



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ

MEDICAL UNIVERSITY - SOFIA

# СБОРНИК

Резюмета на изследователски проекти

2014-2015

Бюджетно финансирани проекти

на медицински научни изследвания

**НАУЧНИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТИ,**

**ФИНАНСИРАНИ ОТ МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ**

**ПО НАРЕДБА № 3/27.11.2015 НА МОН за условията и реда за планиране, разпределение и разходване на средствата, отпускани целево от държавния бюджет за присъщата на държавните висши училища, научна или художествено-творческа дейност**

Издадена от Министерство на образованието, младежта и науката

Обн. - ДВ, бр. 94 от 04.12.2015 г., в сила от 04.12.2015 г.) Наредбата се издава на основание чл. 91а, ал. 2 от ЗВО и отменя Наредба № 9 от 2003 г. за условията и реда за планиране, разпределение и разходване на средствата, отпускани целево от държавния бюджет за присъщата на държавните висши училища научна или художественотворческа дейност (ДВ, бр. 73 от 2003 г.).

Данните, представени от изследователските екипи, към датата на отчитане на договора, се публикуват редактирани. Технически редактор: доц. д-р И. Николова, секретар на СМН.

**Оценяващи звена**

Съвет по медицинска наука (СМН) към Академичния съвет на МУ – София  
Комисия по етика на научните изследвания към Медицински университет – София (КЕНИМУС).

**Състав на СМН**

***Председател:***

1. Проф. Валентина Боянова Петкова-Димитрова, дфн – Заместник-Ректор по наука и акредитация на МУ – София

***Секретар с право на глас:***

2. Доц. д-р Ирина Николова Николова, дм

***Членове:***

3. Проф. д-р Димка Вълчанова Хинова-Палова, дм
4. Проф. д-р Радослав Александров Гърчев, дмн
5. Проф. д-р Сабина Захариева Захариева, дмн
6. Проф. д-р Боряна Петрова Делийска, дмн
7. Проф. д-р Милена Димитрова Пенева, дмн
8. Доц. д-р Илиана Павлова Йончева-Недкова, дм
9. Проф. Пламен Тодоров Пейков, дф
10. Проф. д-р Анжелика Спасова Велкова-Монова, дмн
11. Проф. д-р Захарина Ангелова Савова, дп
12. Акад. д-р Радомир Георгиев Радомиров, дмн
13. Проф. Мариела Константинова Оджакова-Байтошева, дб
14. Проф. Албена Борисова Момчилова, дбн
15. Проф. д-р Златко Николов Кълвачев, дмн
16. Доц. д-р Дора Николова Попова, дм
17. Валентина Любенова Пейчева

**Състав на КЕНИМУС**

***Председател:***

1. Проф. д-р Сашка Попова, дм

***Секретар:***

2. Натали Димитрова

***Членове:***

3. Чл.-кор. проф. д-р Мила Власковска, дмн

4. Проф. д-р Румяна Търновска, дм

5. Проф. д-р Ангелина Киселова, дмн

6. Доц. д-р Гриша Матеев, дм

7. Доц. д-р Весела Стоянова, дм

8. Проф. Илиана Йонкова, дфн

9. Доц. Радка Кънева, дб

10. Михаела Младенова

11. Ани Митева

## СЪДЪРЖАНИЕ

<b>ГРАНТ 2014 .....</b>	<b>32</b>
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>32</b>
Договор 2/2014 Количествено определяне на нестероидни противовъзпалителни лекарствени продукти в смеси с противоязвени лекарства чрез високоефективна течна хроматография.....	32
Договор 3/2014 Влияние на метил жасмонат върху продукцията на цитотоксични лигнани в ин витро култури на <i>Linum linearifolium</i> .....	33
Договор 5/2014 Честота на полово предаваните бактериални инфекции, причинени от <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Ureaplasma parvum</i> и <i>Gardnerella vaginalis</i> при спонтанни аборти .....	33
Договор 6/2014 Честота на мутации в BRAF и NRAS-гените и HPV-инфекции при пациенти с рак на дебелото черво .....	34
Договор 7/2014 Проучване на антиоксидантните свойства на новосинтезирани производни на салицилалдехид бензоилхидразона (SBH) и анализиране на връзката структура-действие .....	34
Договор 8/2014 Пуринергично предаване в ретината: участие на йонотропния рецептор P2X7 във формиране на характеристиките на електроретинографските (ЕРГ) отговори .....	35
Договор 9/2014 Изследване на пациенти с установена или предполагаема множествена ендокринна неоплазия и оценка на връзката на наблюдавания фенотип с вариации в гените MEN1 и MEN2 .....	36
Договор 10/2014 Тестуване на чувствителността на <i>Helicobacter pylori</i> и <i>Clostridium difficile</i> към linezolid и някои класически антибиотици за терапия и проучване на експресията in vivo на гени на вирулентност на <i>H. pylori</i> .....	37
Договор 11/2014 Сравнителни молекулярно-биологични проучвания върху производството на бактериоцини от клинично значими и непатогенни щамове <i>Enterococcus</i> spp., изолирани съответно от клинични материали от хора и млечнокисели хранителни продукти .....	38
Договор 12/2014 Хемометричен подход за анализ на растителната субстанция <i>Arnicae flos</i> .....	39
Договор 13/2014 Проучване върху ефектите на BETX-охарактеризиран екстракт от корени на <i>Asphodeline lutea</i> (L.) Rchb., приложен самостоятелно и в модели на хепатотоксичност in vitro/ in vivo при плъх .....	40
Договор 14/2014 Фитохимично и фармакологично проучване на <i>Astragalus monspessulanus</i> L. (Fabaceae) .....	41
Договор 15/2014 Синтез и изследване на фармакологичната активност на нови метални комплекси на Ga(III) с биологично активни ароилхидразони, производни на салицилалдехид бензоилхидразона .....	42

Договор 17/2014 Изследване влиянието на растежни фактори (FGF8 и BMP4) върху синтеза на колаген и минерализацията при соматични мезенхимни клетки от зъбна пулпа на временни зъби <i>in vitro</i> .....	43
Договор 20/2014 Ефекти на ендоканабиноидната и азотноокисна системи върху болковата перцепция и остра възпалителна болка при студова стрес-индуцирана аналгезия на плъх.....	44
Договор 21/2014 Изолиране и идентифициране флавоноиди от надземната част на <i>Chenopodium bonus-henricus</i> . Проучване на ефектите на метанолния екстракт от надземната част на <i>C. bonus-henricus</i> и на изолираните от него флавоноиди при модели на индуцирана хепатотоксичност при плъх.....	45
Договор 22/2014 Токсикологична оценка и ефекти на нов ко-полимерен цвистерйонен комплекс, натоварен с метопролол, в спонтанно хипертензивни плъхове (SHR) .....	46
Договор 26/2014 Изследване на полиморфизма rs5400 в гена за глюкозен Транспортер тип 2 (GLUT2) и титъра на <i>Streptococcus mutans</i> във връзка с наследственият фактор в етиопатогенезата на зъбния кариес .....	47
Договор 27/2014 Геномните асоциативни проучвания като съвременен подход за изясняване на генетичните основи на артериалната хипертония: репликативно проучване на позитивни сигнали за асоциация при българската популация .....	48
Договор 28/2014 Проучване на участието на AT2 рецептори чрез ангиотензиновия рецепторен агонист Novokinin в механизма на метаболитните и поведенчески отклонения при експериментален модел на захарен диабет у плъхове .....	49
Договор 29/2014 Влияние на генетичния фон върху качествените и количествени характеристики на мейотичното вретено при <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> зрели миши овоцити.....	49
Договор 32/2014 Лантанидни комплекси с биологично активни лиганди - синтез, охарактеризиране и фармакологична активност .....	50
Договор 34/2014 Разработване на мезопорести силикатни наночастици обвити с биоадхезивни полимери.....	51
Договор 35/2014 Молекулярно-генетични проучвания върху вирулентността на български клинични изолати <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	52
Договор 36/2014 Епидемиологично типизиране, механизми на резистентност при карбапенемаза- и/или широкоспектърна бета лактамази (ESBLs)- продуциращи клинично-значими и от носители представители на сем. <i>Enterobacteriaceae</i> в три университетски болници в София, Плевен и Варна.....	53
Договор 37/2014 Назофарингеално носителство на щамове <i>Streptococcus pneumoniae</i> изолирани от деца по-време на отоскопично потвърден остър среден отит след масовата имунизация с пневмококова конюгирана ваксина .....	54
Договор 38/2014 Серотонинергична невротрансмисия в ретината на нисши гръбначни.....	55
Договор 40/2014 Епигенетични промени в гени, свързани със стреса и онкогенезата, при пациенти с диабет тип 2.....	55
Договор 41/2014 Репликация на резултатите от пилотно геномно екзомно изследване в независима кохорта от хероин зависими и контроли.....	56

Договор 42/2014 Валидиране на протокол за секвениране от следващо поколение със секвенатор IonTorrent PGM за откриване на мутации в BRCA1 и BRCA2 гените .....	57
Договор 43/2014 Влияние на витамин Д върху глюкозния метаболизъм, липидната обмяна и оксидативния стрес по време на бременност на стрептозотоцин-индуцирани диабетни плъхове .....	58
Договор 44/2014 Епилигаментът и неговата роля при оздравителни процеси на колатералните връзки на колянната става при експериментален модел на плъх.....	59
Договор 45/2014 Фармакологични изследвания върху механизми на действие на Topiramate върху метаболизъм на плъхове с експериментална епилепсия и затлъстяване.....	60
Договор 52/2014 Геномно скриниране при пациенти с идиопатична епилепсия и умствено изоставане .....	60
Договор 53/2014 г. Молекулярно-генетичен анализ за носителство на мутации в BRCA1 и BRCA2 гените при пациенти с овариален карцином.....	61
Договор 55/2014 Проучване ролята на HPV в патогенезата на карцинома на хранопровода при български пациенти .....	62
Договор 56/2014 Анализ на експресията на микро РНКите let-7a, miR-21 и miR-205 при български пациенти с не-дребноклетъчни белодробни карциноми .....	63
Договор 57/2014 г. Изясняване на последиците от структурни аберации засягащи гените LPP, CFHR1 и CFHR3 на ниво нуклеотидна последователност.....	63
Договор 58/2014 Мутационен скрининг на български пациенти с дегенерация на ретината.....	64
Договор 61/2014 Роля на полиморфизмите в CD3Z гена в етиологията и патогенезата на дерматомиозита в България.....	65
Договор 66/2014 Значение на серумните биомаркери за оценка тежестта на възпалението и ефекта от антибиотичната терапия при деца с пневмония, придобита в обществото .....	66
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>67</b>
Договор 1/2014 Приложение на инхалаторен NO при екстремно недоносени новородени деца с дихателна недостатъчност .....	67
Договор 4/2014 Определяне на NGAL, IL-18 и KIM-1 в урина за ранна оценка на риска от развитие на остро бъбречно увреждане при пациенти след кардио-пулмонален байпас.....	68
Договор 16/2014 Присъствие на генен полиморфизъм за основни инфламаторни цитокини (интерлевкин-6 (IL-6) - алел IL-6-174 и G-597A, тумор некротизиращ фактор алфа (TNF-α) – алел - 308, и лимфотоксин алфа (LT-α)) във връзка с хроничен пародонтит .....	69
Договор 18/2014 Роля на бактериалната транслокацията, секрецията на sCD14 и последващата системна възпалителна реакция за протичането и терапевтичния отговор при пациенти с хронични вирусни хепатити В и С.....	70
Договор 19/2014 Изследване на цитокинов профил при ХИВ - инфектирани пациенти с установен дефицит на витамин Д .....	71

Договор 24/2014 Прогнозиране и визуализиране на промяната на лицевия профил при подрастващи пациенти II скелетен клас, лекувани с функционални апарати .....	72
Договор 25/2014 Влияние на генетичните полиморфизми, свързани с витамин Д3, върху развитието на системен лупус и неговата клинична изява .....	73
Договор 39/2014 Определяне спектъра на микроорганизмите, асоциирани с бактериална вагиноза и кандидозен вулвовагинит, при бременни и ролята им в усложненията при раждане и за плода .....	74
Договор 46/2014 Методология на получаването и съхранението на туморни тъкани за създаването на тъканна банка от пациенти с карциноми на дебелото черво, стомаха и щитовидната жлеза .....	74
Договор 48/2014 Пилотно проучване на фотосенсибилизиращото въздействие на компоненти на дентални материали при пациенти и дентални лекари, суспектни за хроничен фотохимичен дерматит.....	76
Договор 50/2014 Физикална аналгезия при неврологични, неврохирургични, ревматологични и ортопедично-травматологични пациенти (въвеждане на съвременни методи и сравнителна оценка на ефекта от приложение на ТЕНС, ЛАЗЕР, ФЕС с биофийдбек и Дълбока осцилация върху различни типове болка – невропатна, ноцицептивна, централна, миофасциална, лигаментарна, пост-оперативна) .....	77
Договор 51/2014 Експресионен анализ на микрорибонуклеинови киселини в периферна кръв и определяне на диагностичната и прогностичната им стойност при пациенти със системен лупус еритематозус.....	78
Договор 54/2014 Оценка ролята на пептидния хормон хепсидин при желязо-дефицитна анемия и анемия при хронично възпаление по време на бременност.....	78
Договор 59/2014 Риновирус-индуцирана бронхиална обструкция и антивирусен имунен отговор при деца с фамилна анамнеза за астма .....	79
Договор 60/2014 Серумни и уринни биологични маркери за ранна бъбречна увреда – патофизиологична перспектива .....	80
Договор 63/2014 Полиморфизъм на андрогенния рецептор и серумни нива на лептин и адипонектин при мъже с метаболитен синдром с или без хипогонадизъм .....	81
Договор 64/2014 Коинфекции при жени в репродуктивна възраст с полово предавани бактериални агенти .....	81
Договор 62/2014 Неинвазивни и инвазивни методи за диагностика на предиабетната невропатия .....	82
Договор 65/2014 Генотип-фенотип асоциация на бронхиалната астма в детска възраст.....	83
Договор 67/2014 Анемия при ревматоиден артрит и серумен хепсидин – нови диагностични възможности при избор на терапия .....	84
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>87</b>



Договор 23/2014 г. Дизайн и охарактеризиране на хронофармацевтична лекарствена форма с ацетилсалицилова киселина .....	87
Договор 30/2014 Проучване на честотата на микро и макроваскуларните усложнения при диабет тип 1 и тип 2 и разходите за лечението им .....	87
Договор 31/2014 Проучване на взаимодействието между фармацевтичните производители и фармацевтите .....	88
Договор 33/2014 Проучване на рисковете при имплантиране на херниални платна .....	89
Договор 47/2014 Създаване на взаимодействия за изграждане на единна информационна среда за обмен на данни свързани с професионалното здраве и факторите на работната среда .....	90
Договор 49/2014 Проучване върху съвременни превантивни подходи при екзацербация на „Хронична Обструктивна Белодробна Болест“ .....	91
<b>„ГРАНТ 2015“ .....</b>	<b>92</b>
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>92</b>
Договор 1/2015 Изследване на асоциацията между полиморфни варианти в диабет – свързани гени и риска от исхемична болест на сърцето при българи .....	92
Договор 2/2015 Значение на хистамина за контрола на ретиналната чувствителност: електроретинографско изследване .....	93
Договор 3/2015 Въвеждане на молекулярно-генетични подходи за диагностика на някои форми на витамин-зависими епилептични енцефалопатии при деца в България .....	94
Договор 4/2015 Проучване ефектите на селективния мелатонинергичен препарат агомелатин при експериментални модели на мелатонинов дефицит и темпорална епилепсия при плъхове .....	95
Договор 5/2015 Експресионен профил на BPIFA1(PLUNC) гена при пациенти с хроничен риносинусит и хроничен гноен отит .....	96
Договор 6/2015 Сравнително имунохистохимично изследване на промените в епилигамента след увреда на колатералните връзки на колянната става при плъх .....	97
Договор 7/2015 Клинични, микробиологични и генетични проучвания върху един от най-значимите причинители на респираторни инфекции в детска възраст <i>Streptococcus pyogenes</i> .	98
Договор 10/2015 Налагане на съвременни методи за скрининг на група Б стрептококова инфекция при бременни жени в 35-37 гестационна седмица .....	99
Договор 11/2015 Клонален произход на изолати <i>E. coli</i> и <i>K. pneumoniae</i> , произвеждащи карбапенемаза- и/или широкоспектърна бета лактамази (ESBLs) и охарактеризиране на локализацията на гените, кодиращи тези ензими .....	100
Договор 12/2015 Дизайн, синтез и приложение в медицината и биологията на нов флуорогенен субстрат и на специфични инхибитори за аминокептидаза А .....	100

Договор 13/2015 Предклиничен скрининг на новосинтезирани кумаринови и 2H-хромен заместени хидразид-хидразони за потенциална противогърчова активност и оценка на невротоксичността им.....	101
Договор 14/2015 Роля на канабиноидната и азотноокисната системи върху ноцицепцията и поведенчески отговори след стрес на плъх .....	102
Договор 15/2015 Изследване на участието на AT2 рецептори чрез ангиотензинов AT2-рецепторен агонист в механизма на поведенческите промени при експериментален захарен диабет у спонтанно хипертензивни плъхове (SHR) .....	103
Договор 16/2015 Изследване на цитоплазмени компоненти на телце на Балбиани в овоцити от миши примордиални фоликули.....	104
Договор 17/2015 Изследване на ролята на протеин киназа CK2 в регулацията на WNT сигнализацията в човешки мезенхимни стволони клетки (MSC) изолирани от грануляционна тъкан от зъбна алвеола .....	105
Договор 18/2015 Изследване на остеоиндуктивната вътреклетъчна сигнализация, регулираща остеогенната диференциация на човешки мезенхимни стволони клетки изолирани от зъбна пулпа.....	105
Договор 20/2015 Приложение на новогенерационно секвениране за откриване на соматични мутации при глиоми и тумори на гастроинтестиналния тракт в подбрана група български пациенти.....	106
Договор 21/2015 Молекулярно-генетична структура на полирезистентните инвазивни и респираторни щамове <i>Streptococcus pneumoniae</i> изолирани пет години след старта на масовата имунизация на новородените деца в България с пневмококова ваксина.....	107
Договор 24/2015 Разработване на неинвазивен метод за оценка на имплантационния потенциал на човешки ембриони на базата на експресия на микроРНКи в средата за култивиране .....	108
Договор 25/2015 Оксидативният стрес като ко-фактор за епигенетични промени в хода на цервикалната канцерогенеза .....	109
Договор 26/2015 Фармакологични ефекти на опиоидни агонисти и антагонисти върху поведение и обучение на плъхове с експериментален захарен диабет.....	110
Договор 27/2015 Нов метод за изследване и диагностика на болестта на Алцхаймер, основан на диференциалната сканираща калориметрия .....	111
Договор 28/2015 Продукция на арилтетралинови лигнани в ин витро култури от ендемитния вид <i>Linum ucrainicum</i> Czern .....	112
Договор 29/2015 Фитохимично и фармакологично изследване на флавоноидния състав на <i>Astragalus monspessulanus</i> subsp. <i>illyricus</i> .....	113
Договор 31/2015 Перспективна антиоксидантна и инхибираща активност върху ангиотензин-конвертиращия ензим в ин витро модели на екстракти и биологичноактивни вещества от надземна част на <i>Portulaca oleracea</i> L. (тученица).....	114

Договор 32/2015 Антибактериална, радикал-свързваща и ацетилхолинестеразна инхибираща активност на използвани в традиционната Суданска медицина растителни видове <i>Solanum carense</i> и <i>Geigeria alata</i> .....	115
Договор 33/2015 In vitro и in vivo токсикологични ефекти на полимерни мицели, изградени от съполимер на поликапролактон и полидиметиламиноетил метакрилат.....	116
Договор 34/2015 Количествено определяне на флуорирани хинолони в смеси с нитроимидазолови антибактериални лекарства чрез високоефективна течна хроматография.....	117
Договор 35/2015 Дизайн, синтез и спектрално охарактеризиране на нови 3- и 5-заместени салицилалдехид бензоилхидразони с потенциална цитотоксична активност.....	118
Договор 39/2015 Токсикологично охарактеризиране и изучаване на спектралното поведение на пиролови хидразони с доказана анти-микобактериална активност.....	119
Договор 40/2015 Изследване на противовъзпалителната активност на тотални и пречистени екстракти от <i>Gypsophila trichotoma</i> Wend.....	120
Договор 41/2015 Пренилирани ацилфлороглуциноли от <i>Hypericum annulatum</i> Moris – изолиране, структурно охарактеризиране и изпитване за цитотоксична активност върху туморни клетъчни линии.....	121
Договор 42/2015 Изследване влиянието на растежния фактор PDGF (Platelet Derived Growth Factor) върху производството на колаген и остео/одонтогенната диференциация на стволови клетки от периодонтален лигамент in vitro.....	122
Договор 43/2015 Изследване на биологичния потенциал на стволовите клетки от апикалната папила след въздействието им с транспортни среди и лимонена киселина.....	122
Договор 50/2015 Новогенерационно секвениране на прицелни гени за дегенерация на ретината при български пациенти.....	123
Договор 56/2015 Проучване ролята на сигналните пътища на T- и B-клетъчна активация в патогенезата на нефамилната хипогамаглобулинемия.....	124
Договор 63/2015 Проучване на имунни сигнатури в репертоара от антитела при пациенти с първични злокачествени и метастатични тумори на мозъка.....	125
Договор 66/2015 Генетични изменения при първични глиобластоми и връзката им с прогнозата при български пациенти.....	126
Договор 76/2015 Имунохистохимични характеристики на мозъчни метастази и съответните им първични не-дребноклетъчни белодробни карциноми.....	127
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ.....</b>	<b>128</b>
Договор 8/2015 Корелация между нивата на хепсидин и сърдечно-съдовия статус при пациенти с таласемия.....	128
Договор 9/2015 Роля на хепсидина в развитието на анемичния синдром при пациенти с мултиплен миелом и хронична лимфоцитна левкемия.....	129
Договор 22/2015 Използването на молекулярно диагностични техники за определяне на анаеробни причинители, участващи в етиопатогенезата на бактериалната вагиноза.....	131

Договор 23/2015 Молекулярно диагностични методи и определяне нивата на проинфламаторни и други цитокини в диагностичния алгоритъм на жени с хронично рецидивираща вулво-вагинална кандидоза.....	131
Договор 44/2015 Проучване на локалния имунен отговор на организма при нехирургична терапия на хроничен пародонтит .....	132
Договор 45/2015 Ретроградно ендодонтско лечение след апикална резекция (in vitro изследване) .....	133
Договор 46/2015 Приложение на озона при лечение на зъбен кариес.....	134
Договор 47/2015 Травми на зъбите в детска възраст - създаване на интерактивно софтуерно ръководство за диагностика и лечение.....	135
Договор 51/2015 Оценка на възпалението и оксидативния стрес при обструктивна коронарна болест и малкосъдова болест .....	136
Договор 52/2015 Проучване на честотата и големината на перипроцедурната мионекроза след перкутанна коронарна интервенция, възможността за предсказването и чрез интракоронарна електрокардиография и корелация с миокардна контрастна ехокардиография и миокардни деформационни параметри .....	137
Договор 53/2015 Multiplex Real Time PCR при диагностика на едни от най-честите полово предавани бактериални инфекции при жени в репродуктивна възраст .....	138
Договор 54/2015 Th17 лимфоцитна субпопулация и витамин Д при детска астма .....	139
Договор 55/2015 Роля на промоторно хиперметиране в гена CD3Z за етиологията и патогенезата на дерматомиозита .....	140
Договор 57/2015 Нива на 25-хидрокси витамин Д в серум при деца с рецидивиращи вирус-индуцирани бронхообструктивни прояви.....	140
Договор 58/2015 Клинична корелация между хормоналния статус, функцията на автономната нервна система и прага на болката при пациенти с фибромиалгия.....	141
Договор 59/2015 Оптимизиране имунологичната диагностика при различните форми на прогресивна системна склероза чрез изследване на широк набор от автоантитела .....	142
Договор 60/2015 Реактивиране на HBV при пациенти с ревматоиден артрит и анкилозиращ спондилит и участието на парвовирус В19 в патогенезата на тези заболявания.....	143
Договор 61/2015 Нови диагностични и прогностични биомаркери при ревматоиден артрит..	144
Договор 62/2015 Експресионен анализ на микрорибонуклеинови киселини в серум и определяне на диагностичната и прогностичната им стойност при пациенти с прогресивна системна склероза .....	145
Договор 64/2015 Оценка на ролята на K-ras статуса в диференциалната диагноза на малигнени и бенигнени кистични лезии на панкреаса .....	146
Договор 65/2015 Полуколичествено определяне на екзокринната функция и морфологична оценка при хроничен панкреатит чрез секретин-усилена магнитно резонансна холангиопанкреатография .....	147

Договор 67/2015 Секвениране (търсене на точкови мутации) на ген MKRN3 при пациенти с централен ранен пубертет.....	147
Договор 68/2015 Анализ на полиморфни варианти в кандидат гени асоциирани с отговора към терапия с метотрексат при деца с юношески идиопатичен артрит.....	148
Договор 69/2015 Проучване ролята на хиповитаминоза D за възникването и тежестта на протичането на възпалителните заболявания на долните дихателни пътища чрез сравнително изследване нивата на витамин D при деца с остра пневмония и здрави контроли.....	149
Договор 70/2015 Пикова костна маса и хормонален статус при девойки в пубертетно-юношеския период с нормален и нарушен менструален цикъл.....	150
Договор 71/2015 Изследване на антитела към цинков транспортер 8 (ZnT8) при пациенти със захарен диабет тип 1.....	151
Договор 72/2015 Сърдечносъдов риск при пациенти с феохромоцитом, определен чрез измерването на някои маркери за сърдечна недостатъчност.....	152
Договор 73/2015 Въглехидратни нарушения при пациенти с пролактином: честота и повлияване от лечението с допаминови агонисти. Изследване на някои маркери за инсулинова чувствителност и ендотелна дисфункция.....	152
Договор 74/2015 Място и значение на алергичния риносинусит в патогенезата на бронхиалната астма в детска възраст.....	153
Договор 75/2015 Фенотипизиране на бронхиална астма.....	154
Договор 77/2015 Инструментални, имунологични и серологични корелации при пациенти с ранна склеродермия и оптимизиране на ранната диагностика.....	155
Договор 78 /2015 Пилотно проучване на човешки папилома вирус и херпес вируси при орални прекарцерози и неоплазми.....	156
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ.....</b>	<b>157</b>
Договор 19/2015 Психо-социални рискове на сменния труд.....	157
Договор 30/2015 Проучване на нагласата и факторите, повлияващи генеричното предписване и отпускане на лекарствени продукти в кардиологията.....	157
Договор 36/2015 Моделиране на резултатите и разходите при имплантиране на херниални платна.....	158
Договор 37/2015 Технологично и биофармацевтично охарактеризиране на хронофармацевтични лекарствени форми с монтелукаст натрий.....	160
Договор 38/2015 Анализ на разходите за лечение и оценка на качеството на живот на пациенти с хроничен хепатит С в България.....	160
Договор 48/2015 Оценка на психосоциалните рискове в организационна среда с висок професионален риск - здравеопазване”.....	161
Договор 49/2015 Социализация, ресоциализация и социална адаптация чрез приложимост на артериална терапия в социални и рехабилитационни заведения.....	162

<b>КОНКУРС „МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ’ 2014“ .....</b>	<b>164</b>
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>164</b>
Договор 1-Д/2014 Имуноцитохимично изследване на допаминергичната невротрансмисия в ретината на нисши гръбначни.....	164
Договор 2-Д/2014 Проучване на асоциацията между полиморфизми в 6 кандидат-гена: <i>IL17RC</i> , <i>GPR126</i> , <i>VDR</i> , <i>BMP4</i> , <i>Lep</i> , <i>TGFB1</i> и предразположението към идиопатична сколиоза.....	164
Договор 4-Д/2014 Синтез и охарактеризиране на 1-заместени арилпиперазини с ксантинов заместител при N4 с потенциална антиоксидантна и антипролиферативна активност .....	165
Договор 5-Д/2014 Сравнителен анализ на надземните части на <i>Astragalus glycyphylloides</i> и <i>Astragalus glycyphyllos</i> .....	166
Договор 6-Д/2014 Създаване на специализирано учебно помагало по дентална биохимия ....	167
Договор 10-Д/2014 Флавоноиди в <i>Astragalus thracicus</i> – диворастящи и конвенционални <i>in vitro</i> култури.....	167
Договор 11-Д/2014 Апоптоза и хипоксия при плоскоклетъчния карцином на ларинкса – молекулярни и генетични фактори.....	168
Договор 13-Д/2014 Фитохимично проучване и изолиране на биологично активни вещества от семена на <i>in vitro</i> култури от <i>Gloriosa superba</i> .....	169
Договор 16-Д/2014 Репликативно проучване за установяване на потенциална асоциация между полиморфни варианти във водещи кандидат – гени от геномни – асоциативни проучвания и исхемична болест на сърцето при български пациенти .....	169
Договор 17-Д/2014 Анализ на спектъра от соматични мутации в тумори от български пациенти с рак на гърдата чрез секвениране от ново поколение .....	170
Договор 18-Д/2014 Изследване на ролята на гените <i>SALL1</i> , <i>EYA1</i> и <i>SIX1</i> в етиологията на вродени аномалии на бъбреци и отделителна система .....	171
Договор 23-Д/2014 Моделиране на взаимодействието на йонизиращото лъчение с очната леща и разработване на методика за калибриране на индивидуални дозиметри за оценка на дозата на очната леща на персонала, работещ в интервенционалната рентгенология и кардиология.....	171
Договор 24-Д/2014 Мутационен анализ на ген <i>LRRK2</i> при български пациенти с болест на Паркинсон .....	172
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>173</b>
Договор 3-Д/2014 Миокини и риск от захарен диабет тип 2 .....	173
Договор 7-Д/2014 Сърдечно-съдов риск при захарен диабет тип 2.....	174
Договор 8-Д/2014 Значение на хомоцистеин и васпин и тяхната корелация със сърдечна автономна дисфункция при пациенти с различна степен на нарушение на глюкозния толеранс – предиабет (нарушена гликемия на гладно, нарушен глюкозен толеранс) и новооткрит захарен диабет тип 2 .....	175

Договор 9-Д/2014 Определяне на сонографските параметри на бъбрек, сърце, каротиди и серумните нива на IL-1 $\beta$ и IL-18 при болни с хронична подагра .....	176
Договор 12-Д/2014 Изследване на оментин и копептин като маркери за ранна диагностика при пациенти с метаболитен и премеаболитен синдром.....	176
Договор 14-Д/2014 Роля на серумните липиди във вирусната кинетика, патогенезата и терапевтичния отговор на хроничната HCV инфекция. Проследяване и съпоставяне на липидния статус с клинични, образни, лабораторни, вирусологични и хистологични методи за оценка на чернодробното заболяване.....	177
Договор 15-Д/2014 Честота на витамин Д дефицит, метаболитен синдром и захарен диабет тип 2 при пациенти с ХОББ .....	178
Договор 19-Д/2014 Изследване активацията и секрецията на IL-10 при периферни, кръвни, моноклеарни клетки, изолирани от здрави хора след култивирането им със среда от клетъчни култури, получени от Glioblastoma multiforme.....	178
Договор 20-Д/2014 г. Роля на мутациите в митохондриалната ДНК в патогенезата на несиндромната слухова загуба свързана с употреба на аминогликозидни антибиотици .....	179
Договор 21-Д/2014 Връзка на неврокогнитивни нарушения при болни с БАР-тип 1 и генетични полиморфизми в 5HTTLPR, FKPB5, 5HTR2A, NR3C1, MAOA –uVNTR гените .....	180
Договор 27-Д/2014 Серумни нива на маркери на възпаление при пациенти със захарен диабет тип 2 и латентен автоимунен захарен диабет и връзката им със степента на гликемични нарушения и придружаващи хронични усложнения сред българската популация.....	181
Договор 28-Д/2014 Получаване и съхранение на тъканни за до разширяване на тъканна банка от пациенти с карцином на млечната жлеза .....	181
Договор 35-Д/2013 Определяне атопичния статус на деца с астма и измерване температурата на издишания въздух за мониториране на възпалението на дихателните пътища и нивото на контрол .....	182
<b>МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>184</b>
Договор 26-Д/2014 Проучване на социалните и икономически аспекти на лечението на диабет при деца .....	184
<b>КОНКУРС „МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ 2015,, .....</b>	<b>185</b>
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>185</b>
Договор 3-Д/2015 Фитохимично фракциониране и охарактеризиране на биологично активни вещества от български видове <i>Astragalus</i> L. – <i>A. glycyphyllos</i> и <i>A. glycyphylloides</i> .....	185
Договор 6-Д/2015 Сравнителен анализ на антиоксидантното и цитотоксично действие на новосинтезирани 4-метокси ароил хидразони в in vitro тест системи .....	185
Договор 7-Д/2015 Ацилфлороглуциноли от българския вид <i>Hypericum cerastioides</i> (Spach) N. Robson - изолиране, структурно охарактеризиране и изпитване за цитотоксична и антинеопластична активност.....	186

Договор 11-Д/2015 Ефекти на кампферол и кампферол-3-глюкозид върху пролиферацията на кератиноцити и зарастването на рани.....	187
Договор 15-Д/2015 Експресионен анализ на микро РНКи като молекулни маркери за ранно диагностициране и прогноза при ларингеален карцином.....	188
Договор 16-Д/2015 Анализ за наличие на герминативни мутации в панел от 94 тумор-асоциирани гени чрез новогенерационно секвениране при български пациенти с фамилен рак на гърдата.....	189
Договор 17-Д/2015 Приложение на секвениране от ново поколение за откриване на мутации водещи до различни проявления на вродени аномалии на бъбреци и отделителна система .	189
Договор 19-Д/2015 Разработване на индивидуален дозиметър за измерване на дозата на очната леща в интервенционалната рентгенология и кардиология .....	190
Договор 20-Д/2015 Роля на витамин Д в протичането на колаген-индуциран ревматоиден артрит.....	191
Договор 23-Д/2015 Потвърждаване на потенциално патогенни хромозомни микроаберации при пациенти с епилепсия и умствено изоставане, открити чрез метода на сравнителната геномна хибридизация .....	192
Договор 24-Д/2015 Изследване на полиморфизми в гени <i>COMT</i> , <i>MTHFR</i> и <i>MAO</i> и тяхната асоциация при български пациенти с болест на Алцхаймер и с болест на Паркинсон .....	193
Договор 25-Д/2015 Изследване ефекта на SSRI върху невровъзпаление в експериментален модел на неонатална епилепсия .....	194
<b>МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ .....</b>	<b>194</b>
Договор 1-Д/2015 Терапия на панкреасна екзокринна недостатъчност – проследяване и оптимизиране .....	194
Договор 2-Д/2015 Миокини в глюкозния континуум.....	195
Договор 4-Д/2015 Изследване нивата на плазмените концентрации на Ендотелин-1 (ET1) и неговия рецептор ETA при пациенти с глаукома и оценка на промените в ретинния неврофибрилерен слой (РНФС).....	196
Договор 8-Д/2015 Оценка връзката между маркери за системно възпаление (CRP, IL-6, IL-10, IL-33, CCL2/MCP-1), витамин Д статуса и хода на протичане на болестта при пациенти с хронична спонтанна уртикария.....	197
Договор 9-Д/2015 Секвениране (търсене на точкови мутации) на ген <i>KISS1R</i> при пациенти с централен ранен пубертет.....	198
Договор 12-Д/2015 Проследяване на чревното възпаление при пациенти с възпалителни чревни заболявания посредством изследване на фекален калпротектин .....	199
Договор 14-Д/2015 Биохимични маркери и образни методи за ранна диагностика на сърдечно-съдови усложнения при пациенти със захарен диабет тип 2.....	200
Договор 18-Д/2015 Трансплантация на <i>ex vivo</i> размножени човешки лимбални стволови клетки с преносител амниотична мембрана.....	201



Договор 21-Д/2015 Изработване на комплексни критерии за диференциална диагноза на макрорегенераторния нодул и ранния хепатоцелуларен карцином ..... 202

### **МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ .....203**

Договор 5-Д/2015 Разработване на модел за управленските функции на здравните грижи в болничната структура..... 203

### **КОНКУРС СТИМУЛИРАНЕ НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ В ОБЛАСТИ С ПОСТИГНАТИ ВИСОКИ ПОСТИЖЕНИЯ\_2014-2015 .....204**

Договор 1-С/2014 Дизайн, синтез и антихолинестеразна активност на нови производни на галантамина – втори етап ..... 204

Договор 2-С/2014 Нови маркери за съдов риск при пациенти с предиабет..... 204

Договор 3-С/2014 Молекулярно-генетична диагностика при скелетни дисплазии и краниостенози ..... 205

Договор 4-С/2014 Пилотен биомониторинг на нивата на бисфенол А в урина при студенти по дентална медицина и зъботехника, преподаватели и медицински персонал, участващ в процеса на обучение ..... 206

Договор 5-С/2014 Диагностика на панкреасна екзокринна и ендокринна недостатъчност ..... 207

Договор 6-С/2014 Изработване на комплексни критерии за диференциална диагноза на хепатоцелуларния и холангиоцелуларния карцином..... 209

Договор 1-С/2015 Серумни нива на хепсидин, цинк (Zn), селен (Se), мед (Cu), магнезий (Mg), и връзката им с анемията и оксидативния стрес при болни с хронични бъбречни заболявания (ХБЗ) в терминален стадий, на диализно лечение ..... 210

Договор 2-С/2015 Генотип-фенотипни корелации при неврофиброматоза в България ..... 212

Договор 3-С/2015 Адипоцитокени и сърдечно-съдов риск при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна..... 213

Договор 4-С/2015 Връзка между сенсibiliзацията към инхалаторни и хранителни алергени, разпространението и вида на алергичните заболявания и факторите на околната среда..... 213

Договор 5-С/2015 Влияние на отдалеченото исхемично прекондициониране върху бъбречната функция при пациенти след сърдечни операции..... 214

Договор 6-С/2015 Нови, термодинамични методи за регистрация и анализ на промените в състоянието на плазмения протеом и на цереброспиналната течност при ракови и автоимунни заболявания ..... 215

Договор 7-С/2015 Анализ на панел от гени, асоциирани с предразположение за развитието на фамилен рак на гърдата и яйчниците, чрез секвениране от ново поколение ..... 216

Договор 8-С/2015 Дизайн, синтез и антихолинестеразна активност на нови производни на галантамина – трети етап..... 217

Договор 9-С /2015 Проучване ролята на някои етиологични фактори за възникването на идиопатична уртикария и ангионевротичен едем..... 218

**КОНКУРС „ИЗГРАЖДАНЕ НА ИНФРАСТРУКТУРА ЗА НАУЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ В МУ-СОФИЯ -2015“ .....220**

Договор 1-И/2015 Изграждане на информационна среда за електронно събиране на данни при провеждане на епидемиологични проучвания и организиране на регистри за обществено значими заболявания чрез присъединяване на МУ-София към консорциума REDCap..... 220

**SCIENTIFIC PROJECTS 2014 – 2015 WITH FINANCIAL SUPPORT OF MEDICAL UNIVERSITY – SOFIA .....222**

**GRANT 2014 .....223**

**MEDICO-BIOLOGICAL AREA.....223**

Contract 2/2014 Simultaneously determination of nonsteroidal antiinflammatory and antiacidic drugs by means of high pressure liquid chromatography..... 223

Contract 3/2014 Effect of methyl jasmonate on production of citotoxic lignans in *In vitro* cultures of *Linum linearifolium*..... 223

Contract 5/2014 Prevalence of sexually transmitted bacterial infections *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* and *Gardnerella vaginalis* in spontaneous abortion 224

Contract 6/2014 BRAF and NRAS mutations frequency and HPV infection in patients with colorectal cancer ..... 225

Contract 7/2014 Determination of the antioxidant properties of new designed salicylaldehyde benzoin derived hydrazones. Investigation of the structure-activity relationship..... 225

Contract 8/2014 Purinergic transmission in the retina: a contribution of the ionotropic receptor P2X7 to the electroretinographic (ERG) response characteristics ..... 226

Contract 9/2014 Study of patients with suspected or diagnosed MEN and evaluation of the relationship between the observed phenotype and variations in the MEN1 and MEN2 genes ..... 227

Contract 10/2014 Testing the sensitivity of *Helicobacter pylori* and *Clostridium difficile* to linezolid and certain classic antibiotics for therapy and study the expression of genes in vivo virulence of *H. pylori*..... 227

Contract 11/2014 Comparative molecular biological investigations of the bacteriocin production among clinically significant and non-pathogenic *Enterococcus* spp. strains isolated respectively from human clinical samples and dairy food products..... 228

Contract 12/2014 Chemometric approach in analysis of plant substance *Arnicae flos* ..... 229

Contract 13/2014 Investigation of the effects of HPLC-characterized *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract, administered alone and in hepatotoxicity models *in vitro/in vivo* in rat..... 230

Contract 14/2014 Phytochemical and pharmacological study of *Astragalus monspessulanus* L. (Fabaceae) ..... 231

Contract 15/2014 Synthesis and pharmacological activity of new Ga (III) metal complexes with biologically active aroylhydrazones, derivatives of salicylaldehyde benzoylhydrazone.....	232
Contract Nr. 17/2014. Effect of growth factors (BMP4 AND FGF8) ON synthesis of collagen and mineralization of mesenchymal stem cells from deciduous tooth pulp in vitro.....	233
Contract 20/2014 Effects of the endocannabinoid and the nitric oxide-ergic systems on pain perception and acute inflammatory pain during stress-induced analgesia in rats.....	234
Contract 21/2014 Isolation and identification of flavonoids of the aerial parts of <i>Chenopodium bonus-henricus</i> L. Study of the effects of methanol extract of the aerial parts of <i>C. bonus-henricus</i> L. and isolated substances in models of induced hepatotoxicity in rats. ....	235
Contract 22/2014 Toxicity evaluation of a new polyzwitterionic copolymer nanoparticles loaded with metoprolol on spontaneously hypertensive drugs (SHR) .....	235
Contract 26/2014 Investigation of rs5400 polymorphism in the Glucose Transporter Type 2 gene (GLUT2) and the <i>Streptococcus mutans</i> titre in relation to the hereditary factor in the etiopathogenesis of dental caries .....	236
Contract 27/2014 Genomic association studies as a modern approach for clarification of genetic basis of hypertension: replicative study of positive signals for association in Bulgarian population.....	237
Contract 28/2014 Study of the participation of AT2 receptors by the angiotensin receptor agonist Novokinin in the mechanism of metabolic and behavioral disorders in DN experimental model of diabetes mellitus in rats .....	238
Contract 29/2014 Influence of the genetic background on the qualitative and quantitative characteristics of meiotic spindle in <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> matured mouse oocytes.....	239
Contract 32/2014 Lanthanide complexes with biologically active ligands-synthesis, characterization and pharmacological activity.....	240
Contract 34/2014 Development of mesoporous silica nanoparticles coated with bioadhesive polymers.....	241
Contract 35/2014 Molecular genetic studies on virulence of Bulgarian clinical isolates <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	241
Contract Nr. 36/2014 Epidemiology typing, mechanisms of resistance among carbapenemase and/or extended spectrum beta-lactamase(ESBLs)- producing clinically-significant and from fecal carriage members of family <i>Enterobacteriaceae</i> in three university hospitals in Sofia, Pleven and Varna .....	242
Contract 37/2014 Nasopharyngeal carriage of <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolates in children with acute otitis media after introduction of routine immunization with pneumococcal conjugate vaccine. ....	243
Contract 38/2014 Serotonergic neurotransmission in retina of lower vertebrates .....	244
Contract 40/2014 Epigenetic alterations in genes, connected to stress and oncogenesis, in patients with type 2 diabetes .....	244
Contract 41/2014 Replication study in independent cohort of heroin addicted and controls, following a pilot exome SNP scan of heroin addiction.....	245

Contract 42/2014 Validation of a protocol for next-generation sequencing with Ion Torrent PGM sequencer for detection of mutation in the BRCA1 and BRCA2 genes.....	246
Contract 43/2014 Effect of vitamin D on the glucose metabolism, lipid exchange and oxidative stress of streptozotocin-induced diabetic rats during pregnancy.....	247
Contract 44/2014 Epiligament and its role in the healing processes of the knee collateral ligaments in an experimental rat model.....	247
Contract 45/2014 Pharmacology studies on mechanisms of action of Topiramate on metabolism of rats with experimental epilepsy and obesity .....	248
Contract 52/2014 Gene screening in patients with epilepsy and mental retardation .....	249
Contract 53/2014 Molecular-genetic analysis for carriers of mutation at the BRCA1 and BRCA2 genes in patients with ovarian carcinoma.....	249
Contract 55/2014 Investigation the role of HPV in pathogenesis of oesophageal carcinoma in Bulgarian patients .....	250
Contract 56/2014 Expression analysis of miRNAs let-7a, miR-21 and miR-205 in Bulgarian patients with non-small cell lung cancer .....	251
Contract 57/2014 Analysis of the consequences of structural aberrations affecting the LPP, CFHR1 and CFHR3 genes on nucleotide level .....	251
Contract 58/2014 Mutation screening of Bulgarian patients affected by retinal degeneration .....	252
Contract 61/2014 Role of the polymorphisms in the CD3Z gene for the etiology and pathogenesis of dermatomyositis in Bulgaria.....	253
Contract 66/2014 Utility of serum biomarkers for assessment of severity and effect of antibiotic therapy in hospitalized children with community-acquired pneumonia.....	254
<b>MEDICO-CLINICAL AREA.....</b>	<b>254</b>
Contract 1/2014 iNO treatment of extremely low birth weight infants with pulmonary failure .....	254
Contract 4/2014 NGAL, IL-18, and KIM-1 in urine for early assessment of the risk of developing acute kidney injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass .....	256
Contract 16/2014 Presence of gene polymorphism of main cytokines: interleukin 6 (IL-6) - allele-174 and -597, tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) (TNF- $\alpha$ ) – allele -308, and lymphotoxin- $\alpha$ (LT- $\alpha$ )) in relationwith the chronic periodontitis .....	256
Contract 18/2014 Role of bacterial translocation, sCD14 secretion and subsequent systemic inflammatory reaction for the course and therapeutic response in patients with chronic hepatitis B and C.....	258
Contract 19/2014 Investigation of the cytokine profile in HIV-infected patients with established deficiency of vitamin D.....	258
Contract 24/2014 Prediction and visualization of the treatment changes of facial profile in patients skeletal class II treated with functional appliances.....	259

