

Резюмета
на публикациите на д-р Милко Божидаров Мирчев, дм
за участие в конкурс за академична длъжност „доцент”
в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт,
професионално направление 7.1 Медицина,
научна специалност „Гастроентерология“, обявен в ДВ бр. 45/ 17.06.2022
г. за нуждите на Университет „Проф. Д-р Асен Златаров“ – гр. Бургас

Представени са обобщения на дисертационния труд, монографичния труд и 21 пълнотекстови публикации.

А. Дисертационен труд за присъждане на научна и образователна степен „доктор“

М. Мирчев. „Клинично значение на микросателитната нестабилност и промоторното метилиране на ДНК при колоректален карцином“ , Варна 2011 г.

В развитите страни с прилагани скринингови програми за ранно откриване на колоректалния карцином (КРК), честотата му показва склонност към задържане и дори леко понижение. В България според епидемиологичните данни е налице непрекъснато нарастване в заболяемостта и смъртността от КРК. От молекулярно-биологична гледна точка за патогенезата на КРК са отговорни хромозомната нестабилност, микросателитната нестабилност и нарушеното ДНК метилиране. В генетичен аспект КРК се подразделя на спорадичен (без обремененост с карцином), фамилен (около 20%), а между 1% и 5% от лицата попадат в групата унаследяващия се с висока пенетрантност синдром на Линч.

На базата на спомените литературни данни целта на дисертацията бе да се проучи връзката между молекулярните промени в туморите и клиничната и морфологична характеристика на болните с КРК, дължащ се на микросателитна нестабилност и промоторно метилиране на четири гена с различна функция: human MutL Homolog 1 - hMLH1, Cyclin-Dependent Kinase

2A - CDKN2A(p16INK), Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase 3 - TIMP3 и Transmembrane Protein containing EGF and Follistatin domains - TPEF/HPP1.

Изследвани бяха 189 пациенти с КРК (98 лица от България, 53 лица от Германия и 38 пациента със синдром на Линч). Освен стандартните клинични методи, абдоминална ехография, лабораторни, видеоендоскопски и патоморфологични изследвания, допълнително бяха приложени имунохистохимично изследване експресията на hMLH1 и CDKN2A(p16INK), и съвременните методи на ДНК екстракция, анализ на микросателитна нестабилност, бисулфитна модификация на ДНК, полимеразоверижна реакция (PCR), хоризонтална електрофореза в агаров гел и пиросеквениране, чрез които се установи метилиране на споменатите гени.

Сред българската група болни с КРК установихме, че 1% отговарят на Амстердам II критериите за СЛ, 77% са спорадични, а 22% са с фамилна обремененост с карцином. Сред тях най-чести бяха родственици с КРК, следвани от карцином на простатата. Общо 13% от пациентите отговаряха на Bethesda критериите за изследване на МСН.

Честотата на МСН-В сред българската група бе 15%, в 1% от тях бе налице МСН-Н. Честотата на МСН сред сред болните със СЛ бе 100%. Сред отговарящите на Bethesda критериите МСН открихме в 31%.

Метилиране на hMLH1 гена установихме в 21,6% от случаите. Туморите с МСН показаха сигнификантно по-често метилиран hMLH1 спрямо микросателитно стабилните (43% спрямо 11%). Промоторът на CDKN2A (p16INK) бе метилиран в 44,4% от карциномите, TIMP3 – в 49%, а TPEF/HPP1 – в 84,7%.

Все повече се налага схващането, че съществува нискостепенно метилиране, което е с неясна функция и не е способно да блокира генната функция. Използваният от нас количествен метод (пиросеквениране) определи прагови нива съответно 26% за hMLH1 и 18% за CDKN2A (p16INK), над които не се наблюдава експресия на протеините.

МСН бе установена при млади (<50 г.) или възрастни болни (>70 г.) с проксимална локализация на карциномите, ниска степен на диференциация, наличие на слузообразуване, лимфоцитна реакция в туморите и стадий Т4 по TNM класификацията.

Високостепенно метилиране на hMLH1 срещаме по-често сред МСН карциноми с проксимална локализация, показващи наличие на муцин, при възрастни пациенти и в стадий Т4 по TNM класификацията. Високостепенно метилиране на CDKN2A (p16INK) бе сигнификантно по-често сред възрастни болни с ниска степен на диференциране на КРК. Високостепеннометилиране на TIMP3 асоциирахме с проксимално разположени карциноми, МСН, лимфоцитна реакция в тумора (ЛРТ) и продукция на муцин. Туморите с липса на далечни метастази показаха тенденция към по-ниска честота на метилиране на TIMP3 в сравнение с тези с метастази в черния дроб. Не наблюдавахме зависимост между метилирането на TREF/HPP1 и някои от изброените клинично-морфологични показатели.

CIMP(+)-фенотипът, т.е. едновременното метилиране на няколко гена, се установи в 9% от лицата с КРК. Той се среща по-често в напреднала възраст, проксимална локализация на карциномите, ниска степен на диференциация и стадий Т4.

Случаите със СЛ се характеризират с ранна възраст на диагностициране (под 50 г.), проксимална локализация на карцинома и наличие на ЛРТ. Спорадичните случаи се диагностицират във възраст над 70 г., а при случаите с МСН се наблюдава по-честа дисфункция на hMLH1 гена в сравнение с пациентите със СЛ. Освен това спорадичните КРК показват сигнификантно по-висока честота на високостепенно метилиране на hMLH1, CDKN2A (p16INK) и TIMP3, както и по-висока честота на CIMP(+)-фенотипа в сравнение с останалите две групи. Пациентите с фамилен КРК се диагностицират във възраст, близка до тази на спорадичните и не възникват по пътя на МСН и ДНК метилиране.

Изследвахме 21 двойки нормална лигавица – карцином и установихме, че в 1/3 от пробите от нормална лигавица се открива метилиране. В тях

обаче нивото на метилирането е подпрагово, т.е. недостатъчно за потискане на генната функция, което важи за hMLH1, TIMP3 и TREF/HPP1. CIMP(+)-фенотипът в карциномите се среща и в нормалната лигавица на същите пациенти.

В дебелочревните полипи не открихме наличие на MSH. Обобщеното разглеждане на резултатите установи, че карциномите произлизат от техните прекурсори по сходен патогенетичен път в едва 38% от случаите. В останалите 62% дебелочревните тумори възникват по паралелни механизми, макар и в рамките на един и същи болен.

Наличието на муцин в карциномите е белег за по-ниска преживяемост, а ЛРТ показва тенденция към по-добра прогноза. Наличието на метилиран hMLH1 ген и CIMP(+)-фенотип се асоциира с по-лоша прогноза. Пациентите, чиито тумори са микросателитно стабилни, имат по-висока преживяемост ако се подложат на адювантна химиотерапия в сравнение с тези, при които е извършена само хирургическа резекция. Откриване на MSH в КРК увеличава риска за поява на метакронен КРК.

