

Резюмета на научните трудове

на

доц. Иван Щерев Донеv д.м.

I. Клинични случаи:

Представени са 8 клинични случаи отразяващи диагностичните трудности и плановете за лечение на рядко срещани заболявания и усложнения в областта на вътрешната медицина.

- 1.Рядък случай на вторичен чернодробен абсцес
- 2.Рядък случай на псевдомиксома перитонеи
- 3.Рядко срещано усложнение при белодробен рак
- 4.Рядък случай на милиарна туберкулоза
- 5.Рядък случай на кожна туберкулоза
- 6.Рядък случай на остър миокарден инфаркт със ST-елевация и ляв бедрен блок
- 7.Остра форма на дисеминирана туберкулоза на белите дробове при болна с мултиплен миелом
- 8.Рядък случай на болен с инфекциозен ендокардит на митрална и трикуспидална клапа

II. Статии, публикувани в български научни списания:

Представените трудове се отнасят към **5 основни проблема**, групирани по тематични раздели, както следва:

A.Трудове относно честотата и диагностиката на белодробния карцином, дебелочревния рак,карцинома на папила Vateri и заболявания в билиопанкреасната система.

1.Донев Щ.И., Б. Белчев, Й. Михайлова, Г. Димитрова, И.Николов, И. Щерев. 2000. Честота и диагностика на белодробния карцином в Добричкия регион, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.2: 186-188

Статията отразява проучване, ретроспективно на историите на заболяване на всички преминали през Пневмо-фтизиатричното отделение на Районна болница-Добрич за периода 1995-1999. Диагностицирани са 187 болни с белодробен рак като най-засегнати са мъжете между 50-59 години.

2.Донев Щ.И., И. Щерев, Н. Белчев. 2003. Ендоскопска диагностика на дебелочревния рак в Добричкия регион, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.5 (1):113-115.

Авторите споделят своя 2-годишен опит в ендоскопската диагностика на дебелочревния рак. Изтъква се, че той е по-често срещан при мъжете във възраст 50-70 г. и в трите локализации- ректум, сигма, колон. Подчертава се, че ранната (на ниво лигавица) ендоскопска диагноза е трудна и че авторите нямат такъв случай. Само фиброколоноскопията е метод на избор при тези болни-само 1,28% неуспех сред контингента с дебелочревен рак в региона на Добрич.

3.Донев, Щ.И., И. Щерев, Н.Белчев, Д.Наков. 2003. ЕРЦП в диагностиката на карцинома на папила Vateri, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.5 (1):116-118.

Авторите описват своевременно диагностициран рядък случай на карцином на папила Vateri. Случаят е диагностициран благодарение на възможностите с които разполага ендоскопската ретроградна холецистопанкреатография, осигуряващи визуална рентгенконтрастна и биопсична диагностика на тумора.

4.Донев Щ.И., Б. Белчев, И. Щерев, М. Георгиев, И. Николов. 2004. Възможности на ERCP и EPT в диагностиката и лечението на билиопанкреасната патология; I. Диагностична стойност на ендоскопската ретроградна холецистопанкреатография, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.6 (1): 119-122.

Ендоскопската ретроградна холецистопанкреатография беше приложена при 21 пациента със заболявания на билиопанкреаната система, довели до изразена екстрахепатална холестаза. Бяха диагностицирани 11 случая с холедохолитиаза, 5 случая с карцином на главата на панкреаса, 2 случая с

хроничен панкреатит,2 с карцином на папила Vateri, един с бенигна стеноза на папилата. Авторите споделят,че ERCP е незаменим и незагубващ с времето своята стойност диагностичен метод за верификацията на заболяванията в билиопанкреасната облас, даващ възможност за определяне на по-нататъшното терапевтично поведение.

Б.Трудове на тема остри кръвоизливи от храносмилателния тракт сред постъпилите по спешност в болницата

1.Донев, Щ.И., И. Щерев, М. Георгиев, Б. Белчев. 2002. Кръвоизливи от горния храносмилателен тракт, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.4:113-118.

2. Донев, Щ.И., И. Щерев, Б. Белчев. 2002. Кръвоизливи от долния храносмилателен тракт, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.4:

Авторите изтъкват, че най-честите причини за кръвене по ДХТ и ГХТ сред пациенти постъпили по спешност в МБАЛ Добрич АД, са туморите общо 40%, хеморойдите, ХУХК, язвена болест на дванадесетопръстника в остър стадий и други по-редки причини. Стомашният рак все още е сред водещите причини за кръвене от ГХТ. Фиброгастроскопията, като диагностичен метод с успеваемост от 98,2% няма алтернатива при диагностиката на острите кръвоизливи от ГХТ.

В.Трудове на тема динамика и структура на туберкулозата на белите дробове, диагностика и лечение на туберкулозен ексудативен плеврит и фиброзно-кавернозна туберкулоза.

1.Донев, Щ.И., Б. Белчев, Н. Петрова, М. Ганева, Б. Желязкова, Г. Илиева, И. Щерев. Върху динамиката и структурата на туберкулозата на белите дробове в Добрички регион за период от 14 години.

2. Донев, Щ.И., Б. Белчев, М. Инджиева, С. Стилиянова, И. Щерев (2000) Диагностика и лечение на туберкулозния ексудативен плеврит, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, 2: 173-176.

3.Донев, Щ.И., И. Щерев,(2002). Фиброзно-кавернозна туберкулоза на белите дробове в Добрички регион през последните 10 години, Науч.съобщ. на СУБ кл. Добрич, т.4: 103-105.

Авторите описват наблюдаваните от тях за 10 годишен опит 13 болни с фиброкавернозна ТБК на белите дробове,като най засегната група са

между 30 и 60 год. Най-често усложнение сред наблюдаваните от тях болни е белодробната сърдечна недостатъчност, водещо до трайна инвалидизация. Авторите също споделят и своя опит в диагностиката и лечението на туберкулозния ексудативен плеврит, като посочват, че заболяемостта се увеличава сред младите пациенти до 30 г. възраст и достига 42,8% от лекуваните в Пневмо-фтизиоатрично отделение на Районна болница- Добрич.

Г.Трудове в областта на молекулярната биология в онкологията:

1.И. Донеv, Н. Цонеv, А. Консулова, Т. Червенков, П. Генеv, Е. Димитрова, Д. Калеv. Фосфатидил-инозитол 3-киназа: от молекулярната патология към клиничния прицел

Сигналният път на фосфатидил-инозитол 3-киназите(PI3K)/Akt има важно влияние върху неопластичния растеж, оцеляване, мотилитет, метаболизъм и е най-често активираната каскада при човешки тумори. Синтезирани са много PI3K-инхибитори, които навлизат в клинични изпитвания.

Цел на този обзор е да дискутира ролята на PI3Ks в туморогенезата и данните подкрепящи използването на PI3K-инхибитори в клиничната практика.

2.И. Донеv, Н. Цонеv, А. Консулова, И. Тонеv, Т. Червенков, Е. Димитрова, Д. Калеv. Оста HGF/MET: Механизми на туморна прогресия и лекарствена резистентност.

MET е тирозин-киназен рецептор за хепатоцитния растежен фактор (HGF). Системата HGF/MET е необходима по време на ембрионалното развитие, а аберантно активираният MET-сигнален път благоприятства туморното развитие, метастазирание и развитие на лекарствена резистентност. Цел на този обзор е да обобщи молекулярните механизми, чрез които оста HGF/MET индуцира развитието на пролиферативни инфазивни фенотипове и допринася за развитие на лекарствена резистентност. Проблемът е важен за разбиране на механизмите за туморна прогресия и предоставя привлекателни прицели за антитуморна терапия.