Contract 25/2014 Influence of vitamin D3 related genetic polymorphisms on the development and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus.....	260
Contract 39/2014 Investigation of the spectrum of microorganisms associated with bacterial vaginosis and vulva-vaginal candidiasis in pregnant and their role in complications in childbirth and fetus.....	261
Contract 46/2014 Methodology of obtaining and conserving tumor tissue samples for establishment of tissue biobank of carcinomas of colon, stomach and thyroid gland.....	261
Contract 48/2014 Pilot investigation of photosensitizing action of ingredients of dental materials among dental patients and dentists, suspected of suffering from chronic photochemical dermatitis .....	262
Contract 50/2014 Physical analgesia in patients with neurological, neurosurgical, rheumatologic, orthopedic and traumatic conditions (introduction of modern methods and comparative evaluation of the efficacy of application of TENS, LASER, FES with bio-feedback and Deep Oscillation in different types of pain – neuropathic, nociceptive, central, myofascial, ligamentar, post-operative) .....	263
Contract 51/2014 Expression analysis of microribonucleic acids in peripheral blood and evaluating their diagnostic and prognostic value in patients with systemic lupus erythematosus .....	264
Contract 54/2014 Investigation of the role of the peptide hormone hepcidine in the differential diagnosis of iron deficiency anemia and anemia of chronic disease in pregnancy .....	265
Contract 59/2014 Rhinovirus- induced wheezing and antiviral immune response in children with family history of asthma.....	265
Contract 60/2014 Serum and urine biological markers in early kidney injury- pathological perspective .....	266
Contract 62/2014 Noninvasive and invasive methods for diagnosis of prediabetic neuropathy.....	267
Contract 63/2014 Androgen receptor polymorphism and serum levels of leptin and adiponectin in men with metabolic syndrome with or without hypogonadism.....	267
Contract 64/2014 Coinfections in women of reproductive age with a sexually transmitted bacterial agents .....	268
Contract 65/2014 Bronchial asthma genotype-phenotype association in childhood .....	269
Contract 67/2014 Anemia in rheumatoid arthritis and serum hepcidin levels – new tools in therapy .....	270
<b>MEDICO-SOCIAL AREA.....</b>	<b>272</b>
Contract 23/2014 Design and characterization of chronopharmaceutical dosage form with acetylsalicylic acid .....	272
Contract 30/2014 Researching the incidence of micro and macrovascular complications in diabetes type 1 and type 2 and costs of their treatment .....	273
Contract 31/2014 Study on interaction between marketing authorization holders and pharmacists.....	273
Contract 33/2014 Investigation of the risks after implantation of hernia meshes.....	274

Contract 47/2014 Create synergies build a information sharing environment for information related occupational health and work environment factors.....	275
Contract 49/2014 Research on modern preventive approaches on exacerbations of "Chronic Obstructive Pulmonary Disease .....	276
<b>GRANT 2015 .....</b>	<b>278</b>
<b>MEDICO-BIOLOGICAL AREA.....</b>	<b>278</b>
Contract 1/2015 Investigation of the association between polymorphic variants in diabet-related genes and the coronary artery disease risk in Bulgarians.....	278
Contract 2/2015 Participation of histamine in retinal sensitivity control: electroretinographic study .....	279
Contract 3/2015 Optimisation and validation of molecular genetic approach for diagnostics of some types of cofactor dependent epileptic encephalopathies in Bulgarian children .....	280
Contract 4/2015 Study of the effects of the selective melatonergic agent agomelatine in experimental models of melatonin deficiency and temporal lobe epilepsy in rats.....	280
Contract 5/2015 Investigation of expression profile of BPIFA1(PLUNC) gene in patients with chronic rhinosinitis and chronic otitis media .....	282
Contract 6/2015 Comparative immunohistochemical examination of changes in the epiligament after injury of rat knee joint collateral ligaments .....	282
Contract 7/2015 Clinical, microbiological and genetic studies on one of the most significant respiratory causes of respiratory infections in children <i>STREPTOCOCCUS PYOGENES</i> .....	283
Contract 10/2015 Introducing modern techniques for group B <i>streptococcus</i> screening in pregnant women at 35-37 weeks of gestation .....	284
Contract 11/2015 Clonal origin of <i>E. coli</i> and <i>K. Pneumoniae</i> isolates producing carbapenamase- and/or extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) and determining the localization of the genes encoding those enzymes.....	285
Contract 12/2015 Design, synthesis and application in medicine and biology of new fluorogenic substrate and specific inhibitors of aminopeptidase A.....	285
Contract 13/2015 Preclinical screening of newly synthesized coumarin and 2H-substituted hydrazide-hydrazones for a potential anti-seizure activity and assessment of their neurotoxicity .....	286
Contract 14/2015 Role of the cannabinoid and the nitric oxide systems on nociception and behavioral responses after stress in rats .....	287
Contract 15/2015 Study of the participation of angiotensin AT2 receptors, using an angiotensin AT2-receptor agonist, in the mechanism of behavioral changes induced by experimental diabetes in spontaneously hypertensive rats (SHR) .....	288
Contract 16/2015 Study of Balbiani body cytoplasmic components in oocytes from mouse primordial follicles.....	289
Contract 17/2015 Study of the role of CK2 protein kinases in the regulation of wnt signaling in human mesenchymal stem cells (MSC) isolated from granulation tissue dental alveoli.....	290

Contract 18/2015 Study of osteoinductive intracellular signaling regulating osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells isolated from dental pulp .....	290
Contract 20/2015 Application of Next Generation Sequencing for detection of somatic mutations in gliomas and tumors of the gastrointestinal tract in a select group of Bulgarian patients.....	291
Contract 21/2015 Molecular-genetical structure of multidrug-resistant invasive and respiratory <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolates five years after routine implementation of a pneumococcal conjugated vaccine for Bulgarian infants .....	292
Contract 24/2015 Elaboration of non-invasive method for evaluating implantation potential of human embryos based on miRNAs expression in culture medium .....	293
Contract 25/2015 Oxidative stress as a co-factor in epigenetic alterations during cervical carcinogenesis .....	294
Contract 26/2015 Pharmacological effects of opioid agonists and antagonists on learning and memory, and behavior of rats with experimental diabetes .....	295
Contract 27/2015 New method for investigation and diagnosis of Alzheimer disease based on differential scanning calorimetry .....	295
Contract 28/2015 Production of ariltetralin lignans in In vitro cultures of endemit species <i>Linum ucrainicum Czern</i> .....	296
Contract 29/2015 Phytochemical and pharmacological study of <i>Astragalus monspessulanus</i> subsp. <i>illyricus</i> .....	297
Contract 31//2015 Prospective antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activities of <i>Portulaca oleracea</i> L. (purslane) extracts and bioactive compounds in <i>in vitro</i> models .....	298
Contract 32/2015 Antibacterial, radical-scavenging and acetylcholinesterase inhibitory potential of used in traditional Sudanese medicine plant species <i>Solanum carense</i> and <i>Geigeria alata</i> . .....	299
Contract 33/2015 In Vitro And In Vivo Toxicity Evaluation Of Cationic PDMAEMA-PCL-PDMAEMA Micelles.....	300
Contract 34/2015 Quantitative determination of fluoroquinolones and antibacterial nitroimidazole drugs in mixtures by means of high pressure liquid chromatography.....	301
Contract 35/2015 Design, synthesis and spectral characterization of new 3- and 5-substituted salicylaldehyde benzoylhydrazone derivatives with potential cytotoxic activity .....	302
Contract 39/2015 Toxicological characterization and study of the spectral behavior of pyrrole hydrazones with proven anti-microbacterial effect.....	303
Contract 40/2015 Experimental study of the anti-inflammatory activity of total extract of <i>Gypsophila trichotoma</i> Wend .....	304
Contract 41/2015 Prenylated acylphloroglucinols from <i>Hypericum annulatum</i> Moris – isolation, structure elucidation and cytotoxicity assessment on panel of tumor cell lines.....	304
Contract 42/2015 Effects of growth factor PDGF (Platelet Derived Growth Factor) on collagen synthesis and osteo/odontogenic differentiation of human periodontal ligament cell cultures.....	305
Contract 43/2015 Investigation of the effect of transport media and citric acid on the biological potential of stem cells from apical papilla .....	306

Contract 50/2015 Next-generation sequencing of target genes for retinal degeneration in bulgarian patients.....	306
Contract 56/2015 The role of signal pathway of T- and B-cell activation in the pathogenesis of Common variable immunodeficiency .....	307
Contract 63/2015 Study of immune signatures in the antibody repertoire in patients with malignant and metastatic brain tumors.....	308
Contract 66/2015 Genetic alterations in primary glioblastomas and their association with prognosis in Bulgarian patients .....	309
Contract 76/2015 Immunohistochemical characteristics of brain metastases and their corresponding primary non-small cell lung cancer .....	310
<b>MEDICO-CLINICAL AREA.....</b>	<b>311</b>
Contract 8/2015 Correlation between hepcidin levels and cardiovascular status in thalassemia .....	311
Contract 9/2015 Role of hepcidin in anemic syndrome in multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia patients.....	312
Contract 22/2015 Molecular Genetic Diagnostic Methods in the Detection of Anaerob Bacteria supposed to play role in the ethiopathogenesis of Bacterial Vaginosis.....	313
Contract 23/2015 Molecular diagnostic methods and levels of pro-inflammatory and other cytokines in the diagnostic algorithm of women with chronic recurrent vulvo-vaginal candidiasis .....	314
Contract 44/2015 Local host response assessment in non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis.....	315
Contract 45/2015 Retrograde endodontic treatment after apical resection (in vitro study).....	315
Contract 46/2015 Use of ozone in dental caries treatment .....	317
Contract 47 /2015 Dental trauma in children - the creation of interactive software guide for diagnosis and treatment .....	317
Contract 51/2015 Role of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of obstructive coronary artery disease and microvascular disease .....	318
Contract 52/2015 Assessment of rate and magnitude of periprocedural myonecrosis after percutaneous coronary intervention, the possibility of prediction by intracoronary electrocardiogram and correlation with myocardial contrast echocardiography and myocardial deformation parameters .....	319
Contract 53/2015 Multiplex Real Time PCR in the laboratory practice of frequent sexually transmitted bacterial infections among women in reproductive age .....	320
Contract 54/2015 Th17 lymphocytes subpopulation and vitamin D in pediatric asthma .....	320
Contract 55/2015 Role of promoter hypermethylation of CD3Z in the etiology and the pathogenesis of dermatomyositis .....	321
Contract 57/2015 Serum 25-hydroxyvitamin D levels in children with recurrent virus-induced wheezing.....	322



Contract 58/2015 Clinical correlation on evaluation of hormones, function of autonomic nervous system and pain in patients with fibromyalgia .....	323
Contract 59/2015 Optimizing the immunological diagnosis of the various forms of progressive systemic sclerosis by testing a wide range of autoantibodies .....	323
Contract 60/2015 Reactivation of HBV in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and the role of parvovirus B19 in the pathogenesis of these diseases .....	324
Contract 61/2015 New diagnostic and prognostic biomarkers in rheumatoid arthritis.....	325
Contract 62/2015 Expression analysis of microribonucleic acids in serum and determination of their diagnostic and prognostic value in patients with progressive systemic sclerosis.....	326
Contract 64/2015 Evaluating the role of the k-ras status in differential diagnosis of benign and malignant pancreatic cystic lesions.....	327
Contract 65/2015 Semiquantitative examination of exocrine function and morphological assessment of chronic pancreatitis by secretin-enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography .....	328
Contract 67/2015 Sequencing of gene MKRN3 in patients with central precocious puberty .....	328
Contract 68/2015 Analysis of polymorphic variants in candidate genes associated with response to therapy with methotrexate in children with juvenile idiopathic arthritis.....	329
Contract 69/2015 Investigating the Role of Vitamin D Deficiency for the Occurrence and Severity of Lower Respiratory Tract Infections through Comparative Analysis of Vitamin D Levels in Children with Acute Pneumonia and Healthy Controls .....	330
Contract 70/2015 Peak bone mass and hormonal status of girls with regular or abnormal menstrual cycle in their adolescent period .....	331
Contract 71/2015 Assessment of zinc transporter 8 (ZNT8) antibodies in subjects with type 1 diabetes .....	331
Contract 72/2015 Cardiovascular risk in patients with pheochromocytoma, evaluated by heart failure markers.....	332
Contract 73/2015 Carbohydrate metabolism disturbances in patients with prolactinoma: frequency and effect of dopamine agonist treatment. Investigation of some markers for insulin sensitivity and endothelial dysfunction.....	333
Contract 74/2015 The significance of allergic rhinosinusitis in asthma pathogenesis and manifestation during childhood .....	334
Contract 75/2015 Phenotyping of bronchial asthma.....	334
Contract 77/2015 Instrumental, immunological and serological correlations in patients with early systemic sclerosis and optimizing the early diagnosis .....	335
Contract 78/2015 Pilot study on Human Papillomavirus and Herpes Virus as Oral Precancerous Lesions and Neoplasms .....	336
<b>MEDICO-SOCIAL AREA.....</b>	<b>337</b>
Contract 19/2015 Psychosocial risks of shift work.....	337

Contract 30/2015 Study of the attitudes and factors influencing prescribing and dispensing of generic medicines in cardiology.....	338
Contract 36/2015 Modeling of results and costs after implantation of hernial meshes.....	339
Contract 37/2015 Technological and biopharmaceutical characterization of chronopharmaceutical formulations with montelukast sodium.....	340
Contract 38/2015 Cost analysis and quality of life of patients with chronic hepatitis C in Bulgaria ..	340
Contract 48/2015 Psychosocial risk assessment in organisation at high occupational risk- health care .....	341
Contract 49/2015 Socialization, resocialization and social adaptation by applicability of art therapy in social and rehabilitation facilities.....	342
<b>GRANT YOUNG SCIENTISTS 2014 .....</b>	<b>343</b>
<b>MEDICO-BIOLOGICAL AREA .....</b>	<b>343</b>
Contract 1-D/2014 Immunocytochemical investigation of dopaminergic neurotransmission in the retina of lower vertebrates .....	343
Contract 2-D/2014 Investigation of association between polymorphisms in 6 candidate-genes: <i>IL17RC, GPR126, VDR, BMP4, Lep, TGFB1</i> and genetic predisposition to idiopathic scoliosis in Bulgarian patients .....	343
Contract 4-D/2014 Synthesis and охарактеризиране of 1-substituted arylpiperazines with xanthine moiety at N4 with potential antioxidant and aniproliferativeactivity .....	344
Contract Nr. 5-D/2014 Comparative analysis of the aerial parts of <i>Astragalus glycyphylloides</i> and <i>Astragalys glycyphyllos</i> .....	345
Contract Nr. 6-D/2014 Development of specialized textbook in Dental Biochemistry.....	345
Contract 10-D/2014 Flavonoids in <i>Astragalus thracicus</i> – wild plants and conventional in vitro cultures.....	346
Contract 11-D/2014 Apoptosis and hypoxia in squamous cell carcinoma of the larynx – molecular and genetic factors.....	346
Contract 13-D/2014 Phytochemical investigation and isolation of biologically active substances from the seeds of <i>in vitro</i> cultures of <i>Gloriosa superba</i> .....	347
Contract 16-D/2014 Replicative study to identify the potential association between polymorphic variants in leading candidate - genes from genomic - association studies and coronary heart disease in Bulgarian patients.....	348
Contract 17-D/2014 Analysis of the spectrum of somatic mutations in tumors from Bulgarian breast cancer patients using next generation sequencing.....	348
Contract 18-D/2014 Analysis of the role of <i>SALL1, EYA1</i> and <i>SIX1</i> genes in the etiology of congenital anomalies of kidney and urinary tract .....	349

Contract 23-D/2014 Modelling the interaction of ionizing radiation with eye lens and developing a method for calibration of personal dosimeters to assess the dose of the lens of the medical specialists working in interventional radiology and cardiology .....	349
Contract 24-D/2014 Mutation analysis of <i>LRK2</i> gene in Bulgarian patients with Parkinson`s Disease .....	350
<b>MEDICO-CLINICAL AREA.....</b>	<b>351</b>
Contract 3-D/2014 Myokines and Risk for Type 2 Diabetes Mellitus .....	351
Contract 7-D/2014 Cardiovascular risk in type 2 diabetes.....	352
Contract 8-D/2014 Clinical significance of homocysteine and vaspin and their correlation with cardiovascular autonomic dysfunction in subjects with different stages of glucose intolerance – prediabetes (impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance) and newly-diagnosed type 2 diabetes .....	352
Contract 9-D/2014 Measurement of ultrasonographic parameters of the kidneys, heart, common carotid arteries and serum levels of IL-1 $\beta$ and IL-18 in patients with chronic gout.....	353
Contract 12-D/2014 Research on Omentin and Copeptin as markers for early diagnosis of metabolic and pre-metabolic syndrome.....	354
Contract 14-D/2014 Role of serum lipids for the viral kinetics, pathogenesis and treatment response in chronic HCV infection. Evaluation of the lipid profile along with clinical, imaging, laboratory, virological and histological methods for liver disease assessment.....	354
Contract Nr. 15-D/2014 Prevalence of vitamin D deficiency, metabolic syndrome and diabetes mellitus type 2 in COPD patients.....	355
Contract 19-D/2014 Investigation of activation and secretion of IL-10 in Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy donors after culturing with Glioblastoma multiforme cell cultures media.....	355
Contract 20-D/2014 Role of mutations in mitochondrial DNA in the pathogenesis of nonsyndromic hearing loss associated with the use of aminoglycoside antibiotics.....	356
Contract 21-D/2014 Neurocognitive impairment in bipolar patients and genetic markers of 5HTTLPR, FKBP5, 5HTR2A, NR3C1, MAOA –uVNTR genes .....	357
Contract 27-D/2014 Serum Level of Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes and Latent Autoimmune Diabetes of the Adults and their Relation to Glycaemic Control and Concomitant Chronic Complications in Bulgarian Population.....	357
Contract 28-D/2014 Creation and storage of tissue samples for expanding the breast cancer tissue biobank.....	358
Contract 35-D/2013 Determination of atopic status and exhaled breath temperature as a diagnostic tools for monitoring the airway inflammation and asthma control in children .....	358
<b>MEDICO-SOCIAL AREA.....</b>	<b>360</b>
Contract 26-D/2014 Pediatric Type 1 Diabetes Mellitus Treatment-social and economic aspects....	360

<b>GRANT YOUNG SCIENTISTS 2015 .....</b>	<b>361</b>
<b>MEDICO-BIOLOGICAL AREA .....</b>	<b>361</b>
Contract 3-D/2015 Phytochemical fractionation и characterisation of biologically active compounds from Bulgarian species from genus <i>Astragalus</i> L. – <i>A. glycyphyllos</i> and <i>A. glycyphylloides</i> .....	361
Contract 6-D/2015 Comparative evaluation of the antioxidant and citotoxyc effect of new 4-methoxy aroyl hydrazones in in vitro model systems .....	361
Contract 7-D/2015 Acylphloroglucinols from the Bulgarian species <i>Hypericum cerastioides</i> (Spach) N. Robson - isolation, structural characterization and examining for cytotoxic and antineoplastic activity .....	362
Contract 11-D/2015 Effects of kaempferol and kaempferol-3-glucoside on keratinocyte proliferation and wound healing .....	363
Contract 15-D/2015 Expression analysis of miRNAs as potential molecular markers for early diagnosis and prognosis of laryngeal cancer.....	363
Contract 16-D/2015 Analysis of the germline mutations in a panel of 94 tumor-associated genes using next generation sequencing in familial breast cancer Bulgarian patients .....	364
Contract 17-D/2015 Implementation of next generation sequencing for mutation detection in patients with congenital anomalies of kidney and urinary tract .....	365
Contract 19-D/2015 Development of a new personal dosimeter for eye lens dose measurment in interventional radiology .....	365
Contract 20-D/2015 Role of vitamin D in the development of collagen-induced rheumatoid arthritis.....	366
Contract 23-D/2015 Validation of potentially pathogenic chromosomal microaberrations, found in patients with epilepsy and intellectual disability using array comparative genomic hybridization assay .....	367
Contract 24-D/2015 Association study of polymorphisms in genes <i>COMT</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MAO</i> in Bulgarian patients with Alzheimer disease and Parkinson disease.....	367
Contract 25-D/2015 Effects of SSRI on neuroinflammation in neonatal model of epilepsy.....	368
<b>MEDICO-CLINICAL AREA.....</b>	<b>369</b>
Contract 1-D/2015 Treatment of pancreatic exocrine insufficiency - monitoring and optimizing.....	369
Contract 2-D/2015 Myokines in the glucose continuum .....	370
Contract 4-D/2015 Investgation of Endothelin-1 and Endothelin-A receptor plasma levels in patients with glaucoma and correlation with retinal nerve fiber layer changes .....	370
Contract 8-D/2015 Link Evaluation of Markers for Systemic Inflammation (CRP, IL-6, IL-10, IL-33, CCL2/MCP-1), the Vitamin D Status, and the Disease Characteristics in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria.....	371
Contract 9-D/2015 Sequencing of gene <i>KISS1R</i> in patients with central precocious puberty.....	372

Contract 12-D/2015 Follow-up of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease patients by fecal calprotectin examination.....	372
Contract 14-D/2015 Biochemical markers and ultrasound methods for early diagnosis of cardiovascular complications in type 2 diabetes patients .....	373
Contract 18-D/2015 Transplantation of ex vivo expanded human limbal stem cells on amniotic membrane .....	374
Contract 21-D/2015 Immunohistochemistry in the differential diagnosis of early hcc vs. hgdn .....	375

#### **MEDICO-SOCIAL AREA.....376**

Contract 5 -D/2015 Developing a model for management functions of health care in the hospital .	376
---	-----

#### **COMPETITION „STIMULATION OF SCIENTIFIC RESEARCH IN AREAS OF EXCELLENT ACHIEVEMENT” 2014 – 2015 .....378**

Contract 1-S/2014 Design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel galantamine derivatives – second stage .....	378
Contract 2-S/2014 New markers of vascular risk in patients with prediabetes.....	378
Contract 3-S/2013 Molecular-genetic diagnostic of skeletal dysplasia and craniostenosis .....	379
Contract 4-S/2014 Pilot biomonitoring of urinary bisphenol A levels among students of dentistry, students of dental technician school, assistants and medical personnel involved in the process of education.....	380
Contract 5-S/2014 Diagnostics of pancreatic exocrine and endocrine insufficiency .....	381
Contract 6-S/2014 Immunohistochemistry in the differential diagnosis of primary liver tumors – HCC VS. ICC VS. HCC/ICC .....	382
Contract 1-S/2015 Serum hepcidin, zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu), magnesium (Mg) concentrations, and their relation to anemia and oxidative stress in chronic kidney disease (CKD) patients, in terminal phase, on dialysis.....	383
Contract 2-S/2015 Genotype-phenotype correlations in neurofibromatoses in bulgaria.....	385
Contract 3-S/2015 Adipocytokines and cardio-vascular risk in patients with carbohydrate disturbances .....	386
Contract 4-S/2015 Association between sensitization to inhalant and food allergens, prevalence and types of allergic diseases and environmental factors .....	386
Contract 5-S/2015 Influence of remote ischemic preconditioning on renal function by patients after cardiac surgery .....	387
Contract 6-S/2015 New, thermodynamic methods for registration and analysis of the changes in the state of the plasma proteome and the cerebrospinal fluid in cancer and autoimmune diseases .....	388
Contract 7-S/2015 Analysis of a panel of genes associated with a predisposition for the development of familial breast cancer and ovarian cancer, by next generation sequencing.....	389

Contract 8-S/2015 Design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel galantamine derivatives – third stage ..... 390

Contract 9-S/2015 Study the role of some etiological factors for the occurrence of idiopathic urticaria and angioedema..... 391

**GRANTS FOR BUILDING RESEARCH INFRASTRUCTURE 2015.....392**

Contract 1-I/2015 Development and implementation of EDC platform for epidemiologic research and registries for health conditions with high social impact by affiliating of MU-Sofia to the international consortium REDCap..... 392

**КОНКУРСИ „ГРАНТ 2014” И „ГРАНТ 2015”**

**ГРАНТ 2014****МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ****Договор 2/2014 Количествено определяне на нестероидни противовъзпалителни лекарствени продукти в смеси с противоязвени лекарства чрез високоефективна течна хроматография****Водещ изследовател:** Доц. Бойка Георгиева Цветкова, дф**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Лили Пейкова, дф
- Проф. Данка Обрешкова, дм
- Ивелина Асенова

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по Фармацевтична химия

**РЕЗУЛТАТИ:** В резултат от проведените анализи са разработени аналитични тестове за идентичност, чистота и определяне на количествено съдържание на фиксирани лекарствени смеси от Diclofenac Sodium и Famotidine, както и Ibuprofen Famotidine. Методите са оптимизирани на базата на валидационни процедури, съгласно изискванията на Европейска Фармакопея и критериите на ИСН. Тестовите са високо ефективни течна-хроматографски с използване на високо специализирани консумативи (RP, ODS аналитична хроматографски колони 250 x 4.6 mm и 125 x 4.6 mm и се отличават с прецизност, точност, висока чувствителност и селективност. Методите са полезни за аналитичната практика, както и за регулаторните институции при контрол на редица новорегистрирани генерични продукти. ВЕТХ определянето дава възможност за адекватно съответствие на съвременните изисквания към контрола на качеството и нивото на познание, което налага и информационни решения като формиране на лекарствени профили вече и за фиксирани комбинации, тъй като разгледаните комбинации са широко използвани в практиката.

**Научни публикации и прояви:**

- Peikova L, Georgieva M, Tsvetkova B. RP-HPLC method for simultaneous determination of ibuprofen and famotidine in pharmaceutical dosage form. Pharmacia, 2014;61(2):3-6.
- Tsvetkova B, Peikova L, Kostova B, et al. HPLC assay of model formulations containing diclofenac sodium and famotidine. J Chem Pharm Res. 2015;7(4):589-94.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.



**Договор 3/2014 Влияние на метил жасмонат върху продукцията на цитотоксични лигнани в ин витро култури на *Linum linearifolium*****Водещ изследовател:** Проф. Илиана Илиева Йонкова, дфн**Членове на изследователския екип:**

- Янчо Зарев, докторант
- Христо Василев, докторант
- Павлинка Попова
- Дейвид Икономов, студент

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** Третирането с Methyl jasmonate (MeJA) повишава нивото на растителните вторични метаболити, включително и на арилтетралинови лигнани, за които е установено, че са главните активни вещества в *Linum linearifolium*. Настоящото изследване се отнася до продукцията на арилтетралинови лигнани в суспензионни култури от *Linum linearifolium*, при експозиция на различни концентрации (50-150 μM) methyl jasmonate (MJ) по време на култивационния период. Лигнаните подофилотоксин (PTOX) и 6-метоксиподофилотоксин (MPTOX) са главните съставки в *Linum linearifolium*. Съдържанието на лигнани се повишава в следствие на елицитиране с MJ, но съотношението свежо-сухо тегло и нарастването на биомаса силно се инхибира, увеличавайки концентрацията на MJ. Най-висок тотален добив на лигнани бе получен със 150 μM MJ, а максимален растеж със 100 μM MJ. Тези резултати показват, че елицитиране със 100 μM MJ е оптимално за акумулиране на лигнани и биомаса в суспензионни култури от *Linum linearifolium*.

**Научни публикации и прояви:**

- Ionkova I, P Popova, J Zarev, H Vasilev. Effect of methyl jasmonate on production of ariltetralin lignans in suspension cultures of *Linum linearifolium*, Natural Product Communications, 2015.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.**Договор 5/2014 Честота на полово предаваните бактериални инфекции, причинени от *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* и *Gardnerella vaginalis* при спонтанни аборти****Водещ изследовател:** Проф. д-р Алексей Йорданов Алексеев, дб**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Албена Тодорова-Георгиева, дб
- Теодора Стойчева, ГМДЛ "Геника" ООД

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Гонореята, уреаплазмите и гарднерелата са широко разпространени полово предавани бактериални инфекции, които носят риск от спонтанен аборт. Целта на настоящото научно изследване е да се проследи честотата на тези инфекции при спонтанните аборти в българската популация. За целта изследвахме ендометриална тъкан от 100 пациента, обособени в две групи – контролна група от 40 пациента с прекъсната бременност по собствено желание и прицелна група от 60 пациента със спонтанен аборт по неустановени причини. При един от пациентите със спонтанен аборт (1.7%) установихме присъствие на *Ureaplasma parvum*, а *Gardnerella vaginalis* беше установена при пет от пациентите със спонтанен аборт (8.0%) и единадесет от пациентите в контролната група (27.5%). Инфекция с *Neisseria gonorrhoeae* и

*Ureaplasma urealyticum* не беше открита. Резултатите от проведеното проучване показват висока честота (10%) на някои полово предавани бактериални инфекции при спонтанни аборти, но не доказват значението им за възникването на спонтанен аборт. Необходимо е провеждането на по-задълбочен анализ на резултатите чрез сравняването им с допълнителна контролна група пациенти с успешно завършила бременност, поради голямата вероятност от присъствие на генитални инфекции при изследваната контролна група от пациенти, избрали прекъсване на бременността. Установяването на зависимост между спонтанните аборти и честотата на полово предаваните инфекции е важно за предотвратяването им чрез прилагане на своевременно лечение. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 6/2014 Честота на мутации в BRAF и NRAS-гените и HPV-инфекции при пациенти с рак на дебелото черво**

Водещ изследовател: Доц. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дб

Членове на изследователския екип:

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Тихомир Тодоров, дб
- Андрей Киров, дб
- Таня Кадийска, дб
- Савина Тинчева, докторант
- Миглена Копринарова, дб

Базова организация: МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Колоректалният карцином е едно от най-често срещаните онкологични заболявания. Различни проучвания, показват че мутации в *MEK-ERK* сигналния път се асоциират с лош изход на заболяването. Най-често се откриват мутации в *KRAS* гена. Мутации са съобщавани и при други гени на същият сигнален път. Обект в настоящето изследване са *NRAS* и *BRAF* гените. В допълнение като рисков фактор за развитие на различни онкологични заболявания се асоциира инфекция с HPV. Проведеното проучване успешно въведе и валидира работен протокол за анализ на „горещите региони“ на *BRAF* и *NRAS* гените при 30 пациента с колоректален карцином. Проучването доведе до изясняване честотата на мутации в горещите региони на *BRAF* и *NRAS* гените при пациенти с колоректален карцином - с.1799T>A, p.(Val600Glu) в *BRAF* гена – 3,33% и с.181C>A, p.(Gln61Lys) в *NRAS* гена – 6,67%. Честотата на двете мутации (10%) в *BRAF* и *NRAS* гените съвпада със световно публикуваната. При провеждане на молекулярно-генетичен тест за детекция на 12 високо-рискови типа HPV, такива бяха открити при 10% от пациентите. Не бяха намерени проби с едновременно наличие на мутация, засягаща *MEK-ERK* сигналния път и HPV инфекция, което предполага че всяко едно от тези независими събития може да се интерпретира като рисков фактор за отключване и развитие на CRC. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 7/2014 Проучване на антиоксидантните свойства на новосинтезирани производни на салицилалдехид бензоилхидразона (SBH) и анализиране на връзката структура-действие**

Водещ изследовател: Доц. Вера Ангелова Хаджимитова, дбф

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Трайко Трайков, дх
- Гл.ас. Боряна Младенова-Николова, дх
- Ас. Надя Христова-Авакумова
- Виктория Георгиева, студент

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Представени са резултатите от сравнителното проучване на антиоксидантните свойства на новосинтезираните 5-бром и 3-метокси SBH производни в биологично релевантни моделни системи с различен механизъм за генериране на АФК. Установихме, че заместването в базисното съединение с метокси група води до силен радикал-улавящ ефект спрямо  $O_2^{\bullet-}$  и в системата с  $H_2O_2$ -HRP, докато заместването с бром не променя съществено свойствата на SBH в същите системи. Всички съединения проявят силно антиоксидантно действие в системи с Fe-индуцирана липидна пероксидация на жълтъчни липопротеини независимо от направените модификации. Модификациите не влияят съществено на скоростните им константи на взаимодействие с  $HO^{\bullet}$  определени в дезоксирибозна система. Установена е липса на ефект на SBH и 5-бром хидразоните спрямо DPPH и минималното ѝ нарастване (6 до 11%) при 3-метокси хидразоните. Интересни са резултатите, получени в системата за генериране на супероксидни радикали ксантин-ксантиоксидаза, където установихме нарастване на ХЛ-отговор за всички тествани вещества. В зависимост от модификациите се наблюдава различна зависимост от концентрацията. Супероксид-улавящите свойства не корелират с ефектите на веществата в ензимната система, което заедно с анализът на хемилуминесцентните криви ни карат да предполагаме, че тестваните аналози влияят върху активността на този биологично важен ензим. Сравнителното проучване на изследваните вещества предполага, че хидразоните с метокси-модификации са по-подходящи за разработване на фармацевтици, способни да повлияват свободнорадикалните процеси.

**Научни публикации и прояви:**

- Hristova-Avakumova N, Nikolova-Mladenova B, Hadjimitova V. Evaluation of the in vitro antioxidant effect of novel 3-methoxysalicylaldehyde derived hydrazones. Bulgarian chemical communications 2015;47(4):1053-8.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 8/2014 Пуринергично предаване в ретината: участие на йонотропния рецептор P2X7 във формиране на характеристиките на електроретинографските (ЕРГ) отговори**

**Водещ изследовател:** Доц. Петя Николова Купенова-Шербанова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Лилия Витанова, дмн
- Доц. Елка Попова, дм
- Анелия Кузева, студент

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по физиология

**РЕЗУЛТАТИ:** За изясняване участието на рецептора P2X7 в ретиналните отговори, ние изследвахме ефекта от неговата селективна блокада посредством A438079 върху тъмно-адаптираните електроретинографски ON- (b-вълна) и OFF-(d-вълна) отговори при жаба. Използван бе широк диапазон на бели и хроматични ( $\lambda > 670$  nm) стимули, позволяващи оценка на отговорите, медираните от пръчиците и колбичките. Ефектите

на A438079 показаха ON/OFF асиметрия. Амплитудата на d-вълната намаляваше с 40-50%. Снизени бяха абсолютната и относителната ѝ чувствителност. Ефектът се развиваше бавно и не бе напълно обратим. Ефектът върху b-вълната бе по-слаб (20-25% амплитудна промяна). Той се развиваше по-бързо и бе обратим. Амплитудата на b-вълните, получени при вход само от пръчиците, или само от колбичките, намаляваше, а тази на смесените отговори в мезопичната област се увеличаваше, относителната чувствителност на b-вълната нарастваше. Ефектът на A438079 върху ON- и OFF-отговорите бе по-силно проявен при ниските стимулни интензитети както при отговорите с вход от пръчиците, така и при тези с вход от колбичките. Прилагането на пуринергичния агонист VzATP в концентрация 1mM предизвикваше значително намаление на електроретинографските отговори на мезопични стимули. Би могло да се заключи, че рецепторът P2X7 опосредства улесняващи влияния върху медираните от пръчици, или колбички отговори на стимули с нисък интензитет. Той може да участва и в механизмите на пръчицово-колбичковите взаимодействия.

#### Научни публикации и прояви:

- Kупенова P, Pопова E, Bитанова L. Effects of selective blockade of the purinergic receptor P2X7 on the electroretinographic (ERG) responses. Anniversary Scientific Conference “Science for Health” Plovdiv, 20 – 22 May 2015. Folia medica. 2015;57(Suppl 1):74.
- Kупенова P, Pопова E, Bитанова L. Participation of the purinergic P2X7 receptor in modulation of the intensity-response function of the electroretinographic (ERG) responses in the dark adapted frog retina. XI National Congress of the Bulgarian Society of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 Oct. 2015. Folia medica. 2015;57(Suppl 3).

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 9/2014 Изследване на пациенти с установена или предполагаема множествена ендокринна неоплазия и оценка на връзката на наблюдавания фенотип с вариации в гените MEN1 и MEN2**

Водещ изследовател: Доц. Димитър Добринов Чаръкчиев, дм

Членове на изследователския екип:

- Атанаска Еленкова, дм
- Проф. Сабина Захаријева, дмн
- Даниела Дачева, докторант
- Иван Попов, дб
- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ–София, МФ, Клиничен център по ендокринология и геронтология

**РЕЗУЛТАТИ:** Извършено е секвениране на гена *MEN1* при 10 пациенти с диагностицирана или предполагаема Множествена Ендокринна Неоплазия (МЕН) тип 1. Открити са 24 генетични варианта, от които три патогенни, потвърждаващи диагнозата на съответните пациенти. Патогенните варианти включват една делеция (с.247\_250delCTGT, p.Ser84Serfs\*32) и една инсерция (с.1493dupG, p.Pro497Profs\*37) с изместване на рамката на четене, и една еднонуклеотидна замяна в сплайс региона на екзон 3 (с.669+3T>C, p.Val183\_Arg218del), водеща до in frame делеция в белтъчната

последователност. Направени са структурни модели на откритите варианти, водещи до промяна в белтъчната последователност (всички патогенни и един непатогенен миссенс вариант - с.1636A>G, р.А1а541Thr) посредством хомоложно моделиране. Получените модели са с лошо качество и не покриват цялата белтъчна последователност на менина, поради което не са използвани за по-нататъшни анализи. Извършен е статистически анализ на данните в комбинация с други налични литературни данни за генотипа и фенотипа на пациенти с МЕН тип 1. Резултатите показват (и потвърждават съществуващото мнение), че няма връзка между фенотипа (наблюдаван вид на туморните образувания) и позицията на генетичните промени в гена. Въз основа на резултатите е предложена хипотеза за механизма на клинична проява на синдрома. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 10/2014 Тестуване на чувствителността на *Helicobacter pylori* и *Clostridium difficile* към linezolid и някои класически антибиотици за терапия и проучване на експресията *in vivo* на гени на вирулентност на *H. pylori***

**Водещ изследовател:** Проф. Людмила Боянова Георгиева, дм, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Галина Гергова
- Гл. ас. Даниел Йорданов
- Доц. Румяна Марковска-Давидкова, дм

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Честотите на антибиотична резистентност на 53 щама *H. pylori* бяха: amoxicillin 1.9%, metronidazole 37.7%, clarithromycin 17.0%, tetracycline 1.9%, levofloxacin 24.5% и linezolid (>4 mg/L) 39.6%. Linezolid-ът беше по-слабо активен от clarithromycin и levofloxacin, а резистентността към linezolid беше свързана с тази към metronidazole и  $\geq 1$  антибиотици. Обаче активността на linezolid-а към някои щамове с двойна/множествена резистентност може да направи агента подходящ за терапия на някои *H. pylori* инфекции след тестуване чувствителността на щамовете, ако клинични проучвания потвърдят това предположение. Беше проучена антибиотичната чувствителност на 63 клостридиални щамове, вкл. 25 щамове *Clostridium difficile*. Нямаше резистентност към metronidazole и vancomycin с граничните стойности на CLSI, но с тези на EUCAST, резистентността беше metronidazole 4.8%, vancomycin 6.3% и linezolid 11.1% от щамовете, вкл. нетоксигенни и токсигенни *C. difficile*. Имаше различия в честотите на резистентност с граничните стойности на EUCAST и CLSI. Добрата активност на linezolid-а срещу клостридиите предполага ползата от агента за смесени инфекции с клостридии, или за профилактика на *C. difficile* инфекциите. Беше оптимизиран методът за проучване на експресията на *homA* и *homB* гените на 30 изолата *H. pylori*. Всички изолати показаха наличие на експресия на гените *homB* и *homA* – т.е. продукция на съответния протеин.

**Научни публикации и прояви:**

- Boyanova L, Evstatiev I, Gergova G, et al. Linezolid susceptibility in *Helicobacter pylori*, including strains with multidrug resistance. Int J Antimicrob Agents. 2015 Dec;46(6):703-6.
- Боянова Л, Давидков Л, Гергова Г и др. Чувствителност към линезолид на *Helicobacter pylori* щамове, включително такива с множествена резистентност. (Доклад). 13 конгрес на БАМ, Национален Дворец на Културата, София. 16-18 април 2015:17.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 11/2014 Сравнителни молекулярно-биологични проучвания върху производството на бактериоцини от клинично значими и непатогенни щамове *Enterococcus* spp., изолирани съответно от клинични материали от хора и млечнокисели хранителни продукти**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Таня Василева Стратева, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Чл.-кор. проф. Иван Митов, дмн
- Доц. Светослав Димов, СУ “Св. Климент Охридски”
- Д-р Даниела Атанасова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящото проучване беше да се определят честотата на разпространение и експресията на генетични детерминанти за бактериоцини сред общо 478 изолата *Enterococcus* spp., от които 450 клинични и 26 от традиционни български домашно приготвени сирена. Структурните гени, кодиращи ентероцин А (*entA*), ентероцин Р (*entP*), ентероцин В (*entB*), ентероцин AS-48 (*as-48*) и ентеролизин А (*entIA*) бяха доказани чрез полимеразно-верижна реакция (PCR), а обратнотранскрипционна PCR беше използвана за изследване на тяхната експресия. С цел да оценим различни прагове на коефициенти на сходство за получаване на надежден клъстеринг, подложихме на RAPD-PCR UPGMA анализи две колекции щамове *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* (клинични и от млечнокисели продукти), произхождащи от различни географски региони в България. При създаването на подгрупи взехме под внимание наличието на някои гени за бактериоцини. За откриване на бактериоцинова активност беше използван т. нар. “метод на дифузия от ямка”. Сто осемдесет и един изолата (38.0%) бяха определени като потенциално бактериоциногенни (PCR-положителни). Типичните за *E. faecium* гени (*entA*, *entB* и *entP*) бяха доказани съответно в 82.8%, 7.1% и 12.8% от щамовете *E. faecium*. При изолатите *E. faecalis* честотата на *entIA* и *as-48* беше съотв. 18.1% и 0.6%. Честотата на *entB* сред млечнокиселите изолати *E. faecium* беше значимо по-висока от съответната сред клиничните изолати (26.7% / 4.8%,  $p < 0.02$ ). Гени за бактериоцини бяха експресирани на ниво транскрипция в 85.1% от бактериоциногенните изолати *Enterococcus* spp.: един ген в 131 (72.3%), два гена в 21 (11.6%) и три гена в 2 (1.1%) изолата. Получените резултати показаха, че клъстеринг трябва да се извършва с коефициенти на сходство над 95%, за да се разграничат клиничните щамове ентерококи от хранителните и щамовете с различен географския произход, както и, че общоприетият за клонално сходство коефициент от 70% трябва да се преосмисли и прагът да се повиши. Някои от тестваните изолати *E. faecium* демонстрираха антагонистична активност (от слаба до силна) срещу следните индикаторни щамове – *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 19434, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 и *Lactococcus garvieae* ATCC 43921. В заключение, това е първото за България молекулярно-генетично проучване върху потенциално бактериоциногенни клинично значими и непатогенни изолати от млечнокисели продукти *Enterococcus* spp., което изяснява разпространението на генетичните детерминанти за бактериоцини сред двете популации щамове, както и степента на тяхното филогенетично родство.

**Научни публикации и прояви:**

- Strateva T, Dimov S, Atanasova D, et al. Molecular genetic study of potentially bacteriocinogenic clinical and dairy *Enterococcus* spp. isolates from Bulgaria. *Ann Microbiol.* 2016; 66(1):381-7.
- Strateva T, Dimov SG, Atanasova D, et al. Incidence and expression of bacteriocin-encoding genes in *Enterococcus* spp. isolates from clinical specimens and traditional Bulgarian artisanal cheeses. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2015; 68 (7): 925-34.
- Dimov SG, Strateva T, Petkova V, et al. Phylogenetic relatedness clustering thresholds of potentially bacteriocinogenic clinical and dairy *Enterococcus* spp. strains with respect to their geographical origins in Bulgaria. *J Microbiol Biotech Food Sci.* 2015/16; 5 (3): 286-289.
- Strateva T, Atanasova D, Savov E, et al. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates collected in Bulgaria. *Braz J Infect Dis.* 2016; 20(2):127-33.
- Strateva T, Atanasova D, Savov E, et al. Prevalence of virulence genes among clinical isolates of *Enterococcus* spp. from Bulgaria. 25<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015; P22: Paper Poster Session “Gram-positive bacterial pathogenesis and virulence”, Poster No P0402, Sunday, 26 April 2015

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 12/2014 Хемометричен подход за анализ на растителната субстанция *Arnicae flos***

**Водещ изследовател:** Доц. Ренета Славова Гевренова, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Гл. ас. Весела Балабанова, дб
- Проф. Ирини Дойчинова, дф
- Николай Денков, студент

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия и ботаника

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проведеното изследване беше да се приложи нов хемометричен подход за качествен анализ на растителната субстанция *Arnicae flos* (*Arnica montana*) с 9 различни произхода. Екстракти от арника, получени чрез ултразвукова екстракция с 80% метанол и дихлорометан, са анализирани съответно за фенолни съединения и сесквитерпенови лактони. Разработен е валидиран метод за високо-ефективна течна хроматография (ВЕТХ) за едновременно определяне на фенолни киселини, флавоноидни гликозиди и агликони с използване на линейно градиентно елуиране и УВ детекция при 280, 310, 360 nm. Сесквитерпеновите лактони са определени чрез модифициран фармакопееен метод. Най-голямо количество фенолни киселини е отчетено в пробата от Ботаническата градина в Joensuu University, Финландия (2,36 mg/g суха маса). Хлорогенова киселина е основна фенолна киселина в изследваните екстракти. Най-високо съдържание на флавоноли е намерено във финландските и германски проби. Растителната субстанция, закупена от аптека, показва различен ВЕТХ профил и най-високо съдържание на кверцетин ( $1,18 \pm 0,21$ ), както и наличие на лутеолин ( $0,30 \pm 0,001$ ). Данните са анализирани чрез Йерархично клъстериране и Анализ на основните компоненти (РСА). Обособени са три добре диференцирани клъстери. Първият клъстер включва пробите от арника, отглеждана в

Германия и Финландия, а вторият - българските и полските проби. Третият клъстер състои само от една проба, закупена от билкова аптека.

**Научни публикации и прояви:**

- Zheleva-Dimitrova D, Balabanova V, Gevrenova R et al. Chemometric approach in analysis of *Arnicae* flos. Pharm Mag. 2015;11(44,Suppl 4):s538-s544.
- Balabanova V, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R. L`Arnica, de la culture au laboratoire phytochimique. 2<sup>nd</sup> Joint Scientific Session. 21-22 September, 2015. Paris, France

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 13/2014** Проучване върху ефектите на ВЕТХ-охарактеризиран екстракт от корени на *Asphodeline lutea* (L.) Rchb., приложен самостоятелно и в модели на хепатотоксичност *in vitro/ in vivo* при плъх

Водещ изследовател: Проф. д-р Николай Дамянов Данчев, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Ренета Гевренова, дф
- Гл. ас. Румяна Симеонова, дф
- Ас. Ирина Лазарова
- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Чрез високо-ефективна течна хроматография (ВЕТХ) на сух екстракт от корени на *Asphodeline lutea* (ALE) е установено, че кафеената киселина и 2-ацетил-3-метил-1,8-диметоксинафтален са основни компоненти, докато хризофанолът е в най-голямо количество от определените антрахинони. LD<sub>50</sub> (р.о.) е 1847 mg/kg при мъжки мишки. Изследван е ефекта на ALE, прилаган самостоятелно и срещу тетрафлорметан (CCl<sub>4</sub>)-индуцирано чернодробно увреждане в *in vitro/in vivo* модели. Установен е значителен цитотоксичен ефект на екстракта в концентрации от 10 до 200 µg/mL върху показателите, характеризиращи функционалния и метаболитния статус на хепатоцитите. При CCl<sub>4</sub>-индуцирано чернодробно увреждане, в най-високата концентрация ALE проявява хепатопротективен ефект. Резултатите от *in vitro* проучването са потвърдени и от *in vivo* модела върху плъхове порода Wistar, където е установена известна токсичност на ALE, проявяваща се с повишена активност на ALT, ALP и количеството на MDA, понижаване в нивата на GSH без повлияване активността на антиоксидантните ензими. Наблюдаван е и антиоксидантен и хепатопротективен потенциал на ALE в *in vivo* модел на CCl<sub>4</sub>-индуцирано чернодробно увреждане. Предтретирането с екстракта нормализира всички изследвани показатели. Ефектът е значително по-слаб в сравнение с положителната контрола силимарин. Дискутиран е двупосочният потенциал (анти- и про-оксидантен) на ALE, който може да се обясни с биотрансформацията на нафталените и антрахиноните в ензимната система цитохром P450.