Считаме, че проведените от нас изследвания показват важността на MSH и промоторното метилиране в патогенезата на КРК и нуждата от рутинното им изследване с оглед индивидуализиране на подхода при всеки болен с КРК. Хирургията и наличната към момента химиотерапия, включително и биологичната, не са достатъчни за лечението на болните с дебелочревни неоплазии. Въвеждат се нови терапевтични стратегии, една от които е например имунотерапията. Налице е рандомизирано проучване, в което е демонстрирано, че активна специфична имунотерапия с автоложни туморни клетки и бацилът на Calmette-Guérin са допринесли в значителна степен за адювантното лечение на КРК в стадий II. В бъдеще е възможно като допълнение към наличното лечение при болни с КРК да се добави и медикаментозно повлияване на метилирането. Засега субстанцията 5-azacytidine е одобрена за лечение на миелодиспластичен синдром в хематологията.

Б. Монография

М. Мирчев. Наследствени неопластични синдроми в гастроентерологията. Медицински университет, Варна, 2015 г. 139 стр.

В монографията се разглеждат генетиката, клиничната изява, диагностиката, подхода към пациентите и възможностите за ранното откриване и превенция на наследствените карциноми на стомаха, тънкото, дебелото черво и панкреаса.

1. Наследствен стомашен карцином

Наследственият дифузен стомашен карцином (НДСК) се установява в до 3% от пациентите със стомашен карцином. Отговорен ген е *CDH1*, който кодира протеина Е-кадхерин, участващ в адхерентните връзки между епителните клетки. Характерно за синдрома е формиране на локуси от карцином тип „пръстен с камък“ под макроскопски интактна лигавица, поради което ранната ендоскопска диагностика засега е неуспешна. Диагностицирането му се извършва според специфични критерии на IGCLC. Асоциира се с лобуларен карцином на млечната жлеза при жени. Подходът при носители на мутации на *CDH1* ген е профилактична гастректомия. При установен карцином се извършва стадиране. Прогнозата в ранен стадий е много добра, но постоперативно се развиват малабсорбция, дъмпинг синдром, дефицити на витамини и микроелементи, стриктури и др., които налагат съответното лечение.

2. Наследствен карцином на панкреаса

Панкреасният аденокарцином (ПА) е заболяване, чиято 5 г. преживяемост е под 5%. Откриването на лицата с фамилен панкреасен аденокарцином (ФПА), чиято честота е около 10%, е една от възможностите за подобряване на прогнозата. В патогенезата му са нарушени 12 различни пътища на сигнална трансдукция, но не са известни конкретните генни мутации. Дефинирани са пренеопластичните лезии, даващи начало на инвазивния рак: IPMN, MCN и PanIN. Доказана е асоциацията между фамилната анамнеза, тютюнопушенето и ФПА. От скрининговите методи най-

обещаващ е ендоскопският ултразвук, който може да долови прекурсорни лезии, хетерогенност на паренхима, хиперехогенни фокуси и хипоехогенни нодули. Препоръчително е изготвяне на регистър на пациенти с ФПА. Единствената ефективна превенция е преустановяването на тютюнопушенето.

3. *Фамилна аденоматозна полипоза (ФАП)*

Представлява автозомно-доминантно унаследяващ се синдром с почти 100% пенетрация, дължащо се на мутации в APC гена, разположен в локус 5q21. Най-често се откриват делеции или „missense”, “frameshift” или “nonsense” мутации. Налице са генотипно-фенотипни корелации. Децата на засегнатите имат 50% риск за унаследяване на мутация. В 20% се установяват de novo мутации. Аденомите се появяват в края на детството. Засегнати са дебелото черво, дуоденума, стомаха, йеюнума и илеума. Проблем представлява дезмоидната болест, наблюдават се и екстраинтестинални прояви. Уместно е формиране на регистри за пациенти с ФАП. Генетичното изследване включва изследване за мутации в APC гена с последващо скриниране на всички роднини с повишен риск. Пациентите подлежат на клинично и ендоскопско проследяване. Колектомията се извършва между 14-та и 18-та г. При запазване на ректума се провежда флексибилна сигмоидоскопия на всеки 6 месеца до 1 г. с отстраняване на всички полипи над 5 мм. Комбинацията от celecoxib и diflouromethylornithine редуцира броя на полипите в по-голяма степен отколкото самостоятелното им приложение. Поведението при полипи на дуоденума е според класификацията на Spigelman.

4. *МҮН-асоциирана полипоза*

Представлява дебелочревна аденоматозна полипоза, дължаща се на мутациите в гена МҮН. Наблюдават се полипи в стомаха и дуоденума, както и карциноми: в стомах, дуоденум, млечната жлеза, щитовидната жлеза, остеоми, дентални кисти, пиломатрикоми, тумори на себацейните жлези и петна café-au-lait. При съмнение за синдрома се изследва за мутации на МҮН-гена, налице са етнически различия. Рискът за карцином при

хомозиготна или двойна хетерозиготна мутация е почти 100%. При наличие на голям брой полипи или дисплазия се препоръчва профилактична колектомия. Поведенето при полипи на горния гастроинтестинален тракт е подобно на ФАП.

5. *Синдром на Линч*

Синдромът на Линч (СЛ), се дължи на мутация в един от гените на MMR системата: MLH1, MSH2, MSH6 или PMS2. Честотата му е около 1-3 % от всички случаи с КРК. Сред българското население е открита специфична делеция. Характерна особеност за СЛ е микросателитната нестабилност, която се открива и при спорадичните КРК, при които се наблюдава хиперметиране. Характерни за СЛ са карциномите на дебелото черво, ендометриума, яйчниците, стомаха, пикочните пътища, мозъка, тънкото черво, жлъчните пътища, мозъчни тумори, кератоакантоми и аденоми на себацейните жлези на кожата. Прогнозата е по-добра в сравнение със спорадичните карциноми, като туморите са нечувствителни към лечение с 5-fluorouracil. За диагностициране са изработени Амстердамските и Bethesda критерии. Всяко лице със СЛ или с повишен риск подлежи на клинично и ендоскопско проследяване. Тютюнопушенето, повишеният BMI и консумацията на fast food повишава риска от КРК, а аспиринът, плодовете и фибрите го намаляват. Според последните препоръки всички пациенти с КРК и ендометриален карцином трябва да се изследват за дисфункция на MMR системата.

6. *Синдроми с хамартоматозна полипоза*

Характеризират се с хамартоматозни полипи по хода на гастроинтестиналния тракт и включват: синдромът на ювенилна полипоза (СЮП), синдромът на Peutz-Jeghers (PJ) и синдромът с PTEN-хамартоматозни тумори (СРХТ). Отговорни гени са съответно BMPR1A, SMAD4 и ENG1; STK11; PTEN. Пациентите със СЮП имат риск за карцином на колона, стомаха, панкреаса и йеюнума. При синдрома на PJ има риск за малигнена дегенерация на млечните жлези, дебелото черво, панкреаса и стомаха. СРХТ се характеризира с множествени хамартоми, мукокутанни лезии,

макроцефалия и увеличен риск за лезии в млечните жлези, щитовидната жлеза и ендометриума. Диагностика се поставя чрез специфични критерии. Налице са генетични тестове за съответните мутации с последващо скриниране на останалите родственици с повишен риск. Пациентите подлежат на клинично и ендоскопско проследяване. Хирургичното лечение е основно поради повишения риск от карцином.

