумно желязо са свързани с нисък хепсидин. Открива се значима права корелация между нивото на хепсидин и IL-6 ($R=0.427$, $p=0.009$) и между нивата на IL-6 и IL-8 в цялата кохорта ($R=0.500$, $p=0.002$).

G7-11 Atanassova A, Georgieva A, **Gerova D**, Todorova M. The impact to disease activity, iron and vitamin D deficiency on fatigue in IBD patients. Journal of Crohn's and Colitis. 2019, V13, Issue Supplement_1, P676, S457, <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy222.800> (IF: 8.658)

Abstract

Background: Individuals with inflammatory bowel disease (IBD) are at risk for variety deficiencies because of decreased nutrient intake or absorption and/or increased losses. Iron and vitamin D deficiency are common in IBD patients, particularly during periods of prolonged disease activity. They are associated with adverse clinical outcomes and a reduced quality of life. The aim of the current study is to evaluate the correlation between serum 25(OH)D concentrations and serum iron concentrations, in patients with ulcerative colitis (UC) or Crohn's disease (CD), and their effect on the quality of life, more specifically on fatigue.

Methods: In 79 consecutive patients with confirmed IBD diagnosis, 51 with CD and 28 with UC, who attended the gastroenterology clinic during a 1-year period 25(OH)D, serum iron concentrations were measured. In all of the patients the prevalence of fatigue was assessed through the IBDQ and SF36 questionnaires for evaluation of the quality of life. For the quantitative determination of total 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels we used a commercial paramagnetic particle chemiluminescent immunoassay. Serum 25(OH)D ≤ 49.99 nmol/l was considered as vitamin D deficiency and $50 \leq 25(\text{OH})\text{D} < 75$ nmol/l as vitamin D insufficiency.

Results: There is a poor correlation between fatigue and the 25(OH)D concentrations, $r=0.204$ $p<0.05$. In IBD patients with vitamin D deficiency SF 36-Energy/Fatigue (SF 36 E/F) is 48.43, which is significantly lower than SF 36 E/F in patients with normal vitamin D 65.63 concentrations, $p<0.05$. There is a poor correlation between the measured concentrations of serum iron and the prevalence of fatigue $r=0.218$ $p<0.05$, in low serum iron concentrations SF36 E/F – 46.69, and in normal serum iron concentrations – 53.12. There is a significant difference between fatigue levels in different IBD activity $p<0.001$, as follows: in remission SF36 E/F is 59.12; in mild activity SF36 E/F is 55.71; in moderate activity SF36 E/F is 42.08; in severe activity SF36 E/F is 30.68. We established a moderate direct correlation between fatigue and IBD activity $r=0.402$ $p<0.001$. In IBDQ levels >170 , SF 36 E/F is 67.82, whereas in IBDQ <170 SF 36 E/F is 41.94 $p<0.001$. There is a strong direct correlation between the total IBDQ score and SF 36 E/F $r=0.695$ $p<0.001$. It can be said that 46.90% of the measured quality of life via IBDQ depends on the level of fatigue.

Conclusions: The low levels of serum iron and vitamin D have no effect on fatigue in IBD patients, unlike the activity of the disease, with which we have established a strong direct correlation.

Резюме

Индивиди с възпалителни заболявания на червата (IBD) са изложени на риск от различни дефицити поради намалени прием и/или абсорбция на хранителни вещества и/или увеличени загуби. Дефицитът на желязо и витамин D е често срещан при пациенти с IBD, особено по време на периоди на продължителна активност на заболяването. Те са свързани с неблагоприятни клинични резултати и намалено качество на живот. Целта на настоящото проучване е да се оцени връзката между серумните концентрации на 25(OH)D и на серумното желязо при пациенти с улцерозен колит (УК) или болест на Crohn (БК) и техният ефект върху качеството на живот, по-точно на умората.

Методи: При 79 последователни пациенти с потвърдена диагноза IBD (51 с БК и 28 с УК), които посещават гастроентерологична клиника по време на 1-годишен период са измерени серумните концентрации на 25(OH)D и желязо. При всички пациенти разпространението на умората е оценено чрез въпросниците IBDQ и SF36 за оценка на качеството на живот. За количественото определяне на общите нива на 25- хидрокси-витамин D [25(OH)D] ние използвахме търговски хемилуминесцентен имуноанализ с парамагнитни частици. Серумни нива на 25(OH)D ≤ 49.99 nmol/l се счита за дефицит на vitamin D, а $50 \leq 25(OH)D < 75$ nmol/l за витамин D недостатъчност.

Резултати: Има слаба корелация между умората и концентрациите на 25(OH)D, $r=0.204$ $p<0.05$. При пациенти с IBD с дефицит на витамин D, SF 36-Енергия/Умора (SF 36 E/F) е 48.43, което е значително по-ниско от SF 36 E/F при пациенти с нормални концентрации на витамин D 65.63, $p<0.05$. Има слаба корелация между измерените концентрации на серумно желязо и р умората $r=0.218$ $p<0.05$, при ниски серумни концентрации на желязо SF36 E/F – 46.69, а при нормални серумни концентрации на желязо – 53.12. Съществува значима разлика между нивата на умора при различната активност на IBD $p<0.001$, както следва: в ремисия SF36 E/F е 59.12; при лека активност SF36 E/F е 55.71; при умерена активност SF36 E/F е 42.08; при тежка активност SF36 E/F е 30.68. Установихме умерена пряка връзка между умората и активността на IBD $r=0.402$ $p<0.001$. При нива на IBDQ >170 , SF 36 E/F е 67.82, докато при IBDQ <170 SF 36 E/F е 41.94 $p<0.001$. Съществува силна пряка корелация между общия IBDQ резултат и SF 36 E/F $r=0.695$ $p<0.001$. Може да се каже, че 46.90% от измереното качество на живот чрез IBDQ зависи на нивото на умора.

Изводи: Ниските нива на серумно желязо и витамин D нямат ефект върху умората при пациенти с IBD, за разлика от активността на заболяването, с която установихме силна пряка корелация.

Г7-12 Georgieva A, Atanassova A, **Geroва D**, M Todorova. Vitamin D deficiency as a part of extraintestinal manifestations in IBD Patients: a single-center experience. Journal of Crohn's and Colitis. 2019, V13, Issue Supplement_1, S388–S389, <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy222.673> (IF: 8.658)

Abstract

Background. Vitamin D deficiency is more common in inflammatory bowel disease (IBD) patients than it is in the general population. The aim of this study was to evaluate the vitamin D serum levels in IBD patients as a part of the extraintestinal manifestations (EIMs) and to correlate the prevalence of hypovitaminosis D with existence of other EIMs.

Methods The vitamin D status was assessed in 94 IBD patients, 54 with CD and 40 with UC. 25(OH)D serum concentrations were measured by a commercial paramagnetic particle chemiluminescent immunoassay for the quantitative determination of total 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels. Vitamin D deficiency is defined as a serum level of 25OHD <50 nmol/l, and serum levels between 50nmol/l and 75 nmol/l are classified as vitamin D insufficiency. The clinical course and the occurrence of EIMs were monitored. All Patients were classified according to the

Montreal classification. CD activity was assessed using the BEST index (CDAI – Crohn Disease Activity Index) and the partial Mayo score was used to determine UC activity.

Results Across all patients the mean serum 25(OH)D level was 44.47 ± 18.14 nmol/l. Almost 95% of IBD patients have Vitamin D insufficiency and deficiency, respectively CD – 96.29% (n=52), UC 92.50% (n=37), as vitamin D serum levels <50 nmol/l were detected in 61 (64.89%) of IBD patients – 66.66%(n=36) for CD and 62.50% (n=25) for UC. There was no significant difference between mean 25(OH)D levels in both diseases ($p=0.604$). In 89% (n=84) of IBD patients there was a presence of EIMs, in 96.42% (n=81) of these patients there were low vitamin D serum concentrations, respectively, CD 59.25% (n=48) and UC 40.74% (n=33). In IBD patients with EIMs the mean 25(OH)D levels were significantly lower (42.67 ± 17.29 vs. 59.58 ± 18.94) ($p=0.005$). We found a significant difference between measured mean 25(OH)D concentrations in UC patients and EIMs presence (43.02 ± 17.38 vs. 63.70 ± 18.48) ($p=0.018$), while in CD patients there is not a significant difference ($p=0.122$). The most common EIMs among our IBD patients are: iron deficiency without anaemia – 39.40% (n=37), liver steatosis – 38.30% (n=36), IBD associated arthropathy (IBDAA) – 33% (n=31), followed by: vitamin B12 deficiency without anaemia, latent iron deficiency, ocular manifestations and primary sclerosing cholangitis (PSC). All IBD Patients with iron and vitamin B12 deficiency anaemia, latent vitamin B12 deficiency and malabsorption syndrome have low 25(OH)D serum levels.

Conclusions. Over 96% of patients with the EIMs also have low vitamin D serum levels. This correlation leads to the need for systematic monitoring of 25-hydroxyvitamin D levels during the course, follow-up and treatment of IBD.

Резюме

Дефицитът на витамин D е по-често срещан при пациенти с възпалителни заболявания на червата (IBD), отколкото в общата популация. Целта на това проучване е да се оценят серумните нива на витамин D при пациенти с IBD като част от екстраинтестиналните прояви (EIM) и да се свърже хиповитаминоза D със съществуването на други EIM.

Методи. Статусът на витамин D е определен при 94 пациенти с IBD (54 с болест на Крон (БК) и 40 с улцерозен колит (УК)). Серумните концентрации на 25(OH)D са измерени чрез търговски хемилуминесцентен имуноанализ с парамагнитни частици за количествено определяне на общите нива на 25-хидроксивитамин D [25(OH)D]. Дефицитът на витамин D се определя като серумно ниво на 25OHD <50 nmol/l, а серумни нива между 50 nmol/l и 75 nmol/l се класифицират като витамин D недостатъчност. Проследени са клиничното протичане и появата на EIMs. Всички пациенти са класифицирани според Монреалската класификация. Активността при БК се оценява с помощта на индекса BEST (CDAI – Crohn Disease Activity Index) и частичният Mayo скор се използва за определяне на активността при УК.

Резултати. При всички пациенти средното серумно ниво на 25(OH)D е $44.47 \pm 18,14$ nmol/l. Почти 95% от пациентите с IBD имат недостатъчност и дефицит на витамин D, съответно при БК – 96.29% (n=52), УК – 92.50% (n=37), тъй като серумните нива на витамин D <50 nmol/l са открити при 61 (64.89%) от пациенти с IBD – 66.66% (n=36) за БК и 62.50% (n=25)

за УК няма значителна разлика между средните нива на 25(OH) D при двете заболявания ($p=0.604$). При 89% ($n=84$) от пациентите с IBD е имало наличие на EIM, при 96.42% ($n=81$) от тези пациенти е имало съответно ниски серумни концентрации на витамин D: CD – 59.25% ($n=48$) и UC – 40.74% ($n=33$). При пациенти с IBD с EIMs средните нива на 25(OH)D са значително по-ниски (42.67 ± 17.29 спрямо 59.58 ± 18.94) ($p=0.005$). Установихме значима разлика между измерените средни концентрации на 25(OH)D при пациенти с УК и наличието на EIMs (43.02 ± 17.38 спрямо 63.70 ± 18.48) ($p=0.018$), докато при пациенти с БК няма значима разлика ($p=0.122$). Най-честите EIM сред нашите пациенти с IBD са: дефицит на желязо без анемия – 39.40% ($n=37$), чернодробна стеатоза – 38.30% ($n=36$), артропатия, свързана с IBD (IBDAA) – 33% ($n=31$), последвани от: дефицит на витамин B12, без анемия, латентен дефицит на желязо, очни прояви и първичен склерозиращ холангит (PSC). Всички пациенти с IBD с анемия с дефицит на желязо и витамин B12, латентен дефицит на витамин B12 и синдром на малабсорбция имат ниски серумни нива на 25(OH)D.

Заклучения: Над 96% от пациентите с EIM също имат ниски серумни нива на витамин D. Тази корелация води до необходимостта от системно проследяване на нивата на 25- хидроксивитамин D по време на хода, проследяването и лечението на IBD.

Г7-13 M. Yordanova, **D. Gerova**, A. Atanasova, B. Galunska-Kalcheva. Fecal calprotectin levels and degree of inflammation in inflammatory bowel diseases patients. Clinica Chimica Acta 493 (2019), S356-357, doi:10.1016/j.cca.2019.03.771 (**IF: 2.615**)

Abstract

Background: The inflammatory bowel disease (IBD) is a serious health problem with chronic recurrent course and increasing frequency. IBD affects predominantly young people with poor quality of life and is considered to be due to dietary disorders, stress, multiple medication use, poor oral hygiene, smoking and alcohol abuse. The quantitative determination of fecal calprotectin (FC) as a noninvasive diagnostic tool to monitor the inflammation process is useful to differentiate organic from functional bowel diseases and may reduce the need for unnecessary invasive procedures. **Aim:** To assess the role of FC in evaluating inflammatory bowel disease activity and its correlation with the ESR and CRP.

Methods Thirty IBD patients were enrolled in the study: seventeen patients with ulcerative colitis (UC) and thirteen with Crohn's disease, aged from 21 to 70. Based on the endoscopic and clinical finding the patients were divided into two groups. The first group comprised 20 patients with severe form of the disease and the second – 10 patients with moderate form of the disease or in remission. CRP and ESR were determined in blood as nonspecific markers of inflammation. FC as a marker of neutrophil flux to the intestine was measured by ELISA method.

Results FC values in all tested patients vary from 134 – 1800 $\mu\text{g/g}$. In the first group the mean of FC values is 1492 ± 313 $\mu\text{g/g}$. In the second group the levels of FC are significantly lower (mean 371 ± 168 $\mu\text{g/g}$; $p<0.01$). The diagnostic sensitivity and specificity of FC is 82% and 98% respectively based on the value of 350 $\mu\text{g/g}$ as a cut-off value. CRP values range from 13.9 to 90.4 mg/l in patients with severe form of the disease and were significantly higher when compared to

those in patients with mild forms of the disease or in remission (range 2.2– 8.9 mg/l, $p<0.019$). A good correlation is established between FC and CRP levels ($r=0.56$) in the first group. In the same group the ESR values are increased too but the correlation with FC levels is weaker ($r=0.41$). These relationships are less pronounced in the second group.

Conclusions FC has better diagnostic sensitivity and specificity than traditional systemic inflammatory markers and is a good additional diagnostic tool in screening patients with IBD.

Резюме

Възпалителните чревни заболявания (IBD) са сериозен здравен проблем с хронично рецидивиращо протичане и нарастваща честота. IBD засяга предимно млади хора, които имат лошо качество на живот. Счита се, че появата им се дължи на хранителни разстройства, стрес, употреба на много лекарства, лоша орална хигиена, тютюнопушене и злоупотреба с алкохол. Количественото определяне на фекален калпротектин (FC) като неинвазивен диагностичен инструмент за наблюдение на възпалителния процес е полезно за разграничаване на органични от функционални чревни заболявания и може да намали необходимостта от ненужни инвазивни процедури. Цел: Да се оцени ролята на FC в оценката на активността на IBD и корелацията му с ESR и CRP.

Методи В проучването са включени тридесет пациенти с IBD: седемнадесет пациента с улцерозен колит (УК) и тринадесет с болест на Crohn, на възраст от 21 до 70 години. Въз основа на ендоскопската и клинична находка пациентите са разделени на две групи. Първата група включва 20 пациента с тежка форма на заболяването, а втората – 10 пациента с умерена форма на заболяването или в ремисия. CRP и ESR се определят в кръвта като неспецифични маркери на възпаление. FC, като маркер за неутрофилно струпване към червата, се измерва чрез ELISA метод.

Резултати: Стойностите на FC при всички изследвани пациенти варират от 134 – 1800 $\mu\text{g/g}$. В първата група средната стойност на FC е $1492 \pm 313 \mu\text{g/g}$. Във втората група нивата на FC са значително по-ниски (средно $371 \pm 168 \mu\text{g/g}$; $p<0.01$). Диагностичната чувствителност и специфичност на FC е съответно 82% и 98% въз основа на стойността от 350 $\mu\text{g/g}$ като cut-off стойност. Стойностите на CRP варират от 13.9 до 90.4 mg/l при пациенти с тежка форма на заболяването и са значително по-високи в сравнение с тези при пациенти с леки форми на заболяването или в ремисия (диапазон 2.2 – 8.9 mg/l, $p<0.019$). Установява се добра корелация между нивата на FC и CRP ($r=0.56$) в първата група. В същата група стойностите на ESR също са повишени, но корелацията с нивата на FC е по-слаба ($r=0.41$). Тези връзки са по-слабо изразени във втората група.

Закljučения: FC има по-добра диагностична чувствителност и специфичност от традиционните системни възпалителни маркери и е добро допълнително диагностично средство при скрининг на пациенти с IBD.

Г7-14 Yordanova M, Gerova D, Atanassova A, Galunska B. Oxidative status in patients with inflammatory bowel disease. Turk J Biochem, 2019; 44 (S3), P-155, p101 (IF: 0.373)

Abstract

Objectives. To evaluate the role of free radical oxidation and antioxidant defense for the progression and activation of inflammatory bowel disease (IBD).

Materials and methods. 54 IBD patients (mean age 44.5 ± 14.3 years) and 80 healthy age-matched controls (43 ± 10.8 years) were enrolled in the study. According to CDAI and Mayo indexes, the patients were divided into two subgroups: moderate/severe activity (36 patients) and remission/mild activity (18 patients). CRP and fecal calprotectin were measured as inflammatory markers. Hydroperoxide levels and serum antioxidant capacity were evaluated using commercial kits dROMs and BAP-test (Diacron Labs, Italy). Standard statistical methods (descriptive statistics, Student's t-test, and Spearman correlation) were used for data analysis.