3.А.Консулова, И. Щерев, Н. Цонеv, Е. Димитрова, И. Тонеv, Д. Калеv.Механизми за придобита резистентност към тирозин-киназни инхибитори на епидермален растежен фактор при недребноклетъчен белодробен карцином: обзор на проблема със собствен принос

Тирозин-киназните инхибитори (ТКИ) на рецептора на епидермалния растежен фактор (EGFR) – gefitinib и erlotinib - са ефективни терапевтични възможности при недребноклетъчен белодробен карцином, който експресира соматични мутации в EGFR. Клинични проучвания трета фаза показват, че приложението им превъзхожда стандартната първа линия цитотоксична терапия, обаче в даден момент всички пациенти развиват резистентност към тях. През последните години са идентифицирани два типа механизми на резистентност към EGFR-ТКИ: вторична мутация в EGFR (T790M) и амплифициране на MET-онкоген. Тези данни стоят в основата на клинични проучвания, целящи да преодолеят резистентността, медирана от хепатоцит-растежен фактор (HGF), при EGFR-мутирал белодробен аденокарцином. Продължителна *in vitro* експозиция с РІЗК-инхибитор PI-103 ефективно потиска пролиферацията на EGFR-мутирала клетки в присъствие на HGF.

4.Н. Цонев, И. Донев, Т. Червенков, А. Консулова, П. Генов, Е. Димитрова, Д. Калев. Влияние на микрорубонуклеиновите киселини върху сигнални клетъчни пътища при колоректален карцином.

Микрорубонуклеиновите киселини (миРНК) са малки РНК-молекули, изградени от около 21-25 нуклеотида, които не кодират протеини, но имат важна функция за регулиране на гена експресия чрез свързване с комплементарни 3'нетранслирани области(3'UTR) на информационна РНК. До този момент са открити хиляди миРНКи в различни растения, животни и микроорганизми. Натрупани са редица доказателства за участието на миРНК в разнообразни биологични процеси, като регулатори на клетъчна пролиферация, диференциация, апоптоза и други явления, свързани с онкогенезата, в това число и при колоректален карцином (КРК).

Цел на този обзор е да дискутира възможностите на миРНК за регулиране на онкогенни и тумор-супресорни сигнални пътища, участващи в патогенезата на КРК.

5.К. Братоева, И. Щерев, М. Цанева, Г. Бежарова. Оксидативен стрес и механизъм на хепатоцитно оцеляване при фруктозо-индуцирана чернодробна стеатоза.

Неалкохолната мастна чернодробна болест е клинично-патологичен синдром с широк спектър от увреждания на черния дроб, които варират от

чернодробна стеатоза до стеатохепатит, напреднала фиброза и цирроза. Прогресията на чернодробната стеатоза е свързана с възпаление, клетъчна смърт и фиброза, за които съществена роля играе и оксидативния стрес. Според някои изследователи оксидативния стрес стимулира хепатоцитна апоптоза (активиране на вътрешния път чрез Вах протеина) и автофагия (чрез активиране на Beclin 1). Фагоцитирането на апоптотичните телца индуцира свободни радикали, проинфламаторни и профиброгенни цитокини, които стимулират чернодробно възпаление и фиброза. Целта на това проучване е да се изследва връзката между апоптоза, оксидативен стрес и автофагия в мастен черен дроб при експериментален модел с фруктозно натоварване.

6. Beclin-1 като потенциален предиктивен маркер за 5-ФУ базираната химиотерапия при болни с метастатичен карцином на колона Елеонора Георгиева Димитрова¹, Иван Щерев Донеv¹, Николай Владимиров Цонев¹, Соня Кирчева Драганова¹, Ростислав Радославов Манев¹, Маргарита Красенова Богданова¹, Христо Бойчев Попов², Надежда Тодорова Стефанова², Драгомир Светозаров Стоянов¹, Явор Костадинов Каишов¹, Асен Иванов Янчев¹, Маргарита Драганова Георгиева 2017 Списание на Българското онкологично дружество

Представя се ретроспективен анализ на 98 болни с карцином на дебелото черво в метастатичен стадий, провели първа линия 5-ФУ базирана химиотерапия в УМБАЛ „Св.Марина” Варна. Проведе се имунохистохимичен анализ за експресия на Beclin-1 – маркер за автофагия в първичния тумор. Средната преживяемост без прогресия (PFS) за групата пациенти с ниска експресия на Beclin-1 бе 7.7 месеца (95% CI, 4,6-6,4), срещу 5.5 месеца (95% CI, 5,6-9,9) за групата с висока експресия (log rank test $p=0,04$). Cox регресионния анализ показва, че болните с висока експресия на Beclin-1 имат тенденция за повишен риск от прогресия на болеста HR-1,44 (95% CI, 0,9-2,2; $p=0,09$).

7. Автофагия при солидни тумори, Елеонора Георгиева Димитрова, Иван Щерев Донеv, Николай Владимиров Цонев, Соня Кирчева Драганова, Ростислав Радославов Манев, Маргарита Красенова Богданова, Христо Бойчев Попов, Надежда Тодорова Стефанова, Драгомир Светозаров Стоянов, Явор Костадинов Каишов, Асен Иванов Янчев, Маргарита Драганова Георгиева Studia Oncologica 2016

Автофагията е хомеостатичен и еволюционно запазен процес, който разгражда клетъчните органели и протеини, и поддържа клетъчния биосинтез при нарушено хранене или метаболитен стрес. Автофагията е важна във всички клетки за отстраняване на повредени или “стари” протеини и органели. Нарушенията в процесите на автофагия са свързани с чувствителност към метаболитен стрес, геномно увреждане и туморогенеза. Въпреки, че автофагията участва в туморната супресия, тя също така осигурява и толерантност при клетъчен стрес, позволявайки на туморните клетки да оцеляват при неблагоприятни условия. Стрес-индуцираната автофагия в туморните клетки може да доведе до резистентност при лечение и туморна латентност, с евентуален повторен туморен растеж и прогресия. Изясняването на ролята на автофагията в лечението на рака е от решаващо значение, защото много противоракови терапии са свързани с активирането и.

8. *FIRST LINE 5FU BASED CHEMOTHERAPY WITH/WITHOUT BEVACIZUMAB FOR METASTATIC COLORECTAL CANCER: ONE CENTER EXPERIENCE RESULTS*, A.Konsoulova,I. Donev, , N. Conev, S. Draganova, T. Chervenkov, N. Petrova, E.Dimitrova, P. Ghenev, Y.Kashlov, D. Kalev *Scripta Scientifica Medica*, 2015

Purpose: Colorectal cancer is the second leading cause of cancer mortality in the United States. According to the National Institute of Statistics in Bulgaria for 2012 there have been 2370 newly diagnosed colon cancer and 1664 rectal cancer cases and the total number of registered patients is 29995. Adding Bevacizumab to chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer improves progression-free survival but yet no predictive markers for patient selection have been described and proved in the clinical practice. In our study we examined two plasma biomarkers that may correlate with response to first line Bevacizumab containing chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer.

Patients and Methods: 54 patients with metastatic colorectal cancer were assigned to first line 5-Fu-based chemotherapy with/without Bevacizumab. The primary end point was progression-free survival, with additional determination of response and toxicity. Blood samples were collected at base-line from all 54 patients prior to initiation of chemotherapy and Bevacizumab. Plasma samples were stored at -80° C until analysis at the Immunology Laboratory at the

University Hospital “St. Ma-rina” (Varna, Bulgaria) by a multiple-step sandwich immunoassay Human ELISA VEGF121 and VEGF165 kits.

Results: The median progression-free survival for the group treated with CT/Bev was 8.8 months, compared with 5.4 months for the group treated with chemotherapy alone (95% CI, log-rank test $P = 0.003$). The corresponding overall response rates were 19.3% and 10.2% respectively ($P < 0.05$ for CT/Bev vs CT).

Conclusion: The addition of Bevacizumab to 5-Fu based chemotherapy improves progression-free survival duration for patients with metastatic colorectal cancer. We could not find any association between pretreatment plasma levels of VEGF 121 and 165 and worse PFS.