В. Пълнотекстови публикации (21 броя)

Публикации и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Scopus; Web of Science)

1. **M. Mirchev, I. Kotzev, P. Kahl, R. Buettner. Quantitative analysis of promoter methylation in patients with colorectal cancer. Gut 2007;56(3):A45.**

До скоро промоторното метилиране при колоректалните карциноми (КРК) е било изследвано предимно чрез качествени методи. Пиросеквенирането е нова технология, позволяваща чувствително и точно определяне на ДНК метилирането. Цел: количествен анализ на промоторното метилиране на 4 гена: MLH1, p16, TIMP3 и TPEF и сравняването им с определени клинично-патологични параметри на туморите. Методи: екстракция на ДНК от прясно замразени проби и от парафинови блокчета от 169 пациента с КРК, 13 полипа и 20 проби нормална тъкан от същите пациенти, която впоследствие бе подложена на бисулфитна модификация и PCR със специфични праймъри на 4те гена. Предварително бе събрана информация относно наличието на микросателитна нестабилност (МСН), стадия по TNM и хистологията. За част от случаите бе налична информация за мутации на mlh1 гена. Чрез пиросеквениране бе определено количествено нивото на промоторното метилиране. За mlh1 и p16 бе проведено имунохистохимично изследване (ИХХ). Резултати: Наблюдавахме различни нива на промоторно метилиране на споменатите 4 гена. Високи нива на метилиране на mlh1 бяха наблюдавани при възрастни пациенти (средна

възраст 71 г.), докато по-ниски нива, макар и не водещи до загуба на протеинова експресия, бяха характерни за млади пациенти (средна възраст 57 г.)($p < 0.03$). В един случай установихме едновременно мутация на mlh1 и високостепенно метилиране. Налице бе обратна корелация между нивото на метилиране на p16 и неговата протеинова експресия при ИХХ (Remele score). Високите нива на метилиране на p16 се асоциираха с напреднал стадий на туморите – T4 и наличие на лимфновъзлови и чернодробни метастази ($p < 0.05$). Високи нива на метилиране на TIMP3 бяха установени при възрастни пациенти. В туморите без МСН TIMP3 метилирането бе асоциирано само с дълбочината на туморната инвазия в чревната стена ($p < 0.02$). В случаите с МСН това бе асоциирано с туморната прогресия ($p = 0.05$). В туморите с МСН едновременното метилиране на p16 и TIMP3 бе по-често – 52% в сравнение с тези без МСН -15% ($p < 0.01$). Метилирането на TPEF бе налично повсеместно в карциномите, а в 8 случая, в които бяха налице синхронни аденоми, нивото на метилиране бе еднакво в полипите и карциномите. Туморите с метилиране и на 4те гена бяха по-възрастни, с проксимална локализация и наличие на МСН. Заключение: Промоторното метилиране е количествен феномен и засяга различно гените. Само високите нива на метилиране на Mlh1 водят до генна инактивация. Пациентите обикновено са в напреднала възраст. Различните нива на метилиране на p16 могат да се обяснят с количеството клетки, които съдържат метилирана ДНК и показват намалена протеинова експресия. Високите нива на метилиране на TIMP3 в тумори в авансирал стадий може да се дължи на натрупване на агресивни туморни клетки. Метилирането на TPEF обаче вероятно е ранно събитие и може да се използва като маркер за канцерогенеза поради присъствието му в пренеопластични лезии.

2. Kotzev I, Mirchev M, Manevska B, Ivanova I, Kaneva M. Risk and protective factors for development of colorectal polyps and cancer (Bulgarian experience). Hepatogastroenterology 2008;55(82-83):381-387.

Въведение и цели: Колоректалният рак е на трето място по заболяемост от неопластични заболявания за региона на Варна. Цел на настоящото

проучване е да се определи панел от рискови и протективни фактори за колоректални полипи и развитие на колоректален рак.

Пациенти и методи: 166 болни с полипи на дебелото черво и 107 болни с колоректален рак за анкетиран и изследвани клинично, ендоскопски и хистологично. Използва се логистичен регресионен анализ за определянето на свързаността между диетичните навици, начина на живот и риска за колоректални полипи и рак. Дефинираните фактори ще формулират стратегия за превенция.

Резултати: Установихме, че пържени, консервирани и гриловани меса, употребата на животински мазнини, захар и наднорменото тегло са позитивно асоциирани с наличието на колоректални полипи. Обратно, консумацията на плодове, зеленчуци, ориз и пълнозърнесто брашно, зелен чай, вегетариански тип хранене, приемът на млечни продукти, риба, агнешко, заешко, чесън, приготвяне на храната с варене и минералната вода имат протективен ефект срещу колоректални полипи. Потвърдихме ролята на известните рискови фактори за колоректален рак и установихме асоциираност с *Helicobacter pylori* инфекцията, напредналата възраст, вилонната компонента на аденоматозните полипи и фамилната анамнеза общо за неоплазия и за колоректален рак.

Заключения: Предлагаме следните протективни фактори за колоректален рак: вегетарианска храна; растителни мазнини; живот на село; прием на аспирин; употреба на пектини, риба, плодове и зеленчуци. Рисковите фактори за полипи и рак на дебелото черво се припокриват, действат симултанно на базата на генетична предиспозиция. Комбинирането на ендоскопската полипектомия с корекцията на хранителните навици може да се използва в профилактиката на колоректалния рак

3. M. Mirchev, I. Kotzev, P. Kahl, R. Buettner. Molecular changes in synchronous colorectal polyps and cancers. Gut 2009;58(2):A149.

Въведение: След първоначалното откритие за прогресията на аденомите до карциноми бе установено, че едва 5% от тях имат малигнен потенциал.

Доказано е, че промоторното метилиране е едно от най-честите причини за генна инактивация при колоректалния карцином. Все още обаче не е известно кой полип би малигнизирал.

Цел: Изследване нивата на метилиране на гените *mlh1*, *p16*, *timp3* и *tp53* в синхронни полипи и карциноми с оглед установяване наличието на сходни пътища за тяхното образуване.

Методи: В проучването бяха включени осем двойки синхронни полипи в непосредствена близост до карциномите, единият случай съдържаеше 2 полипа. От всички лезии бяха взети проби и замразени до -50°C с последваща екстракция на ДНК. Последната бе подложена на бисулфитна модификация и PCR на промоторите на *mlh1*, *p16*, *timp3* и *tp53* чрез съответните праймъри. Наличието на метилиране бе изследвано чрез пиросеквениране, което позволява неговото количествено определяне. Всички полипи и карциноми бяха оцветени с H&E и наблюдавани под микроскоп.