Results. Significantly increased levels of dROMs were measured in IBD patients vs controls (418.1 ± 124.4 UCarr vs 341.2 ± 37.48 UCarr, $p < 0.0001$). Patients with active form of IBD revealed significantly higher dROMs compared to mild/remission subgroup (437.8 ± 131.4 UCarr vs 357.0 ± 81.74 UCarr, $p < 0.05$). Serum antioxidant capacity was significantly decreased in the IBD group vs controls (2122 ± 468.6 $\mu\text{mol/l}$ vs 2683 ± 279.9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.0001$). A tendency for weakened antioxidant defense was found with the severity of the disease (2047 ± 608.9 $\mu\text{mol/l}$ for the subgroup with moderate/severe activity and 2206 ± 432.8 $\mu\text{mol/l}$ for the mild/remission subgroup). The increase of dROMs was significantly associated with CRP (Spearman $r = 0.5545$, $p < 0.0001$) and calprotectin levels (Spearman $r = 0.3295$, $p < 0.05$). BAP-test correlated negatively with CRP levels (Spearman $r = -0.5419$, $p < 0.0001$) and with calprotectin (Spearman $r = -0.2078$, ns p).

Conclusions. Increased free radical oxidation and diminished antioxidant defense and their associations with the severity of the disease and routine inflammatory markers suggest a possible role of oxidative stress in the pathogenesis of IBD.

Резюме

Цели. Да се оцени ролята на свободнорадикаловото окисление и на антиоксидантната защита за прогресията и активността на възпалителните заболявания на червата (IBD).

Материали и методи. В проучването са включени 54 пациенти с IBD (средна възраст 44.5 ± 14.3 години) и 80 здрави контролни лица, съответстващи на възрастта (43 ± 10.8 години). Според индексите CDAI и Mayo пациентите бяха разделени на две подгрупи: с умерена/тежка активност (36 пациента) и в ремисия/лека активност (18 пациента). CRP и фекалният калпротектин бяха измерени като маркери на възпалението. Нивата на хидропероксида и серумният антиоксидантен капацитет бяха оценени с помощта на търговските китове dROMs и BAP-test (Diacron Labs, Италия). За анализ на данните бяха използвани стандартни статистически методи (описателна статистика, t-тест на Student и корелация на Spearman).

Резултати. Значително повишени нива на dROMs са измерени при пациенти с ИБС спрямо контролите (418.1 ± 124.4 UCarr спрямо 341.2 ± 37.48 UCarr, $p < 0.0001$). При пациентите с активна форма на IBD се установяват значително по-високи стойности на dROMs в сравнение с подгрупата с лека форма/ремисия (437.8 ± 131.4 UCarr срещу 357.0 ± 81.74 UCarr, $p < 0.05$). Серумният антиоксидантен капацитет е значително намален в IBD групата в сравнение с контролите (2122 ± 468.6 $\mu\text{mol/l}$ vs 2683 ± 279.9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.0001$). Тенденция за намалена антиоксидантна защита е открита в зависимост от тежестта на заболяването (2047 ± 608.9 $\mu\text{mol/l}$ за групата с умерена/тежка активност и 2206 ± 432.8 $\mu\text{mol/l}$ за групата с лека активност/ремисия). Повишаването на dROMs е значително свързано с CRP (Spearman $r = 0.5545$, $p < 0.0001$) и калпротектин (Spearman $r = 0.3295$, $p < 0.05$). BAP-test е отрицателно свързан с CRP (Spearman $r = -0.5419$, $p < 0.0001$) и калпротектин (Spearman $r = -0.2078$, ns p).

UCarr, $p < 0.05$). Серумният антиоксидантен капацитет е значително намален в групата с IBD спрямо контролите (2122 ± 468.6 $\mu\text{mol/l}$ спрямо 2683 ± 279.9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.0001$). Установена е тенденция за отслабване на антиоксидантната защита с тежестта на заболяването (2047 ± 608.9 $\mu\text{mol/l}$ за подгрупата с умерена/тежка активност и 2206 ± 432.8 $\mu\text{mol/l}$ за подгрупата в ремисия/лека активност. Увеличението на dROMs е значително свързано с нивата на CRP (Spearman $r = 0.5545$, $p < 0.0001$) и калпротектина (Spearman $r = 0.3295$, $p < 0.05$). ВАР-тестът корелира отрицателно с нивата на CRP (Spearman $r = -0.5419$, $p < 0.0001$) и с калпротектина (Spearman $r = -0.2078$, ns p).

Заклучения. Повишеното свободнорадикаловото окисление и намалената антиоксидантна защита и асоциациите им с тежестта на заболяването и с рутинните възпалителни маркери предполагат значението на оксидативния стрес в патогенезата на IBD.

Г7-15 N. Tasinova, A. Angelov, M. Pasheva, D. Vankova, M. Todorova, **D. Gerova**, Y. Yotov, D. Ivanova, B. Galunska. High levels of circulating undercarboxylated matrix Gla-protein found in patients with cardiovascular diseases. Turk J Biochem, 2019; 44 (S3), P-049, p78 (**IF: 0.373**)

Abstract

The aim of the current study was to assess whether serum undercarboxylated matrix Gla-protein (ucMGP) levels are associated with coronary artery calcium score (CACS) in a moderate-to-high risk patients without and with cardiovascular diseases (CVD).

Materials and methods. A total of 67 patients (48 females and 19 males), mean age 69.4 ± 11.9 years) who visited the Cardiology Clinics at the University Hospital of Varna between October 2018 - July 2019 were enrolled in the study. Moderate- and high-risk patients without CVD ($n = 33$) served as controls. Patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation and those with heart failure and sinus rhythm with ejection fraction $> 40\%$ represented the CVD group. All participants underwent a multislice computed tomography examination. Fasting venous blood was drawn for laboratory tests. The measurements of ucMGP were performed using a competitive monoclonal antibody ELISA kit (Cusabio Technology LLC, USA). The routine biochemical parameters (lipid profile and uric acid) were assessed on automated biochemical analyzer. Standard statistical methods (descriptive statistics, one way ANOVA, Spearman correlation analysis) were applied.

Results. Increased ucMGP levels by 24.3% were found in the CVD group when compared to the controls (4.489 ± 1.081 $\mu\text{g/ml}$ vs 3.612 ± 0.508 $\mu\text{g/ml}$). Significant positive correlation was established between ucMGP levels, CACS ($r = 0.29$), total cholesterol ($r = 0.32$), and uric acid levels ($r = 0.72$).

Conclusions. This preliminary study shows that high ucMGP concentrations are associated with higher CACS in CVD patients. In this regard, our results are consistent with the findings of other studies and contribute to the hypothesis that ucMGP plays a pathophysiologic role in vascular calcification.

Резюме

Целта на настоящото проучване е да се оцени дали серумните нива на субкарбоксилирания матричен Gla-протеин (ucMGP) са свързани с калциевия скор на коронарните артерии (CACS) при пациенти със среден до висок риск, без и със сърдечносъдови заболявания (ССЗ).

Материали и методи. В проучването са включени общо 67 пациенти (48 жени и 19 мъже), на средна възраст 69.4 ± 11.9 години), посетили Клиниката по кардиология в УМБАЛ-Варна в периода октомври 2018 - юли 2019 г. Пациенти с умерен и висок риск без ССЗ (n=33) послужиха като контролна група. Пациентите с пароксизмално и персистиращо предсърдно мъждене и тези със сърдечна недостатъчност и синусов ритъм с фракция на изтласкване $>40\%$ представляваха групата със ССЗ. Всички участници са преминали през компютърно томографско изследване. Взета е венозна кръв на гладно за лабораторни изследвания. Измерванията на ucMGP бяха извършени с помощта на конкурентен имуноанализ (ELISA кит на Cusabio Technology LLC, САЩ). Рутинните биохимични параметри (липиден профил и пикочна киселина) бяха оценени на автоматичен биохимичен анализатор. Приложени бяха стандартни статистически методи (описателна статистика, еднопосочен ANOVA, корелационен анализ на Спирман).

Резултати. В групата със ССЗ са установени повишени нива на ucMGP с 24.3% в сравнение с контролите (4.489 ± 1.081 $\mu\text{g/ml}$ спрямо 3.612 ± 0.508 $\mu\text{g/ml}$). Установена е значителна положителна корелация между нивата на ucMGP, CACS ($r=0.29$), общия холестерол ($r=0.32$) и нивата на пикочната киселина ($r=0.72$).

Заклучения. Това предварително проучване показва, че високите концентрации на ucMGP са свързани с по-висок CACS при пациенти със ССЗ. В това отношение нашите резултати са в съответствие с констатациите от други проучвания и допринасят за хипотезата, че ucMGP играе патофизиологична роля в съдовата калцификация.

Г7-16 M. Yordanova, **D. Gerova**. Changes in salivary redox homeostasis in patients with inflammatory bowel diseases. Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1148 (IF: 3.8)

Abstract

Background-aim. Oxidative stress plays an essential role in the pathogenesis and progression of inflammatory bowel disease (IBD). Saliva is the first defense barrier against oxidative stress (OS) due to several antioxidants that balance the effect of oxidants. Aim: To examine salivary reactive oxygen species (ROS) and antioxidant capacity (AOC) and their relationship with the activity and progression of IBD.

Methods. 54 IBD patients – 14 with Chron disease (CD) and 40 with ulcerative colitis (UC) and 80 healthy volunteers forming the control group (CG) were selected. Patients were divided into two subgroups: G1 – with moderate/severe activity (n=36) and G2 – in remission or with mild activity (n=18). Salivary hydroperoxide and AOC levels were assessed using the commercial kits

dROMs (saliva verified) and SAT (Diacron International and H&D srl Parma, Italy), respectively. The local gastrointestinal inflammatory marker faecal calprotectin (FC; BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL high range, Germany) was also measured.

Results. Hydroperoxide levels of G1 are significantly higher in comparison with G2 and CG ($78.9 \pm 7.9 \text{ UCarr}$ vs $65.4 \pm 4.5 \text{ UCarr}$ and $63.3 \pm 6.1 \text{ UCarr}$, respectively, $p < 0.001$). The salivary AOC is considerably lower in G1 patients ($906 \pm 109.5 \mu\text{mol/l}$) vs G2 patients ($1158 \pm 79.5 \mu\text{mol/l}$, $p < 0.001$) and the CG ($1091 \pm 195.6 \mu\text{mol/l}$, $p < 0.001$). There is a significant positive correlation between activity indices (AI) of the disease and salivary hydroperoxide levels for CD patients (Spearman $r = 0.582$, $p = 0.023$) and for UC patients (Spearman $r = 0.512$, $p = 0.003$). Contrarily AOC and AI are negatively correlated – Spearman $r = -0.537$, $p = 0.039$ for CD patients and Spearman $r = -0.499$, $p = 0.004$ for UC patients. Salivary hydroperoxide levels show a significant positive correlation with the inflammatory marker FC (Spearman $r = 0.483$, $p < 0.001$), while AOC correlates negatively with FC (Spearman $r = -0.549$, $p < 0.001$).

Conclusions. As a readily available biological fluid, saliva provides safe, easy and non-invasive sampling. Our results prove that saliva undergoes significant changes in redox homeostasis in the course of IBD. Measurement of reactive oxygen species and antioxidant capacity in saliva provides clinicians with an additional tool to assess and monitor IBD activity and progression.

Резюме

Оксидативният стрес играе съществена роля в патогенезата и прогресията на възпалителните заболявания на червата (ВЗЧ). Слюнката е първата защитна бариера срещу оксидативния стрес (ОС) благодарение на няколко антиоксиданта, които балансират ефекта на оксидантите. Цел: Да се изследват реактивните кислородни видове (ROS) и антиоксидантният капацитет (АОК) на слюнката и връзката им с активността и прогресията на ВЗЧ.

Методи. Подбрани са 54 пациенти с ВЗЧ – 14 с болест на Крон (БК) и 40 с улцерозен колит (УК), както и 80 здрави доброволци, формиращи контролната група (КГ). Пациентите бяха разделени на две подгрупи: G1 – с умерена/тежка активност ($n = 36$) и G2 – в ремисия или с лека активност ($n = 18$). Нивата на хидропероксидите и АОК в слюнката бяха съответно оценени с помощта на търговските китове dROMs (утвърден за слюнката) и SAT (Diacron International и H&D srl Parma, Италия). Беше измерен и фекалния калпротектин като маркер, отразяващ локалните възпалителни процеси в стомашно-чревния тракт (FC; BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL high range, Германия).

Резултати. Нивата на хидропероксидите в G1 групата са значително по-високи в сравнение с тези в група G2 и КГ ($78.9 \pm 7.9 \text{ UCarr}$ спрямо $65.4 \pm 4.5 \text{ UCarr}$ и $63.3 \pm 6.1 \text{ UCarr}$, съответно, $p < 0.001$). Слюнченият АОК е значително по-нисък при G1-пациентите ($906 \pm 109.5 \mu\text{mol/l}$) спрямо G2-пациентите ($1158 \pm 79.5 \mu\text{mol/l}$, $p < 0.001$) и КГ ($1091 \pm 195.6 \mu\text{mol/l}$, $p < 0.001$). Налице е значителна положителна корелация между индексите на активност на заболяването и нивата на хидропероксиди в слюнката при пациентите с БК (Spearman $r = 0.582$, $p = 0.023$) и при пациентите с УК (Spearman $r = 0.512$, $p = 0.003$). За разлика от тях, АОК и индексите на активност са отрицателно свързани – Spearman $r = -0.537$, $p = 0.039$ за

пациентите с БК и Spearman $r=-0.499$, $p=0.004$ за пациентите с УК. Нивата на слюнчените хидропероксици показват значителна положителна корелация с възпалителния маркер FC (Spearman $r=0.483$, $p<0.001$), докато АОК корелира отрицателно с FC (Spearman $r=-0.549$, $p<0.001$).

Заклучения. Като леснодостъпна биологична течност слюнката осигурява безопасно, лесно и неинвазивно вземане на проби. Нашите резултати доказват, че слюнката претърпява значителни промени в редокс хомеостазата в хода на ИБС. Измерването на реактивните кислородни видове и антиоксидантния капацитет в слюнката предоставя на клиницистите допълнителен инструмент за оценка и наблюдение на активността и прогресията на ВЗЧ.

Г7-17 М. Yordanova, **D. Geroва**. Establishment of reference intervals for some salivary parameters for adult individuals from the Bulgarian population. Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1667 (IF: 3.8)

Abstract

Background-aim. Saliva is a complex biofluid that mirrors the body's functional, metabolic, hormonal and emotional state and thus could be useful diagnostic tool for some dental and systemic diseases. One of the drawbacks of salivary diagnostics is the absence of uniform reference intervals (RIs) for a number of investigated parameters. Aim: To establish RIs for selected biochemical parameters in unstimulated saliva.

Methods. Individuals forming the reference group (RG) was selected randomly from those undergoing routine annual prophylactic examination at the Military Hospital of Varna. Unstimulated saliva samples were collected from 186 healthy volunteers, strictly applying the standard procedure. Salivary secretory IgA (sIgA, ELISA method), total protein, albumin and uric acid (TP, ALB and UA, Urinary/CSF Protein, Urine/CSF albumin, and Uric acid, Beckman Coulter, USA), alpha-amylase and lactate dehydrogenase (sAA and LDH, Thermo Scientific reagents) and nitrite (Nanocolor Nitritereagent, MACHEREY-NAGEL, GmbH&Co.KG, Germany) were measured by appropriate standardized analytical methods with proven high analytical performance and tailored to the specific salivary concentration of the analytes. Data were processed with GraphPad Prism statistical software, and statistical methods recommended by the IFCC RI Theory Expert Group were used.

Results. Individuals in the RG were stratified by sex (105 males and 81 females) and age as follows: 20÷30 years ($n=30$), 31÷40 years ($n=69$); 41÷50 years ($n=52$) and 51÷64 years ($n=35$). Statistical differences by age and sex for the tested indicators were not established. RIs for parameters that showed Gaussian distribution were defined as $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ (95%CI): sIgA ($67.8 \div 146.6 \text{ mg/L}$), TP ($410 \div 1277 \text{ mg/L}$), ALB ($29.4 \div 82.4 \text{ mg/L}$), UA ($145 \div 320 \mu\text{mol/L}$). The results for sAA ($17.62 \div 79.95 \text{ U/mL}$), nitrite ($25 \div 121 \mu\text{mol/L}$) and LDH ($96 \div 360 \text{ U/L}$) didn't show Gaussian distribution, and their RIs were determined as IQR (25th-75th percentile, 95%CI).

Conclusions. Knowledge of the biological variations of salivary parameters, choice of analytical methods and standardization of saliva collection procedure are essential factors for RI determination. The defined RIs in the present study could benefit clinical practice.

Резюме

Слюнката е сложна биотечност, която отразява функционалното, метаболитното, хормоналното и емоционалното състояние на организма и поради това може да бъде полезен диагностичен инструмент за някои стоматологични и системни заболявания. Един от недостатъците на слюнчената диагностика е липсата на единни референтни интервали (РИ) за редица изследвани параметри. Цел: Да се установят референтни интервали за избрани биохимични параметри в нестимулирана слюнка.

Методи. Лицата, формиращи референтната група (РГ), са избрани на случаен принцип от тези, които преминават рутинен годишен профилактичен преглед във Военна болница Варна. Проби от нестимулирана слюнка бяха взети от 186 здрави доброволци, като стриктно се прилагаше стандартната процедура. Слюнчените секреторен IgA (sIgA, ELISA метод), общ протеин, албумин и пикочна киселина (TP, ALB и UA, Urinary/CSF Protein, Urine/CSF albumin, and Uric acid, Beckman Coulter, USA), алфа-амилаза и лактатдехидрогеназа (sAA и LDH, Thermo Scientific реактиви) и нитрити (Nanocolor Nitritereagent, MACHEREY-NAGEL, GmbH&Co. KG, Германия) бяха измерени чрез подходящи стандартизирани аналитични методи с доказано висока аналитична надеждност и съобразени със специфичната концентрация на анализите в слюнката. Данните бяха обработени със статистическия софтуер GraphPad Prism и бяха използвани статистически методи, препоръчани от експертната група на IFCC.