**Научни публикации и прояви:**

- Lazarova I, Simeonova R, Vitcheva V, et al. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract in experimental models *in vitro/in vivo*. Biomed Pharmacother. 2016 Oct;83:70-8.



- Lazarova I, Simeonova R, Vitcheva V, et al. Hepatotoxicity or hepatoprotection? Bidirectional potential of Bulgarian *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. root extract. 2<sup>nd</sup> International Conference on Natural Products Utilization From Plants to Pharmacy Shelf 14-17 October 2015 Plovdiv, Bulgaria.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 14/2014 Фитохимично и фармакологично проучване на *Astragalus monspessulanus* L. (Fabaceae)**

**Водещ изследовател:** Проф. Илина Николаева Кръстева, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Вирджиния Цанкова, дф
- Гл. ас. Петранка Здравева, дф
- Гл. ас. Румяна Симеонова, дф
- Гл. ас. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Виктор Братков, докторант
- Александър Шкондров, докторант

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** Нов флавонолов тетрагликозид кверцетин-3-О-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-галактопиранозил]-7-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид, два нови флавонолови алкалоиди N-(8-метилкверцетин-3-О-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-галактопиранозил])-3-хидрокси-пиперин-2-он и N-(8-метилкемпферол-3-О-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-рамнозил-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-галактопиранозил])-3-хидрокси-пиперин-2-он и седем известни флавоноида: алангифлавозид, алцесефолизид, мауриганин, кверцетин-3- $\beta$ -робинобиозид, космозин, апигенин-4'-О-глюкозид, трифолин и рутин са изолирани от надземната част на *Astragalus monspessulanus*. Тяхната структура е определена чрез 1D и 2D NMR експерименти и HRESIMS. Изолирани са и четири вещества с отнасяния на тритерпенови сапонини. Хепатопротективната и антиоксидантна активност на бутанолния екстракт (АМ) е тествана *in vitro* и *in vivo* върху модел на метаболитно биоактивиране, индуциран с тетрахлорметан. В комбинация с CCl<sub>4</sub> АМ проявява концентрационно и дозо-зависим, статистически значим хепатопротективен и антиоксидантен ефект, съизмерим с този на силимарин. Протективното действие е потвърдено и от проведеното хистологично изследване. Изследвана е *in vitro* пречистена сапонинова фракция (ПСМ) за цитотоксична, цитопротективна и антиоксидантна активност. Самостоятелно приложена ПСМ проявява статистически значим цитотоксичен ефект върху клетъчна линия HepG2. При модел на *t*-BuOOH-индуциран оксидативен стрес в изолирани плъщи хепатоцити е установено, че предварителното инкубиране на хепатоцитите с ПСМ частично ограничава предизвиканото от *t*-BuOOH чернодробно увреждане по концентрационно-зависим начин, като ефектът е по-силно изразен при по-високата концентрация. Наблюдава се съхраняване на клетъчната жизненост, намаляване активността на LDH и нивата на MDA и GSH, като хепатопротективният ефект на ПСМ е сравним с този на силимарин.

**Научни публикации и прояви:**

- Kondeva-Burdina M, Bratkov V, Simeonova R, et al. Protective effects of saponin mixture isolated from *Astragalus monspessulanus* subsp. *monspessulanus* on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in isolated rat hepatocytes. *AJPS*. 2015;6(6):799-803.

- Simeonova R, Bratkov V, Kondeva-Burdina M, et al. Experimental liver protection of *n*-butanolic extract of *Astragalus monspessulanus* L. on carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) model of toxicity in rat. Redox Report. 2015;20(4):145-153.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 15/2014 Синтез и изследване на фармакологичната активност на нови метални комплекси на Ga(III) с биологично активни ароилхидразони, производни на салицилалдехид бензоилхидразона**

Водещ изследовател: Проф. д-р Дарвин Славчев Иванов, дф

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Боряна Николова-Младенова, дх
- Проф. Георги Момеков, дф
- Елина Петрова, студент

Базова организация: МУ – София, ФФ, Катедра по химия

**РЕЗУЛТАТИ:** Синтезирани са 18 нови съединения – 6 нови бромопроизводни салицилалдехид-бензоилхидразони и 12 нови Ga(III) комплекса с биологично активните лиганди 3-метокси-салицилалдехидбензоилхидразон (3mSBH), 3-метоксисалицилалдехид-4-хидрокси-бензоилхидразон (3mShBH), 3-метоксисалицилалдехидизониктиноилхидразон (3mSIH), 4-метоксисалицилалдехидбензоилхидразон (4mSBH), 4-метоксисалицилалдехид-4-хидрокси-бензоилхидразон (4mShBH), 4-метоксисалицилалдехидизониктиноилхидразон (4mSIH), 5-бромосалицилалдехидбензоилхидразон (5BrSBH), 5-бромосалицилалдехид-4-хидрокси-бензоилхидразон (5BrShBH) и 5-бромосалицилалдехидизониктиноилхидразон (5BrSIH). Съединенията са охарактеризирани чрез елементарен анализ, ИЧ-спектроскопия и <sup>1</sup>H-ЯМР. Строежът и химичните връзки на получените комплексни съединения са определени чрез сравнение на спектрите им с изходните спектри на лигандите. Проведена е геометрична оптимизация за някои от новите съединения посредством теорията на функционала на плътността (DFT). Структурните параметри на лигандите и Ga(III) комплекси са определени чрез метода B3LYP/6-31+G (d,p). Представени са най-вероятните структури на комплексите. На базата на получените резултати бе доказано, че 3-метокси-, 4-метокси- и 5-бромопроизводните хидразони се проявяват като тридентатни лиганди при координация с Ga(III) метални йони. Новите хидразони са изследвани с „Правилото 5 на Липински”, за да се оцени фармакокинетичното им поведение и лекарственото им подобие. Свободните лиганди и Ga(III) комплекси са проучени за цитотоксична активност върху спектър от човешки туморни клетъчни линии с помощта на МТТ тест. Ga(III) комплекси с 3-метокси-хидразоните са най-активни със силно изразена цитотоксична активност върху всички изследвани клетъчни линии. Определените стойности на IC<sub>50</sub> са по-ниски от тези изходните лиганди и на референтните цитостатици Cisplatin и Melphalan.

**Научни публикации и прояви:**

- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Design, drug-likeness and cytotoxicity of some bromo-salicylaldehyde aroylhydrazones. J Med Biol Sci. 2015;1:16-20.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis, geometry optimization and cytotoxic activity of new bromo-salicylaldehyde hydrazones, Book of Abstracts,

ICOS20 - 20th Int Conference on Organic Synthesis, 29 Jun-4 Jul 2014, Budapest, Hungary

- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis and cytotoxic activity of new gallium(III) complexes of 3-methoxy-salicylaldehyde benzoylhydrazones, ChemMedChem 2014, Book of Abstracts, EFMC-ISMC 2014, XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry, 7-11 Sep 2014, Lisbon, Portugal
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis, geometry optimization and cytotoxic activity of 4-methoxysalicylaldehyde-4-hydroxybenzoylhydrazone, Book of Abstracts, EFMC-YMCS 2014, 1st EFMC Young Medicinal Chemist Symposium, 12 Sep 2014, Lisbon, Portugal
- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Design, drug-likeness and cytotoxicity of some bromo-salicylaldehyde aroylhydrazones, Conference proceedings, ICBMB 2015, International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, 22-23 Apr 2015 Paris, France
- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Synthesis and characterization of new Gallium(III) complexes with 5-bromosalicylaldehyde benzoylhydrazones, XXV International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry - Advancing Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry, May 31 – Jun 5, 2015, Smolenice, Slovakia

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 17/2014 Изследване влиянието на растежни фактори (FGF8 и BMP4) върху синтеза на колаген и минерализацията при соматични мезенхимни клетки от зъбна пулпа на временни зъби in vitro**

Водещ изследовател: Проф. Мая Рашева Рашкова дм

Членове на изследователския екип:

- Ас. Николай Ишкитиев, дм, дб
- Гл. ас. Антония Исаева, дб
- Гл. ас. Галина Жегова, дм
- Ас. Надя Митова

Базова организация: МУ – София, ФДМ, Катедра Детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Изолирахме и характеризирахме мезенхимни стволови клетки от пулпа на временен зъб от рутинно екстрахирани временни зъби на деца, при информирано съгласие от страна на техните родители. Успешно усвоената и оптимизирана методика ни позволи да въведем в рутинната лабораторна практика ефективни процедури за получаване на първични клетъчни култури от зъбна пулпа. Клетките бяха характеризирани за експресията на стволово-клетъчни маркери (Nestin, Vimentin, CD146, CD44, CD49f), а също така и за експресията на маркери, характерни за зъбните тъкани (ALP, COL1A2, COL3A2 и DSPP). Инкубацията с 10 ng/mL BMP4 и 10 ng/mL FGF8 доведе до диференциране на клетъчните култури – увеличение на експресията на ALP, COL1a2 и DSPP, секрецията на колаген в средата и утаяването на Ca<sup>2+</sup> йони. Настоящата работа доказва, че в пулпата на временните зъби има клетъчен резерв, който може при определени условия да бъде стимулиран за пролиферация и специфична високоспециализирана функция за защитна дентиногенеза. Нашето проучване потвърди работната ни хипотеза, че стволовите клетки от зъбната пулпа, под действието на растежните фактори BMP4 и FGF8, могат да индуцират специфични клетъчни процеси

характерни за първична или репаративна дентиногенеза: продукцията на колаген, активиране на алкална фосфатаза и минерализация.

**Научни публикации и прояви:**

- Ишкитиев Н, Митев В, Рашкова М et al. Фенотипизиране на клетъчните популации от мезенхимни стволови клетки от пулпа на временни зъби. Проблеми на денталната медицина, 2017.
- Ishkitiev N, Mitev V, Yaegaki K. Differentiation Potential of Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells; 20<sup>th</sup> Congress of Balkan Stomatological Society (BASS), Bucharest, Romania, April 23-26, 2015

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 20/2014 Ефекти на ендоканабиноидната и азотноокисна системи върху болковата перцепция и остра възпалителна болка при студова стрес-индуцирана аналгезия на плъх**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Адриана Иванова Бочева, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Роман Ташев, дм
- Гл. ас. Христина Ночева, дм
- Ас. Ивелина Химчева, МУ-Плевен
- Гл. ас. Радка Тафраджийска, дм
- Доц. инж. Данчо Даналев, дм, ХТМУ
- Гл. ас. Станислава Владимирова, ХТМУ
- Ас. Мимоза Цветкова
- Виктория Илиева, студент

**Базова организация:** МУ - София, МФ, Катедра по Патофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Предложеният от нас проект имаше за цел да изучи ефектите на ендоканабиноидната и азотноокисна системи върху болковата перцепция при студова стрес-индуцирана аналгезия на плъх, както и да се проучат противовъзпалителните и противоболкови ефекти на два новосинтезирани пептида с включен пиролов хетероцикъл. Определянето на болковата перцепция след 1ч студов стрес показва потенциране на аналгезията след съвместното прилагане на агониста на СВ1-рецепторите анандамид и донора на азотния оксид SIN-1, докато антагонизирането на СВ1 рецепторите с антагониста AM251 потисна ефекта на L-аргинина. Получените резултати потвърждават нашата хипотеза за потенциране на стрес-индуцираната аналгезия при едновременното активиране на СВ1 рецепторите (чрез анандамид) и въвеждането на донора на азотния оксид. Следователно, ендоканабиноидната и азотноокисна системи участват при студовата стрес-индуцирана аналгезия. И двата новосинтезирани пептида с включен пиролов хетероцикъл в молекулата на Туг-MIF-1 показаха аналгетична активност, която бе по-силно изразена при пептида под кодово название SD2. Аналгетичната активност и на двата пептида се потиска след въвеждане на антагониста на опиоидните рецептори налоксон. Последният факт показва, че в аналгетичните им ефекти участва опиоидергичната невротрансмитерна система. Наред с това двата новосинтезирани пептиди показаха и противовъзпалителна активност, която бе по-слаба от тази на референтното вещество индометацин.

**Научни публикации и прояви:**

- Danalev D, Vladimirova S, Borisov B et al. Synthesis and Analgesic Activity of New Analogues of Tyr-MIF-1 Including Pyrrole Moiety. *Int J Pept Res Ther.* 2016;22(2):243-8.
- Danalev D, Vladimirova S, Georgieva D, et al. Design and synthesis of new hybride molecules comprising peptide moiety with potential analgesic activity. 33rd European Peptide Symposium, 31 August – 5 September 2014, Sofia, Bulgaria.
- Tzvetkova M, Yaneva D, Bijev A et al. Anti-inflammatory effects of some newly synthesized pyrrole derivatives in rats. 33<sup>rd</sup> European Peptide Symposium, 31 August-5 September, 2014, Sofia, Bulgaria.
- Tzvetkova M, Nocheva H, Bocheva A. Analgesic effects of newly synthesized Tyr-MIF-1 mimetics. IX Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences with International Participation, Plovdiv, 2015. *Folia medica* 2015;57(Suppl. 3):35.
- Nocheva H, Tzvetkova M, Danalev D et al. Potential analgesic effects of newly synthesized Tyr-MIF-1 mimetics. Anniversary Scientific Conference 20 years Trakia University. 19.05.2015, Stara Zagora.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 21/2014** Изолиране и идентифициране флавоноиди от надземната част на *Chenopodium bonus-henricus*. Проучване на ефектите на метанолния екстракт от надземната част на *C. bonus-henricus* и на изолираните от него флавоноиди при модели на индуцирана хепатотоксичност при плъх

Водещ изследовател: Проф. Стефан Димитров Николов, дфн

Членове на изследователския екип:

- Доц. Параскев Недялков, дф
- Гл. ас. Златина Коканова-Недялкова, дф
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Гл. ас. Румяна Симеонова, дф

Базова организация: МУ – София, ФФ, Катедра по фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** Девет флавоноида съответно съединения патулетин-О-3-[ $\beta$ -апиофуранозил(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -глюкопиранозил(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -глюкопиранозид (**Chbhmf-01**), патулетин-3-О-генциобиозид (**Chbhmf-02**), 6-метоксикемпферол-О-3-[ $\beta$ -апиофуранозил(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -глюкопиранозил(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -глюкопиранозид (**Chbhmf-03**), спинацетин-3-О-[ $\beta$ -апиофуранозил (1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -глюкопиранозил(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -глюкопиранозид (**Chbhmf-04**), 6-метоксикемпферол-3-О-генциобиозид (**Chbhmf-05**), спинацетин-3-О-генциобиозид (**Chbhmf-06**), патулетин-3-О-(5<sup>'''</sup>-О-Е-ферулоил)- $\beta$ -D-апиофуранозил(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-глюкопиранози(1 $\rightarrow$ 6)] - $\beta$ -D-глюкопиранозид (**Chbhmf-07**), спинацетин-3-О-(5<sup>'''</sup>-О-Е-ферулоил)- $\beta$ -D-апиофуранозил(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-глюкопиранозил(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-глюкопиранозид (**Chbhmf-08**) и 6-метоксикемпферол-3-О-(5<sup>'''</sup>-О-Е-ферулоил)- $\beta$ -D-апиофуранозил(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-глюкопиранозил(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-глюкопиранозид (**Chbhmf-09**) са изолирани от надземната част на *Chenopodium bonus-henricus* L. Структурите на изолираните вещества са идентифицирани чрез различни спектрални методи (1D, 2D NMR, UV, IR, HRMS-ESI). Съединения **Chbhmf-07**, **Chbhmf-08** и **Chbhmf-09** са нови природни продукти. В изолирани плъши хепатоцити, в комбинация с тетрахлорметан, изолираните флавоноиди от надземната част на *Chenopodium bonus henricus* проявяват добър цитопротективен и антиоксидантен ефект. Ефектите им са подобни на ефектите на флавоноида силибин – класически хепатопротектор и антиоксидант. Резултатите от това проучване още показват, че

метанолния екстракт от корените на *Chenopodium bonus-henricus* L. притежава хепатопротективна и антиоксидантна активност в *in viro/in vivo* модели при  $CCl_4$  индуцирана с чернодробна токсичност при плъх.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 22/2014 Токсикологична оценка и ефекти на нов ко-полимерен цвистерйонен комплекс, натоварен с метопролол, в спонтанно хипертензивни плъхове (SHR)**

**Водещ изследовател:** Доц. Вирджиния Йорданова Цанкова, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Николай Данчев, дм
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Гл. ас. Румяна Симеонова, дф
- Проф. Димитър Рачев, дф
- Доц. Бистра Костова, дф
- Гл. ас. Борислав Цанков, дф

**Базова организация:** МУ – София, Фармацевтичен факултет, Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“

**РЕЗУЛТАТИ:** Основна цел на настоящия проект бе охарактеризиране на токсичността и ефектите на цвистерйонен съполимер на винилацетат (VA) и 3-диметил(метакрилоилоксиетил)амониев пропансулфонат (DMAPS) (p(VA-co-DMAPS)), ненатоварен и натоварен с кардиоселективния бета-антагонист метопролол (като метопролол тартарат) *ин витро* и *ин vivo* в експериментален модел на спонтанна хипертония (инбредна линия спонтанно хипертензивни плъхове (SHR)). Сравнителната *ин витро* оценка на токсичността на метопролол спрямо тази на активното вещество, натоварено в полимерен носител, показва по-ниска цитотоксичност и прооксидантни свойства на веществото след включването му в ко-полимера. Това изследване предоставя данни за възможностите за протекция спрямо лекарство-индуцирана цитотоксичност, чрез включване в подходящи лекарство-доставящи носители. Метопролол, натоварен в полимерния носител p(VA-co-DMAPS), статистически значимо понижава систолното и диастолно кръвно налягане, както спрямо контролите, така и спрямо третираните с чисти наночастици мъжки и женски групи. Самостоятелно приложеният полимерен наноносител (14 дни в доза 20 mg/kg/p.o), не променя стойностите на артериалното систолно и диастолно налягане в изследвания експериментален модел. Резултатите имат практическа значимост при разработване на подходящи технологични модели за включване на проблемни лекарства с изразена цитотоксичност и прооксидантни ефекти, с оглед подобряване на профила им на безопасност.

**Научни публикации и прояви:**

- Тодорова Г, Кондева М, Симеонова Р, В. Цанкова. Ефекти на полимерни наночастици, натоварени с метопролол върху мъжки и женски спонтанно-хипертензивни плъхове. Студентска научна сесия – Фармацевтичен факултет, София. 27 Ноември 2014, 28.
- Simeonova R, Kondeva-Burdina M, Tzankova V et al. Effects of new polyzwitterionic copolymer nanoparticles loaded with metorolol on spontaneously hypertensive rats (SHR), First Romanian National Congress of Toxicology 16-18 Oct 2015, Bucharest, Romania.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 26/2014** Изследване на полиморфизма rs5400 в гена за глюкозен Транспортер тип 2 (GLUT2) и титъра на *Streptococcus mutans* във връзка с наследственият фактор в етиопатогенезата на зъбния кариес

Водещ изследовател: Доц. Екатерина Стоянова Ботева, дм

Членове на изследователския екип:

- Ас. Добриня Караяшева
- Таня Кадийска, дб
- Мария Глушкова, докторант

Базова организация: МУ – София, ФДМ, Катедра по консервативно зъболечение

**РЕЗУЛТАТИ:** При всички 108 доброволци бяха определени микробните числа на *Streptococcus mutans*. В групите DMFT $\leq$ 5 и DMFT $\geq$ 5 беше установено, че са най-често с микробни числа на *Str. mutans* от 10<sup>4</sup> до 10<sup>6</sup> CFU/ ml (STR.M1) и са съответно 19,4% и 24,6% от извадката. Всички 108 пациенти бяха успешно генотипирани за полиморфизма rs5400 в GLUT2 гена (Thr110Ile). Базирайки се на генотипаиндивидите бяха разделени в две групи, в първата бяха включени всички участници носители на Пе-алела, а във втората група участниците, които не носят Пе-алела. Не бяха открити статистически значими разлики, когато групите бяха сравнени по пол и възраст. Не се откриха връзки с висока степен на достоверност при алелните и генотипни честоти на изследваните пациенти. За статистическия анализ участниците са разделени в зависимост от техните DMFT стойности. Не са открити значими разлики (p<0,05) в алелната и генотипна честота между трите групи CF, LCE и HCE (p<0,5). Пациентите бяха разделени и на базата на техния индекс на телесното тегло (BMI). Открихме, че носителите на Пе-алела имат по-високо BMI (23,4 vs 22,3), приемат по-често допълнителна храна между основните хранения (74% vs 63,5%) и по-често храни с висок гликемичен индекс.

**Научни публикации и прояви:**

- Караяшева, Д, Ботева Е, Кадийска Т, и др. Ролята на гени, свързани с храненето и въглехидратния метаболизъм за развитието на зъбен кариес. Проблеми на денталната медицина. 2015; 41 (2), 53–59.
- Караяшева Д, Глушкова М, Митев В, и др. Асоциативно проучване за ролята на GLUT2 гена при развитието на зъбен кариес, хранителните навици и BMI; New interdisciplinary Approaches in Oral and General Rehabilitation. – XX Конгрес на Балканското стоматологично общество (BaSS), 2015, 23–26 април, Букурещ, Румъния
- Karayashveva D, Glushkova M, Kadiyska T, et al. Association study of the role of GLUT 2 receptor in dental caries susceptibility, dietary habits and body mass index BMI .IJSR, International Journal of Science and Research. March, vol5, 3, p 83-86. 2016.

Научният отчет е приет със **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 27/2014** Геномните асоциативни проучвания като съвременен подход за изясняване на генетичните основи на артериалната хипертония: репликативно проучване на позитивни сигнали за асоциация при българската популация

Водещ изследовател: Проф. Кирил Любенов Найденов, дх

Членове на изследователския екип:

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева, дбн
- Проф. Румяна Търновска-Къдрева, дм, дмн
- Рени Цвеова, докторант
- Георги Димитров, докторант
- Гл. ас. Теодора Янева-Сиракова, дм
- Гл. ас. Силвия Върндева-Кълвачева, дм
- Гл. ас. Олга Белчева, дб

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това проучване беше да се определят алелните и генотипни честоти на три полиморфни варианта: полиморфизъм в близост до локус *GUCY1A3-GUCY1B3* (rs13139571), генетичен вариант, намиращ се в локус *CYP17A1-NT5C3* (rs11191548), полиморфизъм в гена *PLEKH7* (rs381815) и два варианта в гена *SH2B3* (rs3184504 and rs653178) в две основни групи – на пациенти с артериална хипертония и на популационни контроли без данни за заболяването. По време на анализа бяха установени високи алелни честоти на проучваните варианти при здрави индивиди с български произход. Не беше наблюдавано отклонение от равновесието по Харди - Вайнберг на изследваните маркери. Алелните и генотипни честоти на анализирания вариант съответстват на тези, докладвани при европейци. По отношение на полиморфния вариант rs11191548 в локус *CYP17A1-NT5C3* беше наблюдавана гранична значимост при анализ на връзката му с риска за развитие на АХ в общата група. Честотата на алел Т е по-висока в групата на пациентите с АХ в сравнение с тази на здравите контроли (90.12% срещу 85.42%), което прави въпросния алел рисков за развитие на заболяването с OR 1.55 (CI 0.99-2.46). При жени беше установена позитивна асоциация между rs381815 в гена *PLEKH7* и повишени нива на систолично и диастолично артериално налягане (съответно  $p=0.03$  и  $p=0.02$ ). В общата група се установи връзка между rs13139571 в локус *GUCY1A3-GUCY1B3* и понижени нива на систолично артериално налягане ( $\beta=-8.12$ ,  $p=0.03$ ). След прилагане на множествен регресионен анализ бяха идентифицирани три статистически епистатичните взаимодействия между петте изследвани варианта по отношение на стойностите на диастоличното артериално налягане при мъже (*GUCY1A3-GUCY1B3* rs13139571 и *SH2B3* rs3184504 OR 12.61,  $p=0.01$ ), нивата на урея в общата група (*SH2B3* rs3184504 и *SH2B3* rs653178  $\beta=38.63$ ,  $p=0.0016$ ) и нивата на калий при жени (*SH2B3* rs3184504 и *SH2B3* rs653178  $\beta=-0.20$ ,  $p=0.02$ ).

**Научни публикации и прояви:**

- Tzveova R, Yaneva T, Dimitrov G, et al. The role of genome-wide association studies for understanding the genetic basis of arterial hypertension – part 2. Cardiovascular diseases, 03/2014, XLIV, p. 30-8.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.



**Договор 28/2014** Проучване на участието на AT2 рецептори чрез ангиотензиновия рецепторен агонист Novokinin в механизма на метаболитните и поведенчески отклонения при експериментален модел на захарен диабет у плъхове

Водещ изследовател: Проф. Александър Георгиев Стойнев, дмн

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Кирил Петров
- Гл. ас. Даниела Пехливанова
- Румяна Митрева

Базова организация: МУ–София, МФ, Катедра Патофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Хроничното третиране със селективния пептиден AT2 рецепторен агонист новокинин на здрави мъжки плъхове от порода Wistar (0.6 µg/ден/14 дни, интрацеребровентрикуларно (и.ц.в.) предизвика значително нарастване на приема на вода и храна, съпроводено с повишена диуреза през първите 4-8 дни след началото на инфузията. Паралелно с това бяха отчетени намалени темп на нарастване и поведение на безпокойство в края на изследвания период. Новокининът не предизвика промени в двигателното и изследователско поведение у здравите контроли. Предизвикването на захарен диабет тип 1 (ЗД1) (стрептозотоцин 65 мг/кг, интраперитонеално) на фона на хронично третиране с новокинин потенцира диабет-индуцираната полиурия и полидипсия, но понижи приема на храна през първите дни след началото на ЗД1 и достоверно повиши степента на смъртност у диабетните плъхове (с 37 %). Отчетени бяха и поведенчески изменения – понижена хоризонтална и вертикална двигателна активност и засилено поведение на безпокойство у диабетните плъхове третирани с AT2 агониста. Получените данни подкрепят предположението за участие на мозъчните ангиотензинови AT2 рецептори в развитието и усложненията предизвикани от ЗД1. Резултатите от настоящото изследване сочат, че хроничното третиране със селективния AT2 рецепторен агонист новокинин може да утежни началната фаза от възникването на захарен диабет тип 1 и последващите усложнения.

Научни публикации и прояви:

- Petrov K, Pechlivanova D, Mitreva R, et al. Some gender-defined differences in the development of experimental model of diabetes mellitus type 1 in Wistar and spontaneously hypertensive rats. XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 Oct, 2015 г.
- Pechlivanova D, Mitreva R, Nenčovska Z, et al. Effects of a selective AT2 receptor agonist Novokinin on diabetes mellitus-induced changes in metabolism and nociception XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 Oct, 2015 г.
- Kadinov B, Pechlivanova D, Belcheva K, et al. Effects of endogenous carbon monoxide on the contractile activity of segments from diabetic rat's *a. ophthalmica*. XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 Oct, 2015 г.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 29/2014** Влияние на генетичния фон върху качествените и количествени характеристики на мейотичното вретено при *in vivo* и *in vitro* зрели миши овоцити

Водещ изследовател: Доц. Стефка Методиева Делимитрева, дб

Членове на изследователския екип:

- Доц. Майя Маркова, дб
- Доц. Ралица Живкова, дб
- Ас. Венера Николова
- Ас. Ирина Чакърова
- Доц. Румен Димитров, дб, БАН

**Базова организация:** МУ – София, Медицински факултет, Катедра по биология

**РЕЗУЛТАТИ:** Миши овоцити (946) бяха получени чрез овариална хиперстимулация и *in vitro* зреене (*in vitro* maturation, IVM) на инбредни мишки BALB/c (615) и C57/Black (157) и аутбредни мишки ICR (174 броя). В овоцитите бяха оценявани: организацията на тубулиновите нишки в мейотичните вретена в МI и МII; дължината на вретеното; ширината на полюсите; диаметърът на актиновата шапка; степента на кондензация на хромозомите по време на двете метафази; подредането на хромозомите на екватора на мейотичното вретено. Най-високо качество на овоцитите, получени след хормонално стимулирана овулация, наблюдавахме при ICR. Но при овоцитите, получени чрез *in vitro* зреене, и двете инбредни линии - BALB/c и C57/Black даваха по-добри резултати. Следователно, генетичният фон се отразява на качеството на овулираните овоцити, като предимство имат аутбредните животни. При *in vitro* условия обаче, резултатите не потвърждават предимството на по-високата хетерозиготност. Това може да се обясни с факта, че базовият протокол за *in vitro* зреене на овоцити при мишки е разработван специално за най-често използваните инбредни линии, каквито са BALB/c и C57/Black. Ако целта на някой работен колектив е да получи максимално качество на *in vitro* зрели овоцити при друг генетичен фон, протоколът за *in vitro* зреене трябва да се промени.

**Научни публикации и прояви:**

- Hadzhinesheva V, Nikolova V, Chakarova I, et al. *In vitro* maturing mouse oocytes treated by okadaic acid – effect on cytoskeletal structures and chromosome spread. *Acta Morphologica et Anthropologica*. 2015;21:47-50.
- Nikolova V, Chakarova I, Markova M, et al. Changes in localization of lamin B during meiotic maturation of mouse oocytes. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. 2015;68(9):1113-8.
- Chakarova I, Nikolova V, Zhivkova R, et al. Phenotype variations of tubulin, actin and chromatin structures in metaphase oocytes from two mouse strains. VI Morphological days. Sofia. 06-08 Jun 2014.
- Chakarova I, Zhivkova R, Hadzhinesheva V, et al. Correlation of phenotype variants of spindles, chromosomes and actin caps in metaphase oocytes from two inbred strains. XI National conference of medical biology. Plovdiv. 15-17 May 2015.
- Chakarova I, Nikolova V, Zhivkova R, et al. Influence of genetic background on oocyte meiotic spindle, actin cap and chromosomes in inbred mice. 14<sup>th</sup> International Symposium for Immunology of Reproduction. 22-24 May 2015.
- Markova M, Nikolova V, Chakarova I, et al. Mouse oocyte meiotic spindle associates with lamins and nucleoporin 160. XXII National Congress of the Bulgarian Anatomical Society. Plovdiv. 05-07 Jun 2015.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 32/2014** Лантанидни комплекси с биологично активни лиганди - синтез, охарактеризиране и фармакологична активност

**Водещ изследовател:** Проф. Ирина Петкова Костова, дх, дхн

**Членове на изследователския екип:**

- Стефан Балкански, докторант
- Гл. ас. Мария Трайкова, дх
- Гл. ас. Юлиан Войников, дх

**Базова организация:** МУ – София, Фармацевтичен факултет, Катедра по химия

**РЕЗУЛТАТИ:** Синтезирани са нови Ln(III) комплексни съединения с лигандите оротова киселина (НОА) и 5-аминооротова киселина (НАОА). Веществата са охарактеризирани чрез съвременни физикохимични, аналитични и спектрални методи, в т.ч. елементен анализ, УВ, ЯМР, ИЧ- и Раман-спектрални анализи. Извършен е за първи път задълбочен вибрационен анализ на изследваните лиганди и техните лантанидни(III) комплекси, така че идентификацията на характеристичните ИЧ- и Раман-ивици на функционалните групи да се използва като база-данни за понататъшно приложение при анализа на подобни съединения. Подробният вибрационен анализ на НОА, НАОА, на Ln(III)-ОА и Ln(III)-АОА системите доказва, че свързването в комплексите е бидентатно чрез карбоксилните кислородни атоми. ЯМР и УВ спектрите на лигандите и на комплексите потвърдиха комплексобразуването. Сравнителният спектрален анализ на новополучените съединения позволи прогнозиране на координационното поведение на избраните лиганди, както и типа на връзките метал-лиганд в лантанидните(III) комплекси. Направена е сравнителна оценка на антиоксидантната активност на изходните лантанидни нитрати, на лигандите и на техните Ln(III) комплекси. Изследван е ефектът на съединенията върху образуването на свободни радикали в присъствие на моделната система ксантин/ксантин оксидаза (X/XO) чрез МТТ метода. Антиоксидантният капацитет на съединенията е изследван *in vitro* при използването на DPPH<sup>•</sup> и ABTS<sup>•+</sup> методи. Доказано е, че антиоксидантната активност на Ln(III) комплекси е свързана с техните електронодонорни свойства.

**Научни публикации и прояви:**

- Traykova M, Saso L, Kostova I. Involvement of Lanthanides in the Free Radicals Homeostasis. *Curr Top Med Chem*. 2014;14(22):2508-19.
- Kostova I. Spectrophysical investigations on Lanthanide(III) complexes of biologically active ligands. 5th International Conference on Perspectives of Vibrational Spectroscopy (ICOPVS 2014), Trivandrum, India, July 8-12, 2014; IL16, pp. 15-16.
- Kostova I. Theoretical and spectroscopic investigations on lanthanide(III) complexes with antioxidant activity. Spectroscopy and Spectral Analysis Conference (SSA2015), Shanghai, China; Jan. 31st –Feb. 2nd, 2015, pp. 12-13.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 34/2014 Разработване на мезопорести силикатни наночастици обвити с биоадхезивни полимери**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Красимира Павлова Йончева, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Борислав Цанков, дф
- Проф. Николай Ламбов, дф

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по технология на лекарствените средства с биофармация

**РЕЗУЛТАТИ:** Мезопорестите силикатни наночастици се характеризират с механична устойчивост, биосъвместимост, висока химична стабилност и голям поров обем, което

ги прави актуални лекарствени носители. Въпреки безспорните предимства свързани с високия им капацитет за натоварване на лекарствени вещества, основен проблем при мезопорестите силикатни наночастици е бързото освобождаване на включените вещества. Настоящото проучване имаше за цел разработването на полимерно обвити мезопорести наночастици като подход за намаляване на бързото начално освобождаване. Натоварените с будезонид мезопорести наночастици бяха обвити с биоадхезивни полимери като хитозан или с комбинация от хитозан и натриев алгинат. Получаването на частици с различен заряд бе разгледано като индикатор за ефективността на обвиването. Обвитите с хитозан наночастици се характеризираха с положителен заряд, а тези с хитозан и алгинат с отрицателен заряд. Установено бе, че обвиването води до намаляване с най-малко 30% на началното бързо освобождаване на будезонид от частиците. По-нататъшните изследвания бяха продължени с проучване на възможностите за формулиране на мезопорестите силикатни наночастици в таблетна форма. Разработени са таблетни състави, чрез които по метода на директно таблетирание се получават таблетки с оптимални технологични и биофармацевтични показатели. Профилите на освобождаване показаха, че чрез включването на наночастиците в таблетна форма би могло допълнително да се ограничи началното бързо освобождаване на включеното лекарствено вещество.

#### Научни публикации и прояви:

- Цанков Б, Йончева К, Попова М, и др. Съвременни подходи при разработването на мезопорести силикатни наночастици като лекарство-доставящи системи. II Национална Конференция “Фармацевтични Технологични Дни”, Ред. М. Касърова, Н. Ламбов и В. Андреев, ТЕА Дизайн, София 2015, 118-27.
- Yoncheva K, Tzankov B, Popova M, et al. Evaluation of stability of mesoporous silica nanoparticles and their further formulation in tablet form. *J. Disp. Sci. Technol.* 2016;37:113-8.
- Yoncheva K, Tzankov B, Popova M, et al. Coating of drug loaded mesoporous silica nanoparticles with bioadhesive polymers. *10<sup>th</sup> Central European Symposium on Pharmaceutical Technology*, Portoroz, 18-20 Sep 2014

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 35/2014 Молекулярно-генетични проучвания върху вирулентността на български клинични изолати *Streptococcus pyogenes***

Водещ изследовател: Доц. Райна Цветанова Гергова, дм

Членове на изследователския екип:

- Чл. кор. проф. Иван Митов, дм, дмн
- Ас. Иво Сираков, дм
- Адиле Мухтарова, Медико-диагностична лаборатория „Лора”

Базова организация: МУ – София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** *Streptococcus pyogenes* (Група А *Streptococcus* - GAS) е водещ причинител на различни инфекции с опасни следстрептококови гнойни или негнойни усложнения.

Целта на това проучване е да се установи честотата на гените, кодиращи важни фактори на вирулентност в български клинични изолати GAS и резултатите да се анализират във връзка с географското разпределение и с възпалителното огнище. Щамовете (N = 126), идентифицирани като GAS бяха използвани за откриване на 18 гени на вирулентност с обикновен и мултиплекс PCR. При всички GAS бяха доказани: *sdaB*, *speB*, *sypSEP*, при над 80% от изолатите *mac* и *smeZ*, следвани от *sdс*, *speJ* и *speG*.

Данните са анализирани във връзка с предишни данни за някои от гените, кодиращи токсини в други страни и континенти, потърсена е асоциация с произхода им от възпалителното огнище при инвазивни и неинвазивни изолати. За първи път в България е разработен бърз и евтин молекулярно-генетичен метод, мултиплекс PCR, с който са изследвани 126 щамове GAS за наличие на 18 фактора на вирулентност. Установено е, че над една трета от българските GAS, особено инвазивните, са с висок патогенен и токсигенен потенциал и имат изразено разнообразие в генома. Този метод може да се използва и за епидемиологично типизиране на щамове GAS.

**Научни публикации и прояви:**

- Gergova R, Muhtarova A, Mitov I. Virulence potential of Bulgarian *Streptococcus pyogenes* clinical isolates, C R Acad Bulg Sci, 2015;68(8):1061-70.
- Гергова Р, Мухтарова А, Митов И. Токсичният потенциал на един водещ патогенен агент - *Streptococcus pyogenes*. 13 Национален Конгрес по Микробиология и Инфекции на БАМ: София, 16-18 април, 2015

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 36/2014** Епидемиологично типизиране, механизми на резистентност при карбапенемаза- и/или широкоспектърна бета лактамази (ESBLs)- продуциращи клинично-значими и от носители представители на сем. *Enterobacteriaceae* в три университетски болници в София, Плевен и Варна

Водещ изследовател: Доц. д-р Румяна Донкова Марковска-Давидкова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Добринка Иванова, дм, II МБАЛ-София
- Доц. Теменуга Стоева, дм, МУ-Варна
- Проф. Мария Средкова, дм, МУ-Плевен
- Д-р Валентина Попова, МУ-Плевен
- Даниела Дачева, докторант
- Доц. Радка Кънева, дб
- Член-кор. проф. Иван Митов, дм, дмн
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Росица Димова, студент

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** За периода 01.01.2014 – 01.09.2014 бяха изследвани 267 изолата от сем. *Enterobacteriaceae*, резистентни на цефалоспорици трета генерация. Деведесет и шест изолата бяха от фекално носителство – предимно *E. coli* – 66 изолата и 20 *K. pneumoniae*. Продукция на ESBL беше 19%. Бяха колекционирани 167 клинични изолата - предимно *E. coli* – 60, *K. pneumoniae* – 67 и *Enterobacter spp* – 28 от урина, хемокултура, раневи секрет и др. Изолатите запазват висока чувствителност само по отношение на piperacilin/tazobactam и amikacin. При 16% от клиничните изолати установихме резистентност към карбапенеми. Изолатите продуцираха KPC-2 и CTX-M-15 ензими и принадлежаха към ST 15 клон на *K pneumoniae*. Разпределението на типовете ESBL показва преобладаването на CTX-M ензими - над 98% с преобладаване на CTX-M-15 при клиничните изолати – 80%, при фекалното носителство бяха 49%. Епидемиологично типизиране на щамове *K pneumoniae* показва наличието на един основен клон ST15 *K. pneumoniae*. – в 49%, установихме го във всички участващи клиници и се асоциираше с продукция на CTX-M-15 самостоятелно или CTX-M-15 и KPC-2 ензими. Щамове от фекално носителство принадлежаха на този клон в 40 %.

Седемдесет и два процента от всички *E. coli* изолати принадлежаха на СС 131 и се асоциираха предимно с продукцията на СТХ-М-15 ензими.

**Научни публикации и прояви:**

- Markovska R, Stoeva T, Schneider I, et al. Clonal dissemination of multilocus sequence type ST15 KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Bulgaria. *APMIS*. 2015 Oct;123(10):887-94

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 37/2014 Назофарингеално носителство на щамове *Streptococcus pneumoniae* изолирани от деца по-време на отоскопично потвърден остър среден отит след масовата имунизация с пневмококова конюгирана ваксина**

Водещ изследовател: Проф. д-р Лена Петрова Сечанова, дм.

**Членове на изследователския екип:**

- Александра Александрова
- Ас. Иглика Станчева

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска микробиология.

**РЕЗУЛТАТИ:** 10-валентната пневмококова конюгирана ваксина (PCV10) беше включена в Българския Имунизационен Календар за първи път през април 2010 г. Целта на темата беше да се определи етиологичната структура на детския остър среден отит (АОМ), резистентността на причинителите към антибиотици и честотата на пневмококовите серотипове от две до пет години след старта на масовата имунизация. Секрет от средното ухо (MEF) след спонтанна перфорация или парацентеза беше изследван от 207 деца с усложнен АОМ в периода март 2012 до май 2015. Назофарингеален секрет (НФГ) беше взет от 49 деца с не усложнен АОМ епизод през 2015 г. Типични отопатогенни бактерии бяха изолирани от 117 MEF проби на деца с АОМ (56.5%). Най-честите причинители бяха: *S. pyogenes* (28.2%), *S. pneumoniae* (21.4%), *S. aureus* (21.4%) и *H. influenzae* (12%). Всички щамове *H. influenzae* (n=14) бяха не типабилни (NTNi). Сред 25-те щамове *S. pneumoniae* разпределението на серотиповете беше както следва: 19F (32%); 3 (24%); 19A (20%); 9V (8%); 6A, 18B, 18C, и 22 (4% всеки). Ваксиналните серотипове включени в PCV10 бяха 44%. Всички щамове *S. pneumoniae* от серотип 19F и 19A бяха полирезистентни. С намалена чувствителност към „орален” penicillin V бяха 68% от пневмококите; резистентността към макролиди и множествената резистентност беше 52%. От 39 НФГ секрета бяха изолирани отопатогенни бактерии, като най-честите са: *S. pneumoniae* (69.2%), *H. influenzae* (20.5%) и *M. catarrhalis* (18.0%). Резистентността на *S. pneumoniae* към penicillin, макролиди и множествената резистентност беше по-ниска сред НФГ щамовете в сравнение с тези от MEF секретите. Рязко спадане до 18.5% на ваксиналните PCV10 серотипове в НФГ секрета на деца с АОМ (84% от децата бяха ваксинирани). се отбелязва през 2015 г. Пропорционално на тях се увеличават не ваксиналните серотипове. Пропорцията на неваксиналните серотипове *S. pneumoniae* се е увеличила значително пет години след началото на имунизацията. След въвеждането на PCV ваксината единствено полирезистентните ваксинални щамове от серотип 19F и по-рядко серотип 19A успешно се разпространяват сред ваксинирани деца.

**Научни публикации и прояви:**

- Сечанова Л, Станчева И, Александрова А, и др. Динамични промени в бактериологията на супуративния остър среден отит при децата две до четири години след старта на масовата имунизация с пневмококова конюгирана ваксина. *Педиатрия*. 2015; LV (3).

- Setchanova L, Alexandrova A, Dacheva D, et al. Dominance of multidrug-resistant Denmark<sup>14</sup>-32 (ST230) clone among *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A isolates causing pneumococcal disease in Bulgaria from 1992 to 2013. *Microb Drug Resist.* 2015;21(1):35-42.
- Сечанова Л, Станчева И, Александрова А, и др. Бактериална етиология и серотипове *Streptococcus pneumoniae* при деца с усложнен остър среден отит след старта на имунизацията с пневмококова конюгирана ваксина. XIII Национален конгрес по клинична микробиология и инфекции на БАМ, 16-18 април, София, България, 2015.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 38/2014 Серотонинергична невротрансмисия в ретината на нисши гръбначни**

Водещ изследовател: Проф. Лилия Александрова Витанова, дмн

Членове на изследователския екип:

- Доц. Петя Купенова
- Д-р Десислава Жекова

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по физиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Серотонинът (5-хидрокситриптаминът) – един от най-добре проучените моноамини, е добре представен в централната нервна система (ЦНС), както и в ретината, която е част от ЦНС. Серотонинът реализира своите ефекти чрез серотониновите рецептори SR 1-7, групирани в седем големи групи. Докато функциите на мозъчната серотонинергична система са сравнително ясни, твърде малко се знае за участието на серотонина в ретиналните функции, независимо от многобройните изследвания. Затова цел на настоящата разработка е сравнителното изследване на разпределението на серотонина и серотониновите рецептори SR1A - SR7 в ретините на жаба и костенурка. Използван бе метода на индиректната имунофлуоресценция. Приложени бяха десет различни антитела, насочени срещу ензима триптофанхидроксилаза и серотониновите рецептори SR1A, SR2A, SR3A, SR4, SR5A, SR6 и SR7. Всички антитела предизвикаха добре изразено багрено в ретините на жаба и костенурка. Триптофанхидроксилазна имунофлуоресценция бе наблюдавана в амакринните и в биполярните клетки. В допълнение: в ретина на костенурка се багреха и някои хоризонтални клетки, както и глиалните Мюлерови клетки. Всички изследвани рецептори бяха много добре експресирани. Някои от тях (SR1A и SR4 например), демонстрираха типична синаптична локализация в двата плексиформени слоя, докато други бяха представени предимно екстрасинаптично или в ретиналната глия. Получените резултати показват, че серотонинът участва широко като невротрансмитер, глиотрансмитер, както и като невро- и глио- модулатор в ретиналните функции на нисшите гръбначни.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 40/2014 Епигенетични промени в гени, свързани със стреса и онкогенезата, при пациенти с диабет тип 2**

Водещ изследовател: Доц. д-р Иванка Исталианова Димова, дм

Членове на изследователския екип:

- Чл.-кор. проф. Драга Тончева, дбн
- Проф. Димитринка Димитрова-Диканарова, дм
- Гл. ас. Сена Карачанак-Янкова, дб
- Зора Хамуде, докторант
- Десислава Нешева, докторант
- Гл. ас. Миглена Копринарова, дб, БАН
- Гл. ас. Радка Тафраджийска, дм
- Гл. ас. Павлина Гатева, дм
- Ас. Свилен Маслянков, дм
- Ас. Николай Стойнев, дм
- Борислава Фильова, студент
- Михаил Михайлов, студент
- Ас. Зафер Сабит, МФ
- Любомир Балабански
- Доц. Цветанка Маркова, дм

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска генетика

**РЕЗУЛТАТИ:** Диабет тип 2 (DM2) е хронично метаболитно заболяване, произтичащо от сложното взаимодействие между генетични и външни фактори. Епигенетиката е връзка между тях и представлява нова обещаваща област за изследване. Целта на настоящия проект беше проучване на епигенетичните промени при DM2. Най-напред определихме нивата на експресия на MBD2 - протеин, тясно свързан с промоторното метилиране и генно заглушаване. По-нататък анализирахме метилационния статус на ДНК от 22 гени, свързани с клетъчния стрес и токсичност, в четири ДНК пула: здрави контроли; пациенти с новооткрит нелекуван DM2; пациенти с DM2 с по-малко от 5 г. давност и пациенти с DM2 с повече от пет години давност. Експресионните и метилационните анализи са извършени с Real-Time PCR и с метилационно-чувствителни и метилационно-зависими ензими. Нашите резултати показват, че MBD2 има повишена експресия при DM2 (средно 10.4 пъти). От метилационния анализ, 4 гени показаха увеличена метилационна фракция в хода на DM2: BRCA1 (0% в здрави контроли; 5,9% в новооткрит DM2; 0,5% в DM2 с <5 години и 47,8% в DM2 с > 5 години), CCND1 (0%, 13,6%, 14,7% и 34,1%), SCARA3 (3,5%, 8,1%, 20,2% и 23,3%) и Prdx2 (7,3%, 22,3%, 22,4% и 32%). Резултатите разкриват, че при DM2 възникват епигенетични промени в туморсупресори и протектори на оксидативния стрес.