9. *FIRST LINE 5FU BASED CHEMOTHERAPY WITH/WITHOUT BEVACIZUMAB FOR METASTATIC COLORECTAL CANCER: ONE CENTER EXPERIENCE RESULTS Tissue markers* **I. Donev**, **A.Konsoulova**, , **N. Conev**, **S. Draganova**, **T. Chervenkov**, **N. Petrova**, **E.Dimitrova**, **P. Ghenev**, **Y.Kashlov**, *Journal of IMAB* ISSN: 1312-773X 2016

Purpose: Colorectal cancer is the second leading cause of cancer mortality in the USA. According to Bulgarian National Statistics Institute, 2370 colon and 1664 rectal cancer cases were diagnosed in 2012 with total number of patients 29995. Adding bevacizumab to chemotherapy in patients with metastatic disease improves progression-free survival (PFS) but no predictive markers have been proven in the clinical practice. In our study we examined two tissue biomarkers that may correlate with response to bevacizumab-containing chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer.

Patients and Methods: 54 patients with metastatic colorectal cancer were assigned to first line 5-Fu-based chemotherapy with/without bevacizumab. The primary end point was PFS, with additional determination of response and toxicity. Paraffin-embedded samples from primary tumors were collected from all 54 patients. Expression levels of two tumor biomarkers VEGFR-2 and Neuropilin 1 (NP-1) were evaluated with immunohistochemistry.

Results: The median PFS for the group treated with CT/Bev was 8.8 months, compared with 5.4 months for the group with chemotherapy alone (95% CI, log-

rank test $P = 0.003$). The corresponding overall response rates were 19.3% and 10.2% respectively ($P < 0.05$ for CT/Bev vs CT). Patients with low NP-1 had statistically significant prolongation of PFS as compared to those with high NP-1 (95% CI, log rank test $p = 0.017$). Patients with low NP-1 appeared to experience a larger bevacizumab treatment effect in terms of PFS ($p = 0.049$, HR 0.333, 95% CI, 0.111 to 0.995) than patients with high NP-1. **Conclusion:** The addition of bevacizumab to 5-Fu based chemotherapy improves PFS for patients with metastatic colorectal cancer. Expression of tumor NP-1 is a potential biomarker candidate for prediction of clinical outcome in patients with metastatic colorectal cancer, treated with first line chemotherapy plus bevacizumab.

10. 2-year single center clinical experience in patients with colon cancer stage II and III receiving adjuvant chemotherapy Nikolay Vladimirov Conev, Ivan Shterev Donev, Eleonora Dimitrova, Miglena Kozhuharova, Margarita Georgieva, Assia Konsoulova-Kirova, Dimitar Kalev Scripta Scientifica Medica, vol. 47, No 2, 2015

Introduction: Colorectal cancer is the most commonly diagnosed gastrointestinal cancer worldwide. For patients without metastatic disease, surgery is the first option used with curative intention, for stage I disease the adequate treatment consists only of surgical excision. In stage III additional adjuvant chemotherapy post-surgery is recommended. In stage II colon cancer, adjuvant treatment remains controversial.

We **aim** to stratify patients according to different criteria, identify those with recurrence within the first year post last cycle of adjuvant chemotherapy and discuss those primary results.

Materials and methods: a total of 52 patients who were subject to curative resection of stage II and III colon adenocarcinoma and who were administrated 5 FU based adjuvant chemotherapy were included and were followed for a period of two years. Data analysis was performed.

Result: After a mean of 2 years of follow-up, recurrence was identified in 16 patients. None of stage II patients (n=6) and 3 patients in stage III (n=6) experienced recurrence. Patients with Nx cancer (n=30) were detached in separate group. Thirteen of them experienced recurrence (9 patients had relapse within 6 months after surgery – defined as synchronous metastatic disease).

Conclusion: Surgery remains the cornerstone of treatment for the majority of colon patients. The selection of optimal chemotherapy for each patient is a complex process and there is a practice evidence gap which remains a significant problem. Our results for relapse are comparable with the reported ones worldwide. The reports suggest that there is still lack of evidence in the adjuvant colon cancer chemotherapy worldwide.

11. *Преодоляване резистентността към терапията с анти-EGFR тирозинкиназни инхибитори- фокус върху osimertinib при T790M – позитивни болни с метастатичен недребноклетъчен карцином на белия дроб, Жасмина Михайлова и Иван Щерев, 2017 Медик АРТ*

Направен е обзор на третата генерация анти-EGFR ТКИ от предклиниката до най-новите данни от клиничните проучвания.

12. *Некроптоза М. К. Богданова¹, Ив. Щерев Донеv¹, Н. Вл. Цонев¹, Ел. Г. Димитрова¹, Р.Р. Манев¹, Др. Св. Стоянов¹, Ч. Хр. Бъчваров², Г. Н. Тодоров², Т. Р. Радева², Н. Т. Стефанова³, К. П. Калчев³, М. Ст. Таушанова⁴ Stidia Oncologica 2017*

Некроптозата е наскоро открита, каспаза-независима форма на програмирана клетъчна смърт, която изисква взаимодействието с рецептора протеин киназа 1 (RIPK1), RIPK3 и протеина с киназоподобен домейн от смесен произход (MLKL). Натрупват се все повече доказателства, които показват, че некроптозата участва не само в регулирането на нормалното развитие и физиологични процеси, но и при различни заболявания, включително и злокачествени тумори. Наскоро тази нова форма на програмирана клетъчна смърт се прояви като потенциално нова стратегия за антитуморно лечение, която може да преодолее резистентността на апоптозата. В тази статия ние обобщихме досега проучените механизми на некроптозата в нормални и ракови клетки.

13. *Ендоваскуларно лечение на първични злокачествени лезии в черен дроб, Ч.Бъчваров, Г.Тодоров, Н.Колев, А.Тонев, В.Игнатов, К.Иванов, И.Донев, Ст.Сираков, Г.Вълчев Рентгенология и Радиология 2016*

Направен е едноцентров анализ и обзор на ендоваскуларното лечение на метастатичните чернодробни лезии.

14. *Скрининг за дистрес при онкологично болни, Мартина С. Иванова^{1,4}, Николай В. Цонев^{1, 2}, Иван Щ. Донев^{1, 2}, Маргарита К.Богданова^{1, 2}, Елеонора Г. Димитрова^{1, 2}, Ростислав Р. Манев^{1, 2}, Драгомир С. Стоянов^{1, 2}, Явор К. Каилов², Камелия Ж. Братоева³, Станислава П. Пенева⁴, Stidia Oncologica(под печат)*

Интересът към скрининг за дистрес при онкологично болни нараства значително, но на този фон излизат наяве и съответните доказателства за проблеми при разбирането и прилагането на програми за идентифицирането му. Медицинската сестра, работеща в онкология, също има роля в процеса на скрининга за дистрес. В наши дни механизмите на скрининг и ролята на отделните участници (здравни специалисти) все още търпи развитие и подлежи на дискусия. Скринингът за конкретно заболяване или здравословен проблем зависи от няколко основни фактора: самият здравен проблем (в конкретния случай онкологичното заболяване), типът скринингов тест и националната система за здравеопазване.

15. *Регулиране на клетъчната смърт при ракови заболявания-значение и терапевтичен ефект Камелия Жечкова Братоева¹, Елеонора Георгиева Димитрова², Николай Владимиров Цонев², Георги Николаев Тодоров³, Калин Петров Калчев⁴, Мария Атанасова Раданова⁵, Иван Щерев Донев² Varna Medical Forum 2017*

Комплексната роля на различните видове клетъчна смърт при раковите заболявания е сложна и продължава да се разкрива. Наблюденията показват, че и трите процеса- апоптоза, автофагия и некроза могат да съществуват в един тумор и тяхното относително участие, диктува траекторията на туморния растеж, регресия и отговор към анти-туморна

терапия. Анализа на клетъчната сигнализация може да разкрие и да осигури нови биомаркери, отразяващи функционалната активност на тези процеси, които ще подпомогнат индивидуализираната терапия при карциномно болните. В този преглед сме се спрели на някои основни пътища и регулатори свързани с клетъчната смърт и оцеляване, които осигуряват метаболитна устойчивост в туморите, водещи до резистентност към химиотерапия и неуспешно лечение на рака.