Резултати. Лицата в РГ бяха стратифицирани по пол (105 мъже и 81 жени) и възраст, както следва: 20÷30 години (n=30), 31÷40 години (n=69); 41÷50 години (n=52) и 51÷64 години (n=35). Не бяха установени статистически разлики по възраст и пол за изследваните показатели. РИ за параметрите, които показваха Гаусово разпределение, бяха определени като средна стойност $\pm$ 2SD (95%CI): sIgA (67.8÷146.6mg/L), TP (410÷1277mg/L), ALB (29.4÷82.4mg/L), UA (145÷320 μ mol/L). Резултатите за sAA (17.62÷79.95U/ml), нитритите (25÷121 μ mol/L) и LDH (96÷360U/L) не показват Гаусово разпределение и техните РИ са определени като IQR (25-75-ти персентил, 95%CI).

Заклучения. Познаването на биологичните вариации на слюнчените параметри, изборът на аналитични методи и стандартизирането на процедурата за събиране на слюнка са съществени фактори за определяне на РИ. Определените РИ в настоящото проучване могат да бъдат от полза за клиничната практика.

Г7-18 D. Geroва, M. Todorova, M. Nikolova, B. Galunska-Kalcheva. Vitamin D status in Bulgarian pregnant woman and its impact on pregnancy-related disorders Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1721 (IF: 3.8)

Abstract

Background-aim. Although the importance of vitamin D for human health is well recognized, the incidence of vitamin D deficiency or insufficiency is still high not only in the general population but also among pregnant women worldwide. The aim was to analyze the frequency of vitamin D insufficiency/deficiency among Bulgarian pregnant women during second half of pregnancy and to assess its impact on pregnancy-related disorders.

METHODS. Subjects and methods: The present study involved 259 pregnant women (mean age 30.5 ± 5.4 years) divided into three groups: G1 (n=167) – women with normal pregnancy, G2 (n=43) – women with gestational diabetes mellitus (GDM) and G3 (n=49) – women with preeclampsia (PE). Fasting blood sample was taken to measure serum 25OHD level using LC-MS. Standard statistical methods were used for processing the data. Statistical significances were determined at $p < 0.05$.

Results. The median of serum 25OHD levels from all tested women was 76.26nmol/L (range 1.7-204.23nmol/L). Vitamin D deficiency (25OHD<25.0nmol/L) was detected in 12 (4.6%) women, severe vitamin D insufficiency (25.1–50.0nmol/L) – in 53 (20.5%) women, vitamin D insufficiency (50.1–80.0nmol/L) – in 75 (29.0%) women and vitamin D sufficiency (>80.1nmol/L) – in 119 (45.9%) women. One third of investigated women were not supplemented with vitamin D supplements. As most of blood samples were collected during cold months than in warm months (n=166, 64.1% vs n=93, 35.9%), there was a significant difference between their 25OHD medians: 64.9nmol/L vs 80.9nmol/L respectively, $p=0.0108$. The distribution of blood sample collection according the season in relation to type of pregnancy was almost the same. The medians of serum 25OHD values in the three groups were as follows: G1=70.2nmol/L, G2=56.4nmol/L and G3=66.9nmol/L, but statistical difference between them didn't establish.

Conclusions. The frequency of vitamin D deficiency/insufficiency among pregnant women varies across countries. The vitamin D status of Bulgarian pregnant women is comparable to that in most European countries. Despite numerous studies on the association of 25(OH)D deficiency with some pregnancy disorders, controversy still exists. According to our results, vitamin D is not the only determinant of GDM and PE occurrence during pregnancy.

Резюме

Въпреки че значението на витамин D за човешкото здраве е добре познато, честотата на витамин D дефицита или недостатъчността е все още висока не само сред общото население, но и сред бременните жени по света. Целта е да се установи честотата на витамин D дефицита/недостатъчност-та сред българските бременни жени през втората половина на бременността им и да се оцени влиянието му върху свързаните с бременността усложнения.

Методи. Субекти и методи: В настоящото проучване участваха 259 бременни жени (средна възраст 30.5 ± 5.4 години), разделени в три групи: G1 (n=167) – жени с нормална бременност, G2 (n=43) – жени с гестационен захарен диабет (ГЗД) и G3 (n=49) – жени с прееклампсия (ПЕ). Взета е кръвна проба на гладно за измерване на серумното ниво на 25OHD с помощта на LC-MS. За обработката на данните бяха използвани стандартни статистически методи, като за статистическа значимост беше определено $p < 0.05$.

Резултати. Медианата на серумните нива на 25OHD от всички изследвани жени беше 76.26 nmol/L (диапазон 1.7-204.23nmol/L). Дефицит на витамин D (25OHD<25.0nmol/L) беше установен при 12 (4.6%) жени, тежка недостатъчност на витамин D (25.1-50.0nmol/L) – при 53 (20.5%) жени, недостатъчност на витамин D (50.1-80.0nmol/L) – при 75 (29.0%) жени и достатъчност на витамин D (>80.1nmol/L) – при 119 (45.9%) жени. Една трета от изследваните жени не са приемали добавки с витамин D. Тъй като повечето кръвни проби са взети през студените месеци, а не през топлите (n=166, 64.1% срещу n=93, 35.9%), има значителна разлика между медианните им стойности на 25OHD: съответно 64.9 nmol/L срещу 80.9 nmol/L, p=0.0108. Медианите на серумните стойности на 25OHD в трите групи изследвани жени бяха както следва: G1=70.2nmol/L, G2=56.4nmol/L и G3=66.9nmol/L, но статистическа разлика между тях не се установи (p>0.05).

Заклучения. Честотата на витамин D дефицит/недостатъчност сред бременните жени варира в различните страни. Витамин D статусът при българските бременни жени е сравним с този в повечето европейски страни. Въпреки многобройните проучвания за връзката на 25(OH)D дефицита с някои усложнения на бременността, все още съществуват противоречия. Според нашите резултати витамин D не е единственият определящ фактор за появата на ГДМ и ПЕ по време на бременността.

Г7-19 Geroва D, Gerov V, Micheva I, Galunska B. Diagnostic reliability of DKK-1, sclerostin, sRANKL, osteopontin and periostin as markers for assessing the myeloma bone disease. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:119017 (IF: 3.2)

Abstract

Background-Aim. A prominent feature of multiple myeloma (MM) is the myeloma bone disease (MBD) due to activated osteoclastogenesis and suppressed osteoblastogenesis. Several proteins were found to be involved in the pathogenesis of MBD. We aimed to evaluate the diagnostic reliability of DKK-1, sclerostin, sRANKL, osteopontin and periostin as markers for assessing the MBD.

Methods. A total of 41 newly diagnosed MM patients and 33 healthy controls were enrolled in the study. The patients were divided into two groups: G1 (n = 9) with 0 to 3 osteolytic lesions and G2 (n = 32) – with more than 3 osteolytic lesions. Serum levels of DKK-1, sclerostin, sRANKL, osteopontin and periostin were measured by ELISA kits (Shanghai Sunred Biological Technology, China).

Results. The patients' serum levels for all measured proteins were significantly higher than those in controls showing correlation with disease stage and MBD grade. The area under the curve (AUC) for DKK-1 was 0.8180, for sclerostin – 0.9127, for sRANKL – 0.8321, for osteopontin – 0.8685 and for periostin – 0.8920 with p < 0.0001 for all parameters. The cut-off values were also determined: for DKK-1 it was 52.64 ng/mL, for sclerostin – 472.1 ng/mL, for sRANKL – 8.067 pg/ml, for osteopontin – 447.1 ng/mL and for periostin – 473.1.pg/ml. Their corresponding diagnostic sensitivity and specificity were as follows: 0.8293 and 0.7692 for DKK-1, 0.8780 and 0.8065 for sclerostin, 0.8000 and 0.7500 for sRANKL, 0.9024 and 0.7857 for osteopontin and

0.8537 and 0.7857 for periostin. The possibility to correctly distinguish the patients with lower grade of MBD (G1) from those with higher grade (G2) was also tested. The highest AUC was calculated for sclerostin (0.9340, $p < 0.0001$; cut-off value 502.1), followed by osteopontin (0.7639, $p < 0.0167$; cut-off value 514.0), DKK-1 (0.7438, $p < 0.0479$; cut-off value 62.05) and periostin (0.7298, $p < 0.0474$; cut-off value 545.9). The lowest AUC was found for sRANKL (0.5608, $p = 0.5815$) which makes it unsuitable for a reliable distinguishing between patients with a different grade of MBD.

Conclusions. The ROC analyses confirmed the high diagnostic reliability of all tested bone biomarkers. With exception of sRANKL, all others could differentiate patients according to the grade of MBD.

Резюме

Отличителна характеристика на множествения миелом (ММ) е миеломната костна болест (МБД), която се дължи на активирана остеокластогенеза и потисната остеобластогенеза. Разнообразни протеини участват в патогенезата на МБД. Целта ни беше да оценим диагностичната надеждност на DKK-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин като маркери за оценка на МБД.

Методи. В проучването бяха включени общо 41 новодиагностицирани пациенти с ММ и 33 здрави контроли. Пациентите бяха разделени на две групи: G1 ($n=9$) с 0 до 3 остеолитични лезии и G2 ($n=32$) – с повече от 3 остеолитични лезии. Серумните нива на DKK-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин бяха измерени чрез ELISA китове (Shanghai Sunred Biological Technology, Китай).

Резултати. Серумните нива на всички измерени протеини при пациентите са значително по-високи от тези при контролите, като е установена и корелация със стадия на заболяването и степента на МБД. Площта под кривата (AUC) за DKK-1 е 0.8180, за склеростин – 0.9127, за sRANKL – 0.8321, за остеопонтин – 0.8685 и за периостин – 0.8920 с $p < 0.0001$ за всички параметри. Бяха определени и cut-off стойности за: DKK-1 – 52.64 ng/mL, склеростин – 472.1 ng/mL, sRANKL – 8.067 pg/ml, остеопонтин – 447.1 ng/mL и периостин – 473.1 pg/ml. Съответните им диагностична чувствителност и специфичност са както следва: 0.8293 и 0.7692 за DKK-1, 0.8780 и 0.8065 за склеростин, 0.8000 и 0.7500 за sRANKL, 0.9024 и 0.7857 за остеопонтин и 0.8537 и 0.7857 за периостин. Беше проверена и възможността за правилно разграничаване на пациентите с по-ниска степен на МБД (G1) от тези с по-висока степен (G2). Най-високата AUC е изчислена за склеростин (0.9340, $p < 0.0001$; cut-off стойност – 502.1), следвана от остеопонтин (0.7639, $p < 0.0167$; cut-off стойност – 514.0), DKK-1 (0.7438, $p < 0.0479$; cut-off стойност – 62.05) и периостин (0.7298, $p < 0.0474$; cut-off стойност – 545.9). Най-ниската AUC е установена за sRANKL (0.5608, $p = 0.5815$), което я прави неподходяща за надеждно разграничаване на пациентите с различна степен на МБД.

Заклучения. ROC анализите потвърдиха високата диагностична надеждност на всички изследвани костни биомаркери. С изключение на sRANKL, всички останали могат да разграничат пациентите според степента на МБД.

Г7-20 Yordanova M, Gerova D, Kaloyanova N. Serum adenosine deaminase as breast and colorectal cancer progression biomarker. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:118983 (IF: 3.2)

Abstract

Background-aim. The enzyme adenosine deaminase (ADA) regulates the intra- and extracellular levels of purine nucleoside adenosine, which exerts an immunosuppressive effect on various tumors. The dysregulated activity of ADA appears to be important in some cancer types. **Aim.** To compare the serum ADA activity in patients with breast and colorectal cancer in different stages of the disease.

Methods. Overall, 95 patients with breast (n = 45) and colorectal (n = 50) cancer, diagnosed and treated at the Complex Cancer Center, were included in the study. The data for TNM classification, stage, previous therapy and imaging findings from the last PET-CT to assess the disease progression were extracted from medical records. The serum ADA activity was measured by Diazyme ADA assay (Diazyme Laboratories, USA) on a biochemical analyzer Mindray BS220E, China. CEA, Ca19-9 and CA15-3 were tested on an immunoanalyzer AIA 900, Japan. Standard statistical analyses were performed, and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results. Patients were divided into two groups (G1 and G2). G1 included 25 patients with stable disease in stage II (mean age: 64.17 ± 11.74 years), and G2 had 70 patients in clinical stages III and IV (mean age: 66 ± 12.37 years). ADA values in the G2 group (15.7 ± 7.08 U/L) were significantly higher ($p = 0.0018$) compared to those in G1 group (8.5 ± 1.51 U/L). The highest ADA values were observed in patients with liver metastases (21.0 ± 7.2 U/L) compared to patients with bone (10.86 ± 3.43 U/L, $p = 0.0002$) or lymph node (11.62 ± 2.62 U/L, $p = 0.0022$) metastases. There was a significant positive correlation between ADA activity and the tumor stage ($r = 0.633$; $p < 0.0001$). In G2, the deceased patients (n = 17) had higher ADA values compared to alive (18.23 ± 8.92 U/L vs 12.60 ± 4.64 U/L, $p = 0.0178$), and a positive moderate correlation between ADA and mortality ($r = 0.363$; $p = 0.0285$) was established. The serum levels of CEA, Ca19-9 and CA15-3 were also significantly higher in G2 compared to those in G1 (medians: 29.8 vs 3.9 ng/mL, 136.7 vs 16.2 U/mL and 76.3 vs 19.8 U/mL; $p = 0.0186$, $p = 0.0023$, and $p = 0.0206$, respectively), but no correlation with ADA was found.

Conclusions. Serum ADA activity could be a helpful biomarker for monitoring breast and colorectal cancer progression.

Резюме

Ензимът аденозин дезаминаза (АДА) регулира вътре- и извънклетъчните нива на пуриновия нуклеозид аденозин, който оказва имуносупресивен ефект върху различни тумори. Нарушената активност на АДА изглежда е важна при някои видове рак. Цел. Да се сравни серумната активност на АДА при пациенти с рак на гърдата и колоректален карцином в различни стадии на заболяването.

Методи. В проучването са включени общо 95 пациента с рак на гърдата (n=45) и колоректален карцином (n=50), диагностицирани и лекувани в Комплексен онкологичен

център. Данните за TNM класификацията, стадия, предшестваща терапия и образните находки от последната ПЕТ-КТ за оценка на прогресията на заболяването са извлечени от медицинските досиета. Серумната активност на ADA е измерена чрез теста Diazyme ADA (Diazyme Laboratories, САЩ) на биохимичен анализатор Mindray BS220E, Китай. СЕА, Ca19-9 и CA15-3 са изследвани на имуноанализатор AIA 900, Япония. Бяха извършени стандартни статистически анализи, като $p < 0.05$ се счита за статистически значимо.

Резултати. Пациентите са разделени на две групи (G1 и G2). G1 включва 25 пациента със стабилно заболяване в стадий II (средна възраст: 64.17 ± 11.74 години), а G2 – 70 пациента в клинични стадии III и IV (средна възраст: 66 ± 12.37 години). Стойностите на ADA в група G2 (15.7 ± 7.08 U/L) са значително по-високи ($p = 0.0018$) в сравнение с тези в група G1 (8.5 ± 1.51 U/L). Най-високи стойности на ADA се наблюдават при пациенти с метастази в черния дроб (21.0 ± 7.2 U/L) в сравнение с пациенти с метастази в костите (10.86 ± 3.43 U/L, $p = 0.0002$) или лимфните възли (11.62 ± 2.62 U/L, $p = 0.0022$). Съществува значителна положителна корелация между активността на ADA и стадия на тумора ($r = 0.633$; $p < 0.0001$). G2 починалите пациенти ($n = 17$) са имали по-високи стойности на ADA в сравнение с живите (18.23 ± 8.92 U/L спрямо 12.60 ± 4.64 U/L, $p = 0.0178$) и е установена положителна умерена корелация между ADA и смъртността ($r = 0.363$; $p = 0.0285$). Серумните нива на СЕА, Ca19-9 и CA15-3 също са значително по-високи при G2 пациентите в сравнение с тези при G1 (медиани: 29.8 vs 3.9 ng/mL, 136.7 vs 16.2 U/mL и 76.3 vs 19.8 U/mL; $p = 0.0186$, $p = 0.0023$ и $p = 0.0206$ съответно), но не е установена корелация с ADA.

Заклучения. Серумната активност на ADA може да бъде полезен биомаркер за наблюдение прогресията на рака на гърдата и колоректалния карцином.

Г7-21 Todorova M, Gerova D. Vitamin D insufficiency/deficiency as a risk factor for Hashimoto's thyroiditis. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:118165. (IF: 3.2)

Abstract

Background-aim. Beyond its role in the mineral metabolism and skeletal diseases, vitamin D plays an active role in the regulation of the immune system. Vitamin D deficiency is widely spread, and there are numerous studies linking low vitamin D status to a risk of autoimmune disorders. Hashimoto's thyroiditis (HT) is one of the most common autoimmune thyroid disorders and the aim of the study is to examine the vitamin D status in Bulgarian patients with HT.