**Научни публикации и прояви:**

- Dimov D, Hadjiolova R, Kanev K, et al. Cardiac and renal nitrosative-oxidative stress after acute poisoning by a nerve agent Tabun. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2015;50(8):824-9.
- Karachanak-Yankova S, Nesheva D, Dimova R, et al. Epigenetic alterations in genes, connected to stress and toxicity, in the course of type 2 diabetes. Eur J Human Genet 2015; 23(Suppl. 1):322-323.
- Karachanak-Yankova S, Dimova R, Nikolova D, et al. Epigenetic alterations in patients with type 2 diabetes mellitus. BJMG 2015;18 (2):15-24.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 41/2014** Репликация на резултатите от пилотно геномно екзомно изследване в независима кохорта от хероин зависими и контроли

Водещ изследовател: Доц. Радка Петрова Кънева, дб



**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Проф. Иво Кременски, дм
- Гл. Асистент Олга Белчева, дб
- Иван Попов, дб
- Гюлнас Джебир

**Базова организация:** МУ–София, МФ, Катедра “Медицинска Химия и Биохимия”

**РЕЗУЛТАТИ:** Пилотно асоциативно изследване на 190 роми с хероинова зависимост и 95 контроли, анализирани с Human Core Exome Bead Chip, Illumina идентифицира редица маркери, показващи значима алелна асоциация ( $p < 10^{-7}$ ). Настоящото проучване имаше за цел да изследва три SNP варианта в разширена извадка, включваща 362 хероин зависими роми и 95 контроли, както и 1992 хероин зависими българи и 912 контроли. Изследваните полиморфизми са rs6935004, rs9493329 и rs9641392. Генотипирането беше извършено с TaqMan SNPs метод. Анализът на резултатите беше извършено със софтуер за геномни асоциативни проучвания - Plink v.1.07 (1,2). Потвърдена беше алелната асоциация при хероин зависими роми за маркери rs9493329 и rs9641392. Не беше установена асоциация на изследваните полиморфизми при българските хероин зависими. Анализът показва значими популационни различия за изследваните маркери между българи и роми, здрави контроли. Маркер rs9641392 е в областта на *MAGI2* гена, който кодира структурен белтък участващ в асемблиране на синаптичните белтъчни комплекси и играещ важна роля за развитието и поддържането на синапсите, както и за рецепторната ендоцитоза. Маркер rs9493329 е в областта на гена *STX7*, кодиращ белтък от групата на SNARE трансмембранните молекули, свързани с везикуларния транспорт. Получените резултати са в подкрепа на хипотезата, свързваща предразположението към хероинова зависимост със синаптичната пластичност и промени в отделянето на невротрансмитерите.

**Научни публикации и прояви:**

- Beltcheva O, Dzhebir G, Popov I, et al. Association study provides evidence for population specific susceptibility genes for heroin addiction in Bulgaria. 6th Croatian congress of human genetics with international participation, Split, Nov 5-7, 2015.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 42/2014 Валидиране на протокол за секвениране от следващо поколение със секвенатор IonTorrent PGM за откриване на мутации в BRCA1 и BRCA2 гените**

**Водещ изследовател:** Акад. проф. д-р Ваньо Иванов Митев, дм, дбн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл.ас. Атанаска Миткова, дб
- Румяна Додова, дб
- Даниела Дачева, докторант
- Иван Попов, дг

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Носителството на патогенни мутации в тумор супресорните гени *BRCA1/2* увеличава пожизненият риск за рак на гърдата и яйчниците. Целта на настоящото проучване е да оцени чувствителността и специфичността на секвенирането от ново поколение (NGS) с платформата Ion Torrent Personal Genome

Machine®) (PGM™) за диагностичен *BRCA1/2* мутационния скрининг. При валидиране на диагностичния подход за *BRCA1/2* мутационен скрининг чрез NGS в настоящото изследване бяха включени 16 високорискови български пациентки с рак гърдата (8 с известен и 8 с неизвестен *BRCA1/2* генетичен профил). За оптимизиране на подхода бяха сравнени и два различни метода за подготовка на библиотеките. Ние валидирахме бърз и точен диагностичен тест със специфичност 95.5% и чувствителност до 100%, който може да бъде първият избор за *BRCA1/2* мутационен скрининг, последван от потвърждение на откритите варианти със секвениране по Сангер. Нашите резултатите доказват, че използването панела AmpliSeq™ *BRCA1/2* Community Panel, съвместно с платформата Ion Torrent PGM™, в комбинация с подобрения подход за селекция на вариантите, позволяват детектирането на всички варианти, установни със стандартния метод на секвениране по Сангер. Прилагането на новия тест ще имат голямо значение в клиничната практика за откриване носителите на *BRCA1/2* мутации и персонализирано лечение на пациентите с наследствен рак на гърдата и яйчиците.

**Научни публикации и прояви:**

- Dacheva D, Dodova R, Popov I et al. Validation of an NGS Approach for Diagnostic *BRCA1/BRCA2* Mutation Testing. *Mol Diagn Ther.* 2015;19:119-30.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 43/2014 Влияние на витамин Д върху глюкозния метаболизъм, липидната обмяна и оксидативния стрес по време на бременност на стрептозотоцин-индуцирани диабетни плъхове**

Водещ изследовател: Доц. д-р Жоржета Стоянова Бочева, дм

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Георги Богданов, дм
- Гл. ас. Мария Вълчева-Трайкова, дх

Базова организация: МУ – София, МФ, Катедра по Фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Нашите резултати демонстрират комплексността на елементите на оксидантен-антиоксидантен статус при животински модел на неонатално-индуциран диабет и бременност. Нормалната бременност показва повишен оксидативен стрес. Пре-гестационният диабет тип-1 доведе дори до по-високи нива на оксидативен стрес, съчетани с лош антиоксидантен контрол. В изследванията по проекта, най-голямо натрупване на свободни радикали беше установено в серума на бременните диабетни животни. Може да се предположи, че нивата на оксидативен стрес в кръвния серум са силно зависими от ефикасността на антиоксидантната защита свързана с освобождаване на водород. Нашите резултати предполагат, че активността на освобождаващите водород антиоксиданти корелира с натрупването на свободни радикали в кръвния серум при животински модел на пре-гестационен Streptozotocin-индуциран диабет и бременност. Прилагането на витамин Д по време на бременността имаше положителни ефекти върху оксидативния стрес при плъхчетата с диабет. Обобщено, diabetes mellitus доведе до повишена активност на ксантин оксидазата и повишено натрупване на свободни радикали, но в различна степен в двата модела на диабет (тип-1 и тип-2). Повече свободни радикали бяха образувани и натрупани при инсулин-дефицитния животински модел, в сравнение с модела на инсулинова резистентност ( $p < 0.05$ ).

**Научни публикации и прояви:**

- Valcheva-Traykova M, Bogdanov G, Bocheva G. Effect of pregnancy and neonatally induced diabetes type 1 on the oxidative stress in rat's blood serum. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2016; 69(11):1503-10.
- Valcheva-Traykova M, Bocheva G. UV-VIS technique for comparison of Oxidative Stress markers in diabetes types 1 versus type 2. Трети Национален Конгрес по физически науки – София, 29.09.–02.10.2016.
- Bocheva G, Valcheva-Traykova M. Effect of Vitamin D treatment on the free radicals formation in pregnant diabetic rats. Трети Национален Конгрес по физически науки – София, 29.09.–02.10.2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 44/2014 Епилигаментът и неговата роля при оздравителни процеси на колатералните връзки на колянната става при експериментален модел на плъх**

**Водещ изследовател:** Доц. Бойчо Василев Ланджов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Д-р Георги Георгиев, дм
- Доц. Лина Малинова, дм
- Ас. Светослав Славчев
- Ас. Юлиан Картелов

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по анатомия, хистология и ембриология

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвания показаха наличие на множество фибробласти, фиброцити, адипоцити, нервно-съдовите снопчета, многобройни колагенни влакна, разположени в различни посоки, както и значителни разлики в структурата на лигамента и покриващата го тъкан. На осмия ден след травмата се визуализира силна имунопозитивна реакция за колаген тип I и слаба за колаген тип V в епилигамента на мястото на белега. На шестнадесетия ден след контузията се наблюдава по-слаба имунопозитивната реакция за колаген тип I и по-интензивна за колаген тип V. Тридесет дни след контузията разпределението на двата типа колаген бе подобно на нормалното, но епилигамента не бе напълно възстановен. На шестдесетия ден след контузията структурата на епилигамента бе подобна на нормалната.

**Научни публикации и прояви:**

- Georgiev G, Landzhov B, Dimitrova I et al. Light microscopic and immunohistochemical study of the medial collateral ligament epiligament in rat knee. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2015;68(1):95-100.
- Georgiev G, Landzhov B, Dimitrova I et al. Immunohistochemical study during early healing of the medial collateral ligament epiligament in rat knee model. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2015;68(5):655-60.
- Landzhov B, Georgiev G, Dimitrova I et al. Experimental model for grade III injuries of knee medial collateral ligament epiligament tissue in rat knee model. Immunohistochemical study for type I and V collagens. XII National congress of the Bulgarian Anatomical society Plovdiv, June 5-7, 2015. *Folia Medica* 2015;57(Suppl 2):31.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 45/2014 Фармакологични изследвания върху механизми на действие на Topiramate върху метаболизъм на плъхове с експериментална епилепсия и затлъстяване**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Надка Иванова Бояджиева, дм, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Теодора Ханджиева-Дърленска, дм
- Галина Добревска
- Ас. Радослав Клисуров
- Росица Методиева

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра „Фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведени са фармакологични проучвания с топирамат върху бели мъжки плъхове с или без експериментално затлъстяване. Опитите са хронични и са върху не-половозрели мъжки плъхове (начало на експериментите е 25 ден след раждането). Затлъстяване е създадено чрез богата на мазнини храна за плъхове в продължение на 2 месеца. Топирамат е прилаган в продължение на 30 дни на животни с или без затлъстяване. В края на експериментите са определяни следните показатели: в кръв: глюкоза, липиди, лептин и инсулин; общо тегло и поведение на животните. Резултати: Топирамат намалява степента на затлъстяване на животните. При експериментално затлъстяване се увеличава концентрацията на лептин в кръв на половонезрели плъхове. Топирамат намалява концентрацията на лептин. Статистически значими са промените под влияние на топирамат на инсулиновите плазмени нива. Отчита се увеличаване на инсулин в кръвта на животните със затлъстяване. Топирамат намалява повишените инсулинови нива. Взети заедно резултати показват метаболитни ефекти на топирамат върху неполовозрели мъжки плъхове с експериментално затлъстяване. Допускаме централни механизми на действие на топирамат върху метаболитните функции.

**Научни публикации и прояви:**

- Ханджиева-Дарленска Т, Р Клисуров, Н Бояджиева. Нови данни за антиепилептичното лекарство топирамат. Неврология и психиатрия 2015;4691):43-56.
- Handjieva-Darlenska T, R Klisurov, N Boyadjieva. Pharmacological studies of Topiramate on appetite and metabolism. 22 European Congress on Obesity, 6-9 May, 2015, Praga.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 52/2014 Геномно скриниране при пациенти с идиопатична епилепсия и умствено изоставане**

**Водещ изследовател:** Проф. Иван Олегович Литвиненко, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Димитър Стаматов, докторант
- Доц. Радка Кънева, дб
- Валентина Пейчева, докторант
- Кунка Каменарова, дб

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по педиатрия; Специализирана болница за активно лечение по детски болести „Проф.Иван Митев“ ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** В проучването са включени 9 пациенти – 6 момичета (66%) и 3 момчета (34%) на възраст под 18 години. Участниците са избрани на базата на предварително уточнени критерии за включване: Пациенти на възраст 0-18 години с епилепсия и умствено изоставане, като е отхвърлена друга причина за заболяването – перинатална, метаболитна, структурни аномалии на мозъка и доказване на умственото изоставане чрез специализиране техники – коефициент на развитието за по-малките пациенти и IQ тестове за по-големите. Директно секвениране на *SCN1A* гена. Проведено бе директно секвениране за търсене на малки молекулни дефекти – точкови мутации, малки делеции/инсерции на *SCN1A* за откриване на по-големи делеции/дупликации, обхващащи един или няколко екзона. Микрочипов анализ чрез сравнителна геномна хибридизация (array Comparative Genomic Hybridization- aCGH). При пациентите, при които не бяха установени мутации при секвенирането на гена *SCN1A* бе проведен и микрочипов анализ чрез метода aCGH на група от пациенти със синдромни епилепсии, включващи допълнително умствено изоставане, дисморфизми, разстройства от аутистичния спектър и др. Предимството в използването на aCGH е в неговата резолюция, която достига до 1 КБ, което позволява детекцията на редки микрохромозомни промени, част от които са причина за епилепсията в комбинация с умствено изоставане. Освен високата резолюция на микрочиповите технологии, в частност aCGH, чрез тях може да се осъществи скрининг на целия геном в рамките на един експеримент, което го прави и удобен за диагностични цели. В обобщение, намерените вероятно патогенни аберации чрез метода на aCGH обясняват отчасти сложния фенотип, с който се характеризират синдромните епилепсии в комбинация с умствено изоставане и аутизъм. Откриването на конкретни райони от генома, свързани със заболяването, ще постави основата на идентифициране на нови кандидат-гени и ще бъде в голяма помощ на лекарите за консултирането на пациентите и техните семейства и особено за профилактика на заболяванията и пренатално тестване

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 53/2014 г. Молекулярно-генетичен анализ за носителство на мутации в BRCA1 и BRCA2 гените при пациенти с овариален карцином**

**Водещ изследовател:** Доц. Румен Георгиев Димитров, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф, Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл.ас. Атанаска Кънева, дб,
- Румяна Додова, дб
- Даниела Дачева, докторант
- Д-р Алън Начев
- Гл. ас. Сашка Райчева, дм
- Гл.ас. Карела Майнхард, дм
- Проф. Иво Кременски, дм

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по акушерство и гинекология

**РЕЗУЛТАТИ:** Между 10% и 15% от случаите на овариален карцином са в резултат на наследствена предиспозиция, дължаща се на мутация в един от BRCA гените. Много често този тип карциноми се характерни за членове на семейства с HBOC синдром

(**H**ereditary **B**reast **O**varian **C**ancer – наследствен рак на гърдата и яйчниците). В настоящето проучване бяха включени 59 пациента с HBOC синдром, които бяха изследвани за мутациите с.181T>G, с.5263\_5264insC, с.5851\_5854delAGTT, с.9098\_9099insA и с.9908delA. Мутационният анализ беше проведен чрез директно секвениране на екзони 5 и 20 на BRCA1 и екзони 11 (участък N), 23 и 27 (участък A) на BRCA2. При проведения молекулярно-генетичен анализ бяха установени мутациите с.181T>G (C61G), с.5263\_5264insC (5382insC) и с.5946delT (6174delT). С най-висока честота, при 23.73% (14/59) беше установена мутацията с.5263\_5264insC в екзон 20 на BRCA1 гена. От пациентите с HBOC, 13.6% (8/59) са развили овариален карцином, 8.46% (5/59) са рак на гърдата и 1.69% (1/59) са с рак на фалопиевите тръби. Мутациите с.181T>G в BRCA1 и 5946delT в BRCA2 бяха установени при пациентки развили билатерален карцином на гърдата и в следствие развили и овариален карцином. Настоящият проект е следваща стъпка за определяне на делът патогенни мутации в BRCA гените при пациенти с наследствен рак на гърдата и яйчника в Българската популация.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 55/2014 Проучване ролята на HPV в патогенезата на карцинома на хранопровода при български пациенти**

**Водещ изследовател:** Доц. Олег Георгиев Чолаков, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Александър Червенияков, дм, дмн
- Доц. Габриела Манова, дм
- Гл. ас. Ния Сърбянова
- Доц. Радка Кънева, дб
- Проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Ас. Тодор Джендов
- Гергана Станчева, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по спешна медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Езофагеалните карциноми (ЕК) се характеризират с висока смъртност. Човешкият папилома вирус (HPV) е изследван като рисков фактор за възникване на езофагеален плоскоклетъчен карцином (ПКХ), но остава неизяснено като значение за прогнозата на ПКХ наличието на HPV. Освен това досега не е провеждано изследване за наличие на HPV при български пациенти с ЕК. Общо 20 проби с ЕК бяха изследвани както с помощта на кита digene HPV Genotyping RH Test, така и чрез PCR с GP5+/-GP6 и MY09/MY11 праймерите. От изследваната група не беше установен нито един пациент с наличие на HPV инфекция, най-вероятно поради малкия размер на изследваната група. Въпреки това корелационният анализ на клиникопатологични параметри разкри корелация между хистологичната диагноза ПКХ и BMI ( $\rho = -0.602$ ,  $p = 0.005$ ), наличие на метастази в близко разположените лимфни възли ( $\rho = -0.722$ ,  $p = 0.002$ ) и по-далечни метастази ( $\rho = -0.457$ ,  $p = 0.043$ ), туморна локализация ( $\rho = -0.707$ ,  $p < 0.001$ ) и наличие на фамилна история на раково заболяване ( $\rho = -0.480$ ,  $p = 0.032$ ). Наличието на фамилна обремененост показва положителна корелация наличието на йонизираща радиация показва асоциация с наличието на по-далечни метастази с появата на метастази в близко разположени лимфни възли ( $\rho = 0.612$ ,  $p = 0.012$ ), докато ( $\rho = 0.610$ ,  $p = 0.006$ ).

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 56/2014 Анализ на експресията на микро РНКите let-7a, miR-21 и miR-205 при български пациенти с не-дребноклетъчни белодробни карциноми**

**Водещ изследовател:** Доц. Янина Георгиева Славова-Маринова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Димитър Костадинов, дм,
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Ас. д-р Дора Маринова, дм
- Гергана Станчева
- Дарина Качакова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Специализирана Болница за Активно Лечение по Белодробни Болести „Св. София” ЕАД, Отделение по Патоморфология

**РЕЗУЛТАТИ:** Микро РНКите (миРНКи) са най-активно проучваните молекули при раковите заболявания, тъй като съществуват доказелства за повлияната им експресия при редица патофизиологични механизми. Голям брой миРНКи са открити и изследвани като биомаркери, свързани с диагноза, прогноза и избор на терапия при белодробни тумори. В настоящото проучване ние анализирахме експресията на miR-21 в туморни и нормални тъканни проби от 26 български пациенти с недребноклетъчен белодробен карцином (НДКБК). РНК беше изолирана и превърната в кДНК с помощта на китове miRNeasy Mini и miScript RT II (Qiagen). Количественият PCR (qPCR) в реално време бе осъществен с апарат ABIPrism 7900HT (Applied Biosystems) при използване на miScript Sybr Green PCR kit/miScript Primer Assays (Qiagen). Относителните промени в нивата на експресия на miR-21 бяха изчислени чрез  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  метода при използване на RNU6B като референтен контрола. Резултатите от qPCR в реално време показаха повишена експресия на miR-21 в НДКБК на български пациенти, което е в съгласие други проучвания. Нещо повече, нивата на експресия на miR-21 успяха да разграничат с голяма надеждност (83.3% чувствителност и 71.4% специфичност) аденокарциномите от плоскоклетъчните карциноми. Не бяха установени корелации на изследваната миРНК с клиникопатологичните характеристики на туморите.

В заключение miR-21 има потенциал да бъде използвана като диагностичен биомаркер за НДКРБД в клиничната практика.

**Научни публикации и прояви:**

- Kachakova D, Mitkova A, Stancheva G, et al. Expression analysis of miR-21 in Bulgarian patients with non-small cell lung cancer. 6th Croatian Congress of Human Genetics with International Participation. Split, Croatia. Nov 5-7, 2015.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 57/2014 г. Изясняване на последиците от структурни аберации засягащи гените LPP, CFHR1 и CFHR3 на ниво нуклеотидна последователност**

**Водещ изследовател:** Доц. Анелия Христова Буева, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Олга Белчева, дб
- Ас. д-р Галя Златанова-Рашкова, дм
- Валентин Пенчев, докторант
- Даниела Дачева, докторант
- Доц. Радка Кънева, дб
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по педиатрия, СБАЛ по Детски болести „Проф. Иван Митев“, Клиника по детска нефрология и диализа

**РЕЗУЛТАТИ:** Настоящият проект имаше за цел да потвърди хромозомни аберации открити при пациенти с вродени аномалии на бъбреците и отделителната система и да уточни локализацията им. За целта използвахме вариант на метода „хромозомна разходка“ и long range PCR. Изследвани бяха проби от две семейства, при които в рамките на предходни проучвания на колектива бяха установени делеции в локусите 1q31.3 и 3q28, съответно хомозиготна делеция на *CFHR1* и *CFHR3*, и делеция на 3' края на *LPP*. Потвърдена бе делецията в 1q31.3. Тя започва 5' спрямо *CFHR3* и завършва в 3' края на *CFHR1*. Разположението в близост ген *CFH*, който кодира факторът на комплемента Н, не е засегнат. Разположението на делецията е сходно с описаното от други автори, което ни дава възможност да заключим, че става дума за често срещан в кавказката раса полиморфен вариант, асоцииран с висок риск от появата на хемолитичен уремичен синдром. Този резултат не позволява да изключим делецията като фактор допринасящ за наблюдавания в семейството патологичен фенотип. С използвания от нас метод не бе възможно да се потвърди делецията на *LPP*, защото тя е в хетерозиготно състояние. За окончателно изясняване на генетичните основи на болестта в засегнатото семейство е необходимо провеждането на изследване на РНК ниво.

**Научни публикации и прояви:**

- Белчева О. Пенчев В. Генетика на нефрологични заболявания при деца. Годишен симпозиум „Акад. Чудомир Начев“, София, 25 октомври, 2014, стр. 16
- Penchev V, Boueva A, Zlatanova G, et al. Different types of mutations are responsible for expression of CAKUT phenotype in Bulgarian population, ESHG Conference, Glasgow, UK, 12-16 June, 2015, pp. 388-389

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 58/2014 Мутационен скрининг на български пациенти с дегенерация на ретината**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Силвия Здравкова Чернинкова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Ивайло Търнев, дмн
- Д-р Кунка Каменарова
- Даниела Дачева, докторант
- Доц. Радка Кънева
- Чл.кор., проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по неврология, УМБАЛ „Александровска“

**РЕЗУЛТАТИ:** Група от двадесет пациенти с дистрофии на ретината, хетерогенни наследствени заболявания, беше изследвана за установяване на мутации и оценка на



мутационната честота в българската популация. Целта на проучването беше установяване на патогенните мутации при: 9 пациенти с автозомно-доминантна пигментна дегенерация на ретината (adRP), 3 пациенти с автозомно-рецесивна RP, 1 пациент с X-свързана RP, 2 пациента с автозомно-доминантна дистрофия на конусчетата и пръчиците (CORD), 1 пациент с автозомно-рецесивна CORD, 2 пациента със синдромна форма на RP (синдром на Usher) и 2 пациента с макулна дегенерация. За анализ бяха подбрани кандидат гени въз основа на мутационната честота, модела на унаследяване и фенотипа. Беше приложено директно секвениране на гените *RHO* и *PRPF31*, и отделни райони с висока мутационна честота на гените *PRPH2*, *IMPDH1*, *TOPORS* и *RPGR-ORF15* за откриване на мутации и последващ сегрегационен анализ. Беше открита мутацията с.С800Т в *RHO*, сегрегираща със заболяването при родословие с adRP, определяйки мутационна честота 8.3% (1/12). Друга мутация в гена *RPGR*, с.ORF15+652\_653delAG, беше открита при четири семейства с XIRP, три от които първоначално бяха диагностицирани с adRP. В заключение, прилагайки секвениране по Сангер, беше открит генетичния дефект при 5 от анализиранията семейства, определяйки честота на мутациите 25% (5/20). От тях 20% (4/20) са в X-свързания ген *RPGR*.

#### Научни публикации и прояви:

- Cherninkova S, Kamenarova K, Mitev V, et al. Clinical findings in members of a Gypsy family with retinitis pigmentosa caused by c.2405\_2406delAG mutation in *RPGR*. 15th EURETINA Congress, Nice, France. 17-20 Sep 2015

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 61/2014** Роля на полиморфизмите в *CD3Z* гена в етиологията и патогенезата на дерматомиозита в България

Водещ изследовател: Доц. Любомир Асенов Дурмишев, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Радка Кънева, дб
- Зорница Каменарска, дф
- Мария Христова, дм
- Гюлнас Джебир

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по дерматология и венерология

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследването е първи по рода си опит за изясняване на генетичните основи на дерматомиозита у възрастни при български пациенти. За целта беше анализирана асоциацията на два полиморфизма в *CD3Z* гена (837C>G, rs1052230 и 844A>T, rs1052231) със заболяването. В изследването бяха включени 36 пациента с дерматомиозит у възрастни, 52 контроли със системен лупус еритематозус и 95 здрави неродствени контроли, които съответстват на болните по пол, възраст и етническа принадлежност. Полиморфизмите бяха анализирани посредством генотипиране в реално време (TaqMan). Нито един от анализиранията полиморфизми не показва асоциация с възникването на двете заболявания. Открихме връзка между генотипа -837GG и алела G и хематологичното засягане ( $p = 0.004$ , OR 13, 95% CI 1.5-109.5;  $p = 0.004$ , OR 10.9, 95% CI 1.4-86.7). Генотипът -844AA и алелът A също показват асоциация с хематологичното засягане ( $p = 0.0004$ , OR 20.6, 95% CI 2.4-174.4;  $p = 0.0007$ , OR 14.6, 95% CI 1.9-115). Генотипът -843AA и алелът A се асоциират с наличието на ANA ( $p = 0,02$ , OR 4.9, 95% CI 1.3-17.9;  $p = 0.048$ , 2.8, 95% CI 1-8). Намерена е асоциация между алела -844A и имунологичната болест ( $p = 0.048$ ; OR 2.8, 95% CI 1-7.9) и между алела -837G и артритата ( $p = 0,04$ ; OR 3.1, 95% CI 1-9.4).

Хаплотипът AG се асоциира с хематологичното засягане ( $p = 0.003$ ), наличието на АНА ( $p = 0.05$ ) и имунологичното заболяване ( $p = 0.05$ ) у пациенти с лупус. Установена е увеличена честота на генотипите GC ( $p=0.036$ , OR 8.9, 95%CI 0.94-78.7) и AT ( $p=0.034$ , OR 5.9, 95%CI 1.1-32.9) и на алелите C ( $p=0.047$ , OR 6.8, 95%CI 0.8-57.8) и T ( $p=0.05$ , OR 4.4, 95%CI 0.9-21.7) сред пациентите с ДМ с фоточувствителност.

**Научни публикации и прояви:**

- Каменраска З, Христова М, Дурмишев Л. Роля на TCR $\zeta$  веригата на T-клетъчния рецептор за развитието на системния лупус еритематозус. Medical Magazine 2014;4:98-9.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 66/2014** Значение на серумните биомаркери за оценка тежестта на възпалението и ефекта от антибиотичната терапия при деца с пневмония, придобита в обществото

Водещ изследовател: Доц. Милена Георгиева Велизарова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Ирен Цочева, дм
- Проф. Пенка Переновска, дм
- Ас. Аделина Цакова
- Д-р Лиляна Райчева
- Д-р Снежана Парина

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска генетика

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани бяха 50 деца на средна възраст 9 г.1мес. Анализирани бяха промените в броя и диференциално броене на левкоцитите, СУЕ, hsCRP, PCT и sTREM-1 при приемането и на петия ден от началото на парентералното антибиотично лечение. Установена бе висока положителна корелация между hsCRP и PCT ( $r=0.81$ ,  $p<0.001$ ), абсолютен брой левкоцити и неутрофили ( $r=0.44$ ,  $p=0.002$ ), %St ( $r=0.62$ ,  $p=0.000$ ), СУЕ ( $r=0.53$ ,  $p<0.001$ ). Серумните нива на PCT при приемането в най-висока степен корелираха със степента на олевяване ( $r=0.72$ ,  $p=0.000$ ). Стойностите на hsCRP бяха статистически значимо по-високи при деца с по-тежка клинична картина, инфилтративна пневмония и парапневмоничен излив. PCT при приемането бе сигнификантно по-висок при пациентите със задържащ се фебрилитет повече от 72 часа след започването на парентерална антибиотична терапия. Серумните стойности на hsCRP и PCT при хоспитализацията бяха статистически значимо по-ниски при пациентите, провеждали амбулаторна антибиотична терапия: за hsCRP 122mg/l vs. 33mg/l,  $p=0.004$  и за PCT 8ng/ml vs. 0.2ng/ml,  $p=0.001$ . CRP и PCT допринасят за оценка на тежестта на пневмонията, но за sTREM-1 не се установяват сигнификантни зависимости.

**Научни публикации и прояви:**

- Цочева И. Серумни биомаркери при пневмония. Medical Magazine, 2015, 17:8-10.
- Цочева И, Исаев В, Парина С. и др. Значение на серумните биомаркери за оценка на тежестта на придобита в обществото пневмония при хоспитализирани деца. Медицински преглед 2015;51(5):27-32.
- И. Цочева, М. Велизарова, А. Цакова и др. Оценка на PCT, hsCRP и разтворимия тригериращ рецептор, експресиран върху миелоидни клетки (sTREM-1) при деца с пневмония, придобита в обществото. Сборник резюмета от IX Национална

конференция по клинична лаборатория с международно участие. Боровец.10-12.09.2015

- И. Цочева, В. Исаев, С. Парина и др. Значение на серумните биомаркери за оценка на тежестта на придобита в обществото пневмония при хоспитализирани деца. Доклад. XIII-ти Конгрес по педиатрия. Несебър. 28-31.05.2015.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ

### **Договор 1/2014 Приложение на инхалаторен NO при екстремно недоносени новородени деца с дихателна недостатъчност**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Боряна Петрова Слънчева, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Петя Радулова
- Гл. ас. Лилия Вакрилова, дмн
- Гл. ас. Таня Праматарова, дмн
- Ас. Нина Яржкова
- Ас. Станислава Хитрова-Николова, дмн
- Ас. Здравка Дренкова
- Доц. Нели Жекова, дмн
- Ас. Анета Попиванова
- Д-р Гергана Василева

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по Акушерство и гинекология

**РЕЗУЛТАТИ:** Инхалаторният азотен окис /iNO/ представлява белодробен вазодилатор, играещ важна роля в регулацията на съдовия мускулен тонус. Прилагането на iNO се налага като метод на лечение на новородени деца с хипоксична дихателна недостатъчност, възникваща в резултат на персистиращо високо белодробно съдово съпротивление и дясно-ляв шънт през артериалния канал, форамен овале и интрапулмонални канали. Това състояние се нарича персистираща белодробна хипертония /PPHN/ при новороденото. За първи път инхалаторен NO при новородени се прилага от 1992г., а от 1999г. в САЩ той е утвърден като метод за лечение на PPHN при новородени с гестационна възраст 35 и повече г.с. Резултатите от първите проучвания върху ефекта на iNO при недоносени деца показаха, че медикаментът подобрява оксигенацията при тежка дихателна недостатъчност, както и при клиника на развиваща се или вече налична BPD, което предполага, че ранното лечение може да намали риска от белодробна увреда. При екстремно недоносени деца /ELBW/ е установено, че iNO подобрява ендогенната продукция на Сърфактант и стимулира ангиогенезата и алвеологенезата. Резултатът е намаляване на честотата на възникване на „новата” форма на Бронхо-пулмоналната дисплазия /BPD/- арест в алвеоларното развитие при екстремно незрели деца под 28 г.с. и под 1000 гр. Приложението на iNO е нов метод за превенция на хроничната белодробна болест. Според редица рандомизирани клинични проучвания прилагането на iNO при екстремно незрели деца намалява белодробната заболяемост през първата година от живота, намалява риска от летален изход и не се съпътства със сериозни странични ефекти. Медикаментът iNO

се приложи при 10 деца в Клиниката по неонатология. Терапията се проведе по предварително изготвен протокол, включващ критерии за започване на терапия, изключващи критерии и начин на провеждане на лечението. В хода на лечебния процес състоянието на новороденото дете се отразяваше в предварително изготвен „ фиш за проследяване”. Резултатите, които отчетохме, при завършване на проекта са следните: Приложението на медикамента е лесно и не нарушава останалите терапевтични процедури; По време на терапията не се наблюдават странични ефекти, както и влошаване на състоянието на децата; Отчитат се следните положителни ефекти на терапията: намалява тежестта и честотата на БПД; намалява продължителността на болничния престой; намаляват разходите за лечение; намалява риска за летален изход, както в неонаталния период, така и през първата година от живота. Въз основа на проведенния научен проект са създадени два протокола за лечение с iNO. Първият протокол е за превенция на БПД при новородени с екстремно ниско тегло при раждане, а вторият е за лечение на новородени с Персистираща белодробна хипертония. Въвеждането на протоколи допринася за стандартизиране на терапията с iNO. За първи път в България се прилага iNO при новородени деца, без ВСМ. За първи път в България се прилага iNO при екстремно недоносени деца за лечение и превенция на БПД. За първи път в България се отчита положителният ефект на iNO за лечението на Персистираща белодробна хипертония в неонаталния период.

#### Научни публикации и прояви:

- Радулова П, Слънчева Б, Маринов Р. Лечение на екстремно недоносено новородено дете с инхалаторен азотен окис. Клиничен случай. Акушерство и гинекология 2015;54(9):52-7.
- Радулова П., Вакрилова Л., Слънчева Б. Бронхо-пулмонална дисплазия – какво знаем днес? Акушерство и гинекология 2015;54(9):37-43.
- Радулова П, Слънчева Б, Вакрилова Л и др. Лечение на екстремно недоносено новородено дете с инхалаторен азотен окис. Научно-практическа конференция „Актуални проблеми в неонатологията – белодробна патология. Варна-Златни пясъци. 2-4.10.2015.
- Radulova P, Slancheva B, Vakrilova L et al. iNO treatment of extremely low birth weight infant with bronchopulmonary dysplasia. XII World Congress of Perinatal Medicine. Madrid-Spain. Nov 3-6<sup>th</sup>, 2015.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 4/2014 Определяне на NGAL, IL-18 и KIM-1 в урина за ранна оценка на риска от развитие на остро бъбречно увреждане при пациенти след кардио-пулмонален байпас**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Камен Николаев Цачев, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Жулиета Христова-Димитрова
- Антоанета Димитрова-Карамфилова, дм

**Базова организация:** МУ – София, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, Централна клинична лаборатория

**РЕЗУЛТАТИ:** NGAL, KIM-1 и IL-18 в урина са чувствителни количествени показатели за ранно диагностициране на остро бъбречно увреждане (ОБУ). Проведеното проучване демонстрира ролята на uNGAL, uKIM-1 и uIL-18 за ранна оценка на бъбречната функция. Измерването на структурните показатели в първите часове след ЕКК при

пациенти, подложени на КПБ, позволява идентифициране на ОБУ много по-рано, отколкото определянето на серумен креатинин (средно 48 часа след операцията). Ранната диагноза и стратификацията на риска от развитие на ОБУ са критични по отношение на адекватната терапия. Представянето на резултатите като съотношения спрямо уринния креатинин позволи по-добра сравнимост и по-добра надеждност, тъй като бяха компенсирани вариациите при инстантните проби. Резултатите от ROC анализа на uNGAL/uCreat, uKIM-1/uCreat и uIL-18/uCreat между 2 и 6 часа след ЕКК показаха най-голяма AUC (област под кривата) при uKIM-1/uCreat- 0.85 (95% CI 0.75 – 0.95,  $p < 0.01$ ). За uIL-18/uCreat се получиха сравними резултати- AUC 0.83 (95% CI 0.72 – 0.94,  $p < 0.01$ ). За uNGAL/uCreat AUC беше 0.78 (95% CI 0.71 – 0.85,  $p < 0.01$ ). Използването на комбинация от структурни и функционални показатели демонстрира най-висока прогностична стойност по отношение риска от развитие на ОБУ, като се компенсират недостатъците на самостоятелното измерване на отделните показатели.

#### Научни публикации и прояви:

- Христова Ж, Димитрова А, Царянский Г и др. Ранни уринни показатели за оценка на риска от развитие на остро бъбречно увреждане при пациенти, подложени на кардиопулмонален байпас.- подадено резюме за представяне на доклад на IX Национална конференция по клинична лаборатория 10-12 септември 2015 г, к.к. Боровец
- Hristova J, Dimitrova A, Tsaryanski G et al. NGAL, IL-18, and KIM-1 in urine for early assessment of acute kidney injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass. Merit Res J Med Med Sci. 2015;3(6):228-32.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 16/2014 Присъствие на генен полиморфизъм за основни инфламаторни цитокини (интерлевкин-6 (IL-6) - алел IL-6-174 и G-597A, тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- $\alpha$ ) – алел -308, и лимфотоксин алфа (LT- $\alpha$ )) във връзка с хроничен пародонтит**

Водещ изследовател: Проф. Христина Лазарова Попова, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Ас. Величка Досева-Панова
- Мая Кичева, дб, Проген ООД

Базова организация: МУ – София, ФДМ, Катедра по пародонтология

**РЕЗУЛТАТИ:** В литературата има някои публикации с опити за идентифициране на генетични фактори във връзка с пародонтита. Основно място в тях заемат изследванията за полиморфизъм на интерлевкин 1 бета (IL 1 $\beta$ ), интерлевкин-6 (IL-6) и тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- $\alpha$ ). Някои гени и междугенни взаимовръзки е установено да са въввлечени в модифицирането на пародонталното заболяване и така да променят клиничния ход, тежестта и прогнозата. Работната хипотеза в това проучване е формирана в резултат на някои данни от литературата и се основава на предположението, че присъствието на генен полиморфизъм за инфламаторните цитокини интерлевкин-6 (IL-6), тумор некротизиращ фактор алфа (TNF- $\alpha$ ) и лимфотоксин алфа (LT- $\alpha$ ) могат да са свързани с клиничната експресия и характеристика на хроничния пародонтит. В изследването са включени 30 пациента с поставена диагноза „хроничен пародонтит” и 10 пародонтално здрави индивиди като контролна група. Диагнозата беше поставена на базата на клиничните и рентгенологични диагностични методи. Средната възраст на участниците в

проучването е  $43,08 \pm 14,29$  години. При всички пациенти бяха анализирани клиничните параметри: хигиенен индекс (HI); кръвене при сондиране (BOP); дълбочина на джоба при сондиране в мм (PPD); загуба на аташман в мм (CAL) и също степента на костната загуба (Bone loss). (Таблица 3 и 4). При проведеният анализ в настоящото изследване беше установена сигнификантна (статистически значима) корелация между HI и PD, HI и CAL, HI и костната загуба (bone loss). В изследването беше установена и статистическа значимост на корелациите между PD и CAL, PD и Bone loss, и също така между CAL и костната загуба. В настоящото проучване беше определено повишено присъствие на IL-6 (G-174C) G/G генотип при пациентите с пародонтит и бихме могли да направим заключение, че хомозиготните по алел G индивиди (GG) са сигнификантно повече засегнати от пародонтит в сравнение с индивидите, които са носители на алел C, който се среща по-често при пародонтални здравите лица. По отношение на генния полиморфизъм на IL-6 -597 ген нашите резултати показват преваденция (преобладаване) на IL-6 (G-597A) GA генотип при контролната група и също при групата с умерен пародонтит и затова би могло интерпретацията на данните да го свърже по-скоро с протективните фактори, които определят по-ниската податливост към пародонтит. Във връзка с определяне на генния полиморфизъм на TNF-A (G-308A) в настоящото изследване резултатите показват, че хомозиготните по алел G индивиди са сигнификантно повече засегнати от пародонтит в сравнение с индивидите, които са носители на алел A. По отношение определянето на генния полиморфизъм на лимфотоксин алфа LT-A (A252G), може да се заключи, че тежките пародонтити са най-често с генотип на AG, докато умерените и здравите са с AA. При проведеното от нас изследване се определи, че основният показател, чрез който може да се предскаже тежестта на пародонтита е полиморфизма на LT-A (A252G). В заключение може да се направят следните изводи: Най-голяма обвързаност се наблюдава между генотиповете на LT-A и тежестта на пародонтита ( $P = 0.02$ )! По-слаба зависимост засяга генотиповете на IL-6. За разлика от тях относно TNF-A няма статически достоверна зависимост ( $P > 0.05$ ). Връзката между IL-6 (G-174C) и IL-6 (G-597A) е изключително силна ( $P < 0.001$ )! На практика те напълно се припокриват.

#### Научни публикации и прояви:

- Dosseva-Panova V, Mlachkova A, Popova C. Gene polymorphisms in periodontitis. *Biotechnol & Biotechnol Eq.* 2015;29(5):834-9.
- Dosseva-Panova V, A Mlachkova, C Popova, et al. Evaluation of interleukin-6, Lymphotoxin-alpha and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in chronic periodontitis. 25-th Jubilee Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria (IMAB)14 - 17 May 2015, Varna, Bulgaria
- Dosseva-Panova V, Mlachkova A, Popova C, et al. Evaluation of interleukin-6, Lymphotoxin-  $\alpha$  and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Journal of IMAB* 2015;21(3):868-75.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 18/2014** Роля на бактериалната транслокацията, секрецията на sCD14 и последващата системна възпалителна реакция за протичането и терапевтичния отговор при пациенти с хронични вирусни хепатити В и С

Водещ изследовател: Проф. д-р Росен Кирилов Николов, дмн

Членове на изследователския екип:

- Проф. Людмила Владимирова, дмн

- Доц. Анета Иванова, дм
- Людмила Кънчева, докторант

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по Вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”, Клиника по гастроентерология

**РЕЗУЛТАТИ:** При пациентите без чернодробна цироза се наблюдава корелация на системната възпалителна активност (измерена чрез hsCRP) с нивата на трансaminaзите и ГГТ, без тя да е свързана с виремията. Иmunната активация (измерена чрез sCD14), корелира значимо с нивата на трансaminaзите и hsCRP, също независимо от виремията. В общата група с хронични вирусни хепатити системната възпалителна активност и имунната активация не корелират с инсулиновата резистентност. При наивните пациенти имунната активация и системната възпалителна активност корелират с чернодробната възпалителна активност, независимо от инсулиновата резистентност и виремията. При пациентите без виремия на противовирусна терапия не се наблюдават значими корелации между системната и чернодробна възпалителна активност и имунната активация. В групата пациенти с чернодробна цироза се наблюдава сигнификантна корелация на системната имунна активация от бактериални липополизахариди (изразена чрез sCD14) с нивата на чернодробните трансaminaзи и индекса на телесната маса. В тази група такава корелация не се наблюдава между системната и чернодробна възпалителна активност, както и между системното възпаление и имунната активация. Не се установи статистически значима корелация на sCD14 и hsCRP със степента на чернодробна фиброза, наличието или липсата на стеатоза, тежестта на чернодробната цироза. Не се наблюдава корелация на показателите със системната инсулинова резистентност.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 19/2014 Изследване на цитокинов профил при ХИВ - инфектирани пациенти с установен дефицит на витамин Д**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Татяна Петрова Пенкова-Червенякова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Мария Николова, дмнр НЦЗПБ
- Ас. Нина Янчева, докторант
- Ивайло Еленков, дм
- Марина Александрова, докторант

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването беше да се оцени враймовръзката между серумните нива на 25(OH)D (витамин Д) и плазмените нива на някои важни проинфламаторни цитокини (IL-2,-4,-6,-10, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ ) при Български ХИВ – инфектирани пациенти. Проучването включи 60 ХИВ – позитивни пациенти, които се проследяват и лекуват с антиретровирусна терапия в Отделението за придобита имунна недостатъчност. От изследваните пациенти при 81,6 % (n=49) установихме по-ниски от нормалните серумни нива на 25 (OH)D, само 18,4 % (n=11) от пациентите бяха с нормални стойности на 25(OH)D. На следващ етап от проучването определихме и цитокиновия профил при тези пациенти (плазмени концентрации на IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10). При определяне на цитокиновия профил, пациентите бяха разделени на две субгрупи. В първата субгрупа от 30 човека, определянето на цитокинов профил се извърши без допълнителна стимулация на кръвните проби. В другата субгрупа от 30 пациенти, определянето на цитокиновия профил се извърши след 18-часова стимулация

с фитохемаглутинин. Резултатите, които получихме показват, че нарастващият в условията на хронична HIV инфекция дефицит на 25(OH)D задълбочава увреждането на клетъчния имунен отговор. Ниските серумни нива на 25(OH)D са свързани с повишени стойности на IL-6, понижени стойности на IL-10, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ . При понижени серумни нива на 25(OH)D е налице активно имунно възпаление, водещо до стимулирана секреция на регулаторни цитокини и потискане на Th1 антивирусния отговор. Фазата на напреднал дефицит на 25(OH)D се характеризира с паралелно изчерпване на регулаторните и ефекторни възможности на CD4 лимфоцитите. Възстановяването на CD4 лимфоцитния пул е затруднено на фона на по-ниски от нормалните серумни нива на 25(OH)D, независимо от провежданата антиретровирусна терапия.