16. Individualized Hormonal Therapy in Patients with Breast Cancer, Mariya Levkova, Dimitrina Konstantinova, Tanya Kadiyska, Ivan Donev, Scripta Scientifica Vox Studentium 2017

Introduction: Tamoxifen is a selective estrogen receptor modulator (SERM) which is used in the treatment and prevention of breast cancer. It is a standard therapy for breast cancer in women.

The CYP2D6 is one of the main enzymes responsible for converting tamoxifen into its major active metabolite, endoxifen. Variants in the CYP2D6 allele may lead to reduced or absent enzyme activity. Individuals who carry these variant alleles may have reduced plasma concentrations of endoxifen and be intermediate or poor metabolizers. That is why it is recommended to study the CYP2D6 genotypic heterogeneity before administering tamoxifen in order to provide an individualized hormonal therapy of breast cancer.

Aromatase inhibitors are a class of drugs, which block the enzyme aromatase and are used in the treatment of breast cancer in postmenopausal women. Aromatase catalyzes the last steps of estrogen biosynthesis and it is a cytochrome P450 enzyme complex that is encoded by CYP19. Variants in CYP19A1 may be important, regarding both the efficacy and toxicity of aromatase inhibitors.

Materials and Methods: We tested 4 women for CYP2D6 genotypic heterogeneity and 2 for CYP19A1 genetic variations. All of them had been diagnosed histologically with estrogen – and progesterone – receptor - positive breast cancer.

We used PCR amplification method and Sanger sequencing.

Results: One of the patients was an intermediate tamoxifen metabolizer, one of the patients was a heterozygous carrier for CYP19A1 genetic variations.

Conclusions: It is of great significance for the treatment of breast cancer to test patients for their drug metabolism activity in order to provide a personalised approach in treating breast cancer.

17. Beclin 1 - регулаторен протеин на автофагията, Камелия Жечкова Братоева¹, Елеонора Димитрова², Ася Консулова², Чавдар Бъчваров³, Георги Тодоров³, Надежда Стефанова⁴, Иван Донеv² Varna Medical Forum 2017

Изучаването на про-патогенните ефекти на автофагията е сравнително нова област на изследване, показваща, че тя може да упражни многофункционални патогенетични роли свързани с клетъчното оцеляване или смърт. Нарушенията в процесите на автофагия предизвикват чувствителност към метаболитен стрес, геномно увреждане, неконтролирана клетъчна пролиферция, резистентност към химиотерапия и оцеляване на ракови клетки. Beclin 1 бе първият открит инициращ протеин с доказана роля в регулиране на процесите на автофагия, която обаче проявява функционална двойственост при селективното взаимодействие на Beclin 1 с регулатори на клетъчната хомеостаза, смърт, растеж, имунен отговор вкл. вируси и др. Това прави проучванията на Beclin 1 значими не само като специфичен маркер в идентифицирането на регулаторните механизми участващи в тези процеси, но и като прицелна молекула за фармакологично модулиране на клиничното протичане при различни заболявания.

18. Автофагия – молекулни механизми и ролята ѝ в неопластичния процес, Надежда Стефанова, Мария Цанева, Антония Хачмериян, Иван Донеv, Varna Medical Forum 2017

Автофагията е общобиологичен процес на разграждане и рециклиране на клетъчните компоненти с цел запазване на жизнено необходимите градивни елементи. Тя функционира при сравнително ниски нива постоянно в клетките на бозайници. Индуцира се при гладуване и стрес на клетките, като осигурява енергия за белтъчен синтез с цел запазване на клетката. Блокирането на автофагията иницира туморни процеси чрез натрупване в клетките на нефункционални белтъчни агрегати и/или чрез предизвикване на хронично възпаление. В развилия се неопластичен процес автофагията се явява механизъм за клетъчно оцеляване на малигнените клетки. Познаването на точните механизми на автофагията

може да доведе до прилагане на нови терапевтични стратегии при лечение на злокачествените тумори.

19. Некроптоза - молекулярни механизми и ролята ѝ при злокачествените тумори, Надежда Стефанова, Мария Цанева, Калин Калчев, Маргарита Богданова, Иван Донеv *Varna Medical Forum 2017*

Некроптоза е вид алтернативна клетъчна смърт, която се наблюдава при екстрацелуларна апоптотична стимулация в клетки с потисната апоптоза. Тя е важен и специфичен за гръбначните животни механизъм, възникнал, най-вероятно като допълнителна защита срещу имунни клетки и патогени, устойчиви на апоптоза. Двете форми на клетъчна смърт: некроптоза и апоптоза, се контролират от различни сигнални пътища, но имат общи инициатори като реактивни кислородни радикали (ROS), изчерпване на АТФ и ДНК-увреждащи агенти. Индуцирането на некроптоза може да бъде ефикасна терапевтична стратегия при лечението на злокачествени заболявания. По-детайлното проучване на сигналните пътища на некроптозата е от важно значение при определяне на таргетите на некроптозата и за създаването на нови противотуморни средства.

Д. Други

1. Методи на избор за оперативно лечение на дермоидалните кисти. Б Белчев, Щ. Донеv, Н. Белчев, Н. Найденоv, В. Вълев, И. Щерев.

За периода от една година са разгледани 57 болни, оперирани за дермоидална киста на сакрална област. Приложените два метода за хирургично лечение – „закрит” и „открит”, дават съответни резултати още до първите 6 месеца следоперативно: оздравяване, рецидив, опъване, дискомфорт, келоид. Акцентуира се върху предпочитанието на авторите към открития метод, който дава по-сигурни и функционално издържливи резултати. По-ранното изследване след операцията не се приема от авторите като фактор за по-лоши клинични резултати.

2. *Dynamic change of nt-probnp in patients with st-elevation myocardial infarction treated with primary coronary intervention,* Javor Kostadinov Kashlov, Veselin Dobrev Valkov, Yordanka Georgieva Doneva, Ivan Donev, Arpine Kirkorova, Galina Arabadzchieva, Lilia Ivanova, Nikolay Conev, Borislav Ivanov, Temenuzhka Radeva, Zhaneta Georgieva, Scripta Scientifica Medica, vol. 48, No. 4, 2016

In the recent years important biomarkers have emerged as tools for diagnosis and risk stratification in cardiovascular diseases. Such markers are B- type natriuretic peptide (BNP) and N- terminal B- type natriuretic peptide (NT-proBNP).

Peripheral blood for the serum levels of NT-proBNP was taken from patients with STEMI before PCI and 24-48hours after the onset of the symptoms of myocardial infarction. Three of the samples from all 53 turned out to be positive to NT – proBNP concentration on Day 0. On day 1 there was a significant elevation of the positive samples 11 from 53 patients (20,7%) (p = 0,01). All patients with STEMI and elevated serum levels of NT- proBNP have left ventricular ejection fraction <50%.

Our results imply that NT –proBNP level and its increase in the serum may be used as a biomarker for the severity of the ischemic heart disease.

*3. Роля на HMGB1 в патогенезата на миокардния инфаркт. Диагностични и прогностични аспекти * Д-р Явор Каилов^{1, 2}, *д-р Веселин Вълков^{2, 4}, проф. Жанета Георгиева^{1, 2}, д-р Йорданка Донева^{1, 2}, д-р Арпине Киркорова^{1, 2}, д-р Николай Цонев^{2, 3}, доц. Петър Генеv⁵, д-р Теменушка Радева⁶, , Иван Донев², Наука Кардиология 2016*

В настоящото проучване ние потвърдихме данните от предишни доклади, че пациенти със STEMI имат по-високи нива на HMGB1 в сравнение със здрави индивиди. Освен това, ние демонстрираме , че високите нива на HMGB1 при постъпване при пациентите със STEMI са свързани с повишен риск от смърт при тези пациенти. HMGB1 има потенциала да бъде нов биомаркер за прецеизиране на прогнозата при пациенти със STEMI.