Methods. A total of 50 patients with HT and 49 healthy control subjects, not supplemented with vitamin D, were included in the study. The serum levels of TSH, FT3, FT4, aTPO, aTG and 25(OH)D were measured by ECLIA methods (Cobas e411, Roche Diagnostics, Germany). Standard statistical analyses were performed using GraphPad Prism software, v. 8.0.2., $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results. Serum 25OHD levels expressed as median and interquartile range were significantly higher in healthy subjects (83.01 nmol/L (70.81 - 100.8)) compared to patients with TH (60.41 (51.38 - 67.73)), < 0.001 . There was no significant difference in TSH and FT3 levels between

patients and controls, while median FT4 and its interquartile range (IQR) were lower in patients versus controls (15.86pmol/L (13.92-18.62) vs 16.02pmol/L (14.85-18.91), respectively, $p < 0.001$). Median aTPO and aTG values and their IQR were significantly higher in patients than in controls (93.34IU/mL (47.88-264.40) vs 14.05IU/mL (9.95-24.30), $p < 0.001$ and 190.6IU/mL (110.0-245.7) vs 22.69IU/mL (19.11-30.87), $p < 0.001$).

Conclusions. The present study reveals that patients with HT have worse vitamin D status and vitamin D is probably involved in the onset and development of HT. As a modifiable factor related to the immune system, vitamin D supplementation may help prevent and/or improve treatment of HT.

Резюме

Освен основната си роля в минералния метаболизъм и заболяванията на скелета, витамин D играе активна роля и в регулирането на имунната система. Недостигът на витамин D е широко разпространен и има многобройни проучвания, които свързват лошия витамин D статус с риск от автоимунни заболявания. Тиреоидитът на Хашимото (ТХ) е едно от най-често срещаните автоимунни нарушения на щитовидната жлеза и целта на проучването е да се изследва витамин D статусът при български пациенти с ТХ.

Методи. В проучването са включени общо 50 пациенти с ХТ и 49 здрави контролни лица, които не са приемали добавки с витамин D. Серумните нива на TSH, FT3, FT4, aTPO, aTG и 25OHD бяха измерени чрез ECLIA методи (Cobas e411, Roche Diagnostics, Германия). Стандартните статистически анализи бяха извършени с помощта на софтуера GraphPad Prism, v. 8.0.2., $p < 0.05$ се счита за статистически значимо.

Резултати. Серумните нива на 25OHD, изразени като медиана и интерквартилен диапазон при здравите лица са значимо по-високи (83.01nmol/L (70.81-100.8)) в сравнение с пациентите с ТХ (60.41 (51.38-67.73)), < 0.001 . Не е установена значителна разлика в нивата на TSH и FT3 между пациентите и контролите, докато медианата на FT4 и неговият интерквартилен диапазон (IQR) са по-ниски при пациентите в сравнение с контролите (съответно 15.86pmol/L (13.92-18.62) срещу 16.02pmol/L (14.85-18.91), $p < 0.001$). Медианите на стойностите на aTPO и aTG и техните IQR са значително по-високи при пациентите в сравнение с контролите (93.34IU/mL (47.88-264.40) срещу 14.05IU/mL (9.95-24.30), $p < 0.001$ и 190.6IU/mL (110.0-245.7) срещу 22.69IU/mL (19.11-30.87), $p < 0.001$).

Заклучения. Настоящото проучване разкрива, че пациентите с ТХ имат по-лош витамин D статус и е вероятно витамин D да участва в появата и развитието на ХТ. Като модифицируем фактор, свързан с имунната система, добавката на витамин D може да помогне за предотвратяване и/или подобряване на лечението на ХТ.

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г8. Пълнотекстови публикации, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове

Г8-01 B Galunska, D Gerova, S Galcheva, V Iotova. Association between vitamin D status and obesity in Bulgarian pre-pubertal children: a pilot study. Int J Res Med Sci. 2016, 4(2):361-368. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20160284>

Abstract

Background: It is considered that obesity and metabolic syndrome are accompanied with vitamin D deficiency. We aimed to examine the interrelations between vitamin D status and biomarkers for metabolic syndrome in Bulgarian pre-pubertal children.

Methods: The study enrolled 51 pre-pubertal children (29 boys, 22 girls) examined for serum 25-hydroxyvitamin D, and routine parameters for metabolic syndrome. Obesity was evaluated by body mass index and waist circumference.

Results: More than half (57.1%) of the studied children were vitamin D deficient, prevalent in girls than in boys (65.0% vs. 51.7% respectively). A tendency for worse metabolic status in the vitamin D-deficient group, expressed by higher fasting insulin, total cholesterol, total cholesterol/HDL-ratio and Homeostasis Model Assessment (HOMA)-index was observed. A trend for negative correlation was established between 25-hydroxyvitamin D and waist circumference, HOMA-index, and fasting insulin.

Conclusions: Vitamin D deficiency and inverse relationships between 25-hydroxyvitamin D and waist circumference, HOMA-index, and insulin were found amongst studied children.

Резюме

Смята се, че затлъстяването и метаболитният синдром са придружени от витамин D дефицит. Целта ни е да проучим взаимовръзките между витамин D статуса и биомаркерите за метаболитен синдром при български деца в предпубертетна възраст.

Методи: В проучването участваха 51 деца в предпубертетна възраст (29 момчета и 22 момичета), изследвани за серумен 25-кисдроксивитамин D и рутинни параметри за метаболитен синдром. Затлъстяването е оценено чрез индекса на телесната маса и обиколката на талията.

Резултати: Повече от половината (57.1%) от изследваните деца са с дефицит на витамин D, който е по-чест при момчетата, отколкото при момчетата (съответно 65.0% срещу 51.7%). Наблюдава се тенденция към влошаване на метаболитния статус в групата с недостиг на витамин D, изразена чрез по-високи стойности на инсулина на гладно, общия холестерол, съотношението общ холестерол/HDL и НОМА-индекса. Установена е тенденция за отрицателна корелация между 25-кисдроксивитамин D и обиколката на талията, НОМА-индекса и инсулина на гладно.

Заклучения: Дефицит на витамин D и обратна зависимост между 25-ксихидрокси витамин D и обиколката на талията, НОМА-индекса и инсулина са установени сред изследваните деца.

Г8-02 Roussev B, **Gerova D**, Kosev P, Hinev A, Svinarov D, Galunska B. Is vitamin D associated with testosterone in benign prostate hyperplasia? Scripta Scientifica Medica, 2016,48(4):13-21

Abstract

Introduction. Benign prostate hyperplasia (BPH) affects about 50% of the male population between 51-60 years of age and almost 90% of the males aged 81-90. It is considered that BPH pathogenesis involves epithelial cells and stromal tissue proliferation inside prostate gland and testosterone is one of the promoting factors of prostate cell growth. Evidences about the antiproliferative effects of vitamin D and the widespread vitamin D deficiency and insufficiency among the Bulgarian population suggest a possible relation between vitamin D and testosterone in BPH patients. **AIM:** The aim of this paper is to evaluate the vitamin D status and total testosterone (TT) levels in BPH patients and their associations with prostate specific antigen (PSA) as an established biomarker that correlates with prostate volume.

Materials and methods. A total of 37 BPH patients (mean age 67.14 ± 7.77 years) were enrolled in the study. In all patients, BPH was histologically proven. PSA and TT levels were analyzed immunochemically. The circulating form of vitamin D, 25-hydroxyvitamin D (25OHD) was assayed by liquid chromatography with mass-spectrometry detection (LC-MS/MS). Other covariates (BMI, age) were collected by interview at the time of hospitalization. Classical biochemical parameters were assayed by routine spectrophotometric tests. Descriptive statistics, variation and non-parametric correlation analysis were used. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Results. The mean level of 25OHD for BPH patients was close to the lower reference limit of 50nmol/L recommended by the US Endocrine Society Guideline. The majority of BPH patients (56.8%) display 25OHD levels above 50nmol/L, 43.2% of them were vitamin D deficient (25OHD < 50nmol/L), 8.1% – with severe vitamin D deficiency (25OHD < 25nmol/L), and only 6 patients (16.2%) had optimal 25OHD levels above the limit of 75nmol/L. The mean serum TT levels of BPH patients were 10.74 ± 4.026 nmol/L, close to the lower limit of 10.4 nmol/L for normal TT, according to the recommendations of the Endocrine Society. Significant seasonal variations were found for 25OHD levels ($p < 0.05$) between the cold and warm season. Similar seasonality was not established for TT. Two-thirds of BPH patients (62.9%) were with PSA values below the upper limit of the reference interval of 4 ng/ml. Higher 25OHD levels (59.21 ± 3.756 nmol/l, $p = 0.06$) were established for the group with PSA below the threshold of 4ng/ml. A moderate negative correlation (Spearman $r = -0.6707$, $p < 0.01$) was found only for the vitamin D deficient group. In case of vitamin D sufficiency, a weak positive trend was detected.

Conclusion. Our study indicated vitamin D insufficiency in BPH patients according to the criteria of the Endocrine Society. Strong negative correlation between 25OHD and TT levels was found

for vitamin D deficient BPH patients. Higher 25OHD were associated with lower PSA values indicating a potential favorable effect of 25OHD on slackening of BPH.

Резюме

Въведение. Доброкачествената хиперплазия на простатата (ДХП) засяга около 50% от мъжкото население на възраст между 51 и 60 години и почти 90% от мъжете на възраст 81 - 90 години. Смята се, че патогенезата на ДХП включва пролиферация на епителните клетки и стромалната тъкан в простатната жлеза, а тестостеронът е един от факторите, стимулиращи растежа на простатните клетки. Данните за антипролиферативните ефекти на витамин D и широко разпространения дефицит и недостатъчност на витамин D сред българското население предполагат възможна връзка между витамин D и тестостерона при пациентите с ДХП. Целта е да се оцени витамин D статуса и нивата на общия тестостерон (ТТ) при пациенти с ДХП и връзките им с простатспецифичния антиген (PSA) като утвърден биомаркер, корелиращ с обема на простатната жлеза.

Материали и методи. В проучването са включени общо 37 пациенти с ДХП (средна възраст 67.14 ± 7.77 години). При всички пациенти ДХП беше хистологично доказана. Нивата на PSA и ТТ бяха анализирани имунохимично. Циркулиращата форма на витамин D, 25- хидроксивитамин D (25OHD), е изследвана чрез течна хроматография с масспектрометрична детекция (LC-MS/MS). Други ковариантни данни (BMI, възраст) бяха събрани чрез интервю по време на хоспитализацията. Класическите биохимични параметри бяха изследвани чрез рутинни спектрофотометрични тестове. Използвани са описателна статистика, вариационен и непараметричен корелационен анализ. Нивото на значимост беше определено при $p < 0.05$.

Резултати. Средното ниво на 25OHD при пациентите с ДХП е близо до долната референтна граница от 50 nmol/L, препоръчана в насоките на Ендокринното дружество на САЩ. По-голямата част от пациентите с ДХП (56.8%) показват нива на 25OHD над 50 nmol/L, 43.2% от тях са с дефицит на витамин D (25OHD < 50 nmol/L), 8.1% – с тежък дефицит на витамин D (25OHD < 25 nmol/L), и само 6 пациента (16.2%) имат оптимални нива на 25OHD над границата от 75 nmol/L. Средните серумни нива на ТТ при пациентите с ДХП бяха 10.74 ± 4.026 nmol/L, близки до долната граница от 10.4 nmol/L за нормален ТТ, съгласно препоръките на Endocrine Society. Установени са значителни сезонни вариации за нивата на 25OHD ($p < 0.05$), наблюдавани през студеното и топло полугодие на годината. Подобна сезонност не беше установена за ТТ. Две трети от пациентите с ДХП (62.9%) бяха със стойности на PSA под горната граница на референтния интервал от 4 ng/ml. По-високи нива на 25OHD (59.21 ± 3.756 nmol/l, $p = 0.06$) бяха установени за групата с PSA под прага от 4 ng/ml. Умерена отрицателна корелация (Spearman $r = -0.6707$, $p < 0.01$) беше установена само за групата с дефицит на витамин D. В случай на достатъчност на витамин D беше открита слаба положителна тенденция.

Г8-03 Galunska B, Roussev B, **Gerova D**, Hinev A, Usheva N and Svinarov D. Vitamin D and androgens in prostate disease patients. World Journal of Pharmaceutical and Medical Research, 2018, 4(5):57-64 (**SJIF Impact Factor: 4.639**)

Abstract

Aim: To study the relationship between vitamin D status, androgens and clinical determinants for benign and malignant prostate diseases.

Materials and methods: This prospective single-centred study includes 54 benign prostatic hyperplasia patients age-matched with 88 prostate cancer patients, selected by serum prostate specific antigen (PSA) levels, digital rectal examination, and systemic transrectal tru-cut prostate biopsies. The cancer patients were stratified by the risk for biochemical recurrence after definite local treatment and by tumor's Gleason score. Total and free testosterone, dehydroepiandrosterone sulphate, androstenedione, sex-hormone binding globulin, 25-hydroxyvitamin-D, vitamin D binding protein and PSA were measured.

Results: Vitamin-D deficiency was more frequent in cancer patients vs noncancerous (69.4% vs 43.4%). Negative correlation ($r=-0.255$, $p<0.05$) and decrease ($p=0.07$) with the tumour grade was found for 25-hydroxyvitamin-D. Similar relationships were detected for free and total testosterone ($p=0.08$) and free androgen index ($r=-0.262$, $p<0.05$). Risk stratification revealed a decrease in 25-hydroxyvitamin-D ($p<0.05$) and vitamin D binding protein (ns), while sex-hormone-binding protein ($p<0.01$) and prostate specific antigen/total testosterone ratio ($p<0.05$) were increased. Negative correlation between 25-hydroxyvitamin-D ($r=-0.21$, $p=0.05$) and free androgen index ($r=-0.23$, $p<0.05$) with the risk was detected. ROC curve analysis revealed that among tested steroids 25-hydroxyvitamin-D exhibited highest area under curve (AUC 0.69, $p<0.001$). Multifactorial regression analysis indicated prostate specific antigen ($\beta=0.49$, $p<0.0001$) and 25-hydroxyvitamin-D ($\beta=-0.24$, $p<0.04$) as statistically significant variables related to tumour grade.

Conclusion. It might be hypothesized that prostate cancer is associated with disturbances in steroid metabolism. Development of steroid constellations, focused on vitamin D, could be helpful for the assessment of disease progression and aggressiveness.

Резюме

Цел. Да се проучи връзката между витамин D статуса, андрогените и клиничните детерминанти за доброкачествени и злокачествени заболявания на простатата.

Материали и методи. Това проспективно едноцентрово проучване включва 54 пациента с доброкачествена хиперплазия на простатата, съпоставени по възраст с 88 пациента с простатен карцином, подбрани според серумните нива на PSA, дигиталното ректално изследване и системната трансректална tru-cut биопсия на простатата. Пациентите с рак са стратифицирани според риска за биохимичен рецидив след окончателно локално лечение и според резултата на тумора по Gleason. Измерени са общ и свободен тестостерон, дехидроепиандростерон сулфат, андростендион, свързващият половите хормони глобулин, 25-хидроксивитамин-D, свързващият витамин D протеин и специфичният простатен антиген (PSA).

Резултати. При изследваната от нас кохорта, витамин D дефицитът се среща по-често при карциномните пациенти в сравнение с тези с доброкачествена хиперплазия (69.4% срещу 43.4%). Беше установена отрицателна корелация ($r=-0.255$, $p<0.05$) и намаление ($p=0.07$) на 25-хидроксивитамин-D със степента на инвазивност на тумора. Подобни зависимости бяха открити за свободния и общ тестостерон ($p=0.08$) и свободния андрогенен индекс ($r=-0.262$, $p<0.05$). Стратифицирането според риска разкрива намаляване на 25-хидроксивитамин-D нивата ($p<0.05$) и на свързващия витамин D протеин (ns), докато свързващият половите хормони протеин ($p<0.01$) и съотношението PSA/общ тестостерон ($p<0.05$) са увеличени.

Г8-04 Yordanova M, Geroва D. Application of Fecal Calprotectin in Inflammatory Bowel Disease. J Family Med Prim Care. 2020 Open Acc 4: 147. ISSN: 2688-7460, DOI: 10.29011/2688-7460.100047

Abstract

In the practice, a distinction between organic and functional bowel disease and assessment for endoscopic examination is required daily for gastrointestinal symptoms. In modern gastroenterology, the evaluation of disease activity, prognosis and control of therapy in patients with chronic Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a challenge. The search for non-invasive laboratory markers for monitoring of their chronic-recurrent course and management of treatment is an important part of ensuring a good quality of life for patients. In recent years, faecal calprotectin has become a useful non-invasive biomarker. The focus of this review is on current guidelines for the use of calprotectin, with particular emphasis on faecal calprotectin, as a tool in the treatment and diagnostic management of IBD. Publications and expert clinical guidelines from the last six years on the use of calprotectin were reviewed. We have summarized the critical evaluations in the application, also the advantages and disadvantages of using faecal calprotectin (FC) in gastroenterology practice.

Conclusion. FC is a non-invasive diagnostic tool that enables physicians to more accurately, timely diagnose and predict the course and course of patients with IBD.

Резюме

В практиката ежедневно се прави разграничение между органични и функционални заболявания на червата и се изисква ендоскопско изследване за оценка при стомашно-чревни симптоми. В съвременната гастроентерология оценката на активността на заболяването, прогнозата и контролът на терапията при пациенти с хронично възпалително заболяване на червата (IBD) е предизвикателство. Търсенето на неинвазивни лабораторни маркери за проследяване на тяхното хронично-рецидивиращо протичане и управление на лечението е важна част от осигуряването на добро качество на живот на пациентите. През последните години фекалният калпротектин се превърна в полезен неинвазивен биомаркер. Фокусът на този обзор е върху настоящите насоки за използване на калпротектина, с особен акцент върху фекалният калпротектин, като инструмент за диагностиката и лечението на IBD. Прегледани са публикации и експертните клинични насоки от последните шест години относно използването на калпротектин. Обобщихме критичните оценки за прилагането,

както и предимствата и недостатъците при използването на фекален калпротектин (FC) в гастроентерологичната практика.