Резултати: Всички полипи бяха с тубуларен строеж, а от съответстващите карциноми 4 бяха с ниска степен на диференциация, 4 – с умерена и 1 с висока степен. Метилиране на *Mlh1* не бе установено в нито един полип (0/0), на *p16* - в 78% (7/9), на *timp3* – в 67% (6/9), а на *tp53* в 89% (8/9). Съвпадение в нивото на метилиране между 8те двойки бе установено в 78% за *mlh1*, в 11% за *p16*, в 56% за *timp3* и в 67% за *tp53*. За всеки полип и карцином бе изчислена средна стойност на метилирането на всички 4 гена. Конкордантно метилиране (еднакво или близко) бе установено в 44% от двойките (4/9), дискордантно (разлика в стойността поне 2 пъти) – в 33% (3/9), докато 2 случая (22%) съдържаха разлика в метилирането по-малка от 2 пъти.

Заклучение: Според резултатите ни наличието на синхронни полипи и карциноми не означава еднакви молекулярни механизми дори и при аденоми с еднаква хистология. Това още веднъж показва разнообразието от молекулярни пътища на дебелочревната канцерогенеза дори в рамките на един индивид. Само хистологията не е достатъчна за предсказване на

малигнения потенциал на полипите. За окончателни резултати са необходими изследване на нормална лигавица и по-широк панел, включващ метилирани и мутирани гени.

4. M. Mirchev, P. Kahl, N. Friedrichs, I. kotzev, R. Buettner. DNA methylation in patients with colorectal cancer – association with certain clinical and morphological characteristics and local tumor invasion. Folia Medica 2010;52:22-30.

Цел: Количествено изследване на промоторното метилиране на hMLH1, p16INK, TIMP3 и TPEF при болни с колоректален рак и синхронни полипи, и корелиране с някои клинични белези и морфологични особености.

Методи: От всички тумори и от съответстващата им нормална лигавица бе екстрахирана ДНК. Анализ на микросателитна нестабилност бе извършен чрез използване на 2 мононуклеотидни (BAT 25 и BAT 26) и 3 динуклеотидни маркера (D2S123, D5S346, D17S250) и автоматично секвениране. Количественото определяне на метилирането бе осъществено чрез бисулфидна модификация на ДНК, PCR с използване на биотинилирани праймъри, визуализация чрез 2% агарозна гел електрофореза и пиросеквениране.

Резултати: Високостепенното метилиране на hMLH1 и p16INK се среща при по-възрастни болни (средна възраст 73.8 ± 9.5 г. и 65.7 ± 16.6 г., $p < 0.03$, t-тест). Проксимално разположен

ите тумори са по-често микросателитно нестабилни ($p < 0.05$, тест на Fisher) и с по-високостепенно метилиране на hMLH1, p16INK и TIMP3 ($p < 0.02$, тест на Kruskal-Wallis), а нискодиференцираните – на p16INK ($p < 0.02$, Kruskal-Wallis). Налице бе позитивна корелация между локалната туморна инвазия и степента на метилиране на hMLH1, TIMP3 и CIMP-статуса. Туморите с чернодробни метастази показаха по-ниска степен на метилиране на TIMP3, отколкото тези без системна инвазия ($p < 0.05$, тест на Kruskal-Wallis). В 56% от

случаите с рак на колона и синхронни аденоми бе налице конкорданост в метилирането, а в останалите 44% - дискордантност.

Заклучение: Туморите с микросателитна нестабилност, високостепенно метилиране и CIMP притежават характерни клиничко-морфологични особености. Нивото на метилиране на hMLH1, TIMP3 и CIMP статусът могат да се корелират с локалната туморна инвазия. Повече от една трета от синхронните полипи и карциноми възникват по различен механизъм, макар и в рамките на един и същи пациент.

5. Konstantinova D, Kadiyska T, Sokolova V, Kaneva R, Mirchev M, Savov A, Aleksandrova A, Nedin D, Kostadinov E, Damyanov D, Kremensky I, Mitev V. CHEK2 I157T and colorectal cancer in Bulgaria. J BUON. 2010 Apr-Jun;15(2):314-7.

Цел: Установено е, че унаследените варианти на гена CHEK2 могат да играят роля на алели с ниска пенетрация, предразполагащи към голям брой малигнени заболявания. Съществуват данни, че CHEK2 I157T е свързан с риск от развитие на колоректален карцином (КРК). Поставихме си за цел да изследваме честотата на този вариант на популационно ниво и неговият принос за колоректалната канцерогенеза в България.

Методи: Изследвахме 802 контроли и 343 пациенти с български произход с КРК за наличие на варианта CHEK2 I157T.

Резултати: Хетерозиготни за споменатия вариант бяха 9 от 343 пациента (2.62%, odds ratio/OR=1.0, 95% confidence interval/CI = 0.42 - 2.33, p=0.99% и 21 от 802 контроли (2.62%). По-висока честота бе установена сред пациенти с множествени полипи (2/40, 5%, p=0.28) и не толкова честата муциозна хистология (1/11, 9.09%, p= 0.26).

Заклучение: Според нашите резултати вариантът CHEK2 I157T няма отношение към канцерогенезата на КРК в България, но все пак са

необходими по-мощни проучвания, които биха могли да установят неговата роля по отношение на по-пълното характеризирание на болестта.

6. M. Mirchev, I. Kotzev, P. Kahl, R. Buettner. Role of Microsatellite Instability and CpG Island Methylator Phenotype as Prognostic Factors in Patients with Colorectal Cancer. Gut 2011; 60 (Suppl 3) A308.

Въведение: TNM класификацията си остава основният прогностичен фактор при пациентите с колоректален карцином (КРК). В патогенезата на колоректалния карцином (КРК) са описани поне 3 механизма: на хромозомна нестабилност, микросателитна нестабилност (МСН) и фенотип на метилираните CpG острови (СІМР). Поради това изглежда малко вероятно тумори с различна патогенеза да имат еднаква прогноза.

Цел: Да се оцени влиянието на МСН и СІМР върху прогнозата на болните с КРК

Методи: Проследени са постоперативно в продължение на 5 г. 82 болни. Туморите на всички пациенти са изследвани хистологично. От тумор и прилежащата нормална мукоза е екстрахирана е ДНК и е извършен анализ на микросателитна нестабилност (МСН) чрез стандартен панел от 2 мононуклеотидни (BAT 25, BAT 26) и 3 динуклеотидни (D2S123, D5S346, D17S250) маркера. Метилирането на гените hMLH1, CDKN2A, TIMP3 и TREF/HPP1 е оценено количествено чрез биотинилирани праймърим PCR, електрофореза на 2% агаров гел и пиросеквениране. Събрана бе информация относно възрастта на пациентите, локализацията на туморите по хода на колона и стадия по TNM.