III. Абстракти и статии, публикувани в чуждестранни научни списания с импакт фактор:

1. Dual inhibition of Met kinase and angiogenesis to overcome HGF-induced EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer. Takeuchi S, Wang W, Li Q, Yamada T, Kita K, Donev IS, Nakamura T, Matsumoto K, Shimizu

E, Nishioka Y, Sone S, Nakagawa T, Uenaka T, Yano S. (2012). The American Journal of Pathology

Acquired resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs) is a serious problem in the management of EGFR mutant lung cancer. We recently reported that hepatocyte growth factor (HGF) induces resistance to EGFR-TKIs by activating the Met/PI3K pathway. HGF is also known to induce angiogenesis in cooperation with vascular endothelial growth factor (VEGF), which is an important therapeutic target in lung cancer. Therefore, we hypothesized that dual inhibition of HGF and VEGF may be therapeutically useful for controlling HGF-induced EGFR-TKI-resistant lung cancer. We found that a dual Met/VEGF receptor 2 kinase inhibitor, E7050, circumvented HGF-induced EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer cell lines by inhibiting the Met/Gab1/PI3K/Akt pathway *in vitro*. HGF stimulated VEGF production by activation of the Met/Gab1 signaling pathway in EGFR mutant lung cancer cell lines, and E7050 showed an inhibitory effect. In a xenograft model, tumors produced by HGF-transfected Ma-1 (Ma-1/HGF) cells were more angiogenic than vector control tumors and showed resistance to gefitinib. E7050 alone inhibited angiogenesis and retarded growth of Ma-1/HGF tumors. E7050 combined with gefitinib induced marked regression of tumor growth. Moreover, dual inhibition of HGF and VEGF by neutralizing antibodies combined with gefitinib also markedly regressed tumor growth. These results indicate the therapeutic rationale of dual targeting of HGF-Met and VEGF-VEGF receptor 2 for overcoming HGF-induced EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer.

2. Transient PI3K inhibition induces apoptosis and overcomes HGF-mediated resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer. Donev IS, Wang W, Yamada T, Li Q, Takeuchi S, Matsumoto K, Yamori T, Nishioka Y, Sone S, Yano S.(2011) Clinical Cancer Research

Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKI), such as gefitinib and erlotinib, show favorable response to EGFR mutant lung cancer. However, the responders acquire resistance almost without exception. We recently reported that hepatocyte growth factor (HGF) induces EGFR-TKI resistance by activating MET that restores downstream mitogen activated protein kinase (MAPK)/extracellular signal regulated kinase (ERK)1/2 and phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt signaling. The purpose of this study was

to determine whether inhibition of PI3K, a downstream molecule of both EGFR and MET, could overcome HGF-mediated EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer cells PC-9 and HCC827.

3. *The EGFR ligands amphiregulin and heparin-binding egf-like growth factor promote peritoneal carcinomatosis in CXCR4-expressing gastric cancer.* Yasumoto K, Yamada T, Kawashima A, Wang W, Li Q, Donev IS, Tacheuchi S, Mouri H, Yamashita K, Ohtsubo K, Yano S (2011) **Clinical Cancer Research**

Peritoneal carcinomatosis, often associated with malignant ascites, is the most frequent cause of death in patients with advanced gastric cancer. We previously showed that the CXCR4/CXCL12 axis is involved in the development of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. Here, we investigated whether epidermal growth factor receptor (EGFR) ligands are also involved in the development of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer.

4. *Angiogenesis in cancer and inflammation – role, evaluation and clinical significance.* Konsulova A., Donev I., Dimitrova E. 5th Southeast European Conference on Chemotherapy and Infection, 2014 Bled Slovenia

The discovery of the molecular mechanisms involved and guiding the tumor angiogenesis proved its significance for tumor survival, progression and metastasis development. That led to synthesis and incorporation of many angiogenic drugs into the cancer treatment which predominantly block the VEGF/VEGFR signaling pathway. The discovery of the family of VEGF and VEGF-receptors, as well as their mechanism of action revealed their role for the angiogenesis which is crucial process in inflammation as well as a surrogate for survival and progress of tumors.

5. *Advances in immunotherapy in solid tumors* Konsulova A., Donev I., Dimitrova E. 5th Southeast European Conference on Chemotherapy and Infection, 2014 Bled Slovenia

Immunotherapy has become an increasingly appealing therapeutic strategy for patients with cancer, with many late-stage clinical trials demonstrating overall survival (OS) advantages in melanoma and castration-resistant prostate cancer. More recently, non-small cell lung cancer (NSCLC) has become a focus for the next generation of immune-based therapeutic strategies. Immunotherapy, in particular the use of monoclonal antibodies that block inhibitory immune

checkpoint molecules and therefore enhance the immune response to tumors, has shown clinical promise in advanced solid tumors. The clinical rationale for targeting the PD-1/PD-L1 pathways will be reviewed in this supplement, including a comprehensive review of selected ongoing clinical trials to evaluate the potential of targeting immunotherapy in cancer drug development. Emerging clinical data discussed in this supplement suggest that targeting immunotherapy in cancer will become an integral part of the clinical management strategy for solid tumors.

6. *Serum Expression Levels of miR-17, miR-21 and miR-92 as Potential Biomarkers for Recurrence after Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer Patients, Donev I, Conev N, Konsoulova-Kirova A, Chervenkov T, Kashlov J, Ivanov K, BioScience Trends. 2016; 9(6):393-401.*

The present study examined whether miR-17, miR-21, miR-29a, and miR-92 that are dysregulated in colon cancer (CC) can serve as potential predictive markers for relapse of disease after radical surgery and adjuvant chemotherapy. Real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction was used to measure the expression levels of the miRNAs in serum samples from 37 patients with CC and 7 healthy individuals, tested as a control group. The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) was then used to evaluate the predictive performance of the four miRNAs alone or in combination and compare it with carcinoembryonic antigen. The expression of miR-17, miR-21 and miR-92 were significantly higher in serum of patients with disease relapse. The AUCs for miR-17, miR-21, miR-92 for Nx patients were 0.844, 0.948, and 0.935, respectively ($p < 0.05$). Combining the four miRNAs for stage III patients increased the diagnostic performance, yielding an AUC of 0.881, with a sensitivity of 83.3% and a specificity of 85.7% ($p < 0.05$). Our study suggests that the expression levels of serum miR-21, miR-17, and miR-92 in patients with CC who underwent radical surgery and adjuvant chemotherapy may have diagnostic value for differentiating between recurred and non-recurred patients.

7. *The Role of Pretreatment 18F-fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography maximal Standardized Uptake Value in Predicting Outcome of Colon Liver Metastases and its Connection with Beclin-1 Expression, Dimitrova E, Chausev B, Conev N, Kashlov J, Zlatarov A, Petrov D, Popov H, Stefanova N, Klisarosa A, Bratoeva K, Donev I BioScience Trends. 2017*

The current study sought to evaluate the predictive and prognostic performance of pretreatment values of maximum standardized uptake value (SUVmax) in 43 patients with colon cancer and unresectable liver metastases. A retrospective analysis was conducted in the population of patients with colon cancer who underwent 18F-FDG-PET/computed tomography (CT) scans for staging before start of first line 5-Fluorouracil-based chemotherapy. Expression of Beclin-1 in cancer cells was evaluated in primary tumors by immunohistochemical staining. Pretreatment SUVmax for the liver metastases was not able to predict progression free survival, but was significantly associated with poorer overall survival, hazard ratio 2.05; (95 % CI, 1.016–4.155). Moreover, a negative correlation was found between SUVmax and expression of a marker of autophagy – Beclin-1 ($\rho = -0.42$, $p = 0.006$). This suggests that pretreatment SUVmax on 18F-FDG PET/CT is a useful tool to help predicting survival outcome in colon cancer patients with unresectable liver metastases and may significantly discriminate between patients with low and high expression level of Beclin-1 (AUC = 0.809, 95% CI: 0.670–0.948, $p = 0.001$).