Заклучение. FC е неинвазивен диагностичен инструмент, който дава възможност на лекарите да поставят по-точна, навременна диагноза и да прогнозират хода и развитието на пациентите с ИБС.

Г8-05 S Dimitrova, L Gercheva, **D Gerova**, I Micheva. Controversial impact of hepcidin metabolism in the pathogenesis of anemia in myelofibrosis. American Journal of Internal Medicine 2020, 8 (4), 153-158.

Abstract

The aim of the study was to analyze parameters of iron metabolism and inflammation in patients with different forms and stages of myelofibrosis. Thirty-six patients with primary MF, post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia MF and fourteen healthy controls were included in the study. The hepcidin level in the patient group was found statistically lower compared to healthy controls (27.64 ± 41.56 ng/ml vs 111.13 ± 49.56 ng/ml; $F=2.81$, $p<0.001$). Patients with newly diagnosed MF had significantly higher levels of hepcidin compared to those with prolonged evolution: between 1 and 5 years ($p=0.005$) and >5 years ($p=0.038$). Transfusion dependent patients presented with lower hepcidin compared to transfusions independent (10.10 ± 6.67 ng/ml vs 31.15 ± 44.37 ng/ml, $p=0.026$). In patients receiving cytoreductive or target treatment hepcidin level was significantly lower compared to patients on best supportive care (17.74 ± 21.99 ng/ml vs 43.05 ± 58.46 ng/ml, $p=0.037$). No difference was found in hepcidin level within the risk groups according to DIPSS, neither between the subtypes of disease (primary MF and secondary MF). Higher hepcidin positively correlated with leukocytosis ($R=0.665$, $p=0.009$) and age ($R=0.392$, $p=0.0081$). By multivariate analysis, a significant highly positive correlation was found between hepcidin and IL-6 ($R=0.535$, $p=0.002$) and weaker between hepcidin and IL-8 ($R=0.413$, $p=0.21$). A significant straight correlation was demonstrated between IL-6 and IL-8 ($R=0.464$, $p=0.009$) and a negative between serum iron and IL-6 ($R=-0.367$, $p=0.42$) and IL-8 ($R=-0.438$, $p=0.14$), respectively. The hepcidin regulation is complex and multifactorial. Its role in pathogenesis of anemia in myelofibrosis is controversial. Probably it has a higher impact in early stages of the disease and depends on treatment and transfusions.

Резюме

Целта на изследването е да се анализират параметрите на желязната метаболитизъм и тези на възпалението при пациенти с различни форми и стадии на миелофиброза (МФ). Тридесет и шест пациента с първична МФ и с вторична МФ (след полицитемия вера и след есенциална тромбоцитемия), както и четиринадесет здрави контроли бяха включени в проучването. Установено е статистически по-ниско ниво на хепсидин в пациентската група в сравнение със здравите контроли (27.64 ± 41.56 ng/ml спрямо 111.13 ± 49.56 ng/ml; $F=2.81$, $p<0.001$). Пациентите с новодиагностицирана МФ имат значително по-високи нива на хепсидин в сравнение с тези с продължителна еволюция: между 1 и 5 години ($p=0.005$) и >5 години ($p=0.038$). Трансфузионно зависимите пациенти са с по-нисък хепсидин в сравнение с

независимите от трансфузии (10.10 ± 6.67 ng/ml vs 31.15 ± 44.37 ng/ml, $p=0.026$). При пациенти, получаващи циторедуктивно или таргетно лечение, нивото на хепсидин е значително по-ниско в сравнение с пациентите на най-добра поддържаща терапия (17.74 ± 21.99 ng/ml vs 43.05 ± 58.46 ng/ml, $p=0.037$). Не е открита разлика в нивото на хепсидин в рамките на рисковите групи според DIPSS, нито между подтиповете на заболяването (първична и вторична МФ). По-високият хепсидин корелира положително с левкоцитозата ($R=0.665$, $p=0.009$) и възрастта ($R=0.392$, $p=0.0081$). Чрез мултивариантен анализ е установена значима силно положителна корелация между хепсидин и IL-6 ($R=0.535$, $p=0.002$) и по-слаба между хепсидин и IL-8 ($R=0.413$, $p=0.21$). Демонстрирана е значителна позитивна корелация между IL-6 и IL-8 ($R=0.464$, $p=0.009$) и отрицателна между серумното желязо и IL-6 ($R=-0.367$, $p=0.42$) и IL-8 ($R=-0.438$, $p=0.14$). Регулацията на хепсидин е сложна и многофакторна. Неговата роля в патогенезата на анемията при миелофиброза е противоречива. Вероятно има по-голямо въздействие в ранните стадии на заболяването и зависи от лечението и приложените трансфузии.

Г8-06 Yotov Y, Angelov A, Pasheva M, **Geroва D**, Galunska B. Soluble ST2 and its relation to inflammatory, vascular atherosclerotic and calcification markers in patients with atrial fibrillation or heart failure or at moderate-to-high cardiovascular risk. *Eastern J Med Sci.* 2022;7:2 (Index Copernicus: 84.32)

Abstract

Background. Cardiovascular diseases (CVDs) are the major cause of death globally. Among them, heart failure (HF) and atrial fibrillation (AF) result in poor prognosis and quality of life. Standard methods for assessing AF and HF, through history and physical examination, have limited sensitivity and specificity, which lead to delayed diagnosis and high risk of mortality. The identification of biomarkers able to detect the early stages of disease and/or their progression is of great importance for improving the clinical outcome. As AF and HF often coexist, it would be of great importance to find a biomarker with diagnostic utility in predicting HF in AF patients. Soluble suppression of tumorigenesis-2 (sST2) is a part of the cardioprotective IL-33/ST2 signaling pathway and may serve as a candidate biomarker for HF and AF. We aimed to evaluate sST2 serum levels in patients with AF and HF with preserved ejection fraction (HFpEF) and to explore potential relationships with traditional CVD risk factors and with novel biomarkers for vascular calcification such as undercarboxylated matrix Gla-protein (ucMGP).

Materials and Methods. This study included 99 patients stratified into three groups: HFpEF ($n=19$), paroxysmal or persistent AF in sinus rhythm ($n=33$), and control group without CVD but at moderate-to-high CVD risk ($n=47$). Hemodynamic and anthropometric measures, coronary artery calcification (CAC), routine laboratory parameters, circulating ucMGP, and sST2 were measured.

Results. sST2 levels were highly elevated in HFpEF patients. Significant positive correlation was found between sST2 and CAC-score ($r=0.237$, $p=0.039$), negative relations with serum lipids in AF patients, and positive association with serum C-reactive protein ($r=0.609$, $p=0.018$) in HFpEF

patients. Soluble ST2 positively correlates with ucMGP in the entire studied population ($r=0.252$, $p=0.006$) and in the combined CVD group (AF+HFpEF) ($r=0.254$, $p=0.036$).

Conclusions. sST2 levels emerge as a novel biomarker in CVD and may have prognostic importance for HF prediction in AF patients.

Резюме

Сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) са основната причина за смъртност в световен мащаб. Сред тях сърдечната недостатъчност (СН) и предсърдното мъждене (ПМ) водят до лоша прогноза и качество на живот. Стандартните методи за оценка на ПМ и СН чрез анамнеза и физикален преглед имат ограничена чувствителност и специфичност, което води до забавена диагноза и висок риск от смъртност. Идентифицирането на биомаркери, способни да откриват ранните етапи на заболяването и/или неговата прогресия, е от голямо значение за подобряване на клиничните резултати. Тъй като ПМ и СН често съществуват едновременно, би било от голямо значение да се намери биомаркер с диагностична стойност за прогнозиране на СН при пациенти с АФ. Разтворимият фактор 2, потискащ туморогенезата (soluble suppression of tumorigenesis-2, sST2) е част от кардиопротективния сигнален път IL-33/ST2 и може да служи като кандидат-биомаркер за СН и АФ. Целта ни е да оценим серумните нива на sST2 при пациенти с АФ и СН със запазена фракция на изтласкване (HFpEF) и да проучим потенциалните връзки с традиционните рискови фактори за ССЗ и с нови биомаркери за съдова калцификация, като например субкарбоксилацията матричен Gla-протеин (ucMGP).

Материали и методи. В това проучване са включени 99 пациента, стратифицирани в три групи: HFpEF ($n=19$), пароксизмална или персистираща АФ в синусов ритъм ($n=33$) и контролна група без ССЗ, но с умерен до висок риск от ССЗ ($n=47$). Бяха измерени хемодинамични и антропометрични показатели, калцификация на коронарните артерии (CAC), рутинни лабораторни параметри, циркулиращо ucMGP и sST2.

Резултати. Нивата на sST2 са силно повишени при пациентите с високостепенна сърдечна недостатъчност. Установена е значителна положителна корелация между sST2 и CAC-скора ($r=0.237$, $p=0.039$), отрицателна връзка със серумните липиди при пациентите с АФ и положителна връзка със серумния C-реактивен протеин ($r=0.609$, $p=0.018$) при пациентите с HFpEF. Разтворимият ST2 положително корелира с ucMGP в цялата изследвана популация ($r=0.252$, $p=0.006$) и в комбинираната група със ССЗ (АФ+HFpEF) ($r=0.254$, $p=0.036$).

Заклучения: Нивата на sST2 се очертават като нов биомаркер при ССЗ и могат да имат прогностично значение за предсказване на СН при пациенти с АФ.

Г8-07 Yordanova M, Gerova D, Galunska-Kalcheva B. Comparative Analysis of Salivary Cellular Composition in Patients with Chronic Inflammatory Bowel Disease. Biomed J Sci & Tech Res. 45(3)-2022, ISBN: 2574-1241, DOI:10.26717/BJSTR.2022.45.007197 (IF: 1.229)

Abstract

Introduction. Chronic bowel disease (IBD) has a chronic recurrent course with frequent complications and requires multiple monitoring and control. IBDs not only affect the gut, but also have extra-intestinal involvement in the oral cavity. Saliva is increasingly being investigated because it is an easily accessible body fluid that reflects various physiological and pathological conditions in the human body. **Purpose:** Comparative study of salivary cell composition in patients with IBD and evaluate the effect of intestinal inflammatory activity on it.

Material and Methods. Subjects: 54 patients (40 UC and 14 CD) hospitalized with IBD and 80 healthy individuals (43 women and 37 men) as controls. **Material:** Unstimulated native saliva is collected in the morning by a passive droplet and sediment diluting with a suitable diluent. Routine laboratory indicators for the activity of the inflammatory process have also been investigated. An automatic enumeration and identification of salivary cells of a FUS-100 urinary sediment analyzer (DIRUI) is performed, followed by visual validation. **Statistics:** A non-parametric Man-Whitney test is used to estimate differences between groups.

Results and Discussion. Salivary erythrocytes, leukocytes, and epithelial cells are significantly higher in IBD patients than those in the control group, possibly due to chronic inflammatory disease. In contrast, the bacterial count in the patient's saliva is significantly smaller. A possible explanation for this discrepancy is that the treatment of patients with various bacteriostatic and bactericidal agents leads to oral dysbiosis. Patients' stratification by age, sex, disease duration, and type of medication did not reveal significant differences between the subgroups.

Conclusion. Saliva is a biological fluid that could be useful for novel approaches to laboratory or clinical diagnosis, and monitoring and management of patients with IBD.

Резюме

Въведение. Хроничното чревно заболяване (IBD) има хронично рецидивиращо протичане с чести усложнения и изисква многократно наблюдение и контрол. IBD засяга не само червата, но и често има извънчревни прояви, например в устната кухина. Слюнката се изследва все повече, тъй като тя е лесно достъпна телесна течност, която отразява различни физиологични и патологични състояния в човешкия организъм. **Цел:** Сравнително проучване на клетъчния състав на слюнката при пациенти с IBD и оценка влиянието на активността на чревното възпаление върху него (клетъчния състав).

Материал и методи. Субекти: 54 пациента (40 с улцерозен колит (UC) и 14 с болест на Крон (CD)), хоспитализирани за IBD, и 80 здрави лица (43 жени и 37 мъже) като контроли. **Материал.** Нестимулираната нативна слюнка се добива сутрин чрез пасивно събиране в подходящ контейнер и последващо разреждане на седимента със съответен разредител. Изследвани са и рутинни лабораторни показатели за активност на възпалителния процес. Извършено е автоматично изброяване и идентифициране на клетките на слюнката на анализатор за уринен седимент FUS-100 (DIRUI), последвано от визуална валидация. **Статистически данни.** За оценка на разликите между групите е използван непараметричен тест на Ман-Уитни.

Резултати и обсъждане. Еритроцитите, левкоцитите и епителните клетки в слюнката са значително повече при пациентите с IBD, отколкото при тези в контролната група, което вероятно се дължи на хронично възпалително заболяване. За разлика от тях броят на бактериите в слюнката на пациентите е значително по-малък. Възможно обяснение за това несъответствие е, че лечението на пациентите с различни бактериостатични и бактерицидни средства води до орална дисбиоза. Стратифицирането на пациентите по възраст, пол, продължителност на заболяването и вид на медикаментите не разкрива значителни разлики между подгрупите.

Заключение. Слюнката е биологична течност, която може да бъде полезна за нови подходи към лабораторната или клиничната диагностика, както и за наблюдение и лечение на пациенти с IBD.

Г8-08 Yordanova M, Shopov N, **Gerova D.** Influence of Hyperbaric Conditions on Serum Cortisol Levels and Alpha Amylase in Saliva. Nov Res Sci. 2022; 11(4).NRS.000767.2022., ISBN: 2688-836X, DOI: 10.31031/NRS.2022.11.000767

Abstract

Introduction: A high level of physiological stress characterizes diving. Serum cortisol and Salivary Alpha-Amylase (sAA) values are markers closely related to dynamics and adaptation under different stress conditions. The aim is to determine serum cortisol and salivary alpha-amylase levels as stress markers affected by diving and hyperbaric conditions.

Material and methods. Twenty-two military divers with an average age of 34.4 ± 4.1 years were studied, with more than five years of diving experience, conducting 42-meter dives into the hyperbaric chamber with a bottom time of 35 minutes. Serum levels of cortisol and sAA were determined twice (before the hyperbaric chamber and 15 minutes after decompression).

Results and discussion: Contrary to expectations, the mean values of cortisol before compression in the chamber were higher than after surfacing, and the difference was statistically significant ($11.82 \pm 4.42 \mu\text{g/dl}$, respectively $9.09 \pm 2.73 \mu\text{g/dl}$; $p=0.0377$). After decompression, the salivary values of sAA increased compared to the pre-chamber, but they were not statistically significant (77.01 ± 54.28 , respectively, $54.69 \pm 36.27 \text{ U/ml}$; $p=0.1817$).

We hypothesize that subjects have adapted in the stress response during dive into the chamber and that cortisol levels paradoxically do not increase after the descent. Increased sAA levels are most likely due to the effects of hyperbaric oxygenation and dehydration, decreased salivary secretion, and to a lesser extent, stress.

Conclusion: The conditions in the chamber are not adequate to the extreme stress conditions of the actual underwater descent, where the stress factor is hypothermia, fatigue, anxiety, poor visibility and more. A real-sea study will provide more accurate information on the occurrence of diving stress.

Резюме

Въведение. Високо ниво на физиологичен стрес е характерно за гмуркането. Стойностите на серумния кортизол и слюнчената алфа-амилаза (sAA) са маркери, тясно свързани с динамиката и адаптацията при различни стресови условия. Целта е да се определят нивата на серумния кортизол и слюнчената алфа-амилаза като маркери на стреса, повлияни от гмуркането и хипербарните условия.

Материал и методи. Изследвани са 22-ма военни водолази на средна възраст 34.4 ± 4.1 години, с повече от пет години опит във водолазните спортове, които провеждат 42-метрови гмуркания с хипербарна камера и с придънно време 35 минути. Серумните нива на кортизол и слюнчената алфа-амилаза (sAA) бяха определени два пъти (преди спускането с хипербарната камера и 15 мин. след декомпресията).

Резултати и обсъждане. Противно на очакванията, средните стойности на кортизола преди компресията в камерата са по-високи, отколкото след изплуването, като разликата е статистически значима ($11.82 \pm 4.42 \mu\text{g/dl}$, съответно $9.09 \pm 2.73 \mu\text{g/dl}$; $p=0.0377$). След декомпресията слюнчените стойности на sAA се повишиха в сравнение с тези преди камерата, но различията не бяха статистически значими (77.01 ± 54.28 , съответно $54.69 \pm 36.27 \text{ U/ml}$; $p=0.1817$).

Предполагаме, че изследваните лица са се адаптирали към стресовия отговор по време на гмуркането с камерата и че нивата на кортизол парадоксално не се увеличават след спускането. Повишените нива на sAA най-вероятно се дължат на ефектите на хипербарната оксигенация и дехидратацията, намалената слюнчена секреция и в по-малка степен на стреса.

Заклучение. Условията в камерата не са адекватни на екстремните стресови условия при реално подводно спускане, при което има множество стресови фактори като хипотермия, умора, тревожност, лоша видимост и др. Изследване на водолазите при реално спускане в морето, без камера, ще предостави по-точна информация за наличие на стрес при гмуркане.

Г8-09 Gerov V., **Gerova D.**, Micheva I., Galunska B. Bone biomarkers in multiple myeloma. Medinfo 2022, 04;80-86.