Резултати: МСН бе асоциирана с възрастта на пациентите (млада или напреднала), проксимална локализация на туморите, наличие на муцин, лимфоцитна реакция в тумора (ЛРТ), ниска степен на диференциация и локална туморна инвазия ($p < 0.05$, χ^2 -test). СІМР(+) статусът бе асоцииран с напреднала възраст на пациентите, проксимална локализация на туморите, ниска степен на диференциация и локална туморна инвазия ($p < 0.05$, χ^2 -test). Пациентите с ЛРТ показаха тенденция към по-добра преживяемост: 56.8 ± 5.6

месеца спрямо 47.6 ± 3.2 месеца за тези без инфилтрация ($p=0.19$, Kaplan-Meier test). Преживяемостта на пациентите с наличие на муцин в карциномите бе 35.4 ± 5.4 спрямо 56.3 ± 3.0 за тези без муцин ($p=0.05$, Kaplan-Meier test). Общата преживяемост на пациентите с МСН в туморите бе сходна с тези без МСН (41.0 ± 6.6 месеца спрямо 49.6 ± 3.3 месеца, $p=0.69$, Kaplan-Meier test). Преживяемостта на пациентите с МСН, дължаща се на промоторно метилиране на hMLH1 бе 22.6 ± 23.6 месеца спрямо 49 ± 15.1 месеца за пациентите с МСН и неметилиран ген ($p=0.028$, Kaplan-Meier test). Общата преживяемост на пациентите със CIMP(+) фенотип бе 24.8 ± 23.3 месеца спрямо 40.3 ± 19.7 месеца за CIMP(-) ($p=0.035$, Kaplan-Meier test). Пациентите с тумори без МСН, подложени на адювантна 5-FU базирана химиотерапия показаха по-добра преживяемост спрямо лекуваните само хирургически – съответно 44.2 ± 16.3 спрямо 33.2 ± 22.4 месеца ($p=0.046$, Kaplan-Meier test). Преживяемостта на пациентите с МСН в карциномите с проведена адювантна химиотерапия бе сходна с лекуваните само хирургически (46.8 ± 8.6 месеца спрямо 30.5 ± 10.2 месеца, $p=0.78$, Kaplan-Meier test).

Заключение: Необходимо е рутинно изследване на МСН и CIMP статуса при пациенти с КРК, тъй акто те могат да променят лечебната стратегия и прогнозата.

7. Kotzev I, Mirchev M, Atanasova M, Stamboliyska M, Manevska B, Portinson S. The Effect of L. Reuteri (ProGastria) on the Eradication Rate in Elderly Patients Infected with H. Pylori: a Randomized, Double-Blinded, Placebo Controlled Trial. J Prob Health 3:130. doi:10.4172/2329-8901.1000130.

Въведение: Според съвременните препоръки първата линия на лечение включва ИПП, кларитромицин и амоксицилин или метронидазол, чиято ефикасност достига около 70%. Един от начините за подобряване честотата на ерадикация е чрез добавяне на пробиотик.

Цел: Да се определи дали лечението с L. reuteri ProGastria + ИПП е ефективно за ерадикация на H. pylori като самостоятелна терапия или да подпомогне последващ ерадикационен режим.

Методи: Проучването е рандомизирано, двойно сляпо, плацебо контролирано. Общо 55 пациента с диспептични оплаквания са изследвани за инфекция с *H. pylori* посредством 13C-дихателен тест, фекален антигенен тест, хистология и бърз уреазен тест, след което са рандомизирани на лечение с omeprazole (2x20mg/ден) + плацебо или пробиотик за 28 дни. След края на лечението е проведен фекален антигенен тест и при позитивен резултат е изписана секвенциална терапия. В края на проучването отново се извършват 13C-дихателен тест и фекален антигенен тест. Използван е въпросник за оценка на симптомите, който се попълва при включване в проучването и на 14, 28 и 90 ден.

Резултати: В края на лечението 57.7% от пациентите на лечение с пробиотик и 62.1% от пациентите на плацебо имаха позитивен фекален антигенен тест ($p=0.75$, Pearson's correlation test). На 20 пациента бе предписана секвенциална терапия. Неуспешна ерадикация бе установена при 27.2% от лицата в групата с пробиотик спрямо 55.6% групата с плацебо ($p=0.36$, Fisher's exact test). Налице бе тенденция към по-нисък симптоматен скор при пациентите, лекувани с пробиотик ($p>0.05$).

Залючение: Въпреки неспособността на ProGastria да ерадикира *H. Pylori* самостоятелно, проучването установи тенденция към по-висока честота на успешна ерадикация ако секвенциалната терапия се предшества от 28-дневно пробиотично лечение.

8. Mirchev M, Atanasova S, Gancheva D, Nahne JC, Kotzev A, Georgiev N. Acute pancreatitis after the removal of a hyperplastic duodenal polyp: a case report. *Journal of International Medical Research* 2020; 48(12): 0300060520977361.

Случаят разглежда рядко усложнение на дуоденална полипектомия, а именно остър панкреатит при 59 г. пациент. Реакцията се наблюдава 4 часа след манипулацията, протича с коремна болка, преходна хиперамилаземия и липаземия, не се наблюдава некроза на панкреаса и преминава след консервативно лечение. Очевидно дуоденалната полипектомия крие рискове поради близко стоящи съседни органи, какъвто е панкреасът, което трябва да

се вземе под внимание, също така да се използват някои предпазващи мерки, като полипектомия под вода или едноактно отстраняване, а пациентите да се наблюдават задължително след процедурата.

9. Georgieva A, Atanassova A, Mirchev M. Rates of latent and active tuberculosis in BCG vaccinated, immunosuppressed Crohn's disease patients from Bulgaria before and during anti-tumor necrosis factor therapy. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2022; 26(7): 2399-2407.

Цел на проучването: От една страна използването на анти-TNF-алфа медикаменти е с висока ефективност по отношение на постигане и поддържане на ремисия при пациенти с умерена към тежка форма на ВБЧ, но от друга те могат да доведат до развитие на опортюнистични инфекции, в т.ч. нови случаи на туберкулоза (ТБК) и реактивация на латентна такава (лТБК). Целта на настоящото проучване е да установи честотата на активна (аТБК) и латентна (лТБК) туберкулоза при пациенти с болест на Крон на анти-TNF-алфа терапия. Пациенти и методи: Направено е ретроспективно проучване на пациенти с болест на Крон на анти-TNF-алфа терапия, приемана поне 6 месеца, в периода юни 2010 – декември 2019 г. в референтен център за ВБЧ. Всички пациенти са HIV-отр., ваксинирани за ТБК с BCG-ваксина. При всички е изключена аТБК и всички са тествани за лТБК преди започване на лечението. Резултати: Преди започване на биологичната терапия лТБК бе установена при 11/109 (10,1%) случая: от тях 8/11 (72,7%) са с положителен туберкулинов тест, 2/11 (18,2%) са с положителен IGRA тест, а 1/11 (9,1%) са с положителни и двата теста. При пациенти на биологична терапия с негативни скринингови тестове за ТБК, 16/74 (21,6%) развиват лТБК. Средният размер на индурацията (а не хиперемията) е 8 (IQR 5-17) mm. Активна белодробна ТБК развиват 3/74 (4,1%) от пациентите. При един болен се наблюдава аТБК на фона на профилактика с изониазид за лТБК. Заключение: Преди започване на биологична и/или имуносупресивна терапия е необходим щателен анализ на клиничните данни, рентгеновите образи, епидемиологичния и ваксинационен статус. Пациентите с ВБЧ са с повишен риск за развитие на ТБК в първите 12 месеца от началото на терапията.