8. Serum levels of RIPK3 and troponin I as potential biomarkers for predicting impaired left ventricular function in patients with myocardial infarction with ST segment elevation and normal troponin I levels prior percutaneous coronary intervention Ivan S Donev, Javor K Kashlov, Jordanka G Doneva, Veselin D Valkov, Arpine D Kirkorova, Peter I Ghenev, Nikolay V Conev, Temenuzhka R Radeva, Borislav D Ivanov, Zhaneta T Georgieva *BioScience Trends*. 2016

The current study examined the serum levels of receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) in 51 patients with New York Heart Association (NYHA) class III-IV heart failure, 53 patients with myocardial infarction with ST elevation (STEMI), and 19 healthy subjects serving as a control group. An enzyme-linked immunoadsorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of RIPK3 expression in serum. The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) was then used to evaluate the predictive performance of RIPK3 and troponin I in patients with STEMI. In patients with normal levels of troponin I prior to percutaneous coronary intervention (PCI), serum levels of RIPK3 and troponin I after PCI were sufficient to differentiate patients with a preserved left ventricular ejection fraction (LVEF) from those with impaired left ventricular function after PCI (AUC = 0.780 (95% CI: 0.565-0.995, $p = 0.043$) with a sensitivity of 76.9% and a specificity of 71.4% vs. AUC = 0.735 (95% CI: 0.530-0.941, $p = 0.038$) with a sensitivity of 88.2% and a specificity of

63.6% at the optimal cutoff values, respectively). Moreover, elevated levels of troponin I after PCI were associated with an increased risk of an LVEF < 50% prior to discharge (odds ratio, 1.014; 95 % CI, 1.001 to 1.027; p = 0.03), while elevated levels of RIPK3 were not associated with such a risk. The current findings suggest that in patients with normal levels of troponin I prior to PCI, serum levels of RIPK3 and troponin I can serve as a potential marker to identify patients with a decreased LVEF, thus possibly allowing an early shift to more intensive therapy.

9. Adjuvant Treatment in Colon Cancer *Ivan Shterev Donev¹, Nikola Kolev², Valentin Ignatov², Anton Tonev^{2*}, Aleksandar Zlatarov², Assia Konsoulova⁴, Elitza Entcheva³, Plamena Drenakova² and Krasimir Ivanov² 2016*
<http://dx.doi.org/10.5772/64101>

Worldwide, more than 1 million people develop colorectal cancer (CRC) annually. CRC is a major health problem in the Western world and the second most common cause of cancer mortality. To improve performance, the role of chemotherapy for CRC has increased dramatically over the last decade. The vast majority of CRC patients now receive chemotherapy with multiple agents that are currently approved for the treatment in the appropriate setting. However, it is a complex process to select the optimal chemotherapy for each patient and practice evidence gap is still a problem. Some guidelines for the treatment of CRC have been developed to promote the standardization of CRC treatment. Postoperative, or “adjuvant,” systemic therapy has become standard for stage III colon cancer. Adjuvant therapy should also be strongly considered in stage II patients. It is generally recommended for any medically fit patient with stage II cancer with unfavorable factors. The hypothesis that the antitumor activity of the combination agent, including oxaliplatin, irinotecan, bevacizumab, cetuximab in metastatic cure rates, would result in increased adjuvant proved to be often wrong. Although new drug development takes years, targeted drug use can occur more quickly with advanced tests and will be a focus of future work. In addition, efforts will focus on identifying biomarkers that predict response to systemic therapy so that tailored therapy can be initiated. The future of oncology will come with the better understanding of the biology and genetics of the tumor and its host. This will help to develop tailored approach to the patients, including more specific systemic therapy, aimed at molecular targets of the malignant tumor, thus reducing the negative effects. At that time, the treatment

of oncological diseases will experience a new era, comparable to the introduction of antibiotics.

10. *Levels of miR-17, miR-21, miR-29a and miR-92 as recurrence markers after adjuvant chemotherapy in Nx lymph node status colon cancer patients* N.V. Conev, A. Konsoulova-Kirova, J. Kashlov, I. Tonev, I. Donev *Ann Oncol* (2016) 27 (suppl_6): 125P. DOI:<https://doi.org/10.1093/annonc/mdw363.73>

The benefit of adjuvant chemotherapy in II and III stage patients with colon cancer (CC) is determined in large-scale trials. Despite the surprisingly large number of Nx cases (less than 12 lymph nodes examined), the potential benefit of adjuvant chemotherapy is not known and there are only a few biomarkers that could predict recurrence of the disease. Recent evidence suggests that microRNAs are important cancer markers. CC patients (n = 18) with Nx lymph node status, who have undergone radical surgery and have completed 5-FU based adjuvant chemotherapy were included. Serum after last cycle of adjuvant chemotherapy was obtained and patients were followed-up regularly for 1 year of follow-up. Real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction was used to measure the expression levels of miRNAs (miR-17, miR-21, miR-29a and miR-92), in the patients' samples and in 7 healthy individuals, as a control group. Our study suggests that the expression levels of serum miR-21, miR-17, and miR-92 in patients with CC who underwent radical surgery and adjuvant chemotherapy may have diagnostic value for differentiating between recurred and non-recurred patients.

11. *Transient PI3K inhibition induces apoptosis and overcomes HGF-mediated resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer* S Yano, IS Donev, W Wang, Q Li, S Takeuchi, T Yamada *Cancer Research* 71 (8 Supplement), 1730-1730

Purpose: Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs), such as gefitinib and erlotinib, show favorable response to EGFR mutant lung cancer. However, the responders acquire resistance almost without exception. We recently reported that hepatocyte growth factor (HGF) induces EGFR-TKI resistance by activating MET which restores downstream MAPK-ERK1/2 and PI3K-Akt signaling. The purpose of this study was to determine whether inhibition of PI3K, a downstream molecule of both EGFR and MET,

could overcome HGF-mediated EGFR-TKI resistance in EGFR mutant lung cancer cells, PC-9 and HCC827. Experimental Design: We explored therapeutic effect of a class I PI3K inhibitor PI-103 on HGF-induced EGFR-TKI resistance in vitro and in vivo. Results: Unlike gefitinib or erlotinib, continuous exposure with PI-103 inhibited proliferation of PC-9 and HCC827 cells, even in the presence of HGF. On the other hand, in gefitinib-resistant xenograft model using PC-9 cells mixed with HGF high producing fibroblasts, PI-103 monotherapy did not inhibit tumor growth. However, PI-103 combined with gefitinib successfully regressed gefitinib-resistant tumor. In vitro experiments considering short half life of PI-103 reveal that transient exposure of PI-103 combined with gefitinib caused sustained inhibition of Akt phosphorylation, but not ERK1/2 phosphorylation, resulting in induction of tumor cell apoptosis even in the presence of HGF. Conclusions: These results indicate that transient blockade of PI3K-Akt pathway by PI-103 and gefitinib could overcome HGF-mediated resistance to EGFR-TKIs by inducing apoptosis, further suggesting usefulness of double blockade of PI3K-Akt signaling at upstream (EGFR) and downstream (PI3K) for more successful treatment of EGFR mutant lung cancer.

12. *Therapeutic effect of HGF inhibitors against HGF-induced EGFR-TKI resistance in lung cancer harboring EGFR mutations* S Yano, W Wang, Q Li, IS Donev, S Takeuchi, T Yamada, K Matsumoto, *Cancer Research* 70 (8 Supplement), 626-626

Introduction: Non-small cell lung cancer (NSCLC) with epidermal growth factor receptor (EGFR)-activating mutations (EGFRmu) responds favorably to the EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs), gefitinib or erlotinib. However, the responders invariably acquire resistance to EGFR-TKIs. Two mechanisms, second-site point mutation that substitutes methionine for threonine at position 790 (T790M) in EGFR and amplification of MET proto-oncogene, which contribute to acquired resistance to EGFR-TKIs have been reported. As the third mechanism, we recently demonstrated that hepatocyte growth factor (HGF), specific ligand for MET, induced resistance to EGFR-TKIs. The purpose of this study was to examine whether inhibitor of HGF could overcome resistance to EGFR-TKIs induced by HGF in NSCLC cells with EGFRmu.