Abstract

Multiple myeloma (MM) is a malignancy characterized by clonal proliferation of neoplastic plasma cells in the bone marrow associated with bone destruction. One of the most characteristic features of MM is bone disease, with 80% of patients having proven osteolytic lesions at diagnosis and 60% undergoing bone fractures during the course of the disease. Increased osteoclast activity and suppressed osteoblast function due to dysregulation of a number of intracellular and intercellular signaling pathways play a key role in the pathogenesis of bone disease in MM. Signaling pathways such as RANK/RANKL/OPG, Notch, Wnt, RUNX2, EphrinB2/EphB4 and the TNF pathway, as well as signaling molecules such as DKK1, sclerostin, periostin, osteopontin, GFI1, BMP, TGF β , actin, A and annexin II, adiponectin, BTK, SDF1a, chemokines and

interleukins have been studied in recent years to elucidate the pathogenesis of MM bone disease. Signalling molecules such as RANK/RANKL, sclerostin, osteopontin, DKK1 and other cytokines involved in the regulation of osteoclasts, osteoblasts and osteocytes could serve as novel biomarkers for the diagnosis and monitoring of bone disease in MM patients. Effective treatment of MM patients and improvement of their quality of life will require a thorough understanding of the pathogenetic mechanisms of bone destruction, which is a prerequisite for the discovery of new diagnostic biomarkers and therapeutic targets.

Резюме

Мултиплиеният миелом (ММ) е злокачествено заболяване, характеризиращо се с клонална пролиферация на неопластични плазматични клетки в костния мозък със съпътстваща костна деструкция. Един от най-характерните белези на ММ е костната болест, като 80% от пациентите са с доказани остеолитични лезии още при поставяне на диагнозата, а 60% претърпяват костни фрактури в хода на заболяването. Ключова роля в патогенезата на костната болест при ММ има повишената остеокластна активност и потисната остеобластна функция, дължащи се на дисрегулация на редица интра- и интерцелуларни сигнални пътища. Сигнални пътища като RANK/RANKL/OPG, Notch, Wnt, RUNX2, EphrinB2/EphB4 и TNF пътя, както и сигналните молекули, DKK1, склеростин, периостин, остеопонтин, GFI1, BMPs, TGFβ, актин, А, annexin II, адипонектин, BTK, SDF1a, хемокини и интерлевкини, са обект на изследванията от последните години с цел изясняване патогенезата на костната болест при ММ. Такива сигнални молекули като RANK/RANKL, склеростин, остеопонтин, DKK1 и други цитокини, участващи в регулацията на остеокласти, остеобласти и остецити биха могли да послужат като нови биомаркери за диагностика и мониториране на костната болест при пациенти с ММ. Ефективното лечение на пациентите с ММ и подобряване на качеството им на живот е свързано с дълбокото познаване на патогенетичните механизми на костна деструкция, което е предпоставка за разкриване на нови диагностични биомаркери и таргети за лечение.

Г8-10 Todorova M, **Gerova D**, Galunska B. Effects of vitamin B12 deficiency or insufficiency on pregnancy. Medinfo, 2022;8:38-42.

Abstract

Modern diets are often restricted regarding animal products. This predisposes to a higher prevalence of vitamin B12 deficiency or insufficiency in the population. Vitamin B12 has received less attention, and supplementation during pregnancy and lactation is much less common than folic acid supplements, which are widely recommended and taken. Despite the growing literature data on the increasing prevalence of vitamin B12 deficiency or insufficiency, it remains underestimated, particularly in pregnant women and their newborn babies.

Резюме

В модерните хранителни режими продуктите от животински произход често са ограничени. Това предопределя по-широко разпространение на витамин B12 дефицит или

недостатъчност сред населението. На витамин B12 се отделя по-малко внимание и той се използва като суплемент по време на бременност и кърмене значително по-рядко, отколкото широко препоръчваните и приемани добавки на фолиева киселина. Въпреки натрупаните множество литературни данни за увеличаващата се честота на витамин B12 дефицит или недостатъчност, той остава недооценен, особено при бременни жени и техните новородени деца.

Г8-11 Todorova M, **Gerova D**, Galunska B. Vitamin D deficiency during pregnancy. Scripta Scientifica Medica. 2022; 54(1):19-28.

Abstract

Vitamin D plays a crucial role during pregnancy. Its active form calcitriol is of utmost importance for placental physiology, for the synthesis of estradiol, progesterone, human chorionic gonadotropin, embryogenesis, and normal progression of pregnancy. Taking in mind the beneficial role of calcitriol on pregnancy, it could be supposed that its inadequacy may lead to deleterious consequences for the mother and fetus. Several studies reveal a correlation between low vitamin D levels during pregnancy and the development of unfavorable consequences for the mother as well as for the fetus: risk of preterm birth, preeclampsia, gestational diabetes mellitus, low birth weight, and postpartum complications.

Evaluation of vitamin D status during pregnancy is of utmost importance to overcome the adverse outcomes for the mother and newborn. To achieve maximum protection from pregnancy complications, a serum levels of at least 40 ng/mL for the circulating 25-hydroxy vitamin D3 during the earliest time points of pregnancy are recommended.

Control of vitamin D status during pregnancy would present an opportunity for initiating timely and thorough supplementation with harmless and inexpensive vitamin D pharmaceuticals, which in turn would decrease the risk of adverse pregnancy outcomes.

Резюме

Витамин D играе ключова роля по време на бременността. Неговата активна форма калцитриол е от изключителна важност за физиологията на плацентата, за синтеза на естрадиол, прогестерон, човешки хорионгонадотропин, ембриогенезата и нормалното протичане на бременността. Като се има предвид благоприятната роля на калцитриола за бременността, може да се предположи, че неговата недостатъчност може да доведе до вредни последици за майката и плода. Някои проучвания разкриват връзка между ниските нива на витамин D по време на бременността и развитието на неблагоприятни последици както за майката, така и за плода като риск от преждевременно раждане, прееклампсия, гестационен захарен диабет, ниско тегло при раждане и следродилни усложнения.

Оценката на витамин D статуса по време на бременността е от изключителна важност за предотвратяване на неблагоприятните последици за майката и новороденото. За да се постигне максимална защита от усложнения по време на бременността, се препоръчва

серумните нива на циркулиращия 25-хидрокс витамин D да са поне 40 ng/ml още в най-ранните етапи на бременността.

Контролът на витамин D статуса по време на бременността би предоставил възможност за започване на навременно суплементиране с безвредни и евтини витамин D фармацевтични продукти, което от своя страна би намалило риска от неблагоприятни последици за бременността.

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г8. Доклади, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове

Г8-12 A. Georgieva, A. Atanassova, **D. Gerova**, M. Todorova. Association of vitamin D levels with disease activity in IBD patients. 1-st European Conference of Young Gastroenterologists. Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology. December 6-9, 2018, Croatia, Abstract book,77

Abstract

Inflammatory bowel diseases are chronic, relapsing, debilitating autoimmune diseases. Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D are more common in patients with IBD than in the general population [1] and is associated with disease activity [2]. The aim was to evaluate the correlation between serum 25(OH)D concentrations (measured by a commercial paramagnetic particle chemiluminescent immunoassay) and IBD activity in 40 ulcerative colitis (UC) and 54 Crohn's disease (CD) patients. Vitamin D levels were graded as: deficiency (≤ 50 nmol/L) and insufficiency ($50 \leq 75$ nmol/L). Patients are divided into those with active disease (72.34% (n=68)) and remission (27.65% (n=26)). Disease activity was evaluated by clinical symptom, biochemical inflammation parameters (CRP, fecal calprotectin (FCP) and validated indices for evaluating IBD activity (CDAI for CD, Montreal Classification for UC, and partial Mayo score).

Results: The median serum level of IBD patients in remission 25OHD was: CD (48.47 ± 17.09), UC (45.36 ± 17.08) ($p=0.807$), while in those with severe activity the median serum level of 25OHD was: CD (27.72 ± 11.69), UC (41.94 ± 13.69) ($p=0.129$). We did not find a significant difference between low 25OHD serum levels and endoscopic Mayo score in UC ($p=0.314$). In CD patients, disease activity, evaluated by CDAI, was inversely correlated with 25OHD levels (Pearson correlation $r=-0.355$, $p=0.008$). Of all patients in remission, 58.33% had vitamin D values ≤ 50 nmol/L, with median serum level of 25OHD: CD (48.47 ± 17.09), UC (45.36 ± 17.08) ($p=0.807$). There is a significant difference between elevated CRP values and low 25OHD levels: CD ($p=0.003$), UC ($p=0.033$).

Conclusion: This study suggested that there is an association between low vitamin D serum levels and disease activity in a relatively small number of IBD patients, followed over a short period of time.

Резюме

Възпалителните заболявания на червата са хронични, рецидивиращи, инвалидизиращи аутоимунни заболявания. Ниските серумни нива на 25-хидроксивитамин D са по-чести при пациенти с IBD, отколкото в общата популация [1] и се свързват с активността на заболяването [2]. Целта беше да се оцени корелацията между серумните концентрации на 25(OH)D (измерени чрез търговски хемилуминесцентен имуноанализ с парамагнитни частици) и активността на IBD при 40 пациента с улцерозен колит (UC) и 54 пациента с болест на Крон (CD). Витамин D статусът се класифицира като: дефицит (≤ 50 nmol/L) и недостатъчност ($50 \leq 75$ nmol/L). Пациентите са разделени на такива с активно заболяване (72.34% (n=68)) и в ремисия (27.65% (n=26)). Активността на заболяването беше оценена чрез клиничната симптоматика, биохимичните параметри на възпаление (CRP, фекален калпротектин (FCP)) и валидираните индекси за оценка на активността на IBD (CDAI за CD, Монреалска класификация за UC и частичен скор на Mayo).

Резултати: Средното серумно ниво на 25OHD при пациенти с IBD в ремисия е: CD (48.47 ± 17.09), UC (45.36 ± 17.08) ($p=0.807$), докато при тези с тежка активност средното серумно ниво на 25OHD е: CD (27.72 ± 11.69), UC (41.94 ± 13.69) ($p=0.129$). Не открихме значима разлика между ниските серумни нива на 25OHD и ендоскопския Mayo скор при UC ($p=0.314$). При пациенти с CD, активността на заболяването, оценена чрез CDAI, е обратно пропорционална на нивата на 25OHD (Pearson correlation: $r=-0.355$, $p=0.008$). От всички пациенти в ремисия 58.33% са имали стойности на витамин D ≤ 50 nmol/L, със средно серумно ниво 25OHD: CD (48.47 ± 17.09), UC (45.36 ± 17.08) ($p=0.807$). Има значителна разлика между повишените стойности на CRP и ниските нива на 25OHD: CD ($p=0.003$), UC ($p=0.033$).

Заключение: Това проучване води до предположението, че съществува връзка между ниските серумни нива на витамин D и активността на заболяването при сравнително малък брой пациенти с IBD, проследени за кратък период от време.

Г8-13 A. Georgieva, A. Atanassova, **D. Gerova**, M. Todorova. Vitamin D levels in IBD patients in different treatment regimens. 1-st European Conference of Young Gastroenterologists. Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology. December 6-9, 2018, Croatia, Abstract book, 182

Abstract

Individuals with inflammatory bowel disease (IBD) and are at risk for a variety of nutritional deficiencies because of decreased nutrient intake or absorption and/or increased losses [1]. The aim of this study is to monitor vitamin D levels in patients with Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) in various therapeutic regimens. Serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) levels were

measured in 94 consecutive patients with a confirmed IBD diagnosis (54 with CD and 40 with UC) by a commercial paramagnetic particle chemiluminescent immunoassay. Serum 25OHD levels ≤ 50 nmol/L were considered as vitamin D deficiency and $50 \leq 25\text{OHD} < 75$ nmol/L as vitamin D insufficiency.

Results. Almost 95% of IBD patients have vitamin D insufficiency (29.8%, n=28) or deficiency (64.9%, n=61). In IBD patients who are being treated with 5ASA, there is a correlation between being in remission and vitamin D deficiency (Spearman rank correlation $\rho=0.405$, $p<0.05$), as well as in these with moderate activity of the disease and vitamin D deficiency (Spearman rank correlation $\rho=0.429$, $P<0.05$). Serum 25OHD levels in both CD and UC is unrelated to the use of immunosuppressive therapy (AZA/CSs). In UC patients who undergo biological treatment, there is a correlation between vitamin D deficiency and severe disease activity (Spearman rank correlation $\rho=0.463$, $P<0.05$), whereas in patients with CD there is no correlation.

Conclusions: Low 25OHD levels are not related to the immunosuppressive treatment performed among IBD patients. Regardless of the type of treatment, the latest ECCO guidelines require a systematic monitoring of 25-hydroxyvitamin D levels.

Резюме

Индивиди с възпалителни заболявания на червата (IBD) са изложени на риск от различни хранителни дефицити поради намален прием или усвояване на хранителни вещества и/или увеличени загуби [1]. Целта на това проучване е да се изследват нивата на 25OHD при пациенти с болест на Crohn (CD) и улцерозен колит (UC), подложени на различни терапевтични схеми. Серумните нива на 25-хидроксивитамин D (25OHD) бяха определени при 94 последователни пациента с потвърдена диагноза IBD (54 с CD и 40 с UC) чрез търговски хемилуминесцентен имуноанализ с парамагнитни частици. Серумни нива на $25\text{OHD} \leq 50$ nmol/L се считат за витамин D дефицит, а $50 \leq 25\text{OHD} < 75$ nmol/L като витамин D недостатъчност.

Резултати. Почти 95% от пациентите с IBD имат витамин D недостатъчност (29.8%, n=28) или дефицит (64.9%, n=61). При пациенти с IBD, които се лекуват с 5-ASA, има корелация между състояние на ремисия и витамин D дефицит (рангова корелация на Spearman $\rho=0.405$, $P<0.05$), както и при тези с умерена активност на заболяването и витамин D дефицит (рангова корелация на Spearman $\rho=0.429$, $P<0.05$). Нивата на витамин D както при CD, така и при UC не са свързани с употребата на имуносупресивна терапия (AZA/CSs). При пациенти с UC, които са подложени на биологично лечение, има корелация между витамин D дефицита и тежката активност на заболяването (рангова корелация на Spearman $\rho=0.463$, $P<0.05$), докато при пациенти с CD не се откри такава.

Закljučения: Ниските нива на 25OHD не са свързани с имуносупресивното лечение, проведено при пациенти с IBD. Независимо от вида на лечението, най-новите насоки на ECCO изискват системно проследяване на нивата на 25-хидроксивитамин D.

Критерий Г

ПОКАЗАТЕЛ Г9. Публикувана колективна монография

Г9-01 Назифова-Тасинова Н, Николова М, Ванкова Д, Пашева М, Ангелов А, Йотов Й, Герова Д, Иванова Д, Киселова Й, Галунска Б. Екстрахепатални Gla-протеини – потенциални биомаркери за съдова калцификация. **2021 ISBN:978-619-221-366-4.**

Представената колективна монография (с авторски колектив: Назифова-Тасинова Н, Николова М, Ванкова Д, Пашева М, Ангелов А, Йотов Й, Герова Д, Иванова Д, Киселова Й, Галунска Б и под редакцията на проф. Бистра Галунска, д.ф. и доц. д-р Даниела Герова, д.м.), е реализирана във връзка с осъществяване на дейностите по **научен проект №17002**, финансиран от **Фонд “Наука” при МУ – Варна**, (договор № ФН-3/12.10.18 г.) и озаглавен „Витамин К зависими Gla-протеини – нови биомаркери за сърдечносъдова калцификация“.

Abstract

Cardiovascular diseases account for more than half of all deaths in Europe and they are among the leading causes of disability and impaired quality of life. It is estimated that about 1/3 of the population of Bulgaria suffers from cardiovascular disease (CVD) and if the mortality rate in Europe is 47%, in Bulgaria it is over 60%. CVD may be prevented. In addition to traditional preventive measures, such as control of blood pressure and cholesterol levels, a healthy lifestyle (refrain from smoking, healthy diet, and physical activity) is associated to a lower CVD risk. In recent years special attention is being paid on the establishment of molecular biomarkers for early detection of CVD, their monitoring, and monitoring for complications. Coronary arterial calcification is one of the early manifestations in the pathogenesis of atherosclerosis and it is an independent risk factor for CVD complications. Vascular calcification is not considered to be a passive process, it is rather an actively regulated multifactorial process that results from an imbalance between the factors that stimulate calcium deposition in the vessel wall and those that suppress it. It has been established recently that active inhibition by (inhibitory) molecules with a role for the prevention of pathological calcification is one of the mechanisms for the regulation of vascular calcification. Among these are proteins rich in gamma-glutamyl residues (Gla-proteins), which mechanism of action and role in the regulation of calcium deposition in the vessel wall are intensively studied in recent years.

The discovery of vitamin K-dependent matrix Gla-protein (MGP) as an inhibitor of vascular calcification has completely changed the mechanistic understanding of this process and raised new possibilities in the discovery of biomarkers for CVD diagnosis and treatment. The first data in support of the inhibitory role of MGP in soft tissues calcium deposition were obtained from MGP-knockout mice, which developed massive vascular calcification in the first weeks after birth and subsequently died by the second month. It has been found that MGP exist in four different conformations resulting from two post-translational modifications: serine phosphorylation and gamma-glutamate carboxylation, which requires vitamin K as a cofactor. The protein becomes fully functional only after a double phosphorylation and a gamma-carboxylation (cMGP), while

the dephosphorylated and decarboxylated form (dp-ucMGP) is completely inactive. The protective role of the MGP active in the pathogenesis of the atherosclerotic process is explained by two major mechanisms: (1) the MGP adsorbed on the extracellular hydroxyapatite inhibits calcium deposition, and (2) MGP inhibits the apoptosis of smooth muscle cells upon binding to bone morphogenic protein 2. In animal models, a direct relationship between cMGP and ucMGP levels and vascular mineralization has been demonstrated. This raises the question about the role of these two forms of MGP as potential biomarkers for vascular calcification in humans.