Публикации и доклади, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни тонове

- 1. Kotzev, M. Mirchev. Genetics of colorectal cancer. Scripta Medica 2006;38:57-65**

Колоректалният карцином (КРК) е едно от най-често диагностицираните неопластични заболявания при човека. Доживотният риск за поставяне на диагнозата КРК в САЩ е около 5.9% при мъжете и около 5.5% при жените. Около 160 000 случая се диагностицират ежегодно и въпреки значителния напредък по отношение на ранното откриване и лечение на дебелочревните неоплазии всяка година около 60 000 души умират от тях и от техните усложнения. Епидемиологични проучвания са доказали ролята на факторите на околната среда в патогенезата на КРК, като доказателство за това е неговата значителна вариабилност сред различните популации. В западните общества високо калоричната диета с ниско съдържание на фибри променя бактериалната флора в чревния тракт, транзиторното време на чревното съдържимо и жлъчната реабсорбция и е причина за високата честота на заболяването сред тях. В последните десетилетия няколко значителни научни открития доведоха до изработване на генетичен модел на КРК. Поради това днес се счита, че генетичните фактори и факторите на околната среда не се изключват взимно, а действат синергично.

- 2. M. Mirchev, I. Kotzev, P. Kahl, R. Buttner, L. Angelova, B. Manevska, T. Kadyiska. Epigenetic silencing of MLH1 and p16INK and their relation to certain clinicopathological features in patients with colorectal cancer. Journal of IMAB 2007;1:97-102**

Въведение: Промоторното метилиране като причина за гена инактивация е изследвано предимно с качествени методи. MLH1 и p16INK са важни туморсупресорни гени, които се инактивират често в неопластичните

процеси. Цел: Изследване нивото на метилиране на mlh1 и p16 и корелирането им с определени клинично-патологични характеристики. Материал и методи: 181 пациенти с колоректален карцином. От всички тумори бе екстрахирана ДНК, която бе подложена на бисулфитна модификация, PCR и пиросеквениране, позволяващо количествено измерване на метилирането. Предварително бе събрана информация относно наличието на микросателитна нестабилност, стадия по TNM и хистологията. Резултати: Само високостепенното метилиране на mlh1 предизвиква загуба на протеиновата експресия. Тези тумори са с проксимална локализация, нискостепенна диференциация, повишена продукция на муцин и се срещат при пациенти с напреднала възраст. Не се установи корелация между нивото на метилиране на p16INK и локализацията на туморите, възрастта, пола, стадия и степента на диференциация. Туморите в стадий T4, с наличие на лимфновъзлови и чернодробни метастази показаха високо ниво на метилиране на p16INK. Около 6% от случаите показаха значително метилиране и на двата гена. Те бяха с проксимална локализация, нискостепенна диференциация, повишена продукция на муцин и се срещат при пациенти с напреднала възраст и женски пол. Никой от тях нямаше чернодробни метастази. Заключение: Наблюдава се различно ниво в метилирането на изследваните гени. Споменатите молекулярни характеристики се асоциират с определени клинично-патологични особености и позволяват допълнителна стратификация на туморите.

- 3. И. Коцев, М. Атанасова, Б. Маневска, И. Иванова, М. Мирчев. Рискови и протективни фактори за полипи на хранопровода и хранопроводен рак. Българска хепатогастроентерология 2007; кн.1:27-34.**

Проучването цели да се дефинира панел от рискови и протективни фактори, свързани с развитието на полипи на хранопровода и езофагеален рак. Включените пациенти: 17 с полипоидни лезии на хранопровода и 35 с езофагеален рак са изследвани с анкетен метод и са клинично и ендоскопски

проследени, и при всички е осъществена хистологична верификация. За определяне на рисковите фактори е използван логистичен регресионен анализ. Установява се ролята на: експозиция с храни и течности с екстремни температури, тютюнопушенето (при >20 цигари/дневно), възраст, пол (мъже), ежедневна консумация на гриловано и червено месо, на консервирана храна, продължителна алкохолна консумация и употребата на кафе. Езофагеалните полипи и езофагеалният карцином имат общи протективни фактори: редовна консумация на млечни продукти, риба, минерална вода, варива и плодове. Заключение: Проучването потвърждава ролята на два основни рискови фактори за плоскоклетъчен карцином на хранопровода: тютюнопушенето и алкохолната консумация. Изводите могат да се прилагат в превенция на развитието на неопластични лезии на хранопровода.

4. И. Коцев, М. Мирчев, Б. Маневска, И. Иванова. Рискови и протективни фактори за колоректални полипи и колоректален рак. Българска хепатогастроентерология 2007; кн.1:46-56.

Колоректалният рак заема трето място по заболяемост от малигнени неоплазми за региона на Варна. Проучването цели да предложи основни рискови и протективни фактори за развитие на колоректални полипи и рак. Изследвани са 166 пациента с полипи и 107 пациента с колоректален рак чрез анкетен метод, клинично, ендоскопски и хистологично. Предприет е логистичен регресионен анализ на факторите от страна на хранене и начин на живот. Установи се ролята на употребата на пържена, консервирана и грилова на местна храна, на захар и обезитаса за формиране на колоректалните полипи. Обратно, протективни фактори са приемът на плодове, зеленчуци, ориз и пълнозърнено брашно, зелен чай, агнешко, заешко месо, чесън, варенето на храната и минерализираните води. По отношение развитието на колоректален рак се установи значението на *Helicobacter pylori* инфекцията, възрастта на пациента, наличието на вилозна компонента в полипоидната лезия и фамилната анамнеза за други

неопластични заболявания, в частност и за колоректален рак. Предлагат се следните протективни фактори за колоректален рак: вегетарианска храна; растителни мазнини; живот на село; прием на аспирин; редовно хранене с риба, плодове и зеленчуци. Рисковите фактори за колоректални полипи и колоректален рак се припокриват, действайки едновременно в зависимост от генетичната предиспозиция. Изводи: За превенция на неоплазмите на долния ГИТ се препоръчва корекция в алиментарните фактори и ендоскопска полипектомия на колоректалните полипи.