Results: HGF induced the resistance to gefitinib and erlotinib in lung cancer cells (PC-9 and HCC827) with EGFRmu, by restoring Akt phosphorylation through MET but not EGFR or ErbB3. These NSCLC cells also became

resistant to EGFR-TKIs when co-cultured in vitro with HGF-producing fibroblasts and co-injected into SCID mice. Importantly, combined use of gefitinib plus anti-HGF antibody or the HGF antagonist, NK4 successfully overcame the fibroblast-induced EGFR-TKI resistance both in vitro and in vivo.

13. *Hepatocyte growth factor induces resistance to an irreversible epidermal growth factor receptor inhibitor in EGFR-T790M mutant lung cancer T Yamada, K Matsumoto, IS Donev, Y Sekido, Y Nishioka, S Sone, Cancer Research 70 (8 Supplement), 629-629*

Epidermal growth factor receptor (EGFR)-activating mutations, such as deletion in exon 19 and L858R point mutation in exon 21, were found in non-small cell lung cancer and associated with favorable response to the reversible EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKI), gefitinib and erlotinib. However, almost all NSCLC patients with EGFR mutations who show response to reversible EGFR-TKI ultimately develop resistance to these agents.

Recently, several mechanisms were reported to induce acquired resistance to reversible EGFR-TKI for non-small cell lung cancer with EGFR-activating mutations. Of these, the secondary T790M mutation in EGFR is the most frequent cause of acquired resistance to the reversible EGFR-TKI.

Irreversible EGFR-TKIs are expected to overcome the reversible EGFR-TKI resistance of lung cancer harboring T790M mutation in EGFR. However, it is clear that resistance may also develop to this class of inhibitors. We showed previously that hepatocyte growth factor (HGF) induced gefitinib resistance of lung cancer harboring EGFR-activating mutations.

Here, we investigated whether HGF induced resistance to the irreversible EGFR-TKI, CL-387,785, in lung cancer cells (H1975) harboring both L858R activating mutation and T790M secondary mutation in EGFR.

Conclusions: These findings indicate that HGF inhibitor, such as anti-HGF antibody and NK4, may be useful for controlling HGF-induced EGFR-TKI resistance in NSCLC harboring EGFRmu in humans

14. *International scientific communications in the field of colorectal tumour markers, WJGS 2017, Krasimir Ivanov, Ivan Donev*

AIM: To analyze scientometrically the dynamic science internationalization on colorectal tumour markers as reflected in five information portals and to outline the significant journals, scientists and institutions.

METHODS: A retrospective problem-oriented search was performed in *Web of Science Core Collection (WoS)*, *MEDLINE*, *BIOSIS Citation Index (BIOSIS)* and *Scopus* for 1986-2015 as well as in *Derwent Innovations Index (Derwent)* for 1995-2015. Several specific scientometric parameters of the publication output and citation activity were comparatively analyzed. The following scientometric parameters were analyzed: i) annual dynamics of publications; ii) scientific institutions; iii) journals; iv) authors; v) scientific forums; vi) patents - number of patents, names and countries of inventors, and vii) citations (number of citations to publications by single authors received in *WoS*, *BIOSIS Citation Index* and *Scopus*).

RESULTS: There is a trend towards increasing publication output on colorectal tumour markers worldwide along with high citation rates. Authors from 70 countries have published their research results in journals and conference proceedings in 21 languages. There is considerable country stratification similar to that in most systematic investigations. The information provided to end users and scientometricians varies between these data-bases in terms of most parameters due to different journal coverage, indexing systems and editorial policy. The lists of the so-called 'core' journals and most productive authors in *WoS*, *BIOSIS*, *MEDLINE* and *Scopus* along with the list of the most productive authors - inventors in *Derwent* present a particular interest to the beginners in the field, the institutional and national science managers and the journal editorial board members. The role of the purposeful assessment of scientific forums and patents is emphasized.

CONCLUSION: Our results along with this problem-oriented collection containing the researchers' names, addresses and publications could contribute to a more effective international collaboration of the coloproctologists from smaller countries and thus improve their visibility on the world information market.

15. *Correlation Between Ki-67 Index, World Health Organization Grade and Patient Survival in Glial Tumors With Astrocytic Differentiation, George S. Stoyanov , Deyan L. Dzhenkov , Martina Kitanova , Ivan S. Donev , Peter Ghenev 2017 Cureus*

Materials and methods

A retrospective non-clinical approach to patient selection was chosen for the aim of the study. A total of 47 patients diagnosed and treated for CNS tumors with astrocytic differentiation in the St. Marina University Hospital, Varna, Bulgaria, from September 2012 to July 2016 were retrospectively included into the study cohort. The cases were tested for their immunohistochemistry (IHC) reaction with Ki-67 after their original Hematoxylin and Eosin and IHC slides were reviewed by a single author and blind coded. The Ki-67 positivity index of the nuclei was estimated after digitalization of the slides and calculated by the ImmunoRatio automated counting tool. The individual Ki-67 index and patient survival of each case were statistically compared.

Results

The histopathological groups, after the blind Ki-67 index automated calculation was carried out, revealed no WHO grade I, two WHO grade II samples, four WHO grade III samples and 41 WHO grade IV cases, and these were included in the analysis. The two samples of WHO grade II astrocytic tumors had a mean Ki-67 index of 25%; however, they comprised tumors with an individual index of 43% and 7%, both individual values with a highly unlikely index for this group. The four samples of WHO grade III had a mean Ki-67 index of 4%, standard deviation ± 2.16 ($p > 0.05$), with the lowest index being 1% and the highest one being 6%. Both WHO grade II and III did not include enough samples to allow for a proper statistical analysis of patient survival. The 41 GBM cases had a mean Ki-67 index of 17.34%, standard deviation ± 10.79 ($p > 0.05$).

Conclusions

Based on the reported results, the mean Ki-67 percentage of positive nuclei in GBM tumor samples cannot be used to estimate the survival of patients. However, Ki-67 remains a valuable IHC pathological tool.

16. *Rare Case of Ameloblastoma with Pulmonary Metastases, Ivan Valkadinov Nikolay Conev, Dian Dzhenkov, Ivan Donev 2017 Intractable & Rare Diseases Research*

Ameloblastoma is a rare low-grade odontogenic tumor of epithelial origin. The World Health Organization (WHO) has defined malignant ameloblastoma (MA) as a histologically benign-appearing ameloblastoma that has metastasized. Treatment of the primary ameloblastoma usually consists of radical excision of the tumor and adjuvant radiotherapy. Chemotherapy should be initiated in metastatic disease due to its indolent clinical course.

We present a 43-year-old woman who in 2006 was admitted to a hospital with a large, neglected for years formation, involving the neck and left mandible. She was diagnosed with a primary ameloblastoma of the mandible. Surgical resection was then performed, followed by adjuvant radiotherapy. In 09.2016 she was admitted again, the findings were consistent of a metastatic disease from the previously known ameloblastoma in the lungs. The patient was evaluated for further chemotherapy treatment with 6 cycles of Cisplatin 100 mg/m², day 1, 5-FU 1000 mg/m²/day, day 1-4 (3w) and Pegylated filgrastim.

Our case represents the classical course of a rare disease, which revolve around the common presentation of malignant ameloblastoma. We consider this case a valid MA incidence, relying on the typical histology, observed from the lung biopsy, immunohistochemical profile of the tumor, typical clinical features and history of a previous primary disease.