#### Научни публикации и прояви:

- Alexandrova M, Yancheva N, Angelova O, et al. Induced cytokine profiles in Vitamin D deficient HIV infected individuals. Thirteen National Congress of Clinical Microbiology and Infections of Bulgarian Association of Microbiologist. Sofia, Apr 16-18, 2015.
- Angelova O, Alexandrova M, Yancheva N, et al. Vitamin D insufficiency affects IL-10 mediated regulation of cellular immunity. 3rd EFIS Symposium of Immunoregulation. Immunity, Infection, Autoimmunity and Aging. Belgrade, May 24-27, 2015
- Yancheva N, Tcherveniyakova T, Elenkov I, et al. Deficiency of Vitamin D in HIV infected patients and its effect on some of the immunological and biochemical parameters. X – th National Meeting of Infectious Diseases, Tryavna, Oct, 8-10, 2015.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 24/2014** Прогнозиране и визуализиране на промяната на лицевия профил при подрастващи пациенти II скелетен клас, лекувани с функционални апарати

Водещ изследовател: Проф. Лаура Стефанова Андреева-Гургуриева, дм

Членове на изследователския екип:

- Ас. Яна Попова
- Ас. Владимир Богданов
- Ас. Мартин Мариянов

Базова организация: МУ – София, ФДМ, Катедра по ортодонтия

**РЕЗУЛТАТИ:** Коригирането на оклузалните съотношения на пациенти с ретромандибулии в това изследване е съпроводено със скелетни и мекотъканни промени. Те са разгледани в следната последователност: Сагитални скелетни промени: В двете групи пациенти наблюдаваме намаляване на сагиталните скелетни несъответствия за което съдим по намаляване стойностите на ъгъл ANB. Имаме нарастващи стойности на ъгъл SNB и незначителни промени на SNA. Подобряването се дължи на увеличен медиално насочен растеж на долна челюст и съответно незначителни промени в сагиталните ъглови показатели на горна челюст. Потвърждение на това е значително по-голямото линейно нарастване на мандибулата спрямо максилата. Вертикални скелетни промени: Измененията на ъгловите показатели, които използваме за оценка на вертикалните промени при повечето пациенти са минимални. Лечението със сменяеми функционални ортодонтски апарати не оказва голямо влияние върху вертикалните съотношения. Дентоалвеоларни



промени: Установяваме намаляване на стойностите на ъгъл SN/I, т.е. използваните апарати са подходящи при протрузия на горни резци. И обратно в долна челюст наблюдаваме вестибуларно наклоняване на резците след лечение. Ъгъл MP/I нараства в края на лечението, изследваните апарати са индицирани при ретрузия на долни резци. Мекотъкани промени: Наблюдава се увеличаване на стойностите на ъгловите показатели за лицевия конвекситет. Мекотъканият профил намалява конвекситета си, изправя се след лечение със сменяеми функционални ортодонтски апарати, профила се балансира.

**Научни публикации и прояви:**

- Popova Y. Soft and hard tissue changes during treatment with removable functional appliance of class II, 21<sup>th</sup> BASS 2016, 12-15 May, p.258-pp225
- Popova Y. VTO of soft and hard tissue changes during class II treatment with removable functional appliance. 3<sup>th</sup> MOS 2016, 12-15 May, p.116-117-op05

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 25/2014 Влияние на генетичните полиморфизми, свързани с витамин D3, върху развитието на системен лупус и неговата клинична изява**

**Водещ изследовател:** Доц. Алексей Славков Савов, дб

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Златимир Коларов, дмн
- Проф. Рашо Рашков, дмн
- Силвия Андонова-Бъклова
- Добромир Танев, докторант
- Гл. ас. Ралица Робева, дм

**Базова организация:** МФ Катедра по акушерство и гинекология, СБАЛАГ „Майчин дом” ЕАД, Национална Генетична Лаборатория

**РЕЗУЛТАТИ:** Рецепторът за витамин D3 (VDR) е лиганд -зависим транскрипционен фактор, който традиционно се свързва с регулацията на калциево-фосфорната хомеостаза. Все повече данни обаче показват модулиращия ефект на комплекса витамин D3 - VDR върху имунния отговор. Въпреки множеството изследвания, до момента не е изяснена ролята на полиморфизмите на този рецептор при автоимунни заболявания. Поради това настоящото проучване си постави за цел да проучи влиянието на полиморфизмите на VDR: FokI (rs2228570), BsmI A/G (rs1544410) както и на други полиморфизми, свързани с обмяната на витамин D3 - CYP2R1 G/A (rs10741657) и CYP27B1 C/A (rs10877012) за протичането и клиничната картина при жени със системен лупус еритематозус (СЛЕ). За целите на проучването бяха изследвани общо 220 жени – 106 болни с лупус и 114 здрави контроли, като генотипирането за посочените полиморфизми беше осъществено чрез PCR RFLP методика. Резултатите показаха, че полиморфизмите на VDR BsmI и FokI не предразполагат към развитие на системен лупус. Установи се връзка между двата полиморфизма и кожно-лигавичните прояви на заболяването, но не и асоциация с други органни прояви на болестта. Полиморфизмите rs10741657 в гена за 25-хидроксилазата и rs10877012 в гена за 1-алфа -хидроксилазата не бяха рискови фактори за поява на СЛЕ, но се установи асоциация между rs10741657 полиморфизма и развитието на дискоиден обрив и имунологични нарушения при изследваните жени с лупус. В заключение, изследваните полиморфизми, свързани с обмяната на витамин D3, не са рискови фактори за поява на системен лупус, но VDR BsmI, VDR FokI и CYP2R1 rs10741657 полиморфизмите могат да модулират клиничните изяви на болестта.

**Научни публикации и прояви:**

- Танев Д, Андонова С, Робева Р, и др. Витамин D-рецепторен BsmI полиморфизъм при жени със системен лупус еритематозус. Ревматология, 2015;2.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 39/2014 Определяне спектъра на микроорганизмите, асоциирани с бактериална вагиноза и кандидозен вулвовагинит, при бременни и ролята им в усложненията при раждане и за плода**

Водещ изследовател: Чл.-кор. проф. Иван Гергов Митов, дмн

Членове на изследователския екип:

- Доц. Весела Райкова, дм
- Ас. Радослав Байкушев

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Неправилното дагностициране на БВ и ВВК при бременните води до усложнения при жената и плода. Изработването на алгоритъм за диагностицирането на състоянията. Бяха изследвани вагинални секрети от 115 бременни жени с оплаквания. Изготвени бяха натривки, оцветени по Грам и PAP, култивирани на хранителни среди за изолиране на бактерии и гъби. За идентификация на изолатите бяха използвани API Candida и API 20CAUX. Бе извършена PCR за доказването на различни видове кандиди и анаеробни бактерии. От всички 115 материала при 57(49,6%) чрез микроскопски и културелни методи се установи инфекция. От тях 48 показаха микроскопски и културелни данни за вагинална аеробна инфекция. При останалите 9 бе установена анаеробна инфекция единствено чрез микроскопиране. Културелно бяха изолирани 64 микроорганизма – 26 (40,6%) Грам положителни, 5 (7,8%) Грам отрицателни и 33 (51,5%) гъби. ВВК бе доказана микроскопски и културелно при 33(28,6%) от бременните. Чрез биохимична идентификация и тестове за асимилация бяха доказани: *S.albicans* в 29(87,9%), *S. glabrata* 3.(9%) и *S.krusei* 1(3%). На всичките положителни за инфекция материали бе проведена PCR. Резултатите от конвенционалните тестове съвпаднаха с тези от PCR. Правилната микробиологична диагностика на евентуален патоген е гаранция за адекватна терапия, предотвратяване на нежелани усложнения при бременната и би осигурила раждането на здраво дете.

**Научни публикации и прояви:**

- Baykushev R, Raykova V, Mitov I, et. all Application of the conventional and molecular methods in the diagnostic algoritmn of vulvovaginal candidiasis Med Rev 2015;3:39-43.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 46/2014 Методология на получаването и съхранението на туморни тъкани за създаването на тъканна банка от пациенти с карциноми на дебелото черво, стомаха и щитовидната жлеза**

Водещ изследовател: Проф. Георги Тодоров Тодоров, дм

Членове на изследователския екип:

- Доц. Костадин Ангелов, дм
- Мариела Василева, докторант

- Костантин Гроздев, докторант
- Мохамед Хаят, докторант
- Ас. Георги Велев
- Ас. Антон Койчев
- Ас. Николай Горанов
- Гл. ас. Николай Кътев
- Ас. Камен Пирински
- Ас. Венцел Младеновски
- Ас. Славейко Минев
- Ас. Веселин Илинов
- Ас. Светослав Тошев
- Ас. Манол Соколов
- Ас. Свилен Масляков
- Васил Павлов
- Ас. Илия Фидошев
- Ас. Петър Грибнев
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева дб
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Даниела Дачева, докторант
- Румяна Додова, дб
- Проф. Светлана Христова, дм
- Д-р Александрина Влахова
- Д-р Тихомир Диков

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по хирургия, УМБАЛ „Александровска“;

**РЕЗУЛТАТИ:** В създадената тъканна банка са включени тъканни проби и кръв от 50 пациенти 35 жени и 15 мъже диагностицирани и/или лекувани за периода от юли 2014 до декември 2015 година в Клиника по хирургия «Александър Станишев», УМБАЛ Александровска. Разгледани са хистологичния тип на туморите, локализацията на процеса, фамилната обремененост на пациентите и разпространението на някои известни рискови фактори. 6-те пациентки приети с карцином на щитовидната жлеза са на възраст между 39 и 64 години. При 5 от пациентките туморът се разполага в левия лоб. Само 1 съобщава за фамилна обремененост с карцином на щитовидната жлеза. При 4 от пациентките е проведена предоперативно тънкоиглена аспирационна биопсия, която показва съмнение за карцином. 1 от тях е и пациентката с карцином с неясен произход. Създадената тъканна банка поставя основата на бъдещото развитие на науката в областта на карцинома на дебелото черво, стомаха и щитовидната жлеза.

**Научни публикации и прояви:**

- Vasileva M, Angelov K, Dacheva D, et al. Annual report of the Medical University of Sofia cancer biobank. Scripta Scientifica Medica 2015;47(1):58-9.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 48/2014** Пилотно проучване на фотосенсибилизиращото въздействие на компоненти на дентални материали при пациенти и дентални лекари, суспектни за хроничен фотохимичен дерматит

Водещ изследовател: Проф. Ангелина Илиева Киселова-Янева, дмн

Членове на изследователския екип:

- Акад. проф. Богдан Петрунов, дмн, БАН
- Доц. Георги Николов, дм, НЦЗПБ
- Доц. Мария Денчева-Гарова, дм
- Ас. Мая Ляпина
- Доц. Ася Кръстева-Панова, дм
- Мариана Цекова-Янева, дм
- Доц. Мариела Янева-Деливерска

**Базова организация:** МУ – София, ФДМ, Катедра "Образна и орална диагностика"

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящото пилотно проучване си поставихме за цел и за първи път в България извършихме оценка на наличието и честотата на контактната фотосенсибилизация към химически агенти с фотосенсибилизиращ капацитет - ингредиенти на денталните композити, към подобрени UV филтри, към някои нестероидни противовъзпалителни средства и към антисептични средства сред дентални специалисти и сравняването им с тези при дентални пациенти. Не установихме реакции на фотосенсибилизация към метилхидроквинон и камфорквинон. Не установихме достоверно повишена честота на фотосенсибилизация към изследваните UV филтри сред денталните специалисти. Може да предположим слабо фотосенсибилизиращо въздействие на бис-GMA, но тъй като подобна констатация не е описана в достъпната ни литература считаме, че за потвърждаването ѝ са необходими допълнителни изследвания. Честотата на контактна сенсбилизация към триклозан бе най-висока, особено сред групите на мъжете и на денталните пациенти, но реакции на фотосенсибилизация не се установиха. Според нашите резултати, налице е риск от сенсбилизация към триклозан сред потребителите, но не и при професионална експозиция в денталната практика. Ибупрофенът може да се разглежда като втория по значимост алерген за всички дефинирани от нас групи, но фотосенсибилизиращото му въздействие не беше доказано. Според нашите резултати, бензидамин хидрохлоридът е единственото вещество с фотосенсибилизиращо действие, а като рискови групи биха могли да бъдат определени тези на денталните специалисти и на жените. На базата на резултатите от проведеното пилотно проучване следва да отбележим, че липсват данни за фотосенсибилизиращо въздействие на тестваните от нас агенти в денталната практика. Категорично считаме, обаче, че за потвърждаване на надеждността и точността на горните констатации са необходими допълнителни изследвания, с включване на значително по-голям брой пробанти. Научните резултати от проучването, може да послужат за теоретично обосноваване и практическо прилагане на адекватни профилактични мерки както при професионална, така и при непрофесионална експозиция на фотосенсибилизиращи агенти. Това ще осигури по-добра работна, медицинска и социално-икономическа прогноза и състояние на обективния здравен статус в денталната практика.

**Научни публикации и прояви:**

- Ляпина М, Денчева М, Кръстева А, и др. Биологична съвместимост на денталните материали – фотосенсибилизиращо въздействие. Dental magazine, 2015;2:46-9.

- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of photoallergic reactions to non-steroidal anti-inflammatory agents, chemicals used in dental composites and antiseptic agents among dental professionals. MedInform, 2015;2:165-74.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of photoallergic reactions to UV filters among dental professionals. J Adv Med Pharm Sci 2015;4(2):1-8.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Photosensitization to ingredients of dental materials among dental professionals and students of dentistry. 2<sup>5th</sup> Jubilee Annual Assembly of IMAB, Varna, Bulgaria. 14-17 May, 2015, p. 20.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 50/2014 Физикална аналгезия при неврологични, неврохирургични, ревматологични и ортопедично-травматологични пациенти (въвеждане на съвременни методи и сравнителна оценка на ефекта от приложение на ТЕНС, ЛАЗЕР, ФЕС с биофийдбек и Дълбока осцилация върху различни типове болка – невропатна, ноцицептивна, централна, миофасциална, лигаментарна, пост-оперативна)**

**Водещ изследовател:** проф. Ивет Борисова Колева-Йошинова, дм, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Д-р Диана Людиева
- Д-р Асен Хаджиянев
- Ас. Антоанета Байрактарова
- Ас. Николай Кръстев
- Доц. Димо Кръстев, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра „Медицинска рехабилитация и ерготерапия“

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани са общо 706 пациенти с болков синдром, поради заболявания и увреди на нервната система и опорно-двигателния апарат. Пациентите са провели комплексна физикално-терапевтична и рехабилитационна програма; довела до редуциране на болковите оплаквания и подобрение в клиничните патерни. Уточнени са различните преформирани и естествени физикални фактори, ефективни за обезболяване. Формулирана е хипотеза относно механизмите на физикалната аналгезия. Обсъдени са структурирани алгоритми за физикална аналгезия при тези типове пациенти.

**Научни публикации и прояви:**

- Колева И. Хипотеза относно механизмите на физикалната аналгезия. Превенция и рехабилитация 2015;(1-2):5-7.
- Колева И. Физикална аналгезия и дълбока осцилация. Второ допълнено и преработено издание. Монография. СИМЕЛ ПРЕС, 2015
- Koleva I, Yoshinov R, Marinov M, et al. Efficacy of hydro-, balneo- and peloidotherapy in the pain management and quality of life of patients with socially-important diseases and conditions of the locomotory and nervous system: Bulgarian experience. Balnea, 2015 (10), Serie de Monografias; pp.273-4.
- Koleva I, Krastev N, Yoshinov R. Impact of balneotherapy and peloidotherapy in neurorehabilitation algorithm of patients with low back pain and lumbo-sacral radiculopathy – a comparative study. Balnea, 2015 (10), Serie de Monografias; pp.87-8.

- Koleva I. Impact of physical modalities in prevention and rehabilitation of diabetic polyneuropathy and neuropathic diabetic foot. International Conference on Targeting Diabetes and Novel Therapeutics, 14 - 16 Sep 2015 / U.S.A, Las Vegas, NV.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 51/2014 Експресионен анализ на микроРибонуклеинови киселини в периферна кръв и определяне на диагностичната и прогностичната им стойност при пациенти със системен лупус еритематозус**

Водещ изследовател: Доц. Симеон Валентинов Монов, дм

Членове на изследователския екип:

- Ас. Руска Шумналиева, дм
- Доц. Радка Кънева, дб
- Дарина Качакова, дб

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, Клиника по Ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** Нивата на експресия на miR-146a в периферна кръв са повишени при 62,5 % от болните от SLE, сравнено със здрави контроли. miR-155 показва повишени нива в периферна кръв при 50 % от пациентите. ROC curve анализът показва, че нивата на експресия на miR-146a (AUC-0.711,  $p=0.002$ ) в периферна кръв по-добре разграничават болните от SLE от здравите контроли, с нива на чувствителност - 82,5 %, и специфичност - 56,2 %, в сравнение с miR-155 (AUC-0.691,  $p = 0,005$ , 77,5 % чувствителност и 50,0 % специфичност). Диагностичната стойност на комбинацията от изследваните miRNAs не се повишава значително при провеждането на мултимаркерен ROC curve анализ (AUC-0.716,  $p = 0,002$ , 82,5 % чувствителност и 56,2 % специфичност). Нивата на miR-146a и miR-155 корелират сигнификантно с диагнозата ( $r_s$  0.363 и 0.330, респективно) и възрастта ( $r_s$  0.239 и 0.366, респективно). miR-155 показва корелация и с наличието на вторичен синдром на Рейно с корелационен коефициент на Spearman 0.250.

**Научни публикации и прояви:**

- Shumnalieva R, Kachakova D, Monov S, et al. miRNAs expression in Systemic lupus erythematosus, 36<sup>th</sup> European Workshop for Rheumatology Research, York, UK 25-27 Feb 2016 Ann Rheum Dis 2016;75(Suppl 1):8. Epigenetics, A8.05.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 54/2014 Оценка ролята на пептидният хормон хепсидин при желязо-дефицитна анемия и анемия при хронично възпаление по време на бременност**

Водещ изследовател: Проф. Асен Иванов Николов, дм

Членове на изследователския екип:

- Ас. Весела Карамешева
- Диана Йорданова, докторант

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по акушерство и гинекология

**РЕЗУЛТАТИ:** Проучването е проспективно. Проведено е в УСБАЛАГ “ Майчин дом ”, гр. София, за период от десет месеца (от м. август 2014 г. до м. юни 2015 г.). Включени са 177 едноплодни бременности. Пробите са събирани в един и същ часови интервал

през деня, поради литературни данни за денонощни колебания в стойностите на хепсидин. Изследваните пациентки са разделени на две групи: 81 пациентки без анемия, разделени на две подгрупи, съответно от 40 пациентки във втори и 41 пациентки в трети триместър на бременността и 96 пациентки, разделени на две подгрупи от по 48 пациентки, според наличните белези на желязен дефицит и активно възпаление. За определяне стойностите на хепсидин в серум е използван ELISA метод на “сандвичев” принцип. Оцветяването на реакционната смес се отчита фотометрично на 450 nm Anthos Zenyth 3100 Multimode Detector. Стойностите на хепсидин, определени при клинично здрави бременни пациентки са средно  $20,5 \pm 6,2 \mu\text{g/l}$ . При определяне стойностите на хепсидин в групата пациентки с анемия се установява, че 29 от тях са с желязо- дефицитна анемия ( хепсидин  $1,9 \pm 0,5 \mu\text{g/l}$  ), 19- с анемия при хронично заболяване ( хепсидин  $108,2 \pm 5,3 \mu\text{g/l}$  ) и най- голям брой от тях- 48, са с комбинирано състояние ( хепсидин  $85,4 \pm 4,2$  ). При сравнение стойностите на хепсидина между контролната група пациентки и пациентките с желязо- дефицитна анемия, анемия при хронично заболяване и комбинираните състояния се вижда, че концентрацията на хепсидин е най- ниска в групата с желязо- дефицитна анемия, най- висока в групата с анемия при хронично заболяване, а при комбинираните състояния заема междинно място.

#### Научни публикации и прояви:

- Йорданова Д, Николов А, Маринов Б. Хепсидин- нов диагностичен маркер при анемичните състояния по време на бременност. Акушерство и гинекология. 2015;54(Suppl):22- 5.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 59/2014 Риновирус-индуцирана бронхиална обструкция и антивирусен имунен отговор при деца с фамилна анамнеза за астма**

Водещ изследовател: Доц. д-р Иванка Огнянова Галева, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Сирма Димитрова, дм
- Д-р Милена Иванова-Кръстанова
- Гл. ас. Снежана Кандиларова, дм
- Проф. Елисавета Наумова, дмн

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по педиатрия, УМБАЛ „Александровска” ЕАД, Клиника по педиатрия

**РЕЗУЛТАТИ:** Човешкият риновирус (HRV) е не само главен патоген отговорен за обикновената настинка, но се счита че има основна роля в дебюта на астмата, екзацербация на астматичните пристъпи и дори в ремоделирането на дихателните пътища при асматици. Целта на проучването е да се оцени риска от рецидив при деца с риновирус-индуцирани бронхообструктивни прояви. Проведено бе проспективно проучване върху 126 деца на възраст от 3 до 36 м. хоспитализирани по повод остър епизод на бронхиална обструкция. Извършено бе изследване за HRV-РНК (всички типове) в назален смив по метода на Real Time PCR детекция. На 12-ия м. и 24 м. след хоспитализацията родителите на изследваните деца бяха анкетирани по телефона за нови бронхообструктивни прояви. Риновирусна инфекция бе доказана при 14,3% от децата. При проследяване след една година нови пристъпи са имали 14 (87,5%) от децата с риновирусна инфекция, спрямо 52 (74%) от HRV (-) група. След 2 години разпределението е както следва: рецидивиращи „свиркачи” са 12(75%) от HRV (+) деца, спрямо 38(53%) в групата на HRV (-). Децата с риновирусна инфекция при

хоспитализацията са с 2,7 пъти по-висок риск (95%CI 0,47-15,1 ) от персистиране на бронхообструктивните прояви след 2-рата година и преминаване в астма. Нашите резултати потвърждават ролята на риновирус-индуцираните бронхообструктивни прояви като важен рисков фактор за рецидивиращо „свиркане” и изява на астма в детска възраст.

#### Научни публикации и прояви:

- Милева С, М Янкова, И Галева, и др. Риновирусна инфекция и рецидивиращи бронхообструктивни прояви в ранна детска възраст. Medical magazine 2015;18:
- Galeva I, S Mileva, M Yankova, et al. Human rhinovirus infection in young children hospitalized with acute wheeze in Bulgaria. European Society for Pediatric Infectious Diseases, 33Annual Meeting, Leipzig, Germany, 12-16 May 2015
- Янкова М, С Милева, И Галева, и др. Честота на риновирусните инфекции при деца хоспитализирани по повод на остър епизод на бронхиална обструкция, XIII Национален конгрес по педиатрия, 28-31 май, Несебър
- Galeva I, S Mileva, M Yankova, et al. Human rhinovirus infection in young children hospitalized with acute wheeze in Bulgaria. European Academy of Paediatrics, Congress and MasterCourse, 17-20 Sep, 2015, Oslo, Norway

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 60/2014 Серумни и уринни биологични маркери за ранна бъбречна увреда – патофизиологична перспектива**

Водещ изследовател: Проф. Борис Илиев Богов, дм

Членове на изследователския екип:

- Проф. Камен Цачев, дмн
- Владислава Тодорова, докторант

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по вътрешни болести УМБАЛ “Александровска” ЕАД, Клиника по нефрология

**РЕЗУЛТАТИ:** Острата бъбречна увреда (ОБУ) е сериозен клиничен проблем, засягащ значителна, хетерогенна популация пациенти и е свързана с висока смъртност. Честота и варира от 5 % при стационарите до 30-50% в сектора за интензивни грижи. Целта е да се определи диагностичната стойност на посочените биологични маркери (биомаркери) в серум и урина при пациенти с остри бъбречни заболявания, оценявайки ранната бъбречна увреда и прогнозиране към хронична бъбречна увреда (ХБУ). Изследвани са 80 лица: здрави доброволци, пациенти с остро влошена бъбречна функция и болни с изострена хронична бъбречна недостатъчност. При всички участници е изследвано ниво на серумен креатинин и на следните биомаркери: Цистатин С (CysC), Неутрофил гелатиназа–асоцииран липокалин (NGAL), Интерлевкин–18 (IL–18) в серум, Молекула за бъбречно увреждане–1 (KIM–1), N-ацитил-бета-D-глюкозаминидаза (NAG) в урина. Значимо по-високи са стойностите на NGAL, KIM-1, NAG, CysC, IL-18 при болни с ОБУ сравнено със здрави. По-високи са NAG, CysC и IL-18 при болни с изострена ХБН сравнено със здрави. NGAL, KIM-1 са значимо по-високи в групата с ОБУ, а NAG е по-нисък при ОБУ сравнено с болните с ХБН. Висока е корелацията на серумния креатинин с CysC и IL 18. Умерена е корелацията на креатинина с KIM-1 и NAG. Висока е корелацията на CysC с IL-18 и NAG. Умерена е корелацията на CysC с KIM-1. Нашите резултати показват, че изследваните биомаркери имат диагностична стойност при болни с ОБУ и при изострена ХБН. NGAL, KIM-1 и NAG могат да отличат остра от изострена ХБН.



**Научни публикации и прояви:**

- Миленова В. Уринни биологични маркери (биомаркери) за ранна бъбречна увреда. МедикАрт. 2015;9(3):61-4.
- Миленова В. Серумни биологични маркери (биомаркери) за ранна бъбречна увреда. МедикАрт. 2015;9(4):42-4.
- Миленова В, Богов Б, Христова Ж и др. Серумни и уринни биологични марекри (биомаркери) за ранна/остра бъбречна увреда. Седми конгрес по нефрология. Хисаря 20-22.11.2015 г.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 63/2014 Полиморфизъм на андрогенния рецептор и серумни нива на лептин и адипонектин при мъже с метаболитен синдром с или без хипогонадизъм**

**Водещ изследовател:** Проф. Здравко Асенов Каменов, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Петя Ангелова, докторант
- Силвия Андонова-Бъклова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ «Александровска» ЕАД, Клиника по ендокринология

**РЕЗУЛТАТИ:** Установена е ролята на полиморфизма в гена на андрогенния рецептор за нивата на тестостерона при физиологични условия. Да се изследва значението на (CAG)<sub>n</sub> полиморфизма в гена на андрогенния рецептор при българска популация мъже с МС и да се установи значението му за развитието на хипогонадизъм при тях, връзката му с нивата на адипонектин и лептин. Изследвани бяха 78 мъже с метаболитен синдром (пациенти на клиниката по ендокринология на Александровска болница, София). Проведеха се рутинни клиничко-лабораторни изследвания и генетичен анализ на гена за андрогенния рецептор. Сред пациентите с МС се установи честота на хипогонадизма от 30%. Установи се алапното разпределение на (CAG)<sub>n</sub> полиморфизма в гена на андрогенния рецептор като броят на CAG повторите бе  $21.6 \pm 2.75$  или между 12 и 29. Корелации на (CAG)<sub>n</sub> с изследваните серумни нива на общия тестостерон, адипонектина и лептина не се намират в нашата група пациенти. Не се установи зависимост на (CAG)<sub>n</sub> полиморфизма на андрогенния рецептор и наличието на хипогонадизъм при МС или нивата на адипонектин и лептин. Нашата работа подкрепя хипотезата, че ролята на (CAG)<sub>n</sub> - полиморфизъм може да се отчете само при състояния с пълна андрогенизация - нива на серумния Т в рамките на нормата. Метаболитният синдром нарушава естествената физиологична компенсаторна реакция на гонадната ос при наличие на полиморфизми на андрогенния рецептор.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 64/2014 Коинфекции при жени в репродуктивна възраст с полово предавани бактериални агенти**

**Водещ изследовател:** Доц. Георги Петков Пехливанов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Весела Райкова, МФ
- Гергана Манолова-Георгиева, докторант

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по кожни и венерически болести

**РЕЗУЛТАТИ:** *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium* са полово-предавани инфекции, които недиагностицирани или нелекувани адекватно могат да доведат до сериозни последствия, включително и до стерилитет. Цел на настоящето проучване бе установяване на ко-инфекции при жени в репродуктивна възраст с тези бактериални агенти. Рутинни и молекулярно-генетични техники бяха използвани при проучването на 76 влагалищни/цервикални секрета от симптоматични и безсимптомни полово активни жени. Установената чрез PCR методиката честота на инфекциите бе, както следва 1.32% за *N. gonorrhoeae*, 5.26% за *C. trachomatis*, 40.79 за *U. urealyticum*, 9.2% за *M. hominis* и 1.32% за *M. genitalium*. Ко-инфекции бяха доказани в 6 материала – 4 пациентки бяха с инфекция, причинена от *U. urealyticum* и *M. hominis*; 2 пациентки – с *C. trachomatis* и *U. urealyticum*. Рутинните за микробиологията методики дадоха по-ниска чувствителност и доказуемост на установените инфекции в сравнение с PCR метода. Необходимо е провеждането на изследвания за полово-предавани бактериални агенти като *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium* поне веднъж в годната за всяка полово активна жена, защото не е малък процентът от случаите на безсимптомни инфекции или комбинация от възможни причинители. Висок е процентът на установена инфекция с *U. urealyticum*, но получените данни за честотата на изследваните микроорганизми напълно съответстват на докладаваните и от други автори резултати. Адекватната терапия на ППИ изисква доказването на причинителя до вид, което ще гарантира недопускане развитието на усложнения, важни не само за пациентката, но и за нейните партньори, а и здравната система в страната.

**Научни публикации и прояви:**

- Raykova V, Ouzounova I, Mitov I. The first for Bulgaria simultaneous study of the prevalence of fastidious sexually transmitted microorganisms *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* and genital mycoplasmas. 34th Congress of the Société Internationale d'Urologie, 12-15.10.2014.
- Manolova G, Uzunova V, Miteva L, et al. Infection with *C. trachomatis* and other bacterial agents as the cause of infertility in women of fertile age. 9 Национална научно-практическа конференция „Пролетни варненски дерматологични дни“. гр. Варна 16-19 април 2015г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 62/2014 Неинвазивни и инвазивни методи за диагностика на предиабетната невропатия**

**Водещ изследовател:** Доц. Юлия Йорданова Петрова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Здравко Каменов дмн
- Доц. Радина Иванова, дм
- Силвия Начева, докторант
- Giuseppe Lauria, MD, Fondazione Istituto Neurologico “Carlo Besta”

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по неврология, УМБАЛ “Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** Предиабетът, включващ нарушен глюкозен толеранс (НГТ) и нарушена гликемия на гладно (НГГ), представлява етап от еволюцията на нарушения глюкозен метаболизъм и рисков фактор за развитието на захарния диабет. Според някои проучвания, честотата на полиневритната увреда при пациенти с предиабет достига до 23.9%, а при захарен зиабет 45% до 60%. Предиабетът най-често се съпровожда от увреждане на малките нервни влакна- немиелинизираните от тип С и тънкомиелинизираните от тип А-δ. Все още не е създаден “златен стандарт” за диагностика на полиневропатии, засягащи малките влакна. Диагнозата на полиневропатията, засягаща малките нервни влакна се поставя, чрез абнормни находки от кожна биопсия. Рутинната електроневрография изследва целостта на дебеломиелинизираните нервни влакна, въпреки което има неврофизиологични методики за изследване на тънките немиелинизираните влакна. При двете групи пациенти се установи висока чувствителност на методиката за изследване на судомоторната функция. Това я определя като подходяща за скринингов метод за неврологично засягане при предиабет и диабет. В сравнение с вибрационния праг се оказа променен в по-голям процент при захарен диабет и в незначителна степен при предиабет. Неврофизиологичните корелации между SNAP и SSR при групите с предиабет и диабет, установиха по-ниски амплитуди и по-удължени латенции, както в сравнение със здравите контроли, така и по-между си.

**Научни публикации и прояви:**

- Начева С, Петрова Ю, Каменов З. Предиабет и предиабетна невропатия – етиологични и патофизиологични механизми. Медицински преглед. 2015;51(3):5-12.
- Nacheva S, I Petrova, Z Kamenov, et al. Evaluation of arterial stiffness in impaired glucose tolerance as an early marker of diabetes mellitus. First Congress of the European Academy of Neurology. Berlin, Germany. Jun 20-23, 2015

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 65/2014 Генотип-фенотип асоциация на бронхиалната астма в детска възраст**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Пенка Илиева Переновска, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Гергана Стоянова, дм
- Д-р Димитринка Митева
- Снежина Лазова, докторант
- Доц. Алексей Савов, дб
- Силвия Андонова

**Базова организация:** МУ – София, МФ, Катедра по педиатрия

**РЕЗУЛТАТИ:** ADAM33 е първият ген за предразположеност към астма открит чрез позиционално клониране през 2002 и е определен за ген на ремодулирането на дихателните пътища. Полиморфизмите на единични нуклеотиди на ADAM33 са свързани с понижени белодробни функции в проспективно кохортно проучване при новородени. За период от една година изследвахме алелната асоциация на полиморфизмите на ADAM33 - T1 (rs2280091), T2 (rs2280090), V4 (rs2787094) и S2 (rs 528557) при 100 деца - 71 с бронхиална астма и 29 здрави (контроли) на възраст от 5 до 17 години. Използваните методи включват: детайлна анамнеза, функционално изследване на дишането, определяне на еозинофилен брой в храчка и в периферна кръв, въпросник за контрол на астмата. Геонтипиизирането се извършваше чрез реал-тайм

ПСР. Минорните алели на T1, T2 и V4 единични полиморфизми са асоциирани с детската астма, когато се сравняват спрямо здравите контроли ( $p < 0.05$ ). V4 се асоциира с еозинофилното възпаление, докато T2 е свързан с неутрофилното възпаление, лошия контрол на астмата и фенотипа на тежка астма. Това е първото пилотно проучване на ADAM33 сред български деца с бронхиална астма с обещаващи резултати, които трябва да се подкрепят с бъдещи подобни изследвания.

#### Научни публикации и прояви:

- Петрова Г, Митева Д, Лазова С, и др. Фенотипове на бронхиалната астма в детска възраст. Наука пулмология. 2016; 1.
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the asthma phenotypes in children, 4-та среща на три респираторни общества: Словения, Хърватска и Унгария. Блед, Словения. 22-23 Май 2015
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. Some ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the risk of childhood asthma in a Bulgarian population. Pediatric asthma and allergy meeting, EAACI. Барселона, Испания. 6-10 юни 2015.
- Петрова Г, Митева Д, Лазова С, и др. Полиморфизми на АДAM33 при деца с бронхиална астма, 16-та Национална конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие. Правец, България. 9-11 октомври 2015. Стр. 34
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. ADAM33 in Bulgarian children with asthma. Pediatric asthma and allergy meeting, EAACI, Берлин, Германия. 15-17 Октомври 2015.
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. Some ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the risk of childhood asthma in a Bulgarian population. Allergy 2015;70 (Supl 101):337.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 67/2014** Анемия при ревматоиден артрит и серумен хепсидин – нови диагностични възможности при избор на терапия

Водещ изследовател: Доц. Савина Петрова Хаджидекова, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Проф. Камен Цачев, дмн
- Гл. ас. Виктор Манолов, дм
- Доц. Милена Велизарова, дм
- Доц. Венета Паскалева-Пейчева, дм

Базова организация: МУ – София, МФ, Катедра по медицинска генетика

**РЕЗУЛТАТИ:** В хода на проекта бяха използвани различни методологични подходи за диагностика на заболяването ревматоиден артрит и оценка на желязния статус при 40 пациента – 10 мъже, 30 жени на средна възраст 51.5 (23 – 66) Установихме статистически значими разлики в серумните нива на серумен хепсидин спрямо контролната група, (обхват при RA 0.09 – 99.6  $\mu\text{g/l}$ ; при контролна група 3.05 – 37.75  $\mu\text{g/l}$ ). Серумното ниво на хепсидин е статистически значимо повишено при пациенти с анемия при хронично възпаление при ревматоиден артрит;  $P < 0.001$ . То е значимо понижено при пациенти с ревматоиден артрит и желязо-дефицитна анемия и комбинацията от желязо-дефицитна анемия / анемия на хронично заболяване;  $P < 0.001$ . Пациентите с ревматоиден артрит, включени в проучването са разделени на четири групи с помощта на следните условия: класифицирахме пациентите с ревматоиден артрит и желязо-дефицитна анемия при липса на активно възпаление

(определено чрез ниво на CRP < 10 mg/L) и поне едно от следните условия: 1) процентно насищане на трансферин < 20% и ниво на феритин < 30 ng/mL; 2) индекс на sTfR > 1 mg/ng. Класифицирахме пациентите с ревматоиден артрит и анемия на хронично заболяване при наличие на активно възпаление (определено чрез ниво на CRP > 10 mg/L) и поне едно от следните условия: 1) процентно насищане на трансферин < 20% и феритин > 100 ng/mL; 2) индекс на sTfR < 1 mg/ng и феритин > 30 ng/mL. Класифицирахме пациентите с ревматоиден артрит и комбинация от желязо-дефицитна анемия и анемия на хронично заболяване при наличие на активно възпаление (определено чрез ниво на CRP > 10 mg/L) и поне едно от следните условия: 1) процентно насищане на трансферин < 20% и ниво на феритин < 100 ng/mL; 2) индекс на sTfR < 1 mg/ng. Контролна група - пациенти с ревматоиден артрит без анемия. Установихме следните нива на серумен хепсидин: При пациенти с РА и ЖДА –  $0.61 \pm 0.4 \mu\text{g/l}$ ; При пациенти с РА и АХЗ –  $87.97 \pm 10.7 \mu\text{g/l}$ ; При пациенти с РА и комбинацията от ЖДА / АХЗ –  $1.73 \pm 0.4 \mu\text{g/l}$ ; При пациенти с РА без анемия (контролна група) –  $14.57 \pm 8.0 \mu\text{g/l}$ . Установихме корелационна зависимост между серумен хепсидин и феритин,  $r = 0.457$ ;  $P < 0.001$ . Корелацията между серумен хепсидин и хемоглобиново съдържание в ретикулоцити показва  $r = -0.033$ ;  $P < 0.5$ . Получихме корелационна зависимост между серумен хепсидин и процентно трансфериново насищане от  $r = -0.168$ ;  $P < 0.5$ . Корелацията между серумен хепсидин и CRP показва  $r = 0.702$ ;  $P < 0.1$ . На базата на серумните нива за хепсидин, феритин, разтворими трансферинови рецептори и изчислено процентно насищане на трансферина са определени следните индекси. При пациенти с ревматоиден артрит се наблюдава добра корелационна зависимост при индекса на разтворими трансферинови рецептори към феритин за отдиференциране на желязо-дефицитна анемия от анемия на хронично заболяване  $1.64 \text{ mg/ng}$  към  $0.82 \text{ mg/ng}$ ;  $r = 0.388$ ,  $P < 0.01$ . Пациенти с ревматоиден артрит показва добра корелационна зависимост при индекса хепсидин към феритин, използван при отдиференциране на желязо-дефицитна анемия от анемия на хронично заболяване  $0.17 \mu\text{g/ng}$  към  $1.07 \mu\text{g/ng}$ ;  $r = 0.353$ ,  $P < 0.01$ . Индексът на процентно трансфериново насищане към хепсидин при пациенти с ревматоиден артрит показва добра корелационна зависимост при отдиференциране на анемия на хронично заболяване от комбинацията желязо-дефицитна анемия/АХЗ  $0.18 \text{ \%/}\mu\text{g}$  към  $8.89 \text{ \%/}\mu\text{g}$ ;  $r = 0.396$ ,  $P < 0.001$ . На базата на получените от нас резултати предлагаме алгоритъм за терапевтично поведение при анемичен синдром при заболяването ревматоиден артрит. Пациенти с възпаление и ниво на хепсидин <  $3.05 \mu\text{g/L}$  ще имат недостиг на желязо, докато нива на хепсидин >  $37.75 \mu\text{g/L}$  са диагностични за анемия на хронично заболяване. Пациентите, при които нивата на хепсидин се понижат между  $3.05$  и  $37.75 \mu\text{g/L}$  се характеризират допълнително с помощта на хемоглобиново съдържание в ретикулоцити, като нива <  $30 \text{ pg}$  са показателни за едновременен недостиг на желязо. За желязо-дефицитна анемия, ниво на хепсидин <  $1.2 \mu\text{g/L}$  е много специфично. Използването на тези показатели за преценка необходимостта от препарати, съдържащи желязо, показва, че пациентите с комбинацията от желязо-дефицитна анемия и анемия на хронично заболяване могат да бъдат подложени на терапия с такива медикаменти, докато желязо-съдържащите медикаменти не са подходящи за корекция на анемията при пациенти с РА и АХЗ.

#### Научни публикации и прояви:

- Манолов В, Велизарова М, Дишлянова Б, и кол. Анемия при ревматоиден артрит и серумен хепсидин- нови диагностични възможности при избор на терапия. VIII<sup>ma</sup> Национална Конференция по Клинична Лаборатория; 11 – 13.09.2014 г, к.к. „Златни пясъци”

- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Hcpidin analysis in patients with rheumatoid arthritis. EuroMedLab, 22–24 Jun, 2015, Paris, France
- Манолов В, Паскалева-Пейчева В, Велизарова М, и кол. Хепсидин при диагностика на анемия при ревматоиден артрит. Медицински Преглед 2014;6:39-42.
- Манолов В, Паскалева-Пейчева В, Велизарова М, и кол. Нови възможности за диагностика на анемия при ревматоиден артрит. Ревматология vol. XXII, 2/2014:24-27.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. New tools in diagnosis of anemia in rheumatoid arthritis. IJDR 2014;4(12):2743-5.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Serum hepcidin levels and its relevance in therapy of anemia in rheumatoid arthritis patients. JMEST 2014;1(5):164-6.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Correlation between DAS28 and serum hepcidin levels in patients with anemia and rheumatoid arthritis. IJSR 2015;4(1): 859-61.
- Манолов В, Паскалева-Пейчева В, Богов Б, и кол. Желязо-дефицитна анемия и анемия при хронично заболяване – нови възможности за диференциална диагноза. Медицински Преглед 2015;1:31-5.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Bogov B, et al. Serum hepcidin quantification in differentiation of anemia. IJDR 2015;5(1):2918-20.
- Манолов В, Паскалева-Пейчева В, Велизарова М, и кол. Хепсидин и анемия при ревматоиден артрит – има ли клинично приложение? Българска медицина 2014;4:12-6.
- Манолов В, Паскалева-Пейчева В, Велизарова М, и кол. Роля на хепсидин при диагностиката на анемия при ревматоиден артрит. МД 2(86), г. XII, Април 2015, 87-9.
- Манолов В, Хаджидекова С, Велизарова М, и кол. Анемия при ревматоиден артрит. БМЖ год.IX, 2015;(1):17-21.
- Manolov V, Atanasova B, Velizarova M, et al. The right therapeutic choice for anemia in different diseases using serum hepcidin levels. Global Biotechnology Congress 22-25.07 2015, Boston, USA
- Petrova J, Manolov V, Hadjidekova S, et al. Is There a Link Between Changes in Levels of Hcpidin and Stroke? Clin Lab. 2015;61:1935-9.
- Petrova J, Manolov V, Vasilev V, et al. Ischemic stroke, inflammation, iron overload – connection to a hepcidin. IJS 2016;11(1):16-7.
- Jeliakov P, Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, et al. Differentiation and therapy approaches in anemia related to rheumatoid arthritis. XV ICMS 12-15.05.2016, Sofia, Bulgaria

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

## МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ

### **Договор 23/2014 г. Дизайн и охарактеризиране на хронофармацевтична лекарствена форма с ацетилсалицилова киселина**

**Водещ изследовател:** Доц. Милен Венциславов Димитров, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Валентина Петкова, дф
- Доц. Владимир Барановски, дхн, БАН
- Ас. Христина Войчева
- Ас. Марта Славкова
- Ас. Станислава Йорданова

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по технология на лекарствените средства с биофармация

**РЕЗУЛТАТИ:** Разработена и биофармацевтично охарактеризирана е лекарствена форма, с ацетилсалицилова киселина, съобразена с принципа на хронофармацията. Обобщени са получените данни и са предложени оптимални моделни състави, съобразени и с принципите на хронофармацията. Като най-благоприятни от хронофармацевтична гледна точка се очертават моделни състави А7 и А8 които набъбват в значителна степен, имат сравнително бавно начално освобождаване (2-ри час 9-12%) и постигат количествено освобождаване на 9-10-ти час (84-88%). Като оптимален за момента се очертава състав А7, при който началното освобождаване е забавено, което го прави идеален за целите на хронофармацията. Такива таблетки приети вечер ще освобождават минимално количество АСК през първите няколко часа от началото на освобождаването (9%), като ще допринесат и за минимално локално дразнене. Освобождаването на АСК ще достигне своя пик след 7-9 часа (ранните сутрешни часове на деня), което е в съответствие с времето, в което средно статистически честотата на сърдечни инциденти е най-висока, а нуждата от превенция най-голяма. Получените резултати дават възможност за оптимизиране на предлаганите на пазара лекарствени продукти за лечение и профилактика на сърдечно съдовите заболявания. Резултатите от проучването ще подпомогнат магистър-фармацевтите, работещи в аптеки за обслужване на пациенти със сърдечно-съдови заболявания и за формирането на добри практики за консултиране при отпускане на лекарствени продукти за лечение на сърдечно-съдови заболявания.

**Научни публикации и прояви:**

- Dimitrov M, T Popova, V Petkova, et al. Chronopharmacy as powerful instrument for optimization of antiplatelet therapy with acetylsalicylic acid, WJPPS, 2015;4(6):1-23.
- Petkova V, M Dimitrov. Application of acetylsalicylic acid among patients with cardio-vascular disease, EJBPS, 2015;3(2):527-32.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 30/2014 Проучване на честотата на микро и макроваскуларните усложнения при диабет тип 1 и тип 2 и разходите за лечението им**

**Водещ изследовател:** Доц. Александра Цветанова Савова, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Асена Стоименова, дф
- Доц. Маноела Манова, дф
- Доц. Миглена Кирилова-Донева, дбм
- Гл.ас. Мария Димитрова, дф
- Гл.ас. Станислава Йорданова, дф

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра по организация и икономика на фармацията

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това проучване е да се изследва честотата на микро- и макроvascularните усложнения при диабет тип 1 и тип 2 и разходите за лечението им при наблюдавана кохорта от 433 пациенти. Резултатите от това проучване, показват, че диабета е заболяване, свързано с високи разходи, когато се развият усложнения на заболяването. В България разходите вследствие на усложнения са най-високи, особено при пациенти, които трябва да бъдат хоспитализирани. Комбинираното ретроспективно и проспективно наблюдателно проучване показва, че в България лечението на диабет тип 2 е свързан с по-високи разходи в сравнение с диабет тип 1, когато се наложи хоспитализация. Разходите за лечение на макроvascularните усложнения са по-високи в сравнение с тези за микроvascularни усложнения, вероятно поради значително по-голямата честота на случаите на хипертония. Разликата в разходите за хоспитализации между диабет тип 1 и тип 2 може би се дължат на различните характеристики на пациентите, но трябва да бъдат систематично проследявани, за да бъдат анализирани в дългосрочен план. Микро- и макроvascularните усложнения водят до увеличаване на директните медицински разходи и оказват влияние върху общите разходи за лечение на диабета.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 31/2014 Проучване на взаимодействието между фармацевтичните производители и фармацевтите**

**Водещ изследовател:** Доц. Асена Христова Стоименова, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Мария Камушева, дф
- Тодор Найденов, дф, БФС

**Базова организация:** МУ – София, ФФ, Катедра Организация и икономика на фармацията

**РЕЗУЛТАТИ:** Основната цел на извършената изследователска дейност бе да проучим взаимодействието между фармацевтичните производители и фармацевтите, като фактор при създаването, развитието и извличането на ползи от иновациите в лекарствената форма. Установихме, че фармацевтите припознават представителите на фармацевтичната индустрия като източник на съществена за тях информация, касаеща лекарствените продукти, както и че конференциите са основен източник на информация за фармацевтите от всички градове, без значение на големината им. Все още не се оползотворяват оптимално възможностите, които дават web-базираните подходи за информиране за новости. Изразена е тенденция на поставянето на акцент на дискусия основно по търговските елементи на аптечната практика – промоции и сравнения с конкурентни лекарствените продукти. Значително по-малък акцент се поставя на клиничните данни и данните за безопасност на лекарствените продукти. Според фармацевтите основното предимство на диспергиращите се в устата форми е бързото им действие и подобрения вкус, а всеки трети анкетиран фармацевт изтъква



като предимство, това че са подходящи за хора с езофагеални проблеми. Проучването ни показва високо ниво на одобрение на диспергиращите се в устата форми от страна на фармацевтите, като 61,7% от респондентите биха препоръчали диспергираща се форма като средство на първи избор.