5. **И. Коцев, М. Стабмолийска, И. Шалев, И. Иванова, В. Глинкова, М. Мирчев, Б. Маневска. Рискови и протективни фактори за полипи на стомаха и стомашен рак. Съвременна медицина 2007; кн.2:33-41.**

Стомашният рак е на II-ро място по честота неоплазма на ГИТ по данни на Онкологичния диспансер на град Варна. Настоящото проучване цели да предложи панел от рискови и протективни фактори за стомашни полипи и карцином. Анамнестично, клинично, ендоскопски и хистологично се изследваха 87 болни с полипоидни стомашни лезии и 116 случая с карцином на стомаха. Чрез логистичен регресионен анализ се потърси корелация между някои рискови и протективни фактори и честотата на възникване на стомашните полипи и рак. Определиха се следните основни рискови фактори: хронична употреба на алкохол, на мазна, маринована, пушена храна, богата на мазнини меса, солена храна, инфекцията с *Helicobacter pylori*, тютюнопушенето, затлъстяването и напредналата възраст. Протективните фактори при стомашни полипи и стомашния рак в голяма степен се припокриват: консумация на растителна храна (включваща плодове, домати, лук, царевича), кисело мляко, птиче месо, растителна мазнина, варива и чай. Установените рискови фактори в карциногенезата на стомашния рак са сходни с рисковите фактори за стомашни полипи, действат комбинирано и на различен генетичен терен. Наблюдаваното от нас често съчетаване на аденоматозна полипоза със стомашен рак (в 19%), както и

възможността за прогресиране на дисплазията до високостепенна и инвазивна неоплазия насочват към необходимостта от ранно диагностициране и ендоскопска полипектомия на стомашните аденоматозни полипи. Извод: Коригирането на установените рискови фактори, ерадикацията на *Helicobacter pylori*, както и ендоскопската полипектомия са полезни мерки за превенция на стомашния рак.

- 6. Стамболийска М., И. Коцев, Д. Ганчева, В. Глинкова, М. Атанасова, А. Атанасова, И. Шалев, И. Красналиев, Б. Маневска, М. Мирчев, И. Иванова. Анализ на 26 случая с малигнени тумори на тънкото черво. GP news, 7, 2008, 22-24.**

За 10-годишен период (1997-2007) в Клиниката по Гастроентерология – Варна са диагностицирани 26 случая с малигнени тумори на тънкото черво: 0.26% от всички хоспитализации и 2.3% от малигнените заболявания на ГИТ. Пациентите са по-често мъже (17 от 26), а средната възраст е 60.2 години (с вариации от 33 до 79 години). Най-честата локализация на карциномите е в дуоденума (69.2%), предимно в десцендентната му част. Водещ клиничен симптом е нарушената чревна проходимост (в 50%), последвана от рецидивиращата коремна болка (46%), желязодефицитна анемия (31%), иктер (за периамбуларните карциноми), рецидивиращото кървене от ГИТ, редуцията на тегло, диария с flush (при 2 болни с невроендокринни тумори). Не е установена подлежаща друга болест, засягаща тънкото черво, като глутенова ентеропатия или болест на Крон. Използвани са следните диагностични методи: абдоминална ехография; фиброгастродуоденоскопия с множествени биопсии; рентгенологичен и КТ асистиран пасаж на ГИТ; интраоперативна диагноза и хистологична верификация. Аденокарциномът е най-честият хистологичен вариант (80.76%), като в 11 от 21 случая вероятно е възникнал при малигнизация на аденоматозни полипи с вилозна компонента. Следващ по честота е невроендокринният тумор – при 4 болни (15%), в 2 от тези случаи с хормонална активност. При пациентите е

проведено хирургично лечение, а само при 1 случай с периампуларен аденокарцином е извършена радикална ендоскопска мукозна резекция. Изводи: Малигнените тумори на тънкото черво са предизвикателство в гастроентерологичната практика, поради ниската им честота, неспецифичните симптоми и трудната диагностика.

- 7. М. Мирчев, И. Коцев, Ф. Кал, Р. Бютнер. Високите нива на hmlh1 промоторното метилиране се асоциират с инхибиране на генната експресия, проксимална локализация, локална инвазия на туморите и напреднала възраст при лица с колоректален рак. Българска хепатогastroентерология 2009; кн. 1:33-41.**

Въведение: В днешно време ДНК метилирането се счита за едно от най-честите нарушения в неоплазмите, в т.ч. колоректалния карцином. То най-добре се характеризира чрез количествени методи. Метилирането на hMLH1 предизвиква основно микросателитна нестабилност при спорадичните случаи, но все още съществуват известни неясноти по отношение на ролята му в случаи със синдром на Линч.

Цел: Количествено изследване на метилирането на mlh1 гена и сравняване на стойността му в нормална дебелочревна лигавица, полипи, карциноми и при пациенти със спорадичен, фамилен и наследствен колоректален карцином (КРК).

Методи: Проучването включва 189 пациенти с КРК, 8 синхронни полипа и 20 проби от нормална лигавица от същите пациенти. Чрез подробна анамнеза бяха селектирани 40 случая на спорадичен, 14 на фамилен и 39 случая на синдром на Линч. Предварително бяха известни данните относно локализацията на туморите, степента на диференциация и стадия по TNM. От всички тумори бе екстрахирана ДНК, която бе подложена на бисулфитна модификация, PCR и количествено определяне на метилирането на hMLH1

чрез пиросеквениране. Чрез имунохистохимия бе определена протеиновата експресия на hMLH1.

Резултати: Метилиране бе установено в 18% от нормалната лигавица и в 23% от туморите; нивото бе съответно 23% и 56%. Никой от полипите не показва метилиране на hMLH1 гена. Конкордантно метилиране между полипите и карциномите обаче бе установено в 75% от случаите, докато само при 2 от тях то бе дискордантно. Високи нива на метилиране на mlh1 бяха установени сред туморите с проксимална локализация, ниска степен на диференциране и наличие на MCH. Същата прогресия бе налице при нарастване дълбочината на туморната инвазия (от T1 към T4). Метилирането на hMLH1 бе сигнификантно по-високо при спорадичните случаи ($p < 0.001$), въпреки че едновременно метилиране и мутация на hMLH1 бяха налице при 1 случай със синдром на Линч, който бе в значително по-млада възраст.

Заклучение: ДНК метилирането се характеризира най-добре чрез количествени методи, което позволява отдиференциране на различни нива на метилиране. Последните могат да бъдат корелирани с определени клинично-морфологични характеристики на туморите.

8. М. Мирчев, И. Коцев. ДНК метилиране: участие в колоректалната канцерогенеза и други болести при човека. Българска хепатогастроентерология 2009; кн. 1:46-51.

ДНК метилирането е част от „епигенетиката“ – система, модифицираща молекулата на ДНК без промяна в нуклеотидната ѝ последователност. Засега единствената известна епигенетична модификация при хората засяга CpG островите на промоторите на някои туморсупресорни гени, което води до генно инхибиране. Установено е, че при колоректалния карцином промоторното метилиране е един от най-честите механизми на генна инактивация. Засягат се разнообразни процеси като например клетъчна сигнализация, корекция на грешките по време на ДНК репликацията, регулация на клетъчния цикъл, епителна диференциация, взаимодействия между клетката и околната среда, и ангиогенезата. ДНК метилирането участва в лигавичното стареене и е отговорно за формиране на определен

подтип тумори със значително генно метилиране, наречен CIMP. В статията подробно се описват механизмите на възникване, ролята на промоторното метилиране за колоректалната канцерогенеза и други болести при човека, както и потенциалното клинично приложение по отношение на ранното откриване на неоплазии и адювантната химиотерапия.