17. RIPK3 Expression as a Potential Predictive and Prognostic Marker for 5-fluorouracil based Chemotherapy in Metastatic Colon Cancer Patients Ivan Donev, M. Bogdanova et al. 2017

Objective:

Colorectal cancer (CRC) is one of the primary causes of cancer related deaths. 5-fluorouracil (5-FU) therapy remains the cornerstone of treatment in these patients and resistance to it represents a major obstacle. Therefore, finding new predictive and prognostic markers is crucial for improvement of patient outcomes. Recently a new type of programmed cell death was discovered – necroptosis, which depends on receptor interacting protein 3–RIPK3.

In-vitro and in-vivo data showed that necroptotic cell death is an important effector mechanism of 5-FU-mediated anticancer activity.

Methods:

Immunohistochemical staining for RIPK3 in primary tumors expression was performed.

Patients:

Colon cancer patients (n=74) with metastatic stage were included in this study and all were treated with first-line 5-FU based chemotherapy.

Results:

The progression free survival (PFS) for the low expression group of RIPK3 was 5.6 months (95% CI, 4.49-6.8) vs 8.4 months (95% CI, 6.49-10.3) of the group with high expression (log rank test $p=0.02$). Moreover, patients with high expression of RIPK3 were associated with lower risk of disease progression HR 0.61 (95% CI, 0.38-0.97; $p=0.044$). Patients with high expression levels of RIPK3 also had significantly longer mean overall survival (OS) 29.3 months (95% CI, 20.89-37.8) as compared to those with low expression - 18.5 months (95% CI, 15.06-21.9) (log rank test $p=0.036$). In addition, in the univariate analysis high level of RIPK3 expression was associated with a longer OS HR 0.59 (95% CI, 0.35-0.98; $p=0.044$).

Conclusion:

The current study suggests that RIPK3 is a novel promising marker, whose predictive and prognostic value can be evaluated by future studies.

18. *Protective Role of S-Adenosylmethionine Against Fructose-Induced Oxidative Damage in Obesity* Kameliya Zh Bratoeva, Mariya A Radanova, Albena V Merdzhanova, Ivan S Donev 2017 *Journal of Mind and Medical Sciences*

Abstract: It has been shown that S-adenosylmethionine (S-AMe) stimulates glutathione synthesis and increases cell resistance to the cytotoxic action of free radicals and proinflammatory cytokines **The aim** of this study was to determine the effect of S-adenosylmethionine on the oxidative stress in adipose tissue in a model of fructose-induced obesity. **Methods:** The study was performed on male Wistar rats divided into 3 groups: control, fructose fed (HFD) (35%, 16 weeks) and HFD + SAM-e (20 mg/kg). We examined the changes in the ratio of retroperitoneal adipose tissue weight / body weight; levels of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in the retroperitoneal adipose tissue as well as serum levels of GSH and TNF- α . **Results:** Significant increases in the retroperitoneal adipose tissue, MDA and serum TNF- α were identified as well as decreased tissue and serum levels of GSH in rats fed with a high-fructose

diet as compared with the control group. In the group fed with HFD and S-AMe, we found significant reduction in the retroperitoneal adipose tissue, decreased levels of MDA and serum TNF- α as well as increased tissue and serum levels of GSH as compared with the group only on HFD. **In conclusion**, our results show that fructose-induced obesity causes oxidative stress in hypertrophic visceral adipose tissue. The administration of S-AMe improves the antioxidative protection of adipocytes, reduces oxidative damage, excessive accumulation of lipids and inflammation.

II Монографии

1.Таргетна и системна терапия при белодробен карцином- от молекулярната биология до клиничните проучвания

В монографията изключително подробно са разгледани основните черти на таргетната терапия- нова обещаваща група лекарства от молекулярна гледна точка. Обсъждат се механизмите за възникване на лекарствена резистентност и възможностите за преодоляването им. Разгледани са и новите групи лекарства, които са обект на клиничните изпитания в момента и скоро ще навлязат в клиничната практика, което допълнително прави тази монография актуална. Не на последно място се разглежда подробно и класическата цитотоксична химиотерапия с всичките и предимства и недостатъци.

Монографията е задълбочен анализ на наличните до момента доказателства за мястото на таргетната и системна терапия в основната цел на медицинската онкология - да се увеличи общата преживяемост на болните с напреднал карцином на белия дроб. Това е задълбочен научен

труд, отразяващ както историческите аспекти на развитието на лечението на болните с белодробен карцином, така и описващ най-новите тенденции в научните разработки по темата.

2.Adjuvant Treatment in Colorectal Cancer

Over the past decade, the prevention and treatment of colorectal cancer has rapidly evolved. To implement evidence-based care a multidisciplinary team is required including surgeons, radiation and medical oncologists, as well as gastroenterologists, radiologists, pathologists, and primary care physicians. Unfortunately, despite improvements in surgical techniques and systemic therapy CRC still remains the number two cause of cancer mortality in North America. This study evaluated the usefulness of oncology assess the standardization of CRC chemotherapy and the results at the rate of recurrence and survival. The methodology has enabled the understanding of patterns used for CRC chemotherapy around the world. The results showed significant differences in patterns between countries, regions and institutions. In addition, the actual use of CRC chemotherapy may depend on the health policies of the respective governments. Schemes used are in line with the recommendations of the new guidelines, with the exception of hospital characteristics depended specialization. In first-line chemotherapy for stage IV CRC, general hospitals still favored the use of oral fluoropyrimidines, such as UFT / LV and S-1. However, the differences between general hospitals, cancer centers and university hospitals has decreased after the revision of the guidelines. In adjuvant chemotherapy for stage III CRC, cancer centers and general hospitals used similar patterns, but those that are used in different hospitals. Measures and indicators are greatly needed to evaluate and improve the quality of cancer treatment. Using market research to develop indicators for the standardization of care against cancer is a new methodology. Data not only showed evidence practice gap, but also the growing standardization of CRC affected by chemotherapy treatment guidelines. Methodology indicates a lack of standardization in the care of CRC. Oncology market research also has the potential for cost-effectiveness analyzes, such as sales data for each agent can be evaluated using the analysis system of oncology. Efforts to improve screening utilization by the general population are required to improve mortality and morbidity from CRC. Research advances in medical oncology will result in better understanding of tumor genetics and biology of the host. This will allow systemic therapy to be tailored to specific tumor molecular targets, while sparing

toxicity to normal tissue. With these improvements in CRC care, the disease will be treatable with tailored medical treatments that are effective with low toxicity.

3.ОНКОЛОГИЯ Клинични проучвания и най-популярната таргетна терапия, МУ Варна 2015 ISBN 978-619-7137-66-8

С развитието на науката през годините са придобити много данни, посветени на клиничните проучвания, които се концентрират главно върху рандомизирани фаза III проучвания. В тази монография (282 старници) се предоставя балансиран поглед върху клиничните проучвания, като се стреми да се подобри клиничното мислене и разбиране сред по-широка професионална аудитория. За разлика от други книги, които се фокусират единствено и само върху рандомизирани клинични фаза III проучвания, в тази монография са включени теми, които се появяват по-рано в традиционната парадигма, например предклиничен анализ на лекарства, проектиране на фаза I и фаза II клинични проучвания. Изминали са само 150 години, откакто ракът е признат за болест на клетките и само шест десетилетия от въвеждането на рандомизираните клинични проучвания. Днес, стандартното лечение за много злокачествени заболявания е вече мултимодално и често включва молекулярни маркери или таргетна терапия. В монографията е наблегнато на нуждата да се развият нови методологии за клиничните проучвания, позволяващи най-ефикасното изследване на нови лекарствени средства. Освен темата за клинични проучвания, тук подробно се разглежда възможностите на различните модерни молекулярни методи необходими за избора на съвременната таргетна терапия. В тази монография са разгледани подробно проблемите и бъдещите насоки в най-популярната таргетна терапия в онкологията. Разгледани са и новите групи лекарства, които са обект на клинични изпитания в момента и скоро ще навлязат в клиничната практика, което допълнително прави тази монография актуална