Another relatively well-known vitamin K-dependent Gla-protein is osteocalcin (OC). OC is a non-collagenous peptide produced by osteoblasts and existing in two functional forms: carboxylated (cOC) and subcarboxylated (ucOC). Carboxylated osteocalcin binds calcium and is involved in bone mineralization. Recent studies show that ucOC has regulatory functions with regard to energy and glucose homeostasis. Studies on carotid intima-media thickness and ankle-arm index provide evidences in support to existing correlative relationship between bone proteins, including OC, and atherosclerotic vascular changes, suggesting a potential role of OC in the pathogenesis of vascular disease.

The newest member of the family of vitamin K-dependent Gla-proteins is the protein rich in gamma-glutamate residues (GRP). The role and mechanism of action of GRP are not yet fully understood, but it is thought that due to the large number of glutamate residues and its high calcium-binding capacity, it acts as a global calcium modulator and is responsible for another, additional to the MGP provided mechanism for inhibiting vascular mineralization. In vitro experiments demonstrate that GRP accumulates at sites of pathological calcification and plays the role of a negative regulator of osteogenic differentiation and an inhibitor of calcification in the cardiovascular and arterial systems. GRP also exists in two functional forms: carboxylated (cGRP) and subcarboxylated (ucGRP). Like MGP and OC, the functionally inactive subcarboxylated form, ucGRP, is increased in diseases associated with pathological calcification such as aortic valve stenosis, osteoarthritis, neoplasia, while the functionally active carboxylated form is an effective inhibitor of the calcification in the arterial and cardiovascular arterial systems.

It is a well-known fact that inflammation is one of the promoters of atherosclerotic changes in the vascular wall and subsequent vascular calcification. Data indicate that GRP is expressed in human leukocytes. So far, its anti-inflammatory effect on monocytes and macrophages had been studied. It is possible that Gla-proteins act as molecular mediators between the processes of inflammation and calcification, playing an important role in the development and the progression of complications such as ectopic calcification observed in many chronic inflammatory diseases, including CVD.

A special feature of these proteins is that their functionally active form is vitamin K dependent. This is essential not only because of the widespread use of indirect anticoagulants such as vitamin K antagonists, but also because of the possibility to have increased circulating levels of active functional forms of Gla-proteins as a result of changes in the diet (e.g. intake of rich in vitamin K foods), supplementation with vitamin K. Moreover, when treatment with anticoagulants is needed, it should be carried out with direct anticoagulants that do not affect the function of vitamin K-dependent gamma-carboxylases.

Резюме

Сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) са причина за повече от половината от всички смъртни случаи в Европа и са сред основните причини за инвалидност и влошено качество на живот. Смята се, че около 1/3 от населението на България страда от ССЗ и ако смъртността в Европа е 47%, то в България тя е над 60%. ССЗ могат да бъдат предотвратени. В допълнение към традиционните превантивни мерки (контрол на кръвното налягане и понижаване нивата на холестерола), здравословният начин на живот (въздържане от тютюнопушене, здравословно хранене и физическа активност) се свързва с по-нисък риск от ССЗ. През последните години се обръща специално внимание на установяването на молекулни биомаркери за ранно откриване на ССЗ, тяхното проследяване и наблюдение за усложнения. Калцификацията на коронарните артерии е една от ранните прояви в патогенезата на атеросклерозата и е независим рисков фактор за усложнения на ССЗ. Съдовата калцификация не се счита за пасивен процес, а по-скоро за активно регулиран многофакторен процес, който е резултат от дисбаланс между факторите, които стимулират отлагането на калций в съдовата стена, и тези, които го потискат. Наскоро беше установено, че активното инхибиране на патологичната калцификация от специфични инхибиторни молекули е един от механизмите за регулиране на съдовата калцификация. Сред тях са белтъците, богати на гама-глутамилови остатъци (Gla-протеини), чийто механизъм на действие и роля в регулирането на отлагането на калций в стената на съдовете се изучават интензивно през последните години.

Откриването на витамин К-зависимия матриксен Gla-протеин (MGP) като инхибитор на съдовата калцификация промени изцяло механичното разбиране на този процес и разкри нови възможности за откриване на биомаркери за диагностика и лечение на ССЗ. Първите данни в подкрепа на инхибиращата роля на MGP за отлагането на калций в меките тъкани бяха получени от нокаут мишки, които са развили масивна съдова калцификация през първите седмици след раждането си и впоследствие умират още на втория месец. Установено е, че MGP съществува в четири различни конформации в резултат на две посттранслационни модификации: сериново фосфорилиране и гама-глутаматно карбоксилиране, което изисква витамин К като кофактор. Протеинът става напълно функционален само след двойно фосфорилиране и гама-карбоксилиране (сMGP), докато дефосфорилираната и декарбоксилирана форма (dp-ucMGP) е напълно неактивна. Защитната роля на активния MGP в патогенезата на атеросклеротичния процес се обяснява с два основни механизма: (1) адсорбираният върху извънклетъчния хидроксиапатит MGP инхибира отлагането на калций и (2) MGP инхибира апоптозата на гладкомускулните клетки при свързване с костния морфогенен протеин 2. В животински модели е доказана пряка връзка между нивата на сMGP и ucMGP и съдовата минерализация. Това повдига въпроса за ролята на тези две форми на MGP като потенциални биомаркери за съдовата калцификация при хората.

Друг сравнително добре познат витамин К-зависим Gla-протеин е остеокалцинът (OC). OC е неколагенов тип протеин, произвеждан от остеобластите и съществуващ в две функционални форми: карбоксилиран (сOC) и субкарбоксилиран (ucOC).

Карбоксилираният остеокалцин свързва калция и участва в минерализацията на костите. Последните проучвания показват, че ucOC има регулаторни функции по отношение на енергийната и глюкозната хомеостаза. Проучванията върху дебелината на каротидната интима-медия и индекса глезен-ръка предоставят доказателства в подкрепа на съществуващата корелативна връзка между костните протеини, включително OC, и атеросклеротичните съдови промени, което предполага потенциална роля на OC в патогенезата на съдовите заболявания.

Най-новият член на семейството на витамин К-зависимите Gla-протеини е протеинът, богат на гама-глутаматни остатъци (GRP). Ролята и механизмът на действие на GRP все още не са напълно изяснени, но се предполага, че поради големия брой глутаматни остатъци и високия му капацитет за свързване на калций, той действа като глобален калциев модулатор и е отговорен за още един, допълнителен към предоставения от MGP механизъм за инхибиране на съдовата минерализация. Експериментите *in vitro* показват, че GRP се натрупва в местата на патологична калцификация и играе ролята на отрицателен регулатор на остеогенната диференциация и инхибитор на калцификацията в сърдечносъдовата и артериалната система. GRP съществува в две функционални форми: карбоксилирана (сGRP) и субкарбоксилирана (ucGRP). Подобно на MGP и OC, функционално неактивната субкарбоксилирана форма, ucGRP, се увеличава при заболявания, свързани с патологична калцификация, като стеноза на аортната клапа, остеоартрит, неоплазия, докато функционално активната карбоксилирана форма е ефективен инхибитор на калцификацията в артериалната и сърдечносъдовата система.

Добре известен е фактът, че възпалението е един от факторите за атеросклеротичните промени в съдовата стена и последващото калциране на съдовете. Данните показват, че GRP се експресира в човешките левкоцити. Досега е изследван неговият противовъзпалителен ефект върху моноцити и макрофаги. Възможно е Gla-протеините да действат като молекулярни медиатори между процесите на възпаление и калцификация, като играят важна роля в развитието и прогресията на усложнения като ектопична калцификация, наблюдавана при много хронични възпалителни заболявания, включително ССЗ.

Особеност на тези протеини е, че функционално активната им форма е зависима от витамин К. Това е от съществено значение не само поради широкото използване на индиректни антикоагуланти (витамин К антагонистите), но и поради възможността да има повишени циркулиращи нива на активните функционални форми на Gla-протеините в резултат на промяна в хранителния режим (напр. прием на богати на витамин К храни) и/или суплементиране с витамин К препарати. Освен това, когато се налага лечение с антикоагуланти, препоръчително е то да се провежда с директни антикоагуланти, които не влияят на функцията на витамин К-зависимите гама-карбоксилази.

II. Пълнотекстови публикации в научни списания и сборници, извън участващите в доказателствения материал за покриване на минималните изисквания за заемане на АД „професор“

ИМИ-01 V Ilieva, E Manova, M Metodieva, Y Mihailova, **D Gerova**. Basic methods for investigating and proving sickle-cell anemia. Varna Medical Forum, 2017 (6), S2:291-297

Abstract

Introduction. The sickle-cell anaemia (SCA) is a genetically determined disease, that is a major public health issue amongst not only the countries where it is traditionally quite common (Africa, Asia, America and the Mediterranean), but also the majority of European countries, where a significant increase of the frequency of the disease is observed. **Aim:** To present methods used for screening and diagnose of SCA.

Discussion. The methods used for screening and diagnose of SCA can be classified into two main categories – routine ones and highly specialised laboratory methods. The routine tests include complete blood count, biochemical parameters to prove in vivo haemolysis, urine tests and the screening tests for presence of HbS e.g. sickling tests and solubility tests. In order to confirm the diagnosis of SCA the usage of protein separation techniques such as electrophoresis and high-performance liquid chromatography (HPLC) for detection of abnormal hemoglobin variants is of high importance. Concerning prenatal diagnostics DNA analysis is also used for detection of point mutation in the fetus beta gene of globin molecule.

Conclusion. In order to ensure with maximum of effectiveness the diagnostic process of this common hereditary disease, a good knowledge of all available screening and diagnostic methods is needed.

Резюме

Въведение. Сърповидно-клетъчната анемия (СКА) е генетично детерминирано заболяване, представляващо сериозен обществен здравен проблем не само за страните с традиционно висока честота (Африка, Азия, Америка, Средиземноморие), но и за множество от европейските страни, където се наблюдава непрекъснато нарастване на честотата му. Целта на обзора е да представим методи, използвани за скриниране и диагностика на СКА.

Дискусия. Методите, използвани при скриниране и диагностициране на СКА, са два основни типа: рутинни и високо специализирани лабораторни методи. Рутинните тестове включват ПКК, биохимични показатели за доказване хемолиза in vivo, изследване на урина, както и скриниращите тестове за доказване наличието на HbS – тестове за разтворимост, тестове, предизвикващи промяна във формата на еритроцитите и др. От изключително значение за потвърждаване на диагноза е използването на високо специализирани техники за разделяне на белтъци като електрофореза и високоефективна течна хроматография (HPLC), определящи абнормните хемоглобинови варианти. За нуждите на пренаталната

диагностика се използва и ДНК анализ за доказване на точкова мутация в гена за бета веригата на глобиновата молекула.

Заклучение. Необходимо е да се познават различните видове методи за скриниране и диагностика на СКА, за да е максимално ефективен и бърз диагностичният процес при това разпространено и не рядко тежко протичащо наследствено заболяване.

ИМИ-02 B Galunska, B Roussev, **D Gerova**, P Kossev. Vitamin D: a potential biomarker for more aggressive prostate cancer. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine* 2018 (2):23-24

Abstract

One of the many functions of vitamin D is associated with its antiproliferative and proapoptotic effects on prostate cancer cells. One of the debatable questions nowadays is whether vitamin D deficiency can lead to an increased risk of prostate cancer. Recent studies have shown that low serum vitamin D levels may be associated with worse prognosis in cancer patients. It could be assumed that vitamin D may serve as an important biomarker of prostate cancer aggressiveness. However, levels of vitamin D are not routinely measured in daily clinical practice. In Bulgaria more complex and multi-faceted studies on vitamin D status and its relationships with clinical determinants in prostate cancer have not been conducted. The aim of the present study was to perform a comparative analysis of vitamin D status in prostate cancer patients with different aggressiveness and to assess the relationship with clinical and biochemical parameters characterizing the disease.

Materials and Methods. This prospective study included 88 men with histologically proven prostate cancer (52 - 85 years) attending the Urology Clinic at University Hospital - Varna in the period January-December 2015. The tumor aggressiveness, tumor invasion and metastatic potential, and risk for biochemical recurrence were evaluated according the European Association of Urology (EAU) guideline, 2016. PSA was determined immunochemically, serum 25-hydroxy vitamin D (25OHD) levels were assayed by HPLC-MS/MS, bioavailable 25OHD was calculated according Kim et al, 2017. Vitamin D Binding Protein (VDBP) and albumin were analyzed using commercial kits. One-way ANOVA, correlation and multifactorial regression analysis were used for data analysis. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$.

Results. Worsened vitamin D status demonstrated by significantly lower levels of total 25OHD and bioavailable 25OHD was established for prostate cancer patients, compared to the control noncancerous patients ($p < 0.001$ for 25OHD, $p < 0.05$). A decreased total and bioavailable 25OHD with the risk of bone metastases ($\text{PSA} > 20 \text{ ng/ml}$) was indicated. The risk of biochemical recurrence negatively correlates with the serum total (Spearman $r = - 21$, $p = 0.05$) and bioavailable 25OHD (Spearman $r = - 34$, $p = 0.01$). Serum 25OHD was lower in patients with more aggressive prostate cancer and reversibly correlated with the Gleason score (Spearman $r = - 0.26$, $p < 0.05$). Multiple regression analysis showed negative influence of serum 25OHD on tumor aggressiveness ($\beta = - 0.24$, $p < 0.05$). ROC-curve analysis revealed better diagnostic efficiency for 25OHD ($\text{AUC} = 0.69$, $p < 0.001$) compared to the widely accepted as a biomarker total testosterone ($\text{AUC} = 0.65$, $p < 0.01$).

Conclusion. Further research is needed to validate and introduce serum 25OHD levels to other biomarkers already established and used in clinical practice, and to modify the treatment algorithm for patients with prostate disease by vitamin D supplementation.

Резюме

Една от многото функции на витамин D е свързана с антипролиферативното и проапоптотичното му действие върху неопластичните клетки на простатния карцином. Един от спорните въпроси в днешно време е дали витамин D дефицитът води до повишен риск от поява и развитие на карцином на простатата. Последните проучвания показват, че ниските серумни нива на витамин D могат да бъдат свързани с по-лоша прогноза при карциномно болните. Може да се предположи, че витамин D може да послужи като важен биомаркер за агресивността на простатния карцином. Въпреки това нивата на витамин D не се измерват рутинно в ежедневната клинична практика. В България не са провеждани по-комплексни и многостранни проучвания върху витамин D статуса и връзките му с клиничните детерминанти при рак на простатата. Целта на настоящото проучване е да се направи сравнителен анализ на витамин D статуса при пациенти с рак на простатата с различна агресивност и да се оцени връзката му с клиничните и биохимичните параметри, характеризиращи заболяването.

Материали и методи. Това проспективно проучване включва 88 мъже с хистологично доказан рак на простатата (52-85 години), посетили Клиниката по урология в УМБАЛ-Варна в периода януари-декември 2015 г. Туморната агресивност, туморната инвазия и метастатичният потенциал, както и рискът за биохимичен рецидив бяха оценени в съответствие с ръководството на Европейската асоциация по урология (EAU), 2016 г. PSA беше определен имунохимично, серумните нива на 25-хидрокси витамин D (25OHD) бяха изследвани чрез HPLC-MS/MS, биодостъпният 25OHD беше изчислен според Kim et al, 2017. Витамин D свързващият протеин (VDBP) и албуминът бяха анализирани с помощта на търговски китове. За анализ на данните бяха използвани one-way ANOVA, корелационен и многофакторен регресионен анализ. Статистическата значимост беше приета при $p < 0.05$.

Резултати. При пациентите с рак на простатата е установен влошен витамин D статус, демонстриран от значително по-ниски нива на общия 25OHD и на бионаличния 25OHD в сравнение с контролните пациенти без рак (съответно $p < 0.001$ и $p < 0.05$). Установено е намаление както на общия, така и на бионаличния 25OHD при пациенти с $PSA > 20 \text{ ng/ml}$. Рискът от биохимичен рецидив корелира отрицателно със серумните общ 25OHD (Spearman $r = -0.21$, $p = 0.05$) и биодостъпен 25OHD (Spearman $r = -0.34$, $p = 0.01$). Серумният 25OHD е по-нисък при пациенти с по-агресивен рак на простатата и обратно корелира с оценката по Gleason (Spearman $r = -0.26$, $p < 0.05$). Множественият регресионен анализ показва отрицателно влияние на серумния 25OHD върху агресивността на тумора ($\beta = -0.24$, $p < 0.05$). Анализът на ROC-кривата показва по-добра диагностична ефективност за 25OHD ($AUC = 0.69$, $p < 0.001$) в сравнение с широко приетия като биомаркер общ тестостерон ($AUC = 0.65$, $p < 0.01$).

Заклучение. Допълнителни изследвания за валидиране и въвеждане на серумните нива на 25OHD към други вече утвърдени и използвани в клиничната практика биомаркери са

необходими, както и промяна на алгоритъма на лечение на пациентите със заболявания на простатата чрез суплементиране с витамин D.

ИМИ-03 D. Cherneva, **D. Gerova**. Tyrosine Kinase Inhibitors in Modern Oncology Therapy. Scripta Scientifica Medica, 2024;56(3):7-17

Abstract

The widespread prevalence and increasing incidence of cancer imposed the introduction of new therapeutic approaches and medications. The elucidation of the key role of receptor tyrosine kinases (RTKs) in intercellular signaling and their involvement in fundamental processes, replication, growth, differentiation, and apoptosis, has provided substantial evidence linking their altered functionality to tumorigenesis. This review aims to briefly discuss the role of RTKs in tumorigenesis and characterize tyrosine kinase inhibitors (TKIs), focusing on their mechanisms of action, pharmacodynamics, and pharmacokinetics as essential drugs in modern targeted cancer therapy.