**Научни публикации и прояви:**

- Naydenov T, Stoimenova A, Kamusheva M, et al. Pharmacist attitudes towards the pharmacy industry representatives in Bulgaria, WJPPS, 2014;3(12):1443-57.
- Найденов Т, А Стоименова, М Касърова. Иновативни лекарствени носители в новите стратегии на фармацевтичните компании и системите на здравеопазване, монография Иновативни лекарствени носители, ТЕА Дизайн, София 2015 г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 33/2014 Проучване на рисковете при имплантиране на херниални платна**

**Водещ изследовател:** Доц. Миглена Георгиева Кирилова-Донева, дбм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Маноела Манова, дф
- Гл. ас. Мария Димитрова, дф

**Базова организация:** МУ- София, ФФ, Катедра по организация и икономика на фармацията

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвано е приложението на херниалните платна в България и са изяснени факторите, които оказват влияние при техния избор въз основа на анкетни данни обобщаващи мнението на 89 хирурзи от седем града на страната. Резултатите показват, че се използват херниални платна с тегло 35 – 130 g/m<sup>2</sup>, монофиламентни, изработени главно от полипропилен (PP). PP платна се имплантират от 75% от хирурзите, 25% от тях работят с PP и полиестер (PE), а 11% имплантират PP или резорбируеми платна. Средно 50,5% предпочитат тежки платна, които са по-лесни за работа, а 27% работят с тежки и леки платна. Най-употребяваните платна са Surgimesh, VuproII, and TiO<sub>2</sub>-mesh. Факторите, влияещи върху избора на платното са техническите му характеристики, цена и наличие на предишен опит с това платно. Най-важните технически характеристики подредени по важност според оценката на хирурзите са вида на полимера, плетката, размера на порите и теглото. Според проучването 63% от анкетиранияте оценяват важността на техническите характеристики, а 16% отбелязват значението на избраната хирургическа техника като важно условие за успеха на операцията. Основният извод от изследването е, че се предпочитат по-евтини платна, което води до влошаване на постоперативните резултати, защото те са с по-лоши технически характеристики. Получените данни ще послужат за моделирането на разходите при имплантиране на ХП.

**Научни публикации и прояви:**

- Донева М, Герасимов Н, и др. Проучване на рисковете при имплантиране на херниални платна, Доклади на XIV Конгрес по хирургия, под ред. на Д. Дамянов, изд. ДЛ-М ООД, 2014;2:654-9.
- Донева М, Герасимов Н, и др. Проучване на рисковете при имплантиране на херниални платна, XIV Конгрес по хирургия, София, 23-26.10 2014
- Kirilova-Donova M, D Pashkouleva, V Kavardzhikov. Comparative study of the long-term alterations of elasticity of some hernia meshes and human abdominal fascia, 41st ESAO Annual Congress, Rome (Italy), Sep 17-20, 2014, pp.631

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 47/2014 Създаване на взаимодействия за изграждане на единна информационна среда за обмен на данни свързани с професионалното здраве и факторите на работната среда**

**Водещ изследовател:** Проф. Невена Костова Цачева-Христова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Каролина Любомирова, дм
- Доц. Ружа Николова, дм
- Доц. Янка Проданова, дм
- Доц. Милена Янчева-Стойчева, дм
- Гл. ас. София Георгиева, дм
- Гл.ас. Тодор Кундуржиев, дм
- Ас. Ива Митева, дм
- Ас. Милена Табанска-Петкова
- Лидия Христова, докторант
- Росица Младенова, докторант

**Базова организация:** МУ – София, ФОЗ, Катедра по трудова медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Разработената от нас реализация с релационна база данни на Електронно здравно интегрално досие за СТМ ще даде възможност за еднотипно въвеждане, съхранение и обработка на данни свързани с професионалното здраве и факторите на работната среда. Ще разработиме и единни стандарти за въвеждане и обработка на информацията налична в СТМ, както в проучените регистри. Предлагаме: Безплатно разпространение на програмния продукт във всички СТМ и РЗИ. Като РЗИ ще бъдат гнезда в които ще се получават масивите от данни. Получените данни ще могат да се използват от РЗИ, МЗ и ФОЗ за обобщаване и анализи. МУ-София, ФОЗ, Катедра Трудова медицина ще обучава работещите в СТМ за инсталиране на Електронното здравно интегрално досие, както и за обучение на студенти по Трудова медицина. ФОЗ на МУ София на база Катедрата по Трудова медицина има възможност въз основа на реализирания проект да обработи събраните данни по посочения алгоритъм и схема като предостави завършени анализи на МЗ, Дирекция Държавен здравен контрол и Дирекция Политика по промоция на здраве и профилактика на болестите с оглед профилактика на професионалните болести и трудовите злополуки, прогнози за професионалното здраве и възпроизводство на работната сила.

**Научни публикации и прояви:**

- Кундуржиев Т, Стойчева М. Електронно здравно досие за службите по трудова медицина – реализация с релационна база данни. Здравна политика и мениджмънт, 2015;14(2):34-41.
- Кундуржиев Т, Стойчева М, Любомирова К, Цачева Н. Релационна база данни за анализи и прогнози при изучаване на професионалното здраве, Здравна политика и мениджмънт. 2015;14(3):48-52.
- Iantcheva-Stoycheva M, Tzacheva N. Bulgarian Workforce Health / by Eurostat questionnaire, 2012, XX World Congress on Safety and Health at Work, Global Forum for Prevention, Frankfurt, Germany, 24-27 Aug 2014
- Tzacheva-Hristova N, Lyubomirova C, et al. Occupational medicine and public health – establishment and priorities of the first department “Occupational medicine”, XX World Congress on Safety and Health at Work, Global Forum for Prevention, Frankfurt, Germany, 24-27 August 2014

- Tzacheva N, Lyubomirova K, Iantcheva M. National Register of Occupational Diseases (2000-2008) as a modern base for the academic education of experts and health and safety inspectors on Occupational Medicine in the Republic of Bulgaria. 31st International Congress on Occupational Health, 31 May- 5 Jun, 2015, Seoul, South Korea

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 49/2014 Проучване върху съвременни превантивни подходи при екзацербация на „Хронична Обструктивна Белодробна Болест“**

**Водещ изследовател:** Проф. Вихрен Николаев Петков, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Пенка Георгиева, дм
- Проф. Ралица Златанова-Великова, дм,
- Проф. Красимир Визев, дм
- Доц. Мая Визева, дм
- Елка Василева-Ганова
- Анита Марковска, студент
- Георги Димитров, студент
- Христо Георгиев, студент
- Анна Петрова, студент

**Базова организация:** МУ-София, Медицински колеж „Йорданка Филаретова“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проектът е предназначен за проучване на различни превантивни подходи срещу усложненията от ХОББ, прилагайки ефективни здравни грижи и използвайки силата на антиоксидантни хранителни компоненти. В резултат от изпълнението на проекта може да отбележим следните резултати: Направен е задълбочен анализ на научната информация касаеща участието на хранителни подходи в превенцията на екзацербация при ХОББ; Разработена и приложена е схем на третиране с антиоксидантни витамини при пациенти с различна тежест на заболяването ХОББ; Разработен и внедрен е аналитичен метод за определяне на антиоксидантни витамини в кръвен серум; Оценена е клиничната симптоматика и физиологични показатели на пациенти с ХОББ като се доказва статистически значими изменения в резултат от третирането с антиоксидантни витамини; Проучено е качеството на живот при пациенти с ХОББ; След 6-месечно приемане на антиоксидантни витамините, се установиха: намаление на екзацербациите ; завишени нива в серума с най-висока разлика при витамин А в групата с по-леката степен на заболяването.

Имайки предвид ролята на витамин А като превантивен антиоксидант, и като интеграционен фактор, на съединителната и мукозна тъкан, както и на витамин Е, като мощен прекъсвач на оксидационната верига, бихме могли да препоръчаме обогатяването на диетата с витамин А и витамин Е, с цел постигане на ефективна антиоксидантна защита.

**Научни публикации и прояви:**

- Петков В, Николова П, Визева М, и др. Съвременни данни от епидемиологията на ХОББ, Здраве и Наука, Инфодент-БГ, 2015;3(019):12-17.
- Nikolova P, Petrova A, Petkov V, et al. Application de vitamins antioxydants pour la prevention des exacerbations de la broncho-pneumopathie chronique obstructive, Archives de l'Union Medicale Balkanique, Celsius Pub. House, 2015;50(1):A42-A43.

- Nikolova P, Petrova A, Petkov V, et al. Application de vitamins antioxydants pour la prevention des exacerbations de la broncho-pneumopathie chronique obstructive, La XX-eme Sessions des Journees Medicales Balkaniques, Paris, France, Sep21-22, 2015.
- Златанова-Великова Р, Великов С, и др. Начин на живот при пациенти с хронична обструктивна белодробна болест, VII<sup>ма</sup> Национална Конференция по Превантивна Медицина, Велико Търново, България, Ноември 11-13, 2015г.
- Nikolova P, Petkov V, Vizeva M, и др. Undernutrition in COPD Patients, 14-ти Международен симпозиум "Акад. Ташо Ташев" Хранене и Затлъстяване, Албена, България, Септември 4-6, 2015.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## „ГРАНТ 2015”

## МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ

### **Договор 1/2015 Изследване на асоциацията между полиморфни варианти в диабет – свързани гени и риска от исхемична болест на сърцето при българи**

**Водещ изследовател:** Проф. Кирил Любенов Найденов, дх

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева, дб
- Проф. Румяна Търновска-Къдрева, дм
- Проф. Сабина Захаријева, дм, дмн
- Иван Попов, дб
- Рени Цвеова, дб
- Георги Димитров, докторант
- Ас. Теодора Янева-Сиракова, дм
- Ас. Силвия Върндева-Кълвачева, дм
- Гл. ас. Олга Белчева, дб
- Ас. Галя Атанасова, дм, МУ-Плевен

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия, Център по молекулна медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Исхемичната болест на сърцето (ИБС) и миокардният инфаркт (МИ) са най-честите сърдечно-съдови усложнения и основни причини за заболяемост и смъртност в световен мащаб. Адипонектините притежават анти-атерогенни и противовъзпалителни свойства като понижаването на плазмените им нива се наблюдава при пациенти с диабет, метаболитен синдром и исхемична болест. Връзката на полиморфните варианти в гена за адипонектин (*ADIPOQ*) с атеросклерозата е спорна и се налага провеждането на допълнителни изследвания в тази насока. Целта на това

изследване е да се проучи потенциала асоциация на три полиморфни варианти в гена *ADIPOQ* (rs2241766, rs1501299 и rs266729) с ИБС и МИ при българи. Настоящият анализ включва 261 пациенти с ангиографски документирана исхемична болест (153 с инфаркт на миокарда и 108 без миокарден инфаркт) и 496 популационни контроли. Всички участници в проведеното проучване бяха генотипизирани за избраните варианти в *ADIPOQ*. За целите на анализа беше използвана геномна ДНК, изолирана от венозна кръв. Определянето на генотипа за подбраните генетични маркери беше извършено чрез технологията TaqMan, базирана на полимеразна верижна реакция в реално време. Генотипните и алелни честоти за трите полиморфизма бяха сравнени между случаи и контроли чрез  $\chi^2$  тест. Установените генотипни честоти в групата на популационните контроли следват напълно закона на Харди-Вайнберг. ( $p > 0.05$ ). Не беше наблюдавана статистически значима разлика в разпределението на алелните и генотипни честоти между случаи и контроли. Не беше установена и връзка на тези генетични варианти с нивата на общия холестерол, триглицериди, липопротеини с ниска плътност и липопротеините с висока плътност, както и със стойностите на систоличното и диастоличното артериално налягане. В нашето изследване ние не открихме разлика в честотите на генотипи и алели за rs2241766, rs1501299 и rs266729 в гена *ADIPOQ* между групите на пациенти и контроли. Налага се провеждането на по-нататъшни изследвания с по-голям брой участници, за да бъде направена оценка на възможната връзка между тези варианти и ИБС/МИ при българи.

#### Научни публикации и прояви:

- Tzveova R, Naydenova G, Yaneva T, et al. Association study of polymorphic variants in *ADIPOQ* gene in Bulgarian patients with coronary artery disease. 11th Balkan Congress of Human Genetics. Belgrade, Serbia. 17-20 Sep 2015.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 2/2015 Значение на хистамина за контрола на ретиналната чувствителност: електроретинографско изследване**

Водещ изследовател: Доц. Елка Бориславова Йорданова-Попова, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Петя Купенова-Шербанова, дм
- Анелия Кузева, студент
- Шеип Панев, студент

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по физиология

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящето проучване беше изследван ефектът на хистамина върху функцията интензитет-отговор на b-вълната (ON отговор) и d-вълната (OFF отговор) на адаптирана към тъмно електроретинограма (ЕРГ) на жаба. Установихме, че перфузията с 5  $\mu$ M хистамин увеличаваше амплитудата на ON и OFF отговорите в цялата изследвана интензитетна област в сравнение със съответните стойности, получени в контролните опити. Потенциращият ефект на хистамина беше по-силно проявен върху амплитудата на OFF, отколкото на ON отговорите в областта на ниските интензитети, където отговорите бяха медиирани от пръчиците. В областта на високите интензитети, където отговорите бяха медиирани от колбичките, се наблюдаваше обратното – посилен ефект върху амплитудата на ON, отколкото на OFF отговорите. Функцията  $V - \log I$  на b-вълната имаше по-стръмен наклон и по-тесен динамичен диапазон по време на перфузията с хистамин. Хистаминът не променяше достоверно относителната чувствителност на ON отговора, но увеличаваше достоверно относителната чувствителност на OFF отговора. Селективният  $H_1$  рецепторен агонист TFMH (5  $\mu$ M)

увеличаваше амплитудата на b- и d-вълните, получени с използването на светлинен стимул с постоянен интензитет. Неговият ефект върху OFF отговора беше проявен в същата степен като тази на хистамина, докато ефектът му върху ON отговора беше по-слабо проявен. Резултатите ни показват, че хистаминът играе съществена роля в преработката на зрителната информация в ретиналните ON и OFF канали и че част от неговото действие се медира от H<sub>1</sub> рецепторите.

#### Научни публикации и прояви:

- Popova E, Kупenova P. Effects of histamine on the on and off responses of dark adapted frog electroretinogram. *Comp Rend l'Acad Bulg Sci*. 2016;69(6):755-60.
- Popova E, Kупenova P. Effects of histamine on the intensity-response function of the electroretinographic b- and d-waves in dark adapted frog eyes. *Int J Ophthalm Vis Sci* 2016;1(1):1-7.
- Popova E., Kупenova P. Effects of histamine and the selective H<sub>1</sub> receptor agonist TFMH on the ON and OFF responses of frog electroretinogram. Scientific meeting, organized by Sofia branch of the Bulgarian Society of Physiological Sciences, Sofia, 19 Feb, 2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на Съвета по медицинска наука.

### **Договор 3/2015 Въвеждане на молекулярно-генетични подходи за диагностика на някои форми на витамин-зависими епилептични енцефалопатии при деца в България**

Водещ изследовател: Доц. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дбн

#### Членове на изследователския екип:

- Акад. Проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Проф. Ивайло Търнев, дмн
- Доц. Мелания Радионова, дм
- Ас. Сашка Желязкова-Главеева, дм
- Гл. ас. Биляна Георгиева, дб
- Иглика Йорданова, дб
- Андрей Киров, дб
- Тихомир Тодоров, дб, ГМДЛ „Геника“, гр. София

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящата научна разработка беше да се въведе молекулярно-генетичен подход за диагностика на някои витамин зависими епилептични енцефалопатии при деца, а именно – пиридоксин зависима епилепсия и пиридоксал 5-фосфат зависима епилепсия. Молекулярно-генетичен анализ на *ALDH7A1* гена (секвенционен анализ) беше проведен при 10 пациента, насочени с клинична диагноза ПЗЕ. Мутации бяха открити при 3 пациента (около 33%) – двойка двуяйчни близнаци и едно неродствено момче, всички с прояви на класическа форма на ПЗЕ. Директното секвениране на *ALDH7A1* гена показва една нова (с.297delG, р.Trp99\*) и две вече докладвани (с.328C>T, р.Arg110\*; с.584A>G, р.Asn195Ser) мутации. Това са първите генетично доказани случаи на ПЗЕ в България. При останалите 7 пациента, при които не бяха открити патологични изменения в *ALDH7A1* гена, беше извършен секвенционен анализ на *PNPO* гена – логична втора стъпка предвид близката клинична изява на двете заболявания - пиридоксин зависима епилепсия и пиридоксал 5-фосфат зависима епилепсия. Проведеният молекулярно-генетичен анализ на *PNPO* гена не доведе до

установяване на мутации, което предполага необходимостта от преразглеждане на поставената клинична диагноза. Това е от ключово значение за прилагане на правилна терапия на пациентите и профилактика в засегнатите семейства.

**Научни публикации и прояви:**

- Tincheva S, Todorov T, Todorova A, et al. First cases of pyridoxine-dependent epilepsy in Bulgaria: novel mutation in the ALDH7A1 gene. *Neurol Sci.* 2015;36(12):2209-12.
- Tincheva S, Todorov T, Todorova A, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy in Bulgarian dizygotic twins: a novel mutation in the ALDH7A1 gene. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23 (suppl. 1) PS09.107. Glasgow, Scotland, United Kingdom, Jun 6-9, 2015.
- Tincheva S, Yordanova I, Todorov T, et al. First steps in molecular diagnostics of cofactor epileptic encephalopathies in Bulgaria. 11<sup>th</sup> Balkan Congress of Human Genetics, Sep 17-20, 2015, Belgrade, Serbia

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 4/2015 Проучване ефектите на селективния мелатонинергичен препарат агомелатин при експериментални модели на мелатонинов дефицит и темпорална епилепсия при плъхове**

**Водещ изследовател:** Проф. Николай Еленков Лазаров, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Яна Чекаларова, БАН
- Ас. Ангел Дандов, докторант
- Гл. ас. Димитринка Атанасова, БАН
- Ас. Златина Ненчовска, докторант, БАН
- Андрей Иванов, студент
- Събина Митова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по анатомия, хистология и ембриология

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящето изследване беше проучване ефектите на антидепресанта агомелатин, който е селективен MT1/MT2 рецепторен агонист и 5-HT2C антагонист върху поведенческите, биохимични и клетъчни нарушения при пинеалектомия и каинат /КА/-индуцирана епилепсия. Нашите резултати показаха, че агомелатинът облекчава депресивния тип поведение, повишеното КС1-провокирано 5-HT освобождаване в хипокамп, възстановява отрицателната обратна връзка в оста хипоталамус-хипофиза-надбъбречна жлеза (НРА) и оказва невропротекция при пинеалектомия. Данните от проучването предполагат, че пинеалектомията може да се разглежда като модел на меланхолична депресия, при който агомелатинът оказва антидепресантния си ефект чрез корекция в 5-HT освобождаване в хипокамп, възстановяване нормалната функция на НРА оста и невропротекция в лимбични структури. С настоящия проект, за първи път бе изследван ефектът на хронично прилаган агомелатин след КА-индуцирана епилептогенеза. Изследваната субстанция статистически значимо понижи латентния период за поява на спонтанна гърчова активност и увеличи честотата ѝ през втората седмица от третирането. КА-индуцираната хиперлокомоция в OF тест и понижено ниво на безпокойство в ЕРМ тест бяха допълнително увеличени при прилагане на агента, но наблюдаваната анхедония вследствие ЕС бе облекчена. Антидепресантната активност на агомелатина бе потвърдена при теста за принудително плуване. Агентът не показва позитивен ефект

върху КА-индуцираното увреждане в пространствената памет в теста 8-раменен лабиринт, но оказва невропротекция в СА1 полето на хипокампа. В заключение, МТ1/МТ2 рецепторен агонист и 5-НТ2С антагонист показва антидепресантен ефект при модели на пинеалектомия и епилепсия, придружени с невропротекция в СА1 полето на хипокампа. Бъдещи изследвания са необходими за установяване на конкретните механизми участващи в ефектите на изследваното лекарство.

**Научни публикации и прояви:**

- Tchekalarova J, Nenchovska Z, Atanasova D, et al. Consequences of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. Behav Brain Res. 2016;302:11-28.
- Nenchovska Z, Atanasova D, Atanasova M, et al. Consequences of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. Scientific Meeting of the Bulgarian Society of Physiological Sciences, Sofia, 19 Feb 2016, p.8.
- Goranova P, Tchekalarova J, Nenchovska Z, et al. Effects of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. XV<sup>th</sup> International Congress of Medical Sciences, Sofia, Bulgaria, 12-15 May, 2016, IJMS, Suppl. 1, 2017, p. 82.
- Ivanov A, Tchekalarova J, Atanasova D, et al. Effects of chronic treatment with agomelatine on epileptogenesis and behavior in the kainite model of temporal lobe epilepsy. XV<sup>th</sup> International Congress of Medical Sciences, Sofia, Bulgaria, 12-15 May, 2016, IJMS, Suppl. 1, 2017, p. 115.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 5/2015 Експресионен профил на ВРІFA1(PLUNC) гена при пациенти с хроничен риносинусит и хроничен гноен отит**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Диана Петрова Попова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Радка Кънева, дб
- Ас. Юлиян Хаджиев
- Дарина Качакова, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по УНГ болести, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“

**РЕЗУЛТАТИ:** Към настоящия момент са събрани биологични проби от 90 пациенти, оперирани в УНГ клиника на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“. От тези болни 33-ма са с хроничен риносинусит, 31 с хроничен гноен отит, 14 с двустранна невросензорна загуба на слуха , 12 с фрактура на носни кости и девиация на носната преграда. От всички тъканни проби бе изолирана РНК. За провеждането на обратната транскрипция за синтез на сDNA бяха използвани само РНК проби с концентрация над 6 ng/μl от тъканни проби от 33-ма пациенти с CRS и 8 контроли с изкривена носна преграда, 12 пациенти с хроничен гноен отит (СОМ) и 10 контроли с несиндромна слухова загуба. Проведе се експресионен анализ на резултатите като за първи път доказахме експресия на ВРІFA1 в лигавица на средно ухо както и при хроничен гноен отит. За първи път беше извършено и сравнение между експресията на ВРІFA1 при болни хроничен риносинусит и хроничен гноен отит, като доказахме статистически значима повишена експресия при пациентите с CRS в сравнение с пациентите с СОМ .

**Научни публикации и прояви:**



- Хаджиев Ю, Тодоров С. PLUNC протеините: нов поглед върху патогенезата на хроничния риносинусит. Пролетна научна конференция: „Съвременни концепции в лечението на ушите, носа и гърлото“. Пловдив, България. 27-29 Март 2015год. 14 стр.
- Хаджиев Ю, Тодоров С, Конов Д, и др. PLUNC протеините: нов поглед върху патогенезата на хроничния риносинусит. Международен бюлетин по оториноларингология. 2015-11(1):5-9.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 6/2015 Сравнително имунохистохимично изследване на промените в епилигамента след увреда на колатералните връзки на колянната става при плъх**

**Водещ изследовател:** Проф. Бойчо Василев Ланджов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Георги Георгиев, дм
- Доц. Лина Малинова, дм
- Д-р Ива Димитрова
- Ас. Светослав Славчев
- Гл. ас. Илина Брайнова-Мичич, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по анатомия, хистология и ембриология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това проучване е да се определи наличието на колаген тип III и фибронектин I в епилигамента след увреда на медиалния колатерален лигамент на колянната става при плъхове. В това изследване бяха използвани тридесет 8-месечни мъжки плъхове, порода Wistar. След анестезия при някои от тях се сръза медиалната колатерална връзка на коляното чрез хирургичен метод напречно със скалпел и се остави за спонтанно възстановяване. Шест от животните бяха оставени за контроли. На осмия ден след травмата на нивото на сръзване на епилигамента беше наблюдавано добре представено имунохистохимичното оцветяване за фибронектин и слаба имунопозитивна реакция за колаген тип III. На шестнадесетия ден след увредата се наблюдаваше също имунопозитивна реакция в епилигамента за колаген тип III и фибронектин. Тридесет дни след нараняването на епилигамента структурата му беше сходна с нормалната, но не напълно възстановена. Наблюдава се отново имунопозитивна реакция за колаген тип III и фибронектин. На шестдесетия ден след контузията епилигаментарната структура беше сходна с нормалната. Всички резултати се сравниха с контролните животни. В заключение може да се каже, че настоящото изследване представлява комплексно имунохистохимично изследване на разпределението на колаген тип III и фибронектин I в епилигамента по време 2 месечен оздравителен период на колатералните връзки след травма.

**Научни публикации и прояви:**

- Landzhov B, Georgiev GP, Brainova I. The Epiligament-the main donor of cells and vessels during healing of the collateral ligaments of the knee. Anat Physiol. 2015;S4:006.
- Georgiev GP, Landzhov B, Dimitrova IN, et al. Expression of fibronectin during early healing of the medial collateral ligament epiligament in rat knee model. Compt Rend Acad Bulg Sci. 2016;69(5):639-44.

- Tsenov S, Georgiev GP, Iliev A, et al. Histological study of the epiligament of the medial collateral ligament after injury in rats' knee. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia. 12-15 May 2016.
- Dimitrov D, Landzhov B, Iliev A, et al. Transmission electron microscopy of the epiligament of the medial collateral ligament after injury in rat knee. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia 12-15 May 2016.
- Brainova-Michich I, Dimitrova IN, Georgiev GP, et al. Expression of collagen type III and fibronectin in grade III injuries of knee medial collateral ligament epiligament in rat. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia 12-15 May 2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 7/2015 Клинични, микробиологични и генетични проучвания върху един от най-значимите причинители на респираторни инфекции в детска възраст *Streptococcus pyogenes***

**Водещ изследовател:** Доц. Райна Цветанова Гергова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Чл. Кор. Проф. Иван Митов, дм, дбн
- Проф. Петко Минчев, дм, дмн
- Проф. Пенка Переновска, дм, дмн
- Доц. Гергана Стоянова, дм
- Николай Улевинов, дм
- Адиле Мухтарова, докторант
- Светлана Жотева-Атанасова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Група А *Streptococcus* (GAS) или *Streptococcus pyogenes* причинява инфекции, вариращи от самоограничаващи се до животозастрашаващи. Създаването на нови варианти на полимеразна верижна реакция (PCR) и сравняване на резултатите от тях с данните, получени от известни методи - микробна култура и бърз имунохроматографски тест (RICT) за откриване на GAS е стъпка в посоката за бързо и правилно диагностициране на този етиологичен агент и свеждане до минимум на постстрептококовите усложнения. Проби от 147 пациенти с тонзилофарингит, съмнение за скарлатина и перитонзиларен абсцес бяха тествани едновременно чрез културелна техника, RICT, мултиплекс и моноплекс PCR в реално време (RT) с праймери за гени *speB* и *SpyCEP*. GAS е открит при 83,67% от изследваните пациенти по всички техники. PCR положителните проби и културата отрицателни за GAS са 6,26%. RICT показва 8.16% фалшиво отрицателни и 1.36% фалшиви положителни резултати. И двете техники PCR с използваните праймери показаха 100% специфичност и висока чувствителност за доказване на под 1000 кл/мл. Конвенционалният културелен метод е много чувствителен, но изисква продължително време. RICT е лесен и евтин, но с по-ниска чувствителност от другите използвани методи. PCR техниките са бързи и не са скъпи, RT-PCR е по-бързият вариант.

**Научни публикации и прояви:**

- Muhtarova A, Gergova R, Gergov S, et al. Contemporary methods for direct detection of *Streptococcus pyogenes* in patient samples. Health and Science 2017;1(025):44-48.

- Gergova R, Muhtarova A, Petrova G, et al. Comparison of cultural, immunological and new PCR techniques for detection of *Streptococcus pyogenes*. Compt Rend Acad Bulg Sci, 2017.
- Gergova R, Muhtarova A, Petrova G, et al. Comparison of three laboratory methods for detecting *Streptococcus pyogenes* in clinical specimens. 14 National Congress on Clinical Microbiology and BAM Infections. Sofia, 12-14 May 2016
- Gergova R, Petrova G, Muhtarova A, et al. Rapid diagnosis of *Streptococcus pyogenes* by RT PCR in samples of patients with tonsilopharyngitis, scarlet fever and peritonasal abscess. XVI-th National Conference for GPs and Pediatricians with International Participation, Sunny Beach, May 19-21, 2017

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 10/2015** Налагане на съвременни методи за скрининг на група Б стрептококова инфекция при бременни жени в 35-37 гестационна седмица

Водещ изследовател: Проф. д-р Алексей Йорданов Алексеев, дб

Членове на изследователския екип:

- Акад. чл. кор. Проф. Ваньо Митев, дбн
- Доц. Албена Годорова, дб
- Теодора Стойчева, ГМДЛ „Геника” ООД

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Стрептококи група Б са една от водещите причини за заболяемост и смъртност в резултат на инфекция сред новородените. Широкото им разпространение и рисковете за новородените налага провеждането на скрининг за носителство в края на бременността и антибиотично лечение по време на раждането на всички жени, показали позитивни резултати от скрининга. За осъществяването на такъв скрининг е необходим бърз метод, който да е достатъчно специфичен и чувствителен, както е полимеразно верижната реакция (PCR). Проведеното сравнително изследване на ректовагинална стрептококова колонизация при бременни в 35-37 гестационна седмица (г.с.) чрез PCR анализ и стандартен микробиологичен тест има за цел внедряването на PCR анализа, като по-бърз и надежден метод, вместо рутинно използваните микробиологични тестове. Изследвани бяха ректовагинални секрети от 150 бременни жени в 35-37 г.с. на възраст от 25-38 години за наличие на инфекция със *Streptococcus agalactiae* чрез PCR анализ и чрез стандартен микробиологичен тест. С помощта на PCR анализ на пробите беше установена колонизация със *S. agalactiae* в десет (7%) от изследваните 150 ректовагинални секрета. Докато проведеният микробиологичен анализ на същите ректовагинални секрети, не установи стрептококова инфекция в нито една от тях, което потвърждава необходимостта от използването на по-чувствителен метод за провеждане на пренатален скрининг, както е PCR анализът. Резултатите от проведеният сравнителен анализ на ректовагинална стрептококова колонизация при бременни в 35-37 г.с. чрез PCR тест и стандартен микробиологичен тест може да послужи като препоръка за внедряването на PCR анализа, като по-бърз и надежден метод за пренатален скрининг, вместо рутинно използваните микробиологични тестове за установяване на колонизация с *S. agalactiae*, което да доведе до намаляване вероятността за възникване на неонатална стрептококова инфекция и усложненията на заболяването.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 11/2015 Клонален произход на изолати *E. coli* и *K. pneumoniae*, произвеждащи карбапенемаза- и/или широкоспектърна бета лактамази (ESBLs) и охарактеризиране на локализацията на гените, кодиращи тези ензими**

**Водещ изследовател:** Доц. Румяна Донкова Марковска-Давидкова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Даниела Дачева, докторант
- Доц. Радка Кънева, дб
- Проф. Емма Кьолеян, дм, МВР болница
- Член-кор. проф. Иван Митов, дм, дмн
- Доц. Грозданка Лазарова, МФ, Тракийски университет
- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Разпределението на типовете ESBL показва преобладаването на CTX-M ензими - (97%). От CTX-M ензимите преобладаваха CTX-M-15 – 66%. Определянето на антимикробната чувствителност показва високи нива на резистентност, те запазват висока чувствителност само по отношение на imipenem, piperacilin/tazobactam и amikacin. Бяха доказани 20 изолатата *K pneumoniae* и 1 изолат *E. coli* произвеждащи карбапенемази. Основната карбапенемаза беше KPC-2 доказана в две клиници. За първи път в България се доказва изолат *E. coli* произвеждащ KPC-2 ензими. Заедно с карбапенемазата тези изолати произвеждаха и CTX-M-15 ензими, с изключение на щамата *E. coli*. В една болница бяха установени продуценти на NDM-1 ензими. MLST типирването доказахме наличието на един основен MLST тип – ST15 *K. pneumoniae*. Той се асоциираше с продукция на CTX-M-15 или KPC-2 ензими. Седемдесет и осем процента от всички *E. coli* изолати принадлежаха на CC 131 и се асоциираха предимно с продукцията на CTX-M-15 ензими. Един щам от този клон произвеждаше KPC-2 ензим.

**Научни публикации и прояви:**

- Markovska R, T Stoeva, L Boyanova, et al. Isolation of *Escherichia coli* ST131 producing KPC-2 in Bulgaria. *Infect Dis (Lond)* 2017;49(5):429-31.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 12/2015 Дизайн, синтез и приложение в медицината и биологията на нов флуорогенен субстрат и на специфични инхибитори за аминокептидаза А**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Ивайло Петров Иванов

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Валентин Лозанов
- Гл. ас. д-р Силвия Русева
- Ас. Анелия Василева
- Ас. Весела Лозанова
- Доротейа Александрова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Предложен е нов специфичен флуоресцентен субстрат  $\alpha$ -L-глутамил N-(2-акридонил)амид (Glu-AMAC) за определяне на активността на АРА в биологични

проби. Флуорогенният субстрат 4-( $\alpha$ -L-глутамилхидразидо)-N-хексил-1,8-нафталимид (Glu-HHNI) беше използван за разработване на прецизни хистохимичен и цитохимичен методи за визуализация и локализиране на ензимната активност на АРА в тъканни срези от органи на лабораторни животни и клетъчни култури. Той е първият флуорогенен субстрат, използван за визуализация на ензимната активност на АРА. Получените изображения са ясни и трайни. Продуктът има флуоресценция в червената област на видимия спектър, където не се наблюдава автофлуоресценция. Получените от нас резултати са в подкрепа на предполагаемата диагностична стойност на АРА за карцином на млечната жлеза и са в полза на прилагането като модел карцинома на Ерлих в изследванията на рака на гърдата при хората. Активността на АРА в хомогенати от две туморни човешки клетъчни линии от рак на гърдата и нетуморогенна клетъчна линия от епителни клетки на млечна жлеза в присъствие на  $\text{Ca}^{2+}$  показват, че в туморните линии тази активност е по-ниска в сравнение с нетуморогенната. Влиянието на  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Ba}^{2+}$  йони върху активността на ензима е различно за двата типа клетъчни линии. В научната литература няма публикувани подобен тип изследвания. Определянето на активността на АРА в присъствие на различни йони на алкалоземните метали, има потенциала да се използва за разграничаване на нормалните от раковите клетки от този тип. Ние установихме, че  $\alpha$ -L-глутамил-N-хидроксиамидът (Glu-NHOH) е ефективен смесен инхибитор (конкурентен/ неконкурентен) за АРА. До сега в научната литература не е описан инхибитор за ензима от този тип.

#### Научни публикации и прояви:

- Petrova V, Pavlova V, Iliev I, et al. Study on aminopeptidase A activity in normal mouse mammary gland and in murine in vivo model of Ehrlich carcinoma solid form, Втора Национална конференция за млади учени “Биологически науки за по-добро бъдеще”, Пловдив, 30-31 октомври, 2015 г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 13/2015 Предклиничен скрининг на новосинтезирани кумаринови и 2Н-хромен заместени хидразид-хидразони за потенциална противогърчова активност и оценка на невротоксичността им.**

**Водещ изследовател:** Проф. Славина Кирилова Сурчева, дм

#### **Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Павлина Гатева, дм
- Гл. ас. Виолина Стоянова, дф
- Доц. Яна Чекаларова, дб, БАН
- Доц. Николай Василев, дх, БАН
- Гл. ас. Радка Тафрадзийска, дм
- Гл. ас. Юлиан Войников, дф
- Валентин Карабельов, студент
- Диляра Маринова, студент

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Синтезирахме 6 нови кумаринови и 2Н-хромен-заместени хидразид-хидразони, които изследвахме за противогърчова активност чрез прилагане на тестовите с максимален електрошок (MES тест) и с подкожно инжектиране на пентилентетразол (scPTZ) на мишки. Определихме дозите, при които поне 50% от тестваните животни се „протектират“, т.е. опитните животни не проявяват гърчове, при

условие на предварително третиране с различни дози от новосинтезираните вещества, инжектирани интраперитонеално. При три от веществата, които показаха протективен ефект по отношение на гърчовете, установихме и удължаване на латентното време до появата на гърча при различни концентрации. Нито едно от тестваните вещества не показва данни за минимална невротоксичност, определена чрез rotarod теста. Това ни дава основание да разширим фармакологичните изследвания на тези вещества, както и да обогатим серията с нови нови кумаринови и 2H-заместени хидразид-хидразони в търсене на обещаващи кандидат-антиепилептични лекарства с благоприятен профил на безопасност.

#### Научни публикации и прояви:

- Angelova V, Andreeva-Gateva P, Vassilev N, et al. Anticonvulsant Activity of Newly Synthesized 2H-chromene Based Hydrazones in ICR Mice. Source of the Document Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences 2016;69 (4):513-20.
- Angelova V, Karabeliov V, Andreeva-Gateva P, et al. Recent Developments of Hydrazide/Hydrazone Derivatives and Their Analogs as Anticonvulsant Agents in Animal Models. Drug Dev Res 2016;77(7):379-392.
- Angelova V, Gateva P, Surcheva S, et al. Anticonvulsant activity of some novel derivatives bearing coumarin and chromene moiety. XI-th Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences with international participation. Plovdiv, 9-11 Oct, 2015
- Karabeliov V, Angelova V, Andreeva-Gateva P, et al. Anticonvulsant Activity of Newly Synthesized benzoylhydrazones with 2H-chromene and coumarin moieties in ICR mice. European Chemistry Congress, Rome, Italy, Jun 16-18
- Gateva P, Angelova V, Vassilev N, et al. Newly synthesized coumarin and 2H chromene substituted hydrazide-hydrazones with promising antiseizure activity and lack of a minimal neurotoxicity. Sandanski, 13-16 Oct 2016

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 14/2015** Роля на канабиноидната и азотноокисната системи върху ноцицепцията и поведенчески отговори след стрес на плъх

Водещ изследовател: Проф. Адриана Иванова Бочева, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Проф. Стиляна Белчева, дм, СУ „Климент Охридски“
- Доц. Роман Ташев, дм
- Гл. ас. Христина Ночева, дм
- Гл. ас. Радка Тафраджийска, дм
- Ас. Мимоза Цветкова
- Димитър Кочев, докторант
- Людмила Янкова, БАН

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по патофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Получените резултати потвърждават очакваните от екипа ефекти от взаимодействието между канабиноидите и азотно-окисната система. Агонистът на СВ1-рецепторите анандамид самостоятелно понижи болковия праг при експерименталните животни. Взаимодействието между агонисти на СВ1-рецепторите (анандамид) и потенциатори на азотно-окисната система (L-arg или комбинацията L-NAME+SIN) повишава СИА. Антагонистът на СВ1-рецепторите AM251, въведен след прекурсора на азотния оксид L-arg или след комбинацията L-NAME+SIN, забави изявата на

аналгетичния ефект на азотно-окисната система. Следователно, съвместното прилагане на анандамид или AM251 с вещества, потенциращи азотно-окисната система (прекурсор или донор на азотен оксид) модулира нейните антиноцицептивни ефекти по отношение на СИА. Приложението на L-NAME намали болковия праг. На фона на имобилизационен и топлинен стрес получените данни показват, че стимулирането на СВ1-рецепторите подобрява стресовото състояние, а инхибирането им го задълбочава. Установено е също, че стресът (имобилизационен или топлинен) обръща ефектите на анандамид и AM251. Въвеждането на L-аргинин, SIN-1 и L-NAME самостоятелно или в комбинация с анандамид на фона на имобилизационен или топлинен стрес стимулират изследователското поведение, двигателната активност и подобряват обучителните и паметовите процеси, но не могат да компенсират паметовия дефицит, предизвикан от двата вида стрес. Комбинираното прилагане на AM251 с L-аргинин или SIN-1 стимулира изследователското поведение, двигателната активност и подобрява обучението и паметта спрямо стресираните плъхове в различна степен в зависимост от стреса. Комбинацията AM251+L-NAME силно потиска изследователското поведение, двигателната активност и влошава обучението и паметта, като задълбочава и двата вида стрес. Най-общо казано, данните за ефектите на СВ-1-рецепторите лиганди (анандамид и AM251) и активаторите и инхибиторите на азотно-окисната система, въведени на фона на стрес, са оригинални и потвърждават участието на СВ1-рецепторите в стреса, както и че те участват в променената мозъчна реактивност. Предполагайки, че ендоканабиноидната система е въвличена в стреса, допускаме, че СВ1-лигандите биха могли да се използват в клиничната практика за терапията на стреса. Данните показват също, че ендоканабиноидна и азотно-окисната системи си взаимодействат. Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 15/2015 Изследване на участието на AT2 рецептори чрез ангиотензинов AT2-рецепторен агонист в механизма на поведенческите промени при експериментален захарен диабет у спонтанно хипертензивни плъхове (SHR)**

**Водещ изследовател:** Проф. Александър Георгиев Стойнев, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Кирил Петров
- Доц. Даниела Пехливанова, дб, БАН
- Румяна Митрева, БАН

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Патолофизиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Експерименталният модел на захарен диабет (ЗД) тип 2 се характеризира с по-слабо изразени метаболитни промени в сравнение с ЗД тип 1 при нормотензивни и спонтанно хипертензивни плъхове. Наблюдаваните промени в екскрецията на урина и 24-часовия прием на вода са по-ясно изразени при хипертензивните плъхове в сравнение с нормотензивните. ЗД2 предизвиква значително намаляване на двигателната активност у Wistar и SHRs. Интрацеребровентрикуларното инфузиране на AT2 рецепторния агонист новокинин засилва ЗД2-индуцираната полиурия и полидипсия и намалява количеството на консумираната храна у нормотензивните Wistar плъхове, но не променя тези параметри у хипертензивните животни. AT2 агонистът намалява изследователското поведение у нормотензивните плъхове и засилва поведението на безпокойство при хипертензивните плъхове със ЗД2. Експерименталният ЗД2 индуцира повишаване на общата супероксид дисмутазна (СОД) активност в хипокампуса, придружено с ниски нива на O<sub>2</sub>- при Wistar плъхове.

Нашите данни показват съществени различия в ефектите на AT2 рецепторното активиране у нормотензивните и спонтанно хипертензивни плъхове. Новокининът утежнява ЗД2-индуцираните метаболитни изменения и понижава изследователското поведение у нормотензивните плъхове, но засилва поведението на безпокойство и намалява болковата чувствителност у SHR. Това свидетелства за участие на ангиотензинови AT2-рецептори в механизма на поведенческите промени при ЗД2 у спонтанно хипертензивни плъхове.

**Научни публикации и прояви:**

- Pechlivanova D, E Krumova, N Kostadinova, et al. Diabetes mellitus type 2-induced changes in metabolism, behavior and oxidative stress in both normotensive and spontaneously hypertensive rats. Scientific Meeting of Bulgarian Society of Physiological Sciences-Sofia Branch, 25 November 2016.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 16/2015 Изследване на цитоплазмени компоненти на телце на Балбиани в овоцити от миши примордиални фоликули**

**Водещ изследовател:** Доц. Ралица Стефанова Живкова, дб

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Стефка Делимитрева, дб
- Доц. Майя Маркова, дб
- Ас. Валентина Хаджинешева
- Ас. Венера Николова
- Ас. Ирина Чакърва
- Доц. Милена Мурджева-Андонова, дб, БАН

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по биология

**РЕЗУЛТАТИ:** Работата по настоящия проект включва следните по-важни етапи: Приготвяне на парафинови срези от яйчници на новородени мишлета; Адаптация на работните протоколи и установяване на подходящите работни концентрации на използваните антитела към спецификата на изследвания обект; Имунохистохимична детекция на овоплазмени компоненти, кореспондиращи с телце на Балбиани: перичентриоларен материал (PCM), митохондриален маркер, Голджи комплекс и актин. Маркер за герминативна линия беше приложен за доказване на произхода на изследваните овоцити. Позитивната имунофлуоресценция в овоплазмата на изследваните клетки доказва герминативния им произход. Получена беше специфична локализация на PCM, прилягащ до ядрената обвивка и в асоциация с хетерохроматинови райони на овоцитните ядра. Едновременната детекция на PCM и митохондриален маркер показва връзка на митохондриални струпвания с PCM агрегати както в перинуклеарна позиция, така и в близост до мостчетата, свързващи формиращите се фоликули. Флуоресцентната детекция на Голджи комплекс показва периферно разположение, както и дифузен Голджи материал в близост с хетерохроматинови райони на ядрото и в местата на цитоплазмени мостчета между формиращите се примордиални фоликули. Разпределението на актин в примордиалните фоликули показва присъствието му попериферията на клетките, но специфична пръстенна перинуклеарна актинова структура, асоциирана с Голджи материал беше установена като кореспондираща с телце на Балбиани. Резултатите от настоящото изследване разкриват участието на PCM и митохондрии в създаването на овоцитна асиметрия в примордиални фоликули при бозайници и доказват присъствието на актин



и Голджи материал в струпане от органели и белтъци, формиращи телце на Балбиани – реликтна структура за овоцитите на бозайниците.