9. М. Мирчев, И. Коцев, Ф. Кал, Р. Бютнер. Участие на промоторното метилиране на *cdkn2a(p16ink)* в колоректалната канцерогенеза. Съвременна медицина 2009, брой 5-6:23-30.

Въведение: В колоректалните тумори инактивирането на гена CDKN2A(p16INK) става предимно чрез промоторно метилиране. За неговото установяване все повече се използват количествени методи, тъй като ниските нива не винаги потискат напълно генната експресия.

Цел: количествено изследване на p16 метилирането в нормална лигавица, синхронни дебелочревни полипи и карциноми, както и сред случаи със спорадични, фамилни и наследствени колоректални карциноми.

Материал и методи: Изследвани бяха 189 болни с колоректален карцином, 8 полипа и 20 нормални лигавици, от които бе екстрахирана ДНК. Извършен бе анализ на микросателитна нестабилност, имунохистохимия на p16, а метилирането бе установено чрез пиросеквениране.

Резултати: Установихме отрицателна корелация между степента на метилиране и експресията на p16 чрез имунохистохимия ($r=-0.252$, $p=0.012$). По-високи нива се наблюдаваха при възрастни болни, тумори с проксимална локализация, ниска диференциация, локална инвазия ($p<0.05$), напреднал стадий ($p=0.076$) и спорадични случаи ($p=0.012$).

Заключение: Метилирането на p16 хвърля нова светлина в патогенезата на колоректалния карцином и обяснява агресивния характер на туморите с този тип молекулярни промени.

10. М. Мирчев, И. Коцев, Ф. Кал, Р. Бютнер. Фамилен колоректален рак – генетични и епигенетични характеристики. Българска хепатогастроентерология 2010, кн.1, 40-45.

Въведение: Случаите с фамилен колоректален карцином (КРК) са недобре проучени по отношение на наследствеността и генетичните им промени. Съществуват противоречиви данни относно ролята на микросателитната нестабилност (МСН) и ДНК метилирането в тяхната патогенеза.

Цел: Определяне честотата на МСН и количествено изследване нивото на метилиране на туморсупресорните гени hMLH1, CDKN2A, TIMP3 и TPEF сред фамилни КРК и сравняването им със спорадични случаи и такива с наследствен неполипозен колоректален карцином (ННПКР).

Материали и методи: Изследвани бяха 40 болни без фамилна обремененост за КРК, 14 – с поне един родственик I ст с КРК и 39 болни с ННПКР. От всички тумори бе екстрахирана ДНК. Анализ на МСН бе извършен чрез PCR, 2 мононуклеотидни (BAT 25 и 26) и 3 динуклеотидни (D2S123, D5S346, D17S250) маркера и автоматично секвениране. Количественото изследване на метилирането включи бисулфидна модификация на ДНК, амплификация на част от промоторите на 4-те гена и пиросеквениране.

Резултати: МСН бе установена в 28% от спорадичните и в 14% от фамилните случаи, но разликата бе несигнификантна (OR 0.39 (95% CI 0.08-2.01; $p=0.47$, тест на Fisher). Количествено спорадичните случаи показаха статистически значимо по-висока степен на метилиране на hMLH1 ($p=0.007$, линеен регресионен анализ), CDKN2A ($p=0.022$), TIMP3 ($p=0.038$), но не и за TPEF ($p=0.78$). Туморите с метилиране на няколко гена едновременно също показаха предилекция към случаите без фамилна анамнеза за КРК. Наблюдавахме 1 болен с ННПКР с едновременно метилиране и мутация на hMLH1 гена, който бе значително по-млад от типичната възраст.

Заключение: Фамилните КРК се дължат на друг механизъм извън МСН и ДНК метилирането. Инактивацията на hMLH1 гена чрез метилиране и мутация при болни с ННПКР вероятно допринася за по-ранната му изява.

11. **И. Коцев, М. Мирчев, Ю. Газиев. Селективният инхибитор на протонната помпа Controloc (Pantoprazol) в лечението на пептичните заболявания. Българска хепатогастроентерология 2010, кн.1, 46-53.**

По химически състав пантопразолът се отличава от омепразола по добавените флуорен атом и още една метилова група. Това осигурява по-висока стабилност на молекулата при неутрално рН, както и селективност по отношение на цистеиновите групи на протонната помпа. За разлика от останалите инхибитори на протонната помпа пантопразолът има по-дълъг плазмен полуживот – около 46 ч., което се обяснява със специфичното залавяне за цистеин 822, който е разположен дълбоко в сърцевината на стомашната протонна помпа. Медикаментът се резорбира напълно след перорален прием. Абсолютната бионаличност на таблетната форма е 77%. Площта под кривата (AUC) на пантопразола е многократно по-висока от другите ИПП, което определя и по-продължителния период на блокиране на солно-киселата секреция. Свързването с плазмените протеини на Pantoprazole е около 98%. Медикаментът се метаболизира предимно в черния дроб, но това, което го отличава от останалите ИПП, е ниският афинитет към цитохром P450, поради което има най-ниския потенциал за лекарствени взаимодействия. Предлага се под формата на стомашно-устаойчиви таблетки от 40 мг, като в някои случаи дозата може да се удвои до 2 x 1 таблетка. Противопоказания за приложението му са свръхчувствителност към активната съставка и/или някое от помощните вещества или кръстосана свръхчувствителност към други ИПП. Не се използва при болни с тежък активен хепатит и ренална дисфункция. Няма клиничен опит за приложение при бременни, но се наблюдава екскреция в мляко на плъхове.

12. Schmidt S, Candinas D, Reichen J, Dufour JF, Garzoni C, Mühlemann K, Regli B, Rieder H, Иванов К, Коцев И, Георгиева Ж, Платиканов В, Колев Н, Мирчев М, Иванова И. Протокол за ортотопна чернодробна трансплантация. Съвременна хепатология (избрани глави). Ред.: И. Коцев. Контур Варна 2013:286-375.

В споменатия протокол, изработен на базата на Протокол за ортотопна чернодробна трансплантация на Университетска клиника по хирургия и медицина, Inselspital, Bern, Швейцария детайлно са представени как се извършва оценка за извършване на ортотопна чернодробна трансплантация (ОЧТ), организация на чернодробната трансплантация, предоперативната подготовка, приложението на интраоперативни медикаменти, проследяване в постоперативния период, какъв е протоколът за имunosупресия, проследяване след чернодробна трансплантация и поведението при остра чернодробна недостатъчност .

12.09.2022 г.

(М ~~Мирчев~~)