Two primary mechanisms inhibit mutated or overexpressed RTKs. The first involves monoclonal antibodies targeting the extracellular domains of RTKs or their ligands, inhibiting RTK dimerization and activation, thus forming the group of extracellular TKIs. The second mechanism involves small-molecule TKIs targeting the intracellular tyrosine kinase domain of the receptors or other intracellular tyrosine kinases mediating their signaling pathways. Numerous mono- and multi-targeted TKIs have been developed, addressing one or more signaling pathways. Identifying specific mutations in individual patients and applying specific TKIs have introduced the principles of personalized cancer therapy. Most TKIs are well-tolerated and significantly improve patient survival. The selectivity of TKIs toward their targets determines their efficacy and safety profile.

Despite their advantages, TKI therapy is associated with significant toxic effects and high variability due to their pharmacokinetic features. Literature discusses the potential of therapeutic drug monitoring to optimize dosing, thereby enhancing efficacy and minimizing adverse side effects.

In summary, TKIs are pivotal medications in modern oncology that have revolutionized the treatment paradigm for numerous cancers.

Резюме

Широкото разпространение и нарастващата честота на раковите заболявания налагат въвеждането на нови терапевтични подходи и медикаменти. Изясняването на ключовата роля на рецепторните тирозин кинази (RTKs) в междуклетъчната сигнализация и участието им в основни процеси като репликация, растеж, диференциация и апоптоза предостави съществени доказателства, свързващи променената им функционалност с туморогенезата. Целта на този обзор е да се обсъди накратко ролята на RTKs в туморогенезата и да се характеризират тирозин киназните инхибитори (TKIs), като се акцентира върху техните

механизми на действие, фармакодинамика и фармакокинетика като основни лекарства в съвременната таргетна терапия на рака.

Мутиралите или свръхекспресирани RTKs се инхибират чрез два основни механизма. Първият включва моноклонални антитела, насочени към извънклетъчните домени на RTKs или техните лиганди, които инхибират димеризацията и активирането на RTK. Тези моноклонални антитела формират групата на извънклетъчните TKIs. Вторият механизъм включва ниско-молекулни TKIs, насочени към вътреклетъчния тирозин киназен домен на рецепторите или към други вътреклетъчни тирозин кинази, които медиат сигналните пътища на RTKs. Разработени са многобройни моно- и мултитаргетни TKIs, насочени към един или повече сигнални пътища. Идентифицирането на специфичните мутации при отделните пациенти и възможността да се прилагат специфични TKIs предопределят въвеждането на принципите на т.нар. персонализирана терапия на неопластичните заболявания. Повечето TKIs се понасят добре и значително подобряват преживяемостта на пациентите. Селективността на TKIs спрямо техните таргети определя тяхната ефикасност и профил на безопасност.

Въпреки предимствата им, терапията с TKIs е свързана със значителни токсични ефекти и голяма вариабилност поради фармакокинетичните им характеристики. В литературата се обсъжда потенциалът на терапевтичния лекарствен мониторинг за оптимизиране на дозировката, като по този начин се повишава ефикасността и се свеждат до минимум нежеланите странични ефекти.

В заключение, TKIs са ключови медикаменти в съвременната онкология, които революционизираха парадигмата за лечение на различни видове неопластични заболявания.

III. Приложение 1. Списък на публикациите и докладите със съответното точкуване по показателите.

В4. Хабилитационен труд = научни публикации (не по-малко от 10) в издания, които са реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация	1.	M. Zhelyazkova-Savova, S. Gancheva, B. Galunska, D. Gerova . Vitamin K: the new faces of an old friend – a role in bone and vascular health. <i>Biomedical Reviews</i> . 2017 (28): 74-94.	Web of Science	15
	2.	Yordanova M, Gerova D , Atanasova A, Galunska B. Adenosine Deaminase as a Useful Biomarker for Diagnosis and Monitoring of Inflammatory Bowel Disease. <i>Clin Lab</i> . 2020 Jul 1;66(7). doi: 10.7754/Clin.Lab.2019.191124. PMID: 32658411. (IF: 1.138)	WoS/Scopus	15
	3.	Nikolova M, Nazifova-Tasinova N, Vankova D, Gerova D , Yotov Y, Atanasov A, Pasheva M, Kiselova-Kaneva Y, Galunska B. Vitamin D Status in Patients with Atrial Fibrillation and Heart Failure - Is there a Link? <i>Clin Lab</i> . 2021 Jun 1;67(6). doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200902. PMID: 34107623. (IF: 1.053)	WoS/Scopus	6.67
	4.	Nazifova-Tasinova NF, Atanasov AA, Pasheva MG, Yotov YT, Gerova DI , Vankova DG, Todorova MN, Ivanova DG, Kiselova-Kaneva YD, Galunska BT. Circulating uncarboxylated matrix Gla protein in patients with atrial fibrillation or heart failure with preserved ejection fraction. <i>Arch Physiol Biochem</i> . 2022 Dec;128(6):1619-1629. doi: 10.1080/13813455.2020.1786130. Epub 2020 Jul 3. PMID: 32620059. (IF 4.076)	WoS/Scopus	6.0
	5.	Bekyarova G, Kiselova-Kaneva Y, Madjova V, Gerova D , Bekyarov N, Todorova M, Stoeva S. The predictable role of ADMA and oxidative stress in endothelial dysfunction – a pilot study. <i>J IMAB</i> . 2022; 28:38–41	Web of Science	8.57
	6.	Gerov V, Gerova D , Micheva I, Nikolova M, Pasheva M, Nazifova N, Galunska B. Circulating sRANKL, Periostin, and Osteopontin as Biomarkers for the Assessment of Activated Osteoclastogenesis in Myeloma Related Bone Disease. <i>Cancers (Basel)</i> . 2023 Nov 24;15(23):5562. doi: 10.3390/cancers15235562. PMID: 38067265; PMCID: PMC10705189. (IF 4.5)	WoS/Scopus	8.57

	7.	Gerov V, Gerova D , Micheva I, Nikolova M, Mihaylova G, Galunska B. Dynamics of Bone Disease Biomarkers Dickkopf-1 and Sclerostin in Patients with Multiple Myeloma. J Clin Med. 2023; 12(13):4440. https://doi.org/10.3390/jcm12134440 (IF: 3.0)	WoS/Scopus	10
	8.	Bekyarova GY, Vankova DG, Madjova VH, Bekyarov NA, Salim AS, Ivanova DG, Stoeva SM, Gerova DI , Kiselova-Kaneva YD. Association between Nfr2, HO-1, NF-kB Expression, Plasma ADMA, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. Int J Mol Sci. 2023 Dec 2;24(23):17067. doi: 10.3390/ijms242317067. (IF: 4.9)	WoS/Scopus	6.67
	9.	Gerova DI , Todorova MT, Nikolova MN, Vankova DV, Galunska BT. Serum methylmalonic acid as a valuable biomarker for assessment of vitamin B12 status in pregnancy. Turk J Biochem, 2024; 49 (S1), 252-263 (IF 0.6)	WoS/Scopus	12
	10.	Gerova D . Vitamin D – a potential modifiable factor in neurodegenerative diseases. General Medicine. 2025;27(1):36-42	Scopus	60
			Общо	148.48
Г7. Публикации и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация	1.	Георгиева М, К Колева, Н Рашева, И Красналиев, А Атанасова, Д Герова , Р Панчева-Димитрова, М Москова. Неалкохолна мастна чернодробна болест у деца и юноши. Педиатрия, 2017 (1): 13-17	Scopus	7.5
	2.	М. Йорданова, Д. Герова , М. Бончева. Слюнката – познат и непознат диагностичен биофлуид. <i>Медицински преглед</i> , 2018, 54(3), 36-43	Web of Science	20
	3.	Hristova Sv, Dimitrov Sv, Ruseva J, Gerova D , Stefanov Y, Madjova V, Kadinov V. Radiological progression in patients with rheumatoid arthritis. General Medicine. 2018;20(4):48–51	Scopus	8.57
	4.	Hristova Sv, Dimitrov Sv, Ruseva J, Gerova D , Stefanov Y, Madjova V, Kadinov V. Rheumatoid arthritis-the nature of the disease and assessment of its activity. General Medicine. 2019;21(2):73–6.	Scopus	8.57
	5.	Hristova Sv, Dimitrov Sv, Ruseva J, Gerova D , Stefanov Y, Madjova V, Kadinov V. Assessment of factors for clinical course and treatment efficacy	Scopus	8.57

		in patients with rheumatoid arthritis. General Medicine. 2019; 21(3):59–61.		
6.	Pasheva M, Yotov Y, Nikolova M, Geroва D , Angelov A, Galunska B. Asymptomatic hyperuricemia as a potential metabolic risk factor for coronary artery calcification in patients with atrial fibrillation or heart failure. Journal of IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers. 2021; 27:1, 3634-3642	Web of Science	10	
7.	Геров В., Герова Д. , Мичева И., Галунска Б. Дисрегулация на костното ремоделиране – основен патогенетичен механизъм на костната болест при множествения миелом. Хематология, vol. LIX, 2022, № 3-4:12-21	Scopus	15	
8	Gerov V, Geroва D . Treatment of newly diagnosed myeloma patients – past, present, future. General Medicine. 2024;26(4):29–37	Scopus	30	
9.	B. Roussev, D. Geroва , P. Kossev, A. Hinev, B. Galunska, D. Svinarov. Suboptimal vitamin D status in chronic prostate diseases. Clin Chem Lab Med 2017; 55, Special Suppl, S1008 (IF: 3.556)	WoS	10	
10.	Dimitrova S, Micheva I, Geroва D , Gercheva L. The role of hepcidin and dysregulated iron homeostasis in the pathogenesis of anemia in myelofibrosis. Hema Sphere. 2019, 3(S1): p 286 DOI: 10.1097/01.HS9.0000560952.60646.d7 (IF: 0.86)	WoS/Scopus	15	
11.	Atanassova A, Georgieva A, Geroва D , Todorova M. The impact to disease activity, iron and vitamin D deficiency on fatigue in IBD patients. Journal of Crohn's and Colitis. 2019, V13, Issue Supplement_1, P676, S457, https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jyy222.800 (IF: 8.658)	Scopus	15	
12.	Georgieva A, Atanassova A, Geroва D , M Todorova. Vitamin D deficiency as a part of extraintestinal manifestations in IBD Patients: a single-centre experience. Journal of Crohn's and Colitis. 2019, V13, Issue Supplement_1, S388–S389, https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jyy222.673 (IF: 8.658)	Scopus	15	
13.	M. Yordanova, D. Geroва , A. Atanasova, B. Galunska-Kalcheva. Fecal calprotectin levels and degree of inflammation in inflammatory bowel diseases patients. Clinica Chimica Acta 493 (2019),	WoS/Scopus	15	

		S356-357, doi:10.1016/j.cca.2019.03.771 (IF: 2.615)		
	14.	Yordanova M, Gerova D , Atanassova A, Galunska B. Oxidative status in patients with inflammatory bowel disease. Turk J Biochem, 2019; 44 (S3), P-155, p101 (IF: 0.373)	WoS/Scopus	15
	15.	N. Tasinova, A. Angelov, M. Pasheva, D. Vankova, M. Todorova, D. Gerova , Y. Yotov, D. Ivanova, B. Galunska. High levels of circulating undercarboxylated matrix Gla-protein found in patients with cardiovascular diseases. Turk J Biochem, 2019; 44 (S3), P-049, p78 (IF: 0.373)	WoS/Scopus	6.67
	16.	M. Yordanova, D. Gerova . Changes in salivary redox homeostasis in patients with inflammatory bowel diseases. Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1148 (IF:3.8)	WoS	30
	17.	M. Yordanova, D. Gerova . Establishment of reference intervals for some salivary parameters for adult individuals from the Bulgarian population. Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1667 (IF: 3.8)	WoS	30
	18.	D. Gerova , M. Todorova, M. Nikolova, B. Galunska-Kalcheva. Vitamin D status in Bulgarian pregnant woman and its impact on pregnancy-related disorders Clin Chem Lab Med 2023; 61, Special Suppl, S1721 (IF: 3.8)	WoS	15
	19.	Gerova D , Gerov V, Micheva I, Galunska B. Diagnostic reliability of DKK-1, sclerostin, sRANKL, osteopontin and periostin as markers for assessing the myeloma bone disease. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:119017. (IF: 3.2)	WoS/Scopus	15
	20.	Yordanova M, Gerova D , Kaloyanova N. Serum adenosine deaminase as breast and colorectal cancer progression biomarker. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:118983. (IF: 3.2)	WoS/Scopus	20
	21.	Todorova M, Gerova D . Vitamin D insufficiency / deficiency as a risk factor for Hashimoto's thyroiditis. Clinica Chimica Acta. 2024 May 1;558:118165. (IF: 3.2)	WoS/Scopus	30
				339.88
Г8. Публикации и доклади, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в	1.	B Galunska, D Gerova , S Galcheva, V Iotova. Association between vitamin D status and obesity in Bulgarian pre-pubertal children: a pilot study. International Journal of Research in Medical Sciences 2016, 4 (2), 361-368. ICV 2016: 90.62		7.5

редактирани колективни
томове

2.	Roussev B, Geroва D , Kosev P, Hinev A, Svinarov D, Galunska B. Is vitamin D associated with testosterone in benign prostate hyperplasia? <i>Scripta Scientifica Medica</i> , 48;2016(4):13-21		5
3.	Galunska B, Roussev B, Geroва D , Hinev A, Usheva N and Svinarov D. Vitamin D and androgens in prostate disease patients. <i>World Journal of Pharmaceutical and Medical Research</i> , 2018, 4(5):57-64 (SJIF Impact Factor: 4.639)		5
4.	Yordanova M, Geroва D . Application of Fecal Calprotectin in Inflammatory Bowel Disease. <i>J Family Med Prim Care</i> . 2020 Open Acc 4: 147. ISSN: 2688-7460, DOI: 10.29011/2688-7460.100047		15
5.	S Dimitrova, L Gercheva, D Geroва , I Micheva. Controversial impact of hepcidin metabolism in the pathogenesis of anemia in myelofibrosis. <i>American Journal of Internal Medicine</i> 2020, 8 (4), 153-158.		7.5
6.	Yotov Y, Angelov A, Pasheva M, Geroва D , Galunska B. Soluble ST2 and its relation to inflammatory, vascular atherosclerotic and calcification markers in patients with atrial fibrillation or heart failure or at moderate-to-high cardiovascular risk. <i>Eastern J Med Sci</i> . 2022; 7:2 (Index Copernicus: 84.32)		6
7.	Yordanova M, Geroва D , Galunska-Kalcheva B. Comparative Analysis of Salivary Cellular Composition in Patients with Chronic Inflammatory Bowel Disease. <i>Biomed J Sci & Tech Res</i> . 45(3)-2022, ISBN: 2574-1241, DOI:10.26717/BJSTR.2022.45.007197 (IF: 1.229)		10
8.	Yordanova M, Shopov N, Geroва D . Influence of Hyperbaric Conditions on Serum Cortisol Levels and Alpha Amylase in Saliva. <i>Nov Res Sci</i> . 2022; 11(4).NRS.000767.2022., ISBN: 2688-836X, DOI: 10.31031/NRS.2022.11.000767		10
9.	Геров В., Герова Д. , Мичева И., Галунска Б. Костни биомаркери при множествен миелом. <i>Мединфо</i> 2022, 04;80-86.		7.5
10.	Тодорова М, Герова Д , Галунска Б. Ефекти на витамин В12 дефицит или недостатъчност върху бременността“. <i>Мединфо</i> , 2022; 8:38-42		10
11.	Todorova M, Geroва D , Galunska B. Vitamin D deficiency during pregnancy. <i>Scripta Scientifica Medica</i> . 2022; 54:1, 19-28		10

	12	A. Georgieva, A. Atanassova, D. Geroва , M. Todorova. Association of vitamin D levels with disease activity in IBD patients. 1-st European Conference of Young Gastroenterologists. Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology. December 6-9, 2018, Croatia, Abstract book,77		7.5
	13	A. Georgieva, A. Atanassova, D. Geroва , M. Todorova. Vitamin D levels in IBD patients in different treatment regimens. 1-st European Conference of Young Gastroenterologists. Challenges in Clinical Gastroenterology and Hepatology. December 6-9, 2018, Croatia, Abstract book,182		7.5
Г9. Публикувана глава от колективна монография	1.	Назифова-Тасинова Н, Николова М, Ванкова Д, Пашева М, Ангелов А, Йотов Й, Герова Д , Иванова Д, Киселова Й, Галунска Б. Екстрахепатални Gla-протеини – потенциални биомаркери за съдова калцификация. 2021 ISBN:978-619-221-366-4		2
	.			
ОБЩО (показатели Г5-9) *задължителен минимум – 200 т.				450.38

Пълнотекстови публикации в научни списания и сборници , извън минималните наукометрични изисквания за заемане на АД „професор“

№	Публикация (имена автори, заглавие на публикация, издание, година, брой, страница, ISSN, ISBN)	Индексирана/реферирана в	Брой точки
1.	В. Илиева, Е. Манова, М. Методиева, Йорданка Михайлова, Д. Герова . Основни методи за скрининг и доказване на сърповидно-клетъчна анемия. Варненски медицински форум, 2017(6), S2: 291-297		6
2.	B Galunska, B Roussev, D Geroва , P Kossev. Vitamin D: a potential biomarker for more aggressive prostate cancer. Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine 2018 (2):23-247		7.5
3.	D. Cherneva, D. Geroва . Tyrosine kinase inhibitors in modern oncology therapy. Scripta Scientifica Medica, 2024;56(3):7-17		15

Варна

01.06.2025 г.

Изготвил:

/доц. д-р Даниела Иванова Герова, д.м./