**Научни публикации и прояви:**

- Hadzhinesheva V, Nikolova V, Chakarova I, et al. Mammalian Balbiani body as a sign of ancestral oocyte asymmetry. Acta Morphol et Antropol 2015;22:159-62.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 17/2015 Изследване на ролята на протеин киназа CK2 в регулацията на WNT сигнализацията в човешки мезенхимни стволови клетки (MSC) изолирани от грануляционна тъкан от зъбна алвеола**

**Водещ изследовател:** доц. Мария Димитрова Драгнева, дб

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Гл.ас Антония Исаева, дб
- Гл.ас Николай Ишкитиев, дб
- Ас. Виолета Димитрова
- Розалия Циканделова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска Химия и Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Wnt сигнализацията играе ключова роля в подържането на стволовите характеристики на възрастните стволови клетки изолирани от различни тъкани. Каноничната Wnt/beta-catenin е силно консервативна в хода еволюцията сигнална пътека, която е с огромно значение за биологията на стволовите клетки, а именно потенциала им за самовъзобновяване и диференциация. Сигнализирането чрез Wnt3а обуславя крехкия баланс между диференциацията и самовъзобновяването на стволовите клетки .Все по-голям кръг от изследователи са привърженици на хипотезата, че Wnt най-вероятно функционира като своеобразен анти-апоптотичен, стимулиращ оцеляването на стволовите клетки сигнал при регенерацията на тъкани. Активирането на каноничната пътека на Wnt води до стабилизиране и транслокация на цитоплазмения  $\beta$ -catenin в ядрото на клетката, където той взаимодейства с транскрипционните фактори от семейството TCF (T-cell factor)/ LEF (lymphocyte enhancer factor) и активира експресията на таргетни гени. В отсъствието на Wnt сигнал,  $\beta$ -catenin се композира в мултимерен комплекс, състоящ се от Axin или Axin 2. Axin е важен компонент от Wnt сигнализацията, който взаимодейства с множество субстрати. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 18/2015 Изследване на остеоиндуктивната вътреклетъчна сигнализация, регулираща остеогенната диференциация на човешки мезенхимни стволови клетки изолирани от зъбна пулпа**

**Водещ изследовател:** Чл. кор. проф. Ваньо Иванов Митев, дм, дбн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Антония Исаева, дб
- Гл. ас. Николай Ишкитиев, дб
- Ас. Виолета Димитрова
- Розалия Циканделова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Медицинска Химия и Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящето изследване за първи път се демонстрират данни, получени вследствие на трансфектиране с СК Па siRNA на автокринно пролифериращи клетки с частично припокриващ се фенотип по отношение на един повърхностно експресиран рецептор-клетъчностволов маркер, които недвусмислено разкриват значението на каталитичните  $\alpha$  субединици на протеин киназа СК2 за протичането на сигнализацията, обуславяща автокринната пролиферация от една страна и за сигнализацията, осъществяваща прехода от този фенотип към BMP4-индуциран проостеогенен/проодонтогенен фенотип, от друга. Понижената експресия на СК Па има полужителен ефект върху активността на РКСа и води до нейното транслоциране в ядрото и в трите изследвани субпопулации, демонстрирайки, че СК2 е значим участник в сигнализацията, отговорна за различните аспекти на регулиране РКСа и същевременно е въввлечена в регулацията на генната експресия и локализация на транскрипционния фактор Osx. Ефектите от понижената експресия на СК Па върху експресията на Osx са фенотипно-специфични, докато ефекта върху локализацията му е един и същ и в трите субпопулации, разкривайки че нормалното функциониране на СК2 е част от универсалния контрола, упражняван върху локализацията на транскрипционния фактор и в същото време е част от фенотипно-специфичния контрол на генната му експресия. Проостеогенният сигнал BMP4 стимулира активността на цитоплазмено локализираната РКСа, без да повлиява нейната експресия и локализация и стимулира генната експресия на Osx, който има централна роля в остеогенната диференциация, което корелира с изказаната от нас хипотеза за ключовото участие на РКСа в сигналната трансдукция, обуславяща прехода и най-вероятно поддържаща остеогенния фенотип. Ефектите от понижената експресия на СК Па не се променят от проостеогенния сигнал BMP4, доказвайки, че участието на СК2 е в най-високите нива на сигнално-трансдукционните мрежи и че BMP4-индуцираните ефекти се трансдуцират от по-долу стоящи спрямо нея участници в тях. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 20/2015 Приложение на новогенерационно секвениране за откриване на соматични мутации при глиоми и тумори на гастроинтестиналния тракт в подбрана група български пациенти**

**Водещ изследовател:** Доцент Албена Кирилова Йорданова, дб

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева дб, МФ
- Гл.ас. Атанаска Миткова, МФ
- Даниела Дачева, докторант
- Гергана Станчева, дм
- Кунка Каменарова, дм
- Рени Цвеова, дб
- Румяна Додова, дм
- Иван Попов, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Туморната хетерогенност при глиомите и ГИСТ е известна характеристика на тези тумори, но „driver“ соматични мутации и процесите, в които те участват все още не са напълно и мащабно проучени. Сравнени бяха резултати получени при анализ на пробите изолирани от парафинов блок (2427 варианта) и при

ДНК от свеж материал (770 варианта). Установени бяха условията за анализ на материали от парафинов блок без това да внася фалшиво позитивни и негативни резултата. В резултат от това беше проведен новогенерационен секвенционен анализ (NGS) на пациенти с ГИСТ, което показва наличие на патогенни мутации при всички изследвани пациенти. Общия брой на откритите аотирани варианти при пациентите с ГИСТ наброява 511 и включва всички видове еднонуклеотидни замени (SNV) и малки инсерции и делеции. Общо 30 известни различни патогенни мутации бяха открити- 3 мутации водещи до стоп кодон (Stop-gained), 15 малки инсерции/делеции, 2 inframe патогенни делеции, 10 известни патогенни миссенс мутации, разпределени сред 44% от изследваните гени. В допълнение 57 нови потенциално патогенни миссенс мутации бяха открити. Сред патогенните мутации 66,6% се откриват в гените *APC*, *KIT*, *PDGFRA*, *PIK3CA* и *BRAF*. В изследваните от нас пациенти при 45% (5) от тях беше установена мутация в *KIT*, като 80% от тях са локализирани в екзон 11, а останалите 20% (1 пациент) в екзон 9. В *PDGFRA* бяха установени наличие на 3 различни мутации в екзон 12 и една в екзон 18 (D842V), която води до резистентност към Иматиниб. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 21/2015 Молекулярно-генетична структура на полирезистентните инвазивни и респираторни щамове *Streptococcus pneumoniae* изолирани пет години след старта на масовата имунизация на новородените деца в България с пневмококова ваксина**

**Водещ изследовател:** Проф. Лена Петрова Сечанова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Александра Александрова, дм
- Даниела Дачева

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска микробиология.

**РЕЗУЛТАТИ:** 10-валентната пневмококова конюгирана ваксина (PCV10) беше включена в Българския имунизационен календар през 2010 год. Проучването имаше за цел да определи серотиповата честота и антиминокробната резистентност при 198 инвазивни и не-инвазивни щамове *S. pneumoniae* изолирани в България през 2011-2016 г. от пациенти с инвазивна (IPD) и не инвазивна (NIPD) пневмококова инфекция. Най-честите инвазивни серотипове бяха серотип 3 (10.1%), 19F (4.0%) и 7F (3.0%). Пропорцията на инвазивните ваксинални серотипове (VTs) е спаднала от 64.2% до 35.2% в сравнение с пред-ваксиналния период. Най-честите серотипове при секретите от средно ухо бяха серотип 3, 19A и 19F (5.6% всеки), а VTs са намаляли от 66.4% до 40.0% в периода след PCV10. Сред респираторните щамове най-чести бяха някои новопоявили се серотипове като 15A/B/C (5.0%), 19A и 6C (4.0% всеки). Сигнификантно значимо намаление на VTs беше намерено в групата на ваксинираните деца (16.3%) в сравнение с групата на не ваксинираните деца и възрастни пациенти (44.0%). Два не-VTs, серотипове 19A и 6C показаха сигнификантно по-висока честота на разпространение сред ваксинираните деца в сравнение с не ваксинираните пациенти ( $p < 0.05$ ). Пропорцията на не чувствителните към антибиотици *S. pneumoniae* се запазва висока в България през периода след PCV10 включването. Сред всички изследвани щамове пропорциите на не чувствителните беше както следва: penicillin - 46.5%, trimethoprim-sulfamethoxazole - 45.4%, erythromycin - 43.9%, tetracycline -37.4%, множествено-резистентните (MDR) щамове бяха 44 %. Най-честите серотипове сред MDR

щамовете бяха 19F, 19A, 6A/C, 15A/B/C и 23A. Резултатите потвърдиха, че PCV10 ваксината значително е редуцирала пневмококовите IPD и NIPD причинени от VTs щамове. След включването на ваксината беше наблюдавана серотипова замяна в посока на не-VTs по-значима сред ваксинираните, но също и при не-ваксинирани пациенти и подчертана серотипово-специфична резистентност. Затова е важно да продължи мониторирането на серотиповите промени и пневмококовата резистентност с цел дългосрочно да се определи ефикасността от включването на PCV10. На базата на проведеното молекулярно серотипиране на 26 щамове *S. pneumoniae* от серогрупа 6 бяха получени следните резултати: серотип 6A - 46%, ново-появилите се серотип 6C - 35% и ваксиналният серотип 6B - 19%. Клоналната структура базираща се на резултатите от MLST генотипирането при 57 MDR щамове показва, че сред серотип 19A и 19F преобладаващият генотип беше CC320 (65.5%), който е вариант на глобално разпространения резистентен клон Taiwan<sup>19F</sup>-14/ST236.

#### Научни публикации и прояви:

- Setchanova L, M Murdjeva, I Stancheva, et al. Serotype changes and antimicrobial nonsusceptibility rates of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates after implementation of 10-valent pneumococcal nontypeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria. *Braz J Infect Dis.* 2017;21(4):433-40.
- Alexandrova A, L Setchanova, I Mitov. Serotype distribution and antibiotic susceptibilities of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates after the routine implementation of pneumococcal nontypeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria. 9<sup>th</sup> Balkan Congress of Microbiology, 22-24 October, 2015, Thessaloniki, Greece.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 24/2015** Разработване на неинвазивен метод за оценка на имплантационния потенциал на човешки ембриони на базата на експресия на микроРНК в средата за култивиране

Водещ изследовател: Доц. д-р Радка Петрова Кънева, дб

#### Членове на изследователския екип:

- Н.с. III ст Тодор Чаушев, дб - МБАЛ „Надежда“
- Ивайло Рангелов, МБАЛ „Надежда“
- Георги Стаменов, дм, МБАЛ „Надежда“
- Димитър Първанов, дм, МБАЛ „Надежда“
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Дарина Качакова, дб
- Даниела Пенчева, докторант

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** В текущото проучване бяха изследвани среди за култивиране от 15 успешно имплантирани и на 16 неуспешно имплантирани ембриона. Поради получените очаквани ниски концентрации на изолираните РНК проби от средите на култивираните ембриони осъществихме преамплификация (след обратно транскриптазната реакция за синтез на кДНК) с цел размножаване на изходния материал и възможност за използването му в последващите анализи. Проведохме експресионно профилиране на 372 микроРНК-и с помощта на PCR array с цел определяне на

възможността за използването им като неинвазивни биомаркери за предсказване на изхода от провеждането на ембриотрансфери при технологиите на асистирана репродукция. Установихме 20 недокладвани до този момент микроРНК-и, които се експресират в средите за култивиране като miR-328, miR-3173-3p и miR-3909 показва повишена експресия, а miR-720 понижена в средите на успешно имплантираните в сравнение със средите на неспешно имплантираните ембриони. Две микроРНК-и: miR-182-3p и miR-5480-3p/ miR-548av-3p се откриват само в средите на имплантираните ембриони, докато miR-337-3p, miR-3941, miR-3675-3p се откриват само в средите за култивиране на неуспешно имплантираните ембриони. Установените диференциално експресирани микроРНК-и са потенциални нови биомаркери за надеждно и неинвазивно предсказване на имплантационния потенциал. Необходимо е провеждането на валидиращо проучване за потвърждаване на получените резултати.

#### Научни публикации и прояви:

- Rangelov I, Chaushev T, Parvanov D, et al. Exploring the feasibility of miRNA expression in culture media to predict implantation outcome. Първа национална конференция по реинтродукция на консервационно значими видове. Младежка научна конференция “Климентови дни”. София, Биологически факултет, 18-20 ноември, 2015 г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 25/2015** Оксидативният стрес като ко-фактор за епигенетични промени в хода на цервикалната канцерогенеза

Водещ изследовател: Доц. Иванка Исталианова Димова, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Миглена Копринарова, дб, БАН
- Доц. Стефан Ковачев, дм, ВМА
- Доц. Албена Тодорова, дбн
- Кремена Славова, ГМДЛ „Геника“
- Виктор Славов, ГМДЛ „Геника“
- Гл. ас. Драгомира Николова, дб
- Гл. ас. Вера Дамянова, дм
- Гл. ас. Сена Карачанак-Янкова, дб
- Доц. Савина Хаджидекова, дм
- Десислава Нешева, докторант
- Блага Рукова, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска генетика

**РЕЗУЛТАТИ:** Цервикалният карцином е тясно свързан с HPV инфекцията, но все още не е изяснено защо само някои от инфектираните лезии прогресират до рак, а други не. Целта на настоящето проучване беше да изследваме ролята на ДНК метилирането в този процес чрез анализ на HPV-инфектирани цервикални тъкани от различни PAP групи. Беше измерена неметираната и хиперметираната ДНК фракция в промоторите на 22 гени, свързани с клетъчния стрес и онкогенезата чрез real-time PCR в три групи: (i) HPV позитивни PAP I/II цервикални проби; (ii) HPV позитивни PAP III/IV цервикални проби; (iii) здрави кръводарители. Най-общо, беше установена повишена средна хиперметирана ДНК фракция (Fhm) за всички изследвани гени в цервикалните проби в сравнение с контролите. Най-висока Fhm се намери за DNAJC15 генния промотор – 31% в HPV-позитивните PAP I/II проби и 32% в HPV-позитивните

PAP III/IV проби в сравнение с 0.6% при контролите. Следват BRCA1 (30% vs 13% vs 0.8%), Trp53 (19.5% vs 19.2% vs 0.8%), Gpx3 (13% vs 16.4% vs 1.3%), Prdx2 (11.8% vs 11.6% vs 0.5%), CSTB (11.2% vs 12.6% vs 0.4%). Хиперметираната фракция за останалите гени варираше между 5.2% и 9.1% в първата група и между 5.5% и 18.7% във втората група цервикални проби. Сравнението между високия грейд и ниския грейд на лезиите откри увеличение във Fhm с повече от 1.5 пъти за гените Rara (2.1 пъти), Gadd45G (1.7 пъти), SCARA3 (1.6 пъти) и Mlh1, Xpc и CDKN1a (всички с увеличение от 1.5 пъти). Нашите резултати предполагат асоциация между HPV инфекцията и хиперметирането (инактивиране) на важни тумор-супресорни гени и гени, свързани с протекцията от оксидативен стрес. Дисплазията продължава да прогресира с хиперметирането (инактивиране) mismatch repair гени и гени, свързани с възпалителния отговор и оксидативния стрес.

#### Научни публикации и прояви:

- Koprinarova M, S Kovachev, I Dimitrov, et al. Association of HPV infection and cervical dysplasia progression with DNA methylation of genes, connected to cellular stress and oncogenesis. European Human Genetics Conference 2016, May 21-24 2016, Barcelona, Spain, E-P17.03
- Yaneva L, I Dimova. Association of HPV infection and cervical dysplasia progression with DNA methylation of genes, connected to cellular stress and oncogenesis. Varna Medical Forum 2015;5(Suppl 1):31-2.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 26/2015 Фармакологични ефекти на опиоидни агонисти и антагонисти върху поведение и обучение на плъхове с експериментален захарен диабет**

Водещ изследовател: Проф. д-р Надка Иванова Бояджиева, дм, дмн

#### Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Павел Джуров, мф, дин
- Доц. Мирослава Варадинова, дм
- Калина Каменова
- Росица Методиева

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведени са проучвания при определяне влиянието на фармакологични средства с влияние върху опиоидни рецептори (агонисти и антагонисти) върху животни със създаден експериментален захарен диабет чрез стрептозотин (60 mg/kg i.p.). Определяни са следните показатели: общо тегло на животните, глюкоза в кръв на гладно, латентно време на плъхове с тест shuttle-box, латентно време при изследване с tail-flic, отговори на безусловен стимул в shuttle-box тест. Повишени кръвни нива на глюкоза в кръв на животни след инжектиране на стрептозотин са отчетени. Антагонистите налоксон и налтрендол не променят високите нива на глюкоза при животните с диабет. Статистически значимо понижение на глюкоза е отчетено под влияние на 21-дневно въвеждане на DADLE. Агонист на опиоидните рецептори DPDPE е селективен към делта. Отчетени са и промени в теглото на животните под влияние на налоксон (намаление в сравнение с контролната група диабетични животни). Опиоидните агонисти с ефект към делта рецептори DADLE и DPDPE подобриха показатели на обучение, памет и болка на животните със стрептозотинов диабет (латентно време и отговори на безусловен стимул).

Налтриндол показва слаба активност при проучвания върху когнитивни функции на животни със захарен диабет. Взети заедно резултатите подкрепят хипотезата, че делта опиоидни рецептори имат роля в регулация на поведение и памет и условия на захарен диабет. Резултатите също подкрепят ролята на делта рецептори в механизмите на обезболяване при захарен диабет.

**Научни публикации и прояви:**

- Kamenova K, Yaneva L, Jurov P, et al. Beta-endorphin levels in opioid agonist- and antagonist-treated diabetic rats. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.
- Kafozoff NE, Mahmoud I, Varadinova M, et al. Effects of opioid agonists and antagonists in experimental model of diabetes. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.
- Stefanova Z, Stefanova T, Varadinova M, et al. Role of opioid agonists and antagonists in active avoidance test os streptozotocin-induced diabetic rats. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 27/2015 Нов метод за изследване и диагностика на болестта на Алцхаймер, основан на диференциалната сканираща калориметрия**

**Водещ изследовател:** Проф. Борис Гоцев Тенчов, дбн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Силвия Абарова, дф
- Гл. ас. Любомир Трайков, дбф
- Доц. Любка Танчева, дф, БАН
- Нези Низамова, студент
- Ваньо Везиров, студент

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Разработен е нов подход, основан на диференциална сканираща калориметрия (ДСК), за проучване на промените в мозъчни тъкани на молекулно ниво, предизвикани от медикаментозно индуцирани невродегенеративни нарушения. Изследванията са проведени върху експериментален животински модел на индуцирана със скополамин Алцхаймерова болест (АБ) при мишки. Измерванията, проведени посредством ДСК върху супернатанти от мозъчни хомогенати, разкриват големи различия между денатурационните профили при здрави животни и при животни с индуцирана от скополамин деменция. Термограмите на мозъчни супернатанти от здрави животни се характеризират с ясно изразени нискотемпературни екзотермни преходи с пикове в интервала 35-45°C, които предшестват по температура ендотермните денатурационни преходи и които напълно се елиминират при третиране със скополамин. Такива екзотермни преходи се наблюдават единствено в мозъчни супернатанти, но не и в други проби от същите животни, например, получени при центрофугиране утайки от мозъчни хомогенати, чернодробни хомогенати, кръвна плазма. По принцип, такива екзотермни преходи свидетелстват за процеси на агрегация (или фибрилизация) на част от белтъчните компоненти на мозъчната супернатанта. Ефектите на превантивни третираня с различни съединения (миртенал, елагова, липоева и аскорбинова киселини), за които се очаква да имат протектиращ ефект и да забавят или блокират развитието на невродегенеративния процес, също бяха изучени и беше установено, че те са ясно проявени в денатурационните профили и се изразяват в частична или пълна неутрализация на действието на скополамина. Термодинамичните параметри (температура  $T_m$ , специфична топлемост  $C_p$  и енталпия  $\Delta H_{cal}$ ) на

екзотермните и ендотермните преходи в денатурационните профили са също определени и ще се използват в по-нататъшни анализи на състава и поведението на мозъчния протеом. Като цяло, проведеното изследване показва, че ДСК е подходящ метод с голям потенциал за разкриване и характеризиране на промените на молекулни ниво в засегнати от деменция мозъчни тъкани.

#### Научни публикации и прояви:

- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. A new approach for investigating drug-induced neurodegenerative disorders in mice based on DSC. *J Thermal Anal Calorimet* 2017;127:483-6
- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. Low-temperature exothermic transitions in brain proteome of mice, effect of scopolamine. *Thermochim Acta* 2017;650:1-7
- Abarova S, Tancheva L, Koynova R, et al. New method for study and diagnosis of neurodegenerative diseases based on differential scanning calorimetry – physiology. XI Национален конгрес по физиологични науки. Пловдив, България. 9-11 Октомври 2015 г.
- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. A new method for investigating the alzheimer disease and methods for its prevention based on differential scanning calorimetry (DSC). CEEC-TAC3. Ljubljana, Slovenia. 25-28 of Aug 2015. P. 283.
- Nizamova N, Vezirov V, Abarova S, et al. Possible prevention of ellagic acid and lipoic acid in animal model of Alzheimer's disease and developing new method of early diagnosing using differential scanning calorimetry. ICMS. Sofia, Bulgaria. 12-15 May 2016.
- Vezirov V, Tancheva L, Abarova S, et al. Early diagnosis of Alzheimer's disease with new method of differential scanning calorimetry. European Students Conference (ESC 2015). Berlin, Germany, 23-26 Sep 2015.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 28/2015** Продукция на арилтетралинови лигнани в ин витро култури от ендемитния вид *Linum usrainicum* Czern

Водещ изследовател: Проф. Илиана Илиева Йонкова, дфн

#### Членове на изследователския екип:

- Янчо Зарев, докторант
- Христо Василев, докторант
- Павлинка Попова

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** Арилтетралиновия лигнан подофилотоксин се използва като прекурсор при полусинтеза на синтетичните деривати Etoposide или Teniposide, прилагани при лечение на рака. Наличието на непрекъснати източници не достатъчно, след забраната за събиране на *Podophyllum* видове. Ето защо намирането на алтернативни източници на тези редки природни лигнани е от съществено значение. Скрининг за бързо растящи и високодобивни на лигнани растения показва, че *Linum* видове, принадлежащи към секция *Syllinum* са подходящи за използване *in vitro*. Ние създадохме калус и суспензионни култури от единични кълнове на *Linum ukrainicum* Czern. (Linaceae), ендемитен вид на Балканите и анализирахме наличието на лигнани. Два главни арилтетралинови лигнани бяха изолирани от метанолния екстракт след ензимна хидролиза. Тяхната структура бе изяснена чрез UV/DAD и HPLC като 6-methoxypodophyllotoxin (6-MPTOX) и podophyllotoxin (PTOX). Арилтетралиновия



лигнан 6-МРТОХ е главен в екстракта от суспензионните култури на *L. ukrainicum* с около  $1,836 \pm 0,164$  mg/g сухо тегло. Съдържанието на РТОХ бе  $0,300 \pm 0,029$  mg/g сухо тегло. Това е първото съобщение за ин витро продукцията на арилтетралинови лигнани в ин витро култури от *L. Ukrainicum*.

#### Научни публикации и прояви:

- Ionkova I, P Sasheva, P Popova. Ariltetralin lignans from in vitro cultures of *Linum ukrainicum* Czern. and their cytotoxic activity, International congress on ECCE10+ECAB3+EPIC5, Nice, France, Oct 2015: S01-315.
- Paloukopolou C, P Popova, H Vasilev, et al. Podophyllotoxin and related lignans: biotechnological production by in vitro plant cell cultures of *Linum ucrainicum*. Pharmacia 2016;63(1/20):14-6.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 29/2015 Фитохимично и фармакологично изследване на флавоноидния състав на *Astragalus monspessulanus* subsp. *illyricus***

Водещ изследовател: Проф. Илина Николаева Кръстева, дф

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Вирджиния Цанкова, дф
- Гл. ас. Петранка Здравева, дф
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Доц. Весела Вичева, дф
- Виктор Братков, дф
- Ас. Александър Шкондров, докторант

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия и Катедра по Фармакология

**РЕЗУЛТАТИ:** При фитохимично изследване на надземните части на *Astragalus monspessulanus* L. subsp. *illyricus* (Bernh.) са изолирани два редки флавоноида, ацилирани с хидрокси-3-метилглутарова киселина в захарната верига, кверцетин-3-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-*O*-(3-хидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -D-галактопиранозид] и кемпферол-3-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-*O*-(3-хидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -D-галактопиранозид]. Структурата на веществата е определена чрез киселинна хидролиза, 1D и 2D NMR експерименти и HRESIMS. В допълнение четири флавоноида са идентифицирани чрез ВЕТХ като: алцесефолизид, мауритианин, трифолин и хиперозид. Чрез използване на модифициран метод, описан в Европейската фармакопея, е определено тоталното съдържание на флавоноиди в два подвида на *A. monspessulanus* – *A. monspessulanus* subsp. *monspessulanus* и *A. monspessulanus* subsp. *illyricus*. Установено е, не само разлика в количеството на флавоноидите, но и в съотношението на различните видове флавоноидни гликозиди, съответстващи на определени агликони. Получените резултати ще послужат за изясняване на хемотаксономичния статус на двата подвида. При модел на *трет*-бутил хидропероксид (*t*-BuOOH) индуциран оксидативен стрес в изолирани плъщи хепатоцити флавоноидите проявяват статистически значим цитотопротективна активност, близка до тази на силимарин. Най-добре изразен ефект се установява при кверцетин-3-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-*O*-(3-хидрокси-3-метилглутарил)- $\beta$ -D-галактопиранозид].

#### Научни публикации и прояви:

- Krasteva I, Bratkov V, Bucar F, et al. Flavoalkaloids and flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. J Nat Prod. 2015;78(11):2565-71.

- Братков В. Фитохимично проучване на *Astragalus monspessulanus* L. (Fabaceae). Дисертация. София, 2015.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 31/2015 Перспективна антиоксидантна и инхибираща активност върху ангиотензин-конвертиращия ензим в ин витро модели на екстракти и биологичноактивни вещества от надземна част на *Portulaca oleracea* L. (тученица)**

Водещ изследовател: Доц. Ренета Славова Гевренова, дф

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Гл. ас. Ирина Лазарова, дх
- Доц. Валентин Лозанов, дх
- Гл. ас. Силвия Русева, дх
- Николай Денков, студент
- Сара Мухафел, студент

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** *Portulaca oleracea* L. (тученица) е ядливо растение с космополитно разпространение, което се отнася към зелените листни зеленчуци. В настоящото изследване са оптимизирани условията за екстракция на биологичноактивни вещества от надземна част на тученица. Най-висок добив от екстракт 16% е получен с електромагнитна бъркалка при 80°C, а най-високо количество на полифеноли (3.45% ± 0.83) и сапонини (9.15% ± 0.17) - със Соклет екстракция. Надземните части от 7 проби тученица от България (4) и Гърция (3) са анализирани за полифеноли (до 1%), флавоноиди (до 0.3%) и полизахариди (до 1.5%). Анализът на основните компоненти (РСА) показва клъстер на три от българските проби. С течна хроматография-мас спектрометрия (LC-ESI/MS) са установени по-високи количества от елагова и ванилова киселина в българската тученица, съответно до 250.48 и 123.76 ng/mg, в сравнение с гръцката. За първи път са получени метаболитните профили на три български и една гръцка проба с помощта на LC/MS анализ на немаркирани молекули и SIEVE 2.2 – платформа. Наблюдава се различно разпределение между изследваните проби и два основни компонента: 6-хидроксилутеолин 7-глюкозид и ериодиктиол 7-глюкуронид. В метаболитната база данни KEGG са установени 56 съединения от 41 метаболитни пътища. Българската и гръцка тученица имат близка радикал-улавяща активност с IC<sub>50</sub> 2 mg/ml (DPPH) и 0.9 mg/ml (ABTS). Изследвана е инхибиторната активност на различни по полярност фракции от тученица върху ангиотензин конвертиращия ензим (АСЕ-1) чрез мас спектрометрия с висока резолюция (HRAMS) и LC/MS/MS на два субстрата (Z-Phe-His-Leu-OH и Hip-His-Leu-OH). Доказана е АСЕ-инхибиторна активност на водната фракция без субстратна специфичност, която има дозо-зависим характер (40% при 2 mg/ml). Вероятно тази активност се дължи на синергизма на всички БАВ. Обаче, активността е по-ниска от тази на положителната контрола каптоприл. Водната фракция има най-висока DPPH (0.54 mg/ml) и ABTS (0.66 mg/ml) радикал-улавяща активност. Водните екстракти от тученица могат да се използват при състояния, свързани с оксидативен стрес.

**Научни публикации и прояви:**

- Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D, Balabanova V, et al. A phytochemical study and antioxidant potential of *Portulaca oleracea* L. (purslane) grown wild in Bulgaria and Greece. *Compt rend Acad Bulg Sci*. 2016;69(7):865-70.
- Zheleva-Dimitrova D, Rousseva S, Balabanova V, et al., Purslane d'origine Balkanique: dérivées phénoliques et pouvoir antioxydant. 2nd Joint Scientific Session. Paris, France. 21-22 Sepr, 2015
- Balabanova V, Zheleva-Dimitrova D, Lazarova I, et al., A comparative study of *Portulaca oleracea* L. (purslane) grown wild in Bulgaria and Greece. 9th Conference on Medical and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Plovdiv, Bulgaria. 26-29 May 2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 32/2015 Антибактериална, радикал-свързваща и ацетилхолинестеразна инхибираща активност на използвани в традиционната Суданска медицина растителни видове *Solanum carense* и *Geigeria alata*.**

Водещ изследовател: Проф. Георги Цветанов Момеков, дф

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова, дф
- Доц. Ренета Гевренова, дф
- Гл. ас. Весела Балабанова-Бозушка, дб
- Чл. кор. Проф. Христо Найденски, дмн, БАН
- Гл. ас. Мая Захаријева, дф, БАН
- Николай Денков, студент
- Сара Мухафел, студент

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Охарактеризирани са профилите на фенолните съединения във водно-метанолни екстракти от суданските растителни видове *Solanum carense* и *Geigeria alata* с помощта на течна хроматография-мас спектрометрия (LC/MS). Изолирани са основните фенолни съединения и е оценен техният антиоксидантен потенциал чрез методи за улавяне на свободни радикали (DPPH и ABTS) и желязо-редуцираща способност. Антимикробната активност е изследвана по метода на микро Разреждане в хранителна среда върху патогенни бактерии и гъби. В корените на *S. carense* е идентифицирано новото природно съединение *N*<sup>ε</sup>-ферулоил лизин (**1**), заедно с 16 известни амида на хидроксиканелените киселини. Структурата на **1** е установена въз основа на 1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) и 2D (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC) ЯМР анализ, както и UV-Vis, HR-ESI-MS and ESI-MS<sup>2</sup> анализи. В сравнение с екстракта от корените, *N*<sup>ε</sup>-ферулоил лизинът има по-висока DPPH (IC<sub>50</sub> 85.83 µg/mL), ABTS (IC<sub>50</sub> 255.54 µg/mL) и FRAP (0.44±0.02 mM TE/mg dw) активност. Съединението показва и по-висока антимикробиална активност срещу *Streptococcus aureus* щамове NBIMCC 3359 (MIC/MBC 112.5 µg/ml) и резистентния на пеницилин ATCC 6538 P (MIC 112.5 µg/ml) от тоталния екстракт (съответно MIC 1.25 и 2.5 mg/ml). За първи път в корени и листа от *G. alata* чрез LC/MS са установени протокатехова, кафеена, *p*-кумароилхинна, кафеоилсинапоилхинна, кефеоилферулоилхинна, три ферулоилхинни, шест кафеоилхинни киселини и кафеена киселина-хексозид. Количественият анализ с HPLC-UV показва най-високо съдържание на 3,5-дикафеоилхинна киселина в корените

(25.96±2.08 mg/g dw), докато 4,5- дикафеоилхинна киселина е основен компонент в листата. 3,5-дикафеоилхинната киселина има по-висока радикал-улавяща активност и редуцираща способност от суровия екстракт и хлорогеновата киселина. 3,4,5-трикафеилхинната киселина притежава по-висок антимикробиален потенциал срещу чувствителни и резистентни на пеницилин щамове *S. aureus*, както и към MRSA.

#### Научни публикации и прояви:

- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Zaharieva M, et al. HPLC UV and LC MS Analyses of Acylquinic Acids in *Geigeria alata* DC Oliv Hiern and their Contribution to Antioxidant and Antimicrobial Capacity. *Biochem Anal.* 2017 May 1;28(3):176-184.
- Voynikov Y, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, et al. Hydroxycinnamic acid amide profile of *Solanum schimperianum* Hochst by HR-UPLC-MS. *Int J Mass Spectrometr* 2016;408:42-50.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Zaharieva M, et al. *Geigeria alata* (DC.) – a new source of bioactive compounds. 2nd International Conference on Natural Products Utilization (From Plants to Pharmacy Shlef), Plovdiv, Bulgaria, 14-17.10.2015. SL24, p61. Oral presentation.
- Voynikov Y, Lozanov V, Zheleva-Dimitrova D, et al. Determination of antioxidants from *Solanum carense* stem bark and root by LC-HRAM. 2nd International Conference on Natural Products Utilization (From Plants to Pharmacy Shlef), Plovdiv, Bulgaria, 14-17.10.2015. PP231, 322. Poster.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Yagi S, et al. The potential of Sudanese plants as a new source of antioxidants. 9<sup>th</sup> Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. 26-29 May 2016 Plovdiv, Bulgaria, PP82 Poster.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 33/2015 In vitro и in vivo токсикологични ефекти на полимерни мицели, изградени от съполимер на поликапролактон и полидиметиламиноетил метакрилат**

Водещ изследовател: Доц. Вирджиния Йорданова Цанкова, дф

Членове на изследователския екип:

- Доц. Красимира Йончева, дф
- Проф. Николай Данчев, дм
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Гл. ас. Борислав Цанков, дф
- Цветелина Горинова, докторант

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра „Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“

**РЕЗУЛТАТИ:** Използването на наноразмерни частици като лекарство- доставящи системи се развива интензивно през последните години. Предложени са различни типове биосъвместими лекарствени наноносители, за да се избегнат някои проблеми като ниска разтворимост, ниска бионаличност, забавен метаболизъм и т.н. Въпреки това, вероятният риск за човешкото здраве при употреба на наночастици все още не е добре установен. Сред широката гама от носители, полимерните наночастици са обещаващи кандидати, които могат да доставят различни лекарствени молекули по контролируем и стабилен начин. Основната цел на проекта бе да се направи

систематична ин витро и ин виво оценка на токсичността на празни и натоварени с куркумин катионни мицели, базирани на триблоковия съполимер PDMAEMA-PCL7-PDMAEMA. За оценка на потенциална токсичност ин витро са използвани два модела: култивирана клетъчна линия - Hep G2 (човешки хепатоцелуларен карцином) и пряно изолирани хепатоцити от плъх. При HepG2 клетките не бе установена промяна в клетъчната жизнестойност и в мембранния интегритет; изолираните хепатоцити показаха по-висока чувствителност към полимерните мицели. Ин виво, еднократно и многократно 14-дневно третиране на мъжки плъхове порода Wistar не предизвиква значителни реакции на токсичност или патологични промени в черния дроб. Тези данни дават полезна информация за липсата на токсичност на катионните мицели, базирани на триблоков съполимер, съдържащ катионни блокове, и са важна основа за по-доброто разбиране на тяхната безопасност и биосъвместимост като потенциални лекарство- доставящи системи.

#### Научни публикации и прояви:

- Tzankova, V, Gorinova C, Kondeva-Burdina M, et al. In Vitro And In Vivo Toxicity Evaluation Of Cationic PDMAEMA-PCL-PDMAEMA Micelles As A Carrier Of Curcumin. *Food Chem Toxicol.* 2016 Nov;97:1-10.
- Gorinova C, Tzankova V, Kondeva-Burdina M, et al. Effects of curcumin loaded polymeric micelles on antioxidant defence system markers in male Wistar rats in vivo. International Workshop on Biochemistry, Physiology and Pharmacology of Oxidative Stress, Rome, 2-4 July, 2015.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 34/2015 Количествено определяне на флуорирани хинолони в смеси с нитроимидазолови антибактериални лекарства чрез високоефективна течна хроматография**

Водещ изследовател: Доц. Ваня Николова Масларска, дф

Членове на изследователския екип:

- Доц. Бойка Цветкова, дф
- Доц. Лили Пейкова, дф
- Нелина Зарева, студент

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Химия

**РЕЗУЛТАТИ:** В резултат от проведените анализи са разработени аналитични тестове за идентичност, чистота и определяне на количествено съдържание на следните моделни лекарствени форми: Ciprofloxacin и Metronidazole, Ofloxacin и Metronidazole, както и Metronidazole, Tinidazole и Ciprofloxacin. Методите са оптимизирани на базата на валидационни процедури, съгласно изискванията на Европейска фармакопея 7.0 и критериите на ИСН. Тестовете са високо ефективни течна-хроматографски с използване на специализирани консумативи (RP аналитична хроматографска колона 250 x 4.6 mm) и се отличават с прецизност, точност, висока чувствителност и селективност. Методите са полезни за аналитичната практика, както и за регулаторните институции при контрола на редица новорегистрирани генерични продукти. ВЕТХ определянето дава възможност за адекватно съответствие на съвременните изисквания към контрола на качеството и нивото на познание, което налага решения като формиране на лекарствени профили вече и за широко приложимите в практиката фиксирани комбинации съдържащи флуорирани хинолони и нитроимидазолови антибактериални лекарства.

Научни публикации и прояви:

- Maslarska V, Tsvetkova B, Peikova L, et al. HPLC Assay of Model Tablet Formulations Containing Metronidazole and Ciprofloxacin. Int J Pharm and Pharm Sci. 2016;8(5):306-10.
- Maslarska V, Bozhanov S, Tsvetkova B et al. RP-HPLC Method for Determination of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Dosage Forms. Pharmacia. 2016;63(1):3-8.
- Maslarska V, Tsvetkova B, Peikova L et al. RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Metronidazole and Ofloxacin in Synthetic Mixture. CBU International Conference “Innovations in Science and Education”. Prague. 22 – 25.03.2016

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 35/2015 Дизайн, синтез и спектрално охарактеризиране на нови 3- и 5-заместени салицилалдехид бензоилхидразони с потенциална цитотоксична активност**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Дарвин Славчев Иванов

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Боряна Николова-Младенова, дх
- Проф. Георги Момеков, дф

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по химия

**РЕЗУЛТАТИ:** Синтезирани са 18 нови съединения – 16 нови 3,5-дихлоро-, 3,5-дибромо и 3,5-дийодопроизводни салицилалдехидбензоилхидразони и 2 нови Со (II) комплекса с биологично активните лиганди 3-метоксисалицилалдехид-4-хидроксibenzoилхидразон и 3-метоксисалицилалдехидизониктиноилхидразон. Съединенията са охарактеризирани чрез елементен анализ, ИЧ-спектроскопия, <sup>1</sup>H-ЯМР и <sup>13</sup>C-ЯМР. Определени са брутните формули и структурата на 3,5-заместените хидразони. Строежът и химичните връзки на получените комплексни съединения са определени чрез сравнение на спектрите им с изходните спектри на лигандите. Представена е най-вероятната структура на Со (II) комплекси. Проведена е геометрична оптимизация на някои от новосинтезираните 3,5-дихалогенопроизводни хидразони посредством теорията на функционала на плътността (DFT). Структурните параметри на хидразоните са оптимизирани чрез метода M062X/6-31+G (d,p). Изчислените дължини на връзки се доближават до експериментално определените за салицилалдехидбензоилхидразона. Стойностите на изчислените двустенни ъгли показват, че алдехидното и хидразидното ароматни ядра не лежат в една равнина и като цяло молекулата на 3,5-дихалогенопроизводните хидразони не е планарна. Новите 3,5-дихалогенопроизводни хидразони са изследвани с „Правилото 5 на Липински”, за да се оцени фармакокинетичното им поведение и лекарственото им подобие. 3,5-дихлоро-, 3,5-дибромо и 3,5-дийодопроизводните салицилалдехид бензоилхидразони са проучени за цитотоксична активност върху спектър от 7 човешки туморни клетъчни линии с помощта на МТТ тест. Експерименталните вещества показват концентрационно-зависима цитотоксична активност при всички изследвани клетъчни линии. Най-висок е противотуморният потенциал на серията 3,5-дихлоропроизводни хидразони. Определените стойности на IC<sub>50</sub> са по-ниски от тези на референтните цитостатици cisplatin и melphalan.

**Научни публикации и прояви:**

- Митев Г, Николова-Младенова Б, Иванов Д. Синтез и охарактеризиране на 3,5-дихлоросалицилалдехид бензоилхидразон. Студентска научна сесия, Фармацевтичен факултет, София, България, 21 ноември 2015
- Nikolova-Mladenova B, Ivanov D. Synthesis of new Co(II) complexes with 3-methoxysalicylaldehyde based hydrazones as a possible approach in the treatment of cobalt poisoning. J Med Biol Sci, 2016;3(1):57-62.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G.,Ivanov D. Design, molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3,5-dichlorosubstituted salicylaldehyde benzoylhydrazones, J Med Biol Sci, 2016;3(1):63-5.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Design, evaluation of molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3- and 5-methoxy substituted aroylhydrazones. Computational Advances in Structure-Based Drug Discovery 2015, Lausanne, Switzerland. Sep 22-25, 2015
- Nikolova-Mladenova B, Ivanov D. Synthesis of new Co(II) complexes with 3-methoxysalicylaldehyde based hydrazones as a possible approach in the treatment of cobalt poisoning. International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, Venice, Italy. Apr 27-29, 2016
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Design, molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3,5-dichlorosubstituted salicylaldehyde benzoylhydrazones, International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, Venice, Italy. Apr 27-29, 2016

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 39/2015 Токсикологично охарактеризиране и изучаване на спектралното поведение на пиролови хидразони с доказана анти-микобактериална активност**

**Водещ изследовател:** Проф. Александър Борисов Златков, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Вирджиния Цанкова, дф
- Доц. Магдалена Кондева-Бурдина, дф
- Гл. ас. Мая Георгиева, дф
- Мирена Каймаканова, студент

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармацевтична химия

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящото проучване са синтезирани две серии производни на N-пироллилкарбоксилната киселина с хидразонов фрагмент. Структурата им е охарактеризирана със подходящи спектрални методи. Изучено е спектралното поведение на представителен продукт от двете серии. Проследени са ефектите на синтезираните съединения обособени в две серии: хидразони на N-пироллилкарбоксилната киселина Първа серия, подразделена на I-ва група – (11a, 11b, 11c, 11x, 11p, 11l, 11o, 11e) и II-ра група – (11, 11d, 11n, 11m, 11i, 11h, 11g); пирол-съдържащи хидразони Втора серия, подразделена на I-ва група (12a, 12b, 12c, 12x, 12p, 12l, 12o, 12e) и II-ра група (12, 12d, 12n, 12m, 12i, 12h, 12g), с доказана противотуберкуозна активност, в изолирани плъщи хепатоцити. Всички изследвани вещества, приложени самостоятелно, проявяват статистически значим цитотоксичен ефект върху изолираните хепатоцити, спрямо контролата (не-третираните хепатоцити). Установено е, че четири от веществата от двете серии проявяват по-слаб цитотоксичен ефект върху изолираните хепатоцити – 11, 11l, 12 и 12a. От съединенията включени в

Първа серия с най-слаб цитотоксичен ефект са 11 и 111, които намаляват клетъчната жизнест с 18 % и 24 %; и нивото на редуциран глутатион с 22 % и с 36 %, а повишават освобождаването на LDH с 21 % и 28 %; и продукцията на MDA с 15 % и с 21 %, спрямо контролата (не-третираните хепатоцити). От съединенията включени във Втора серия с най-слаб цитотоксичен ефект са веществата 12 и 12а, които намаляват клетъчната жизнест с 14 % и 17 %; и нивото на редуциран глутатион с 10 % и с 20 %, а повишават освобождаването на LDH с 8 % и 12 %; и продукцията на MDA с 12 % и с 31 %, спрямо контролата (не-третираните хепатоцити). И при двете серии новосинтезирани хидразони, веществата от II-ра група са по-слабо токсични в сравнение с веществата от I-ва група. Разликата в ефектите на веществата върху изолираните хепатоцити, най-вероятно се дължи на разлика в структурата им и наличието на различни заместители.

#### Научни публикации и прояви:

- Georgieva M, Kondeva-Burdina M, Tzankova V et al. Effects of newly synthesized N-pyrrolylcarboxylic acid hydrazones, with established anti-tubercular activity, on isolated rat hepatocytes. 2<sup>nd</sup> International Congress of Greek Local Chapter of Controlled Release Society (CRS). Athens, Greece, 22-24.06.2016
- Georgieva M, Stanchev S, Mitkov J et al. Spectral analysis and structural elucidation of synthesized pyrrole hydrazone derivative with antitubercular activity through quantum chemical calculations. 2<sup>nd</sup> International Congress of Greek Local Chapter of Controlled Release Society (CRS). Athens, Greece, 22-24.06.2016

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 40/2015 Изследване на противовъзпалителната активност на тотални и пречистени екстракти от *Gypsophila trichotoma* Wend**

Водещ изследовател: Проф. Николай Дамянов Данчев, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Проф. Илина Николаева Кръстева, дф
- Гл. Ас. Петранка Здравева, дф
- Ас. Александър Шкондров
- Ас. Любомир Маринов

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Тотални и пречистени екстракти от надземна част и корен на култивирана и диворастваща *Gypsophila trichotoma* Wend. бяха изследвани за противовъзпалителна активност в експериментален модел на колаген-индуциран артрит при плъхове и мишки. Експериментално беше индуциран на артрит на 100 мъжки плъха и 100 мъжки мишки, посредством инжектиране на колаген тип 2СII и CFA, под форма на емулсия. Всяко животно е инжектирано с 50 µl от емулсията. Емулсията беше инжектирана в интрадермално, на 1.5 см дистално от основата на опашката на мишката. Допълнителна имунизация се извърши на 21ви ден от първоначалната имунизация. За приготвянето и се използва същата концентрация на колаген тип II както при първоначалната, като се емулгира в IFA. Екстрактите бяха прилагани в доза 80 мг/кг, перорално в продължение на 30 дни, считано от 21ви ден след първоначалната имунизация. Възпалителните промени в лапите бяха оценявани по скала от 0 до 4. Не се наблюдава статистическа разлика между кумулативните резултати между мъжките плъхове и мъжките мишки. Сравнителната кумулативна оценка на възпалителните промени показва, че няма разлика между екстрактите



получени от диворастващи и култивирани растения, както и между надземната част и корените. Екстрактите не проявяват противовъзпалителна активност при вече развит колаген-индуциран артрит, както през периода на третиране (30 дни) така и в периода на наблюдение до 60ия ден след началото на третирането. Резултатите показват, че екстрактите не оказват противовъзпалителен ефект, когато се прилагат след развил се вече артрит.

#### Научни публикации и прояви:

- Marinov L, Shkondrov A, Nikolova I, et al. The effect of gypsophila extract in collagen-induced arthritis in mice VI<sup>th</sup> Congress of Pharmacy with International Participation – October 13 – 16, 2016 Sandanski, Bulgaria

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 41/2015 Пренилирани ацилфлороглуциноли от *Hypericum annulatum* Moris – изолиране, структурно охарактеризиране и изпитване за цитотоксична активност върху туморни клетъчни линии**

Водещ изследовател: Доц. Параскев Тодоров Недялков, дф

#### Членове на изследователския екип:

- Проф. Георги Момеков, дф
- Гл. ас. Златина Коканова-Недялкова, дф
- Яна Илиева, докторант

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** От хексановия екстракт на надземните части на вида *Hypericum annulatum* Moris бяха изолирани три нови и един познат пренилирани ацилфлороглуциноли. Тяхната структура беше определена чрез спектрални методи (Масс-спектър, <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР, COSY, HSQC, HMBC, NOESY и др.) като 1-{3-[(3E)-3,7-диметил-2-(3-метилбутил-2-ен-1-ил)окта-3,6-диен-1-ил]-2,4,6-трихидроксифенил}-2-метилпропан-1-он (Hann1), 1-{3-[(3E)-3,7-диметил-2-(3-метилбутил-2-ен-1-ил)окта-3,6-диен-1-ил]-2,4,6-трихидроксифенил}-2-метилбутан-1-он (Hann2), 1-[(4aS,9aS)-6,8-дихидрокси-3,3-диметил-4a-(4-метилпент-3-ен-1-ил)-2,3,4,4a,9,9a-хексахидро-1H-ксантен-5-ил]-2-метилпропан-1-он (Hann3) и хиперкаликсон А (Hann4). Новите природни продукти бяха наименовани съответно хиперанулатин А, В и С. Всички изолирани вещества проявяват изразена цитотоксичност при ниски микромолярни концентрации като IC<sub>50</sub>, която при различните туморни клетъчни линии варира в границите от 2.09 до 58.75 μM. Най-висока цитотоксична активност притежават вещества хиперанулатин А и В, като IC<sub>50</sub> стойностите са в границите на 2.4 - 5.87 μM и 2.09 - 8.84 μM, съответно. Изследвана е също способността на хиперанулатин А и В да активират трансформацията на прокаспаза 9 в каспаза 9 при различни клетъчни линии.

#### Научни публикации и прояви:

- Nedialkov P, Pieva Y, Momekov G. Prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum annulatum*. 63<sup>rd</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA2015), Budapest (Hungary), 23-27 Aug 2015, *Planta Medica* 2015; 81(16):1437-8

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 42/2015 Изследване влиянието на растежния фактор PDGF (Platelet Derived Growth Factor) върху производството на колаген и остео/одонтогенната диференциация на стволови клетки от периодонтален лигамент in vitro**

**Водещ изследовател:** Доц. Павел Кирилов Станимиров, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев дб, дмн
- Ас. Зорница Михайлова
- Д-р Красимир Христов
- Ас. Виолета Димитрова
- Гл. ас. Николай Ишкитиев дб, дм

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, катедра Орална и лицево-челюстна хирургия

**РЕЗУЛТАТИ:** С настоящия проект успяхме да изолираме мезенхимни клетки от периодонтален лигамент на мъдреци след подписано информирано съгласие от страна на пациентите. Най-напред характеризирахме изолираната клетъчна култура. Използвахме маркери, които доказано се експресират от мезенхимни стволови клетки - CD44, CD49f, CD105, CD117, CD146, CD271, STRO-1, Col1a2, Col3a1, BSP II, SPARC. Чрез количествен (флоуцитометрия) и качествен (имунофлуоресценция) метод доказахме позитивна експресия при нашите клетъчни култури. Изследвахме ефекта на растежния фактор PDGF върху пролиферацията на клетките, експресията на стволклетъчни и диференциационни маркери, синтеза на колаген и остеогенната диференциация при клетки от периодонтален лигамент. Резултатите показват, че PDGF стимулира значително пролиферацията на клетките с оптимален ефект при концентрация 50 нг/мл и засилва експресията на стволклетъчни маркери (CD146, CD105), стимулира експресията на SPARC (маркер едновременно за остеогенна диференциация, участва в матурацията на колаген и е свързан с прогреса на някои тумори); високи концентрации PDGF потискат колагеновия синтез и минерализацията.

**Научни публикации и прояви:**

- Mihaylova Z, V Mitev, P Stanimirov, et al. Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. Acta Odontol Scand. 2016;1:1-11.
- Mihaylova Z, P Stanimirov, N Ishkitiev, et al. Effect of PDGF-BB on Periodontal Ligament Stem Cell Cultures. IADR/APR General Session & Exhibition, June 22-25, 2016 Seoul, Republic of Korea

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 43/2015 Изследване на биологичния потенциал на стволовите клетки от апикалната папила след въздействието им с транспортни среди и лимонена киселина**

**Водещ изследовател:** Доц. Наталия Христова Грънчарова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- проф. Росица Кабакчиева
- оц. Павел Станимиров
- л. ас. Николай Ишкитиев

П  
Д  
Г

- с. Красимир Христов
- л. ас. Антония Исаева
- озалия Циканделова

а  
Г  
Р

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, Катедра Детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Клиницистите често се изправят пред предизвикателството адекватно да дезинфекцират широки канали. В тези процедури, подобно на конвенционалната ендодонтска терапия, микробният контрол е от определящо значение. Запазването на виталността на мезенхимните стволони клетки от своя страна е от голяма важност за успеха на регенеративната ендодонтия. Следователно, нужно е да се използва такъв иригационен протокол, който осигурява добра дезинфекция и същевременно не променя биологичния потенциал на стволоните клетки. SOS Dentobox осигурява много по-добра преживяемост на клетките в сравнение с фосфатно-буферирания физиологичен разтвор, препоръчван в някои ръководства. Не се установява статистически значима разлика между сегментите, иригирани с NaOCl/EDTA и NaOCl/CA. Лимонената киселина, при прилагането ѝ в регенеративната ендодонтия, има подобен на EDTA ефект върху виталитета на СКАП. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 50/2015 Новогенерационно секвениране на прицелни гени за дегенерация на ретината при български пациенти**

**Водещ изследовател:** Проф. Силвия Здравкова Чернинкова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Ивайло Търнев, дмн
- Д-р Кунка Каменарова
- Даниела Дачева, докторант
- Доц. Радка Кънева
- Рени Цвеова, докторант
- Доц. Красимир Коев
- Чл. кор. Проф. Ваньо Митев, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по неврология, УМБАЛ „Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** Ретинитис пигментоза (RP) е хетерогенно заболяване в клиничен и генетичен аспект с честота 1:3500 или общо 1,8 милиона засегнати в световен мащаб. Целта на изследването ни беше да се открие мутацията, водеща до дегенерацията на ретината при българско ромско родословие. През годините, в рамките на минали проекти в Центъра по молекулярна медицина беше установена обширна клинична и генеалогична база-данни от пациенти с дегенерация на ретината, от която беше подбрана голяма ромска фамилия с болни в три поколения. Фамилията се характеризира с доминантен модел на унаследяване и вариабилно начало на ретинопатията. Прицелно паралелно секвениране на 4813 асоциирани със заболявания гени, сред които и известните до момента гени за adRP, беше проведено при клинично добре охарактеризиран пациент от ромското родословие. Беше направено приоритизиране на вероятните патогенни промени и след прилагане на системен ход от критерии за филтриране, четири варианта в различни гени бяха анализирани: 1 миссенс

вариант в *LCA5* (с.250C>T), 1 миссенс промяна в *RIMS1* (с.3122T>C), 1 интронен вариант в *TTC8* (с.115-5T>G) и 1 миссенс хемизиготен вариант в *OFD1* (с.1694T>C). Промяната *TTC8*-с.115-5T>G е нова. След потвърждаване със секвениране по метода на Сангер, не бяха установени фалшиво положителни генни промени. Патогенността на всички четири варианта беше проверена със сегрегационен анализ при засегнатите родственици. Потенциалният ефект на промените беше оценен с помощта на *in silico* биоинформатичен анализ. Сегрегационният анализ и не-пасващият вероятен фенотип, асоцииран с мутацията, доведоха до изключване на оставащите секвенционни варианти, и следователно на всички известни гени за *adRP*, като отговорни за заболяването в представената фамилия. Базирайки се на гореизложеното, нашите резултати ни дават основание да предположим, че в човешкия геном съществува нов локус за автозомно-доминантна пигментна дегенерация на ретината, тъй като не бяха установени патологични промени в известните гени за това заболяване. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 56/2015** Проучване ролята на сигналните пътища на Т- и В-клетъчна активация в патогенезата на нефамилната хипогамаглобулинемия  
Водещ изследовател: Проф. Елисавета Йорданова Наумова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Анастасия Михайлова, дм
- Гл. ас. Снежина Кандиларова, дм
- Д-р Невена Гешева
- Д-р Спаска Лесичкова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Клинична лаборатория и клинична имунология, УМБАЛ „Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** Нефамилната хипогамаглобулинемия (Common variable immunodeficiency-CVID) е хетерогенен имунодефицитен синдром с неустановени патогенетични механизми. Предполага се наличие на някои Т-и/или В-клетъчни дефекти предопределящи нарушена антителна синтеза с или без автоимунни прояви. Целта на изследването е да се проучат различни лимфоцитни вътреклетъчни сигнални пътища включващи JAK/STAT сигналната каскада и митоген активираните протеин кинази (МАРК) при пациенти с CVID. За осъществяване й въведохме методика за флуоцитометрично определяне на спонтанна и интерлевкин-индуцирана експресия на фосфорилираните протеини - ERK1/2, p38MARK, Stat3, Stat5 и Stat6 в CD4+, CD8+ и CD19+ лимфоцити при 10 пациента и 10 здрави контроли. Резултатите показаха следните статистически значими нарушения в сигналната трансдукция при пациентите в сравнение с контролите: повишена спонтанна Erk активация на CD4+ Т клетки (GeoMFI-11.3±3.9 vs. 8.5±1.78, p=0.045); повишени IL-2 индуцирана STAT5 активация (GeoMFI-312.7±42.15 vs. 239.2±40.08, p=0.001) и STAT5 активационен индекс в CD4+ клетките (12.54±4.34 vs. 8.66±1.78, p=0.023) в съчетание с понижена спонтанна STAT5 активация (GeoMFI-16.2±3.26 vs. 23.0±7.23, p=0.028), но повишен STAT5 IL-2 зависим активационен индекс в CD8+ Т клетките (18.77±3.77 vs. 12.81±2.71, p=0.001); понижени индуцирана STAT3 активация (GeoMFI-11.0±1.58 vs. 13.0±1.94, p=0.024) и STAT3 активационен индекс в В лимфоцитите (1.4±0.22 vs. 1.7±0.25, p=0.01); понижени индуцирана STAT6 активация на CD8+ Т клетки (GeoMFI-19.9±2.42 vs. 27.5±5.06, p<0.001) и STAT6 активационен индекс в CD8+ (2.73±0.41 vs. 3.57±1.12, p=0.045). Намерените от нас нарушения биха могли да обяснят промени в цитокиновия Th1/Th2 баланс при заболяването, както и наблюдавани при CVID

нарушения в броя, фенотипа и функцията на хелперните, цитотоксичните и В-лимфоцитите. Считаме че резултатите, получени от това изследване имат важно значение за изясняване на някои от механизмите на нарушена клетъчна сигнализация, кооперация и функция в патогенезата на COVID. Подобен изследователски подход, приложим при по-голяма група пациенти и в съчетание с генетичен анализ на нарушените сигналните системи би представлявал значителен методологичен, научен и клинично-приложен интерес с оглед разработване на нови терапевтични подходи.

**Научни публикации и прояви:**

- Наумова Е, Балева М, Михайлова А, и др. Ролята на нарушенията в JAK/STAT сигналния път в развитието на първични имунни дефицити, Медицински преглед 2017;53(2):5-8.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 63/2015 Проучване на имунни сигнатури в репертоара от антитела при пациенти с първични злокачествени и метастатични тумори на мозъка**

**Водещ изследовател:** Доц. Асен Венциславов Бусарски, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Анастас Пашов, дм, БАН
- Гл.ас. Дилиан Фердинандов, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по неврохирургия, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“

**РЕЗУЛТАТИ:** Представено е пилотно проучване, което е базирано на имунни сигнатури свързани с известни мозъчни злокачествени тумор. Нашата цел е да се открият специфични модели на антитялова продукция срещу туморни епитопи в процеса на диагностиката. Включени в проучването са хирургично лекувани пациенти в Клиниката по неврохирургия на УМБАЛ Св. Иван Рилски. Всички субекти са с потвърдени мултиформни глиобластоми. Не са включени пациенти с предходна химио- и лъчетерапия спрямо настоящото или друго заболяване. Осъществявани са рутинно тъканни биопсии. Оценката на имунните сигнатури е направена с микрочипове с 4526 пептида от 20 туморно асоциирани антигена и 209 известни епитопа от IEDB В-клетъчна база данни. Пробите са инкубирани и оценени според препоръките на производителя. Направен е последващ софтуерен и статистически анализ. Проучването включва 6 пациента с горепосочената диагноза, които са добавени към предходно проучване до общо 22 пациента, разделени по равно в три групи. Контролните субекти са подбирани на случаен принцип сред случаи с дегенеративни заболявания на гръбнака. Във втората група са включени единствено болни с класическа хистопатологична картина на глиобластом. От пациентите с вторични мозъчни лезии са подбрани тези с белодробен карцином. Всички осъществени експерименти са технически приемливи с изключение на един (отпаднал). Около 600 пептида са показали значими ИгМ реактивности. Едновременно с известни протеинови абнормалности ние открихме модели, които вероятно кореспондират със специфична туморна хистопатология и популационна хетерогенност. Мултиформният глиобластом се асоциира със значително по-тесен ИгМ репертоар, което нов аспект на туморната имуносупресия. Предложената концепция и диагностична система може да се окаже бърз, неинвазивен и евтин инструмент за ранна и точна диагноза на почти всеки тумор, засягащ невната система. Възможно е да се идентифицират неизвестни прогностични маркери, което да предостави нови средства в лечението на тези заболявания.

**Научни публикации и прояви:**

- Pashov A. IgM immunosignatures in brain tumor patients detected with tumor antigen peptide arrays. The antibody repertoire as a biomarker. EEA Grants Conference, Sofia, 23.09.2015.
- Ferdinandov D, Kostov V, Hadjieva M, et al. A novel concept in the diagnostic work-up of malignant brain tumors - a pilot study based on immunosignatures. Congress of the European Association of Neurosurgical Societies, Madrid, 18-21.10.2015
- Kostov V, Ferdinandov D, Hadjieva M, et al. IgM immunosignature-based diagnosis of malignant brain tumors: a pilot study. International Congress of Medical Sciences, Sofia, 12-15.05.2016
- Pashov A, Kostov V, Ferdinandov D, et al. Could IgM repertoire signatures be used as biomarkers in cancer? 10<sup>th</sup> World Congress on Vaccines, Immunisation and Immunotherapy, Bern, Switzerland, 01-02.06.2016.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 66/2015 Генетични изменения при първични глиобластоми и връзката им с прогнозата при български пациенти**

**Водещ изследовател:** Проф. Николай Стефанов Габровски, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Георги Поптодоров, дм, УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов"
- Николай Велинов, дм, УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов"
- Мария Лалева, дм, УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов"
- Доц. Маргарита Каменова, дм, УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов"
- Чл.кор, проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл.ас. Атанаска Миткова, дб
- Гергана Станчева, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Център по Молекулна медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** В последните години множество изследвания са концентрирани върху геномните характеристики на глиомите. Това доведе до откриването на разнообразие от гени, които до момента не бяха асоциирани с глиални карциноми. Мутации в гени, кодиращи изоцитрат дехидрогеназа изоформи 1 (IDH1) и 2 (IDH2), бяха намерени в големи пропорции на глиомите. Генетични замени в IDH1/IDH2 възникват рано при туморната прогресия на мозъчните неоплазии, но рядко при други солидни тумори, и са асоциирани с по-добра прогноза. Амплификация на EGFR, хомозиготна делеция в CDKN2A и загуба на хромозома 10q, която съдържа PTEN, са асоциирани с по-лоша прогноза. За да определим честотата на промените в EGFR, TP53, PTEN, CDKN2A гените и на IDH1/2 мутации (изследвани чрез секвениране за мутации в екзон 4 на IDH1/2 при предходно изследване, финансирано от МУ-София, договор No 8-D/2010) при български пациенти и тяхното влияние върху прогнозата, бяха изследвани 50 първични глиобластоми. Други промени в EGFR, TP53, PTEN и CDKN2A гените бяха изследвани чрез MLPA кит P105. IDH1 генетичната замяна R132H беше наблюдавана при 8 (16%) от туморните проби. Не бяха открити мутации в IDH2. Сходно на предходни изследвания, IDH1 мутации бяха открити при по-млади пациенти (средна възраст 43 години срещу 60.5 години при не-мутирала индивиди;  $p=0.04$ ) и бяха асоциирани с увеличение на общата преживяемост (средна преживяемост 28.4 месеца срещу 8.07 при не-мутирала индивиди;  $p=0.04$ ). При 56% (28) от пациентите беше наблюдавана EGFR амплификация, докато делеции на PTEN и CDKN2A бяха идентифицирани съответно при 56% (28), и 44% (22) от пациентите. Пациенти с PTEN делеции проявиха значително по-

слаба преживяемост от пациенти без подобни аберации (средна преживяемост 18.07 месеца сруци 8.33 при не-мутирани индивиди;  $p=0.05$ ). Тези аберации бяха изследвани във връзка със наличието на IDH1/IDH2 мутации. Повечето пациенти с IDH1/IDH2 мутации носиха амплификация на EGFR (43% срещу 0%,  $p=0.017$ ), докато при PTEN делециите се наблюдаваше значима корелация с групата без IDH1/IDH2 мутации

#### Научни публикации и прояви:

- Stancheva G, T Goranova, M Laleva, et al. Prognostic significance of TERT promoter mutations and association with other common genomic aberrations in Bulgarian glioblastoma patients. Accepted for poster presentation. The 24th Meeting of European Association for Cancer Research, 9-12 Jul 2016, Manchester, UK.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 76/2015 Имунохистохимични характеристики на мозъчни метастази и съответните им първични не-дребноклетъчни белодробни карциноми**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Янина Георгиева Славова-Маринова

#### **Членове на изследователския екип:**

- Проф. Севдалин Начев, дмн
- Проф. Димитър Костадинов, дм
- Доц. Ваня Юрукова, дм
- Ас. Дора Маринова, дм
- Евгени Меков, дм
- Д-р Мирослав Михайлов

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по белодробни болести, УСБАЛ по Белодробни Болести „Св. София”

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящия проект се проучиха имунохистохимично мозъчни метастази и съответните им първични белодробни карциноми чрез имунохистохимично изследване на експресията на TTF-1, p63, Cytokeratin 7, Synaptophysin, Ki-67 и CD31, като се определи и сравни пролиферативната им активност и броя на интратуморните микросъдове, така и се определиха клетъчни клонове с висок метастазиращ потенциал. Според данните от нашето проучване в почти половината от случаите диагнозата беше променена на базата на използваните имунохистохимични маркери, което показва важноста на имунохистохимията. За разлика от аденокарциномите (АК) (потвърди се хистологичната диагноза във всички случаи), диагнозата плоскоклетъчен карцином (ПК) се потвърди в 30%. При сравняване на хистологичния строеж на първичния тумор и метастазата установихме, че при половината от аденокарциномите има разлика, като най-често метастазира папиларната компонента. По отношение на изследваните маркери се стигна до следните заключения: TTF-1 се експресира в по-голям брой случаи на АК в белия дроб (95%), но с по-ниски средни нива на експресия (45,44 срещу 73,88), докато в съответните мозъчни метастази маркера може и да не се експресира (76%), но когато е наличен е със значимо по-високи средни стойности. P63 се експресира във висок процент от туморните клетки във всички ПК, като няма разлика в нивото на експресия между първичния тумор и метастазата. Cytokeratin 7 се експресира във всички АК, с еднаква сила независимо от вида на огнището – първично или метастаза. Чрез експресията на Ki-67 се установи, че пролиферативната активност на карциномните клетки от метастатичното огнище е по-висока от тази на първичното огнище. Чрез CD31 се установи съдовата инвазия в първичния белодробен карцином.

Не се установиха значими разлики между първичния тумор и метастазата. Установи се, че 1-годишната преживяемост след операция за рак на белия дроб е по-висока и средната преживяемост по-дълга в сравнение с тези след операция за мозъчна метастаза. В зависимост от хистологичния вид на тумора преживяемостта след операция на белия дроб е сигнификантно най-дълга при АК за разлика от ДКБК. След операция на мозък има тенденция за намалена преживяемост по отношение на ПК в сравнение с АК. Установиха се негативни прогностични фактори – хистология за ДКБК и Ki-67 > 18%. Такива фактори не се установиха по отношение на преживяемост след операция за мозъчна метастаза. Приложението на диагностичните маркери установи как карциномните клетки променят своя имунофенотип в метастазите. Настоящото проучване увеличи разбирането ни за ролята на ангиогенезата, доведе до по-добро изясняване на процеса на метастазирание и подпомогна по-пълното разбиране на биологията на тези тумори.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

## МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ

### **Договор 8/2015 Корелация между нивата на хепсидин и сърдечно-съдовия статус при пациенти с таласемия**

Водещ изследовател: Проф. Камен Николаев Цачев, дмн

Членове на изследователския екип:

- Ас. Георги Димитров
- Гл. ас. Виктор Манолов, дм
- Гл. ас. Теодора Янева-Сиракова, дм
- Проф. Румяна Търновска-Къдрева, дм
- Доц. Милена Велизарова, дм
- Доц. Бисера Атанасова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология

**РЕЗУЛТАТИ:** В хода на проекта бяха използвани различни методологични подходи за диагностика на заболяването таласемия, както и оценка на желязния статус при 68 пациенти. Включените пациенти с таласемия са на средна възраст както следва: мъже  $28.9 \pm 3.1$  г., и жени  $24.6 \pm 2.1$  г. Установихме статистически значимо намалено ниво на серумен хепсидин при пациенти с таласемия ( $1.3 \mu\text{g/l}$ ) спрямо контролната група,  $P < 0.001$ . Серумното ниво на TSH показва статистически значимо повишение при пациенти с таласемия ( $48.9 \mu\text{IU/ml}$ ) спрямо включените клинично здрави индивиди, което потвърди хипофункция на щитовидната жлеза,  $P < 0.001$ . Количественото определяне на желязо при пациенти с таласемия ( $57.3 \mu\text{mol/l}$ ) показва статистически повишени нива, поради съпровождащото се натрупване на желязо в организма, в резултат на честите кръвопреливания,  $P < 0.001$ . Феритинът в серум при пациенти с таласемия ( $901.3 \text{ ng/ml}$ ) показва значително увеличение спрямо контролната група,  $P < 0.001$ . Концентрацията на NT proBNP при пациенти с таласемия ( $257.8 \text{ pg/ml}$ ) беше повишена спрямо включената контрола, което показва наличие на левокамерна дисфункция,  $P <$



0.001. Установихме значителна отрицателна корелация между серумен хепсидин и феритин при пациентите с таласемия ( $r = -0.630$ ;  $P < 0.001$ ). Корелацията между серумен хепсидин и трансферин при пациенти с таласемия ( $r = 0.507$ ;  $P < 0.01$ ) показва положителна зависимост. Изследваният серумен хепсидин корелираше значително отрицателно с нивата на TSH при таласемия ( $r = -0.722$ ;  $P < 0.001$ ). Корелацията между серумен хепсидин и NT proBNP при случаите с таласемия ( $r = -0.690$ ;  $P < 0.001$ ) показва значителна отрицателна степен. Серумният хепсидин при таласемия ( $r = -0.775$ ;  $P < 0.005$ ) корелираше с нивата на разтворими трансферинови рецептори. Установихме значителна отрицателна корелация между серумен хепсидин и желязо при пациентите с таласемия ( $r = -0.665$ ;  $P < 0.001$ ). Корелацията между серумен хепсидин и брой ретикулоцити при пациенти с таласемия ( $r = -0.683$ ;  $P < 0.001$ ) показва отрицателна зависимост. Установихме статистически значимо намаление на серумните нива на хепсидин при пациенти с таласемия. Получените серумни нива на хепсидин се дължат на естеството на свръхобременяването на организма с желязо, в резултат на честите кръвопреливания при това заболяване. Високите нива на желязо водят до подтискане секрецията на хепсидин. Това води до предпоставка за отлагане на желязото в кардиомиоцитите, което от своя страна води до появата на кардиомиопатия, свързано с нарастване серумното ниво на NT proBNP. Нивата на хепсидин определят преразпределянето на желязото между макрофагите и паренхимните клетки и следователно могат имат значение за степента и скоростта на прогресия на органните увреждания и в частност на кардиомиопатията. Концентрацията на хепсидин е важна за индивидуализиране на трансфузионното лечение. Хепсидиновите нива определят ефективността на трансфузионната терапия. Стимулирането на еритропоезата при таласемия води до пропорционално повишаване на sTfR. Те са ефективен маркер и за проследяване на ефекта от трансфузионната терапия. Какъв обаче е ефектът на обременяването с желязо върху sTfR и значението на хелаторната терапия не е добре изяснено.

#### Научни публикации и прояви:

- Petrova J, Manolov V, Paskaleva-Pecheva V, et al. Does stroke messed up with a serum hepcidin levels in therapy of anemia in rheumatoid arthritis patients? MRJMMS May, 2016 Vol. 4(5) pp. 272-275.
- Petrova J, Manolov V, Dimitrov G, et al. Serum hepcidin levels and stroke in thalassemia patients. IJS 2016,11(4).
- Manolov V, Dimitrov G, Yaneva-Sirakova T, et al. Serum omentin-1 levels in cardiac diseases. 21<sup>st</sup> IFCC Congress– 21-25.06.2015, Paris, France
- Manolov V, Dimitrov G, Tarnovska-Kadreva R, et al. Role of hepcidin in beta-thalassemia patients. 10–12.09.2015, “Borovetz” resort, Bulgaria
- Manolov V, Dimitrov G, Tarnovska-Kadreva R, et al. Serum hepcidin levels in  $\beta$ -thalassemia patients. 23<sup>rd</sup> BCLF Congress – 7-9.10.2015, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina
- Dimitrov G, Manolov V, Petrova J, et al. Stroke and serum hepcidin in three patients with thalassemia. MEDLIFE 2015 – 10-11.12.2015, Hangzhou, China

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 9/2015** Роля на хепсидина в развитието на анемичния синдром при пациенти с мултиплен миелом и хронична лимфоцитна левкемия

Водещ изследовател: Доц. д-р Милена Георгиева Велизарова, дм

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Виктор Манолов, дм
- Проф. Камен Цачев, дмн
- Доц. Евгений Хаджиев, дм
- Ас. Жулиета Христова-Димитрова, дм
- Доц. Бисера Атанасова, дм
- Ас. Гергана Цветкова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология

**РЕЗУЛТАТИ:** В хода на проекта бяха използвани различни методологични подходи за диагностика на заболяванията мултиплен миелом (ММ) и хронична лимфоцитна левкемия (ХЛЛ), както и оценка на желязния статус при 54 пациенти. Включените пациенти с ММ и ХЛЛ бяха на средна възраст съответно  $44.9 \pm 3.6$  г. и  $51.2 \pm 2.9$  г. Установихме статистически значимо повишено ниво на серумен хепсидин при пациенти с ММ ( $101.4 \mu\text{g/l}$ ) и ХЛЛ ( $89.6 \mu\text{g/l}$ ) спрямо контролната група,  $P < 0.001$ . Серумният маркер за възпаление и цитокин, IL-6 показва статистически значимо повишение при пациенти с ММ ( $3.6 \text{ pg/ml}$ ) и ХЛЛ ( $3.9 \text{ pg/ml}$ ) спрямо включените клинично здрави индивиди,  $P < 0.001$ . Количественото определяне на желязо при пациенти с ММ ( $7.4 \mu\text{mol/l}$ ) и ХЛЛ ( $10.3 \mu\text{mol/l}$ ) показва статистически намалени нива,  $P < 0.001$ . Сирумният феритин при пациенти с ММ ( $125.5 \text{ ng/ml}$ ) и ХЛЛ ( $99.8 \text{ ng/ml}$ ) показва леко увеличение спрямо контролната група,  $P < 0.5$ . Концентрацията на  $\beta_2$ -микроглобулин при пациенти с ММ ( $19.8 \text{ mg/l}$ ) и ХЛЛ ( $11.6 \text{ mg/l}$ ) беше повишена спрямо включената контрола,  $P < 0.001$ . Установихме значителна положителна корелация между серумен хепсидин и феритин при пациентите с ММ ( $r=0.630$ ;  $P < 0.05$ ) и ХЛЛ ( $r=0.874$ ;  $P < 0.5$ ). Корелацията между серумен хепсидин и трансферин при пациенти с ММ ( $r=0.736$ ;  $P < 0.001$ ) и ХЛЛ ( $r=0.819$ ;  $P < 0.001$ ) показва положителна зависимост. Изследваният серумен хепсидин корелираше значително положително с нивата на IL-6 при ММ ( $r=0.613$ ;  $P < 0.001$ ) и ХЛЛ ( $r=0.784$ ;  $P < 0.001$ ) пациенти. Корелацията между серумен хепсидин и  $\beta_2$ -микроглобулин при случаите с ММ ( $r=0.465$ ;  $P < 0.001$ ) и ХЛЛ ( $r = 0.420$ ;  $P < 0.001$ ) показва значителна положителна степен. Серумният хепсидин при ММ ( $r = 0.698$ ;  $P < 0.001$ ) и ХЛЛ ( $r=0.628$ ;  $P < 0.001$ ) корелираше с нивата на разтворими трансферинови рецептори. Установихме статистически значимо повишаване на серумните нива на хепсидин при пациенти с мултиплен миелом и хронична лимфоцитна левкемия. Получените серумни нива на хепсидин се дължат на естеството на съпровождащата анемия при тези заболявания. Инфламаторните стимули водят до увеличаване секрецията на хепсидин. В последните години фокусът на научния интерес е насочен към прилагане на нови терапевтични средства с действие по оста хепсидин-феропортин: те биха могли да инхибират пътищата за синтез на хепсидин (BMP6-HJV-SMAD и IL-6-STAT3) или да стимулират износа чрез феропортин. Подобни терапевтични стратегии биха довели до по-добро управление на нарушенията в разпределянето на желязо и развиващата се в следствие анемия при възпаление.

**Научни публикации и прояви:**

- Велизарова М, Манолов В, Хаджиев Е, и др. Хепсидин и анемия при мултиплен миелом. 10-12.09.2015 г., к.к. Боровец
- Велизарова М, Манолов В, Хаджиев Е, и др. Роля на хепсидина в развитието на анемия при мултиплен миелом. Медицински преглед, 2015;51(5):10-14.
- Manolov V, Hadjiev E, Tzvetkova G, et al. Serum hepcidin levels in multiple myeloma. Clin Lab 2017;63:1273-7.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 22/2015 Използването на молекулярно диагностични техники за определяне на анаеробни причинители, участващи в етиопатогенезата на бактериалната вагиноза**

Водещ изследовател: Доц. д-р Весела Васкова Райкова, дм

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Радослав Байкушев
- Чл. кор. проф. Иван Митов, дм, дбн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** От 234 изследвани жени при 112 (48%) се установиха микроскопски данни за вагинален проблем. От тях при 65 (28%) на базата на направената натривка бяха получени данни за анаеробна инфекция. На тези съмнителни за анаеробна инфекция материали бе проведена ДНК екстракция с последваща полимеразно верижна реакция, за доказване на конкретни анаеробни причинители. Получените резултати бяха, както следва: при 63 от пациентките бе доказано наличието на *G.vaginalis* (96.9%), при 27 (41.5%) - *Atopobium spp.*, при 18 (27.7%) - *Megasphaera typI* и при 15 (23.1%) - BVAB2. При 25 (38%) причинителят бе един. Комбинация от няколко патогена бе доказана при 40 (62%) от пациентките. Оцветяването по Грам е бързо, лесно, достъпно и достатъчно специфичен метод за диагностика на BV. Ограничение на методиката е невъзможността за визуално разграничаване на различните микроорганизми, въввлечени в етиопатогенезата на състоянието. Оценката е субективна, изисква опит и компетентност от наблюдаващия. Молекулярнобиологичният метод PCR позволява чувствително, високо специфично и бързо определяне на бактериите-маркери, характерни за BV. Точното определяне на участващите в синдрома микроорганизми дава възможност за адекватна и пълноценна терапия на засегнатите жени, недопускане развитието на усложнения, хронифициране на състоянието или развитието на рекурентни инфекции.

Научни публикации и прояви:

- Baykushev R, Raykova V, Mitov I. Microscopic and Molecular Genetic Methods in the Detection of Bacterial Vaginosis. Acta Microbiol Bulg 2015;31(1):32-6.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 23/2015 Молекулярно диагностични методи и определяне нивата на проинфламаторни и други цитокини в диагностичния алгоритъм на жени с хронично рецидивираща вулво-вагинална кандидоза**

Водещ изследовател: Чл.- кор. проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн

Членове на изследователския екип:

- Доц. Весела Райкова, дм
- Ас. Радослав Байкушев

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по медицинска микробиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Вулвовагиналната кандидоза е сред основните състояния, водещи до генитален дискомфорт и отклонения във вагиналния секрет. Най-честият етиологичен агент е *Candida albicans*. Все по-често *non-albicans* щамове играят роля в патогенезата на заболяването. Връзката на микотичните агенти и производството на цитокини, стимулирани от тяхното въздействие, не е проучена. Цел на изследването бе определяне честотата на ВВК сред симптоматични жени и нивата на локални проинфламаторни цитокини. Бяха изследвани вагинални секрети от 80 жени с оплакване от дискомфорт в урогениталния тракт. 30 от тях бяха суспектни за

микотична инфекция въз основа на анамнестични и клинични данни. Изготвени бяха по две натривки, наблюдавани нативно и оцветени по Грам. Секретите бяха култивирани на КА и Мак-Конки, Сабуро и Chrom agar. От 30 жени при 21 (70%) бе доказана ВВК, при 6 (20%) – коинфекция микоза с бактериална вагиноза и при 3 (10%) – коинфекция микоза с условнопатогенен микроорганизъм. Чрез тестове за биохимична идентификация и асимилация при 26 (86.7%) от 30-те жени бяха установени *C. albicans*, при 2 (6.7%) – *C. glabrata*, при 1 (3.3%) – *C. krusei* и при 1 (3.3%) – *C. parapsilosis*. На 30 материала бе проведен и PCR. Резултатите бяха съпоставими с тези от конвенционалната микробиология. За определяне нивата на IL-6, IL-8, IL- $\beta$  при различни клинични състояния бяха използвани материали от 80 жени. От тях 20 бяха с доказана ВВК, като установените нива на IL-6 и IL- $\beta$  бяха завишени спрямо контролите, както и спрямо резултатите от нивата на интерлевкините при жените с нормална флора. IL-8 показва завишени стойности спрямо контролите единствено при налична коинфекция с условнопатогенни микроорганизми. Висока е честотата на ВВК сред изследвания контингент. Диагнозата ВВК изисква микробиологично потвърждаване и проследяване. За пръв път в България се провежда изследване нивата на цитокини IL6, IL $\beta$  и IL8 при ВВК. Необходими са допълнителни проучвания за установяване възможността за ползването им като маркери при съответните състояния.

#### Научни публикации и прояви:

- Байкушев Р, В Райкова, И Митов. Честота на ВВК сред симптоматични жени в репродуктивна възраст и определяне нивото на IL 6, IL 1 $\beta$  И IL 8. 14-ти Национален Конгрес по клинична микробиология и инфектология, София, 12-14.05.2016.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 44/2015** Проучване на локалния имунен отговор на организма при нехирургична терапия на хроничен пародонтит

Водещ изследовател: Проф. д-р Христина Лазарова Попова, дм

Членове на изследователския екип:

- Доц. Антоанета Млъчкова
- Ас. Величка Досева-Панова
- Мая Кичева, Проген ООД

Базова организация: МУ-София, ФДМ, Катедра Пародонтология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на изследването бе да се направи оценка на ефективността на нехирургичната терапия на хроничния пародонтит, изразена чрез локалния тъканен отговор (генната експресия на IL-1 $\beta$  и IL-6) при пародонталните места с дълбочина над 7мм. Изследвани са 20 пациента с хроничен пародонтит. В изследването взеха участие 20 пациента с диагноза умерен до тежък генерализиран хроничен пародонтит, отговарящи на критериите за включване в проучването. Средната възраст на участниците в проучването е 47.9 години (12 жени и 8 мъже). Изследваните пародонтални места бяха разпределени в 4 групи (до 3мм, 3-5мм, 5-7мм и над 7мм). В настоящото изследване са установени статистически значими разлики в показателите: HI (хигиенен индекс), WOP (кървене при сондиране), PD до 5 мм, PD 5 до 7 мм, PD > 7 мм. В резултат на проведената терапия (нехирургична) е постигната редукция в броя (изразен в проценти) на пародонталните места с дълбочина на сондиране <7мм и >7мм, и се е увеличил броя на пародонталните места с дълбочина на сондиране 3-5мм. По отношение на получените резултати за St- IL-1 $\beta$  и за St -IL6, както и за Fold change на IL-1 $\beta$  може да се заключи, че се установява статистически достоверна разлика в

стойностите на генната експресия преди и след лечението ( $p=0.08$ ). Наблюдава се редуция в експресията на изследваните медиатори в резултат на приложеното нехирургично лечение при пациентите с хроничен пародонтит. Установена е значима корелация между генната експресия на интерлевкин-6 (изразена като Ct-value) и показателите: кървене при сондиране (ВОР) и пародонтални джобове (PD)5-7мм. Освен това промяната в генната експресия на интерлевкин-6 (изразена като dCt- IL6) корелира с показателя кървене при сондиране, а промяната в генната експресия на интерлевкин-1 $\beta$  (изразена като dCt-IL $\beta$ ) корелира с показателя - пародонтални джобове(PD)5-7мм ( $p<0.05$ ). При изследването се установи статистически значима корелация между генната експресия на IL-1 $\beta$  и генната експресия на IL- 6 ( $p<0.05$ ). Може да се заключи че: При клиничната оценка на ефективността на нехирургичната терапия на хроничния пародонтит са установени статистически значими разлики във всички изследвани клинични параметри ( $P<0.01$ ), което потвърждава литературни данни за ефективност на нехирургичната терапия при хроничен пародонтит. Локалната генна експресия и на двата изследвани цитокина - IL-1 $\beta$  И IL- 6, корелира с дълбочината на пародонталните джобове  $5\leq 7$ мм и  $\geq 7$ мм ( $P<0.05$ ); и с интензитета на генерализираното пародонтално възпаление. Нехирургичната терапия при хроничен пародонтит рефлектира в редуция на основни инфламаторни фактори (IL-1 $\beta$  И IL- 6 ( $P<0.1$ )) в гингивата, прилежаща на дълбоките пародонтални джобове

#### Научни публикации и прояви:

- Mlachkova A, C Popova, V Dosseva-Panova, et al. Effect of periodontal therapy on the local expression of IL-1 $\beta$  and IL-6. 26-th Jubilee Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria (IMAB), 12-15 May 2016, Varna, Bulgaria
- Mlachkova A, C Popova, V Dosseva-Panova, et al. Effectiveness of non-surgical periodontal therapy by gingival expression of IL-1 $\beta$  and IL-6. J of IMAB; 22,(3):1257-60.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 45/2015** Ретроградно ендодонтско лечение след апикална резекция (in vitro изследване)

Водещ изследовател: Проф. д-р Цонко Тодоров Узунов, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Елка Радева
- Проф. инж. Генчо Генчев
- Д-р Иван Иванов

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, Катедра по Консервативно зъболечение

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящия проект е да се изследва кореновата повърхност и апикалната проницаемост след резекция на кореновия връх (със и без ретроградно obtуриране). Настоящото изследване е проведено на екстрахирани човешки зъби – еднокоренови, едноканални, без наличие на калцификати в кореновите канали. След обработка и запълване на кореновите канали е направена апикална резекция на 3 мм от кореновия връх. Използвани са рентгенографски методи за контрол на херметичното obtуриране на кореновите канали. За изследване на микропроницаемостта в апикалната част след резекция е използван методът на пенетрация на багрило-2% метиленово синьо. За оценка на маргиналната адаптация на материалите Total Fill BC Sealer, МТА Fillapex, цинк-фосфатен цимент, Biodentin и МТА е използван сканиращ електронно микроскопски метод. Статистически методи са използвани за обработка на получените резултати. При сравнение на микропроницаемостта след резекция на кореновия връх на

два биокерамични силъра без ретроградно obtуриране-Total Fill BC Sealer и MTA Fillapex, и два материала за ретроградно obtуриране-MTA и Biodentine, чрез използване метода на пенетрация на багрило-2% метиленово синьо се установи по-висока средна аритметична стойност при Total Fill BC Sealer-2,01 mm; спрямо групите с ретроградно obtуриране с MTA-0,68 mm и Biodentin-0,51 mm; и е без статистически значима разлика с групата obtуриране на кореновия канал с MTA Fillapex – 1,76 mm. При изследване на маргиналната адаптация на апикалната коренова повърхност чрез СЕМ след резекция на кореновия връх и запълване на кореновите канали с Total Fill BC Sealer, MTA Fillapex, цинк-фосфатен цимент (Adhesor) без ретроградно запълване, и два материала за ретроградно запълване след апикална резекция - Biodentin и MTA се достигна до следните резултати: с най-висока стойност е средната аритметична на Adhesor – 25,17  $\mu\text{m}$  и най-ниска – MTA Fillapex – 3,17  $\mu\text{m}$ . В групите с ретроградно obtуриране (MTA и Biodentine) се установява статистически значима разлика в размера на процепа между материала и дентина: при MTA – 1,72  $\mu\text{m}$  и 1,08  $\mu\text{m}$  при Biodentin. При резекция на кореновия връх с лазер и турбина и ретроградно obtуриране, в групата с апикална резекция с турбина се установява статистически значима разлика в размера на процепа между материала и дентина: при MTA – 1,72  $\mu\text{m}$ , докато при Biodentine – 1,08  $\mu\text{m}$ . В групата с апикална резекция с Er:YAG лазер няма статистически достоверна разлика между размера на процепа между материала и дентина: при MTA – 1,88  $\mu\text{m}$ , а за Biodentine - 1,32  $\mu\text{m}$ . При четирите използвани материала се наблюдава микропроницаемост на багрилото в различна степен. В групите след апикална резекция без ретроградно obtуриране се установи статистически значима разлика в размера на процепа между материала и дентина и при трите вида материали. Следователно ретроградно obtуриране с Biodentin и MTA след апикална резекция е предпоставка за успешно апикално запечатване.

#### Научни публикации и прояви:

- Ivanov I, Radeva E, Uzunov Ts. Endodontic surgical treatment: A literature review. Int J Sci Res Publ. 2015;5(10):1-5.
- Radeva E, Usunov Ts, Ivanov I, Genchev G. Apical microleakage of four materials after root end resection (in vitro study). Acta Medica 2016;XLIII(2):61-7.
- Radeva E, Usunov Ts, Ivanov I, Genchev G. In vitro study of root-end marginal adaptation of five different sealers using scanning electron microscopy. 21<sup>st</sup> Congress of BaSS, Banja Luka, B&H, 12-15 May 2016
- Радева Е, Узунов Ц, Иванов И, Генчев Г. Апикална микропроницаемост на четири материала след апикална резекция (in vitro изследване). 16ти научен конгрес на БЗС, Бургас, 9-11 юни 2016

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 46/2015 Приложение на озона при лечение на зъбен кариес**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Снежанка Запринова Топалова-Пиринска, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Жанет Николова, дм
- Доц. Росица Вачева-Добревска, дм

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, Катедра „Консервативно зъболечение”

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел: да се определи антибактериалното действие на озона върху кариесогенните микроорганизми на кариес-активни индивиди и ефекта на озонирането върху затворени „сандвич” obtурации. В клинично изследване са обхванати 16 пациенти с апроксимални кариозни лезии на дъвкателните зъби. Двукратно се взема

материал от кариозно огнище за микробиологично изследване преди и след озониране за 24 секунди. Допълнително е извършено десеткратно озониране за 6 секунди по 2 пъти седмично. Установява се мултимикробна микрофлора с превалиране на микроорганизми от групата на оралните стрептококи (90,90%): *Streptococcus anginosus* в 40,90%, *Streptococcus mutans* в 18,18%, *Streptococcus mitis* в 22,73% *Candida albicans* в 36,36%, *Enterococcus faecalis* в 22,72% от изследваните кариозни лезии. Аплицирането на озон за 24 секунди деконтаминира почистения дентин на дълбоки апроксимални кариозни лезии. Озонът е ефективно антибактериално средство за обработка на дентина преди obtуриране на зъбите. Изследвано *in vitro* е микропросмукването около стандартизирани апроксимални кавитети, които се различават по: 1) консистенцията, дебелината на слоя и мястото на апликация на модифициран с пластмаса глас-йономерен цимент (МПГЙЦ) под нанокомпозитна obtурация; 2) аплицирането на озон преди obtуриране. При условията на проведеното изследване се установява, че консистенцията на подготвения МПГЙЦ, дебелината и местоположението на аплицирания слой влияят върху степента на микропросмукване около композитни obtурации. Просмукването се ограничава, когато МПГЙЦ е нанесен като лайнер в тънък пласт. Микропросмукването се увеличава при поставяне на по-дебел слой от същия материал. Мястото на апликация на МПГЙЦ също е определящо за микропросмукването. Когато МПГЙЦ е нанесен по аксиалната стена се установява по-малко микропросмукване в сравнение със случаите, при които е аплициран, както върху аксиалната стена, така и върху гингивалната основа. Не се констатира сигнификантна разлика в микропросмукването около кавитетите, които са озонирани 24 секунди преди изработването на „сандвич“ obtурации с лайнер МПГЙЦ по аксиалните стени и нанокомпозит от една страна, и от друга страна - obtурираните по същия начин кавитети без предварително озониране.

#### Научни публикации и прояви:

- Топалова-Пиринска С, Кирилова Ж. Озонотерапия в денталната медицина. Част I. Свойства, механизъм на действие и приложение на озона в медицината. Дентална медицина. 2015;97(2):171-5.
- Топалова-Пиринска С, Кирилова Ж. Озонотерапия в денталната медицина. Част III: Лечение на дентални и орални заболявания. Дентална медицина. 2016;98(1) (под печат)
- Kirilova J, Topalova-Pirinska S, Kirov D. Microleakage in class II nanocomposite restorations with different adhesive liners – *in vitro* investigation. 21<sup>st</sup> Congress of BaSS, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, 12-15<sup>th</sup> of May 2016

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 47/2015 Травми на зъбите в детска възраст - създаване на интерактивно софтуерно ръководство за диагностика и лечение**

Водещ изследовател: Проф. Росица Илиева Кабакчиева, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Наталия Гатева, доктор
- Радой Димитров, студент
- Д-р Явор Коев

Базова организация: МУ-София, ФДМ, Катедра по детска дентална медицина

**РЕЗУЛТАТИ:** Създаденото софтуерно ръководство включва 15 нозологични единици по класификацията на денталните травми за временните зъби и 14 нозологични единици по класификацията на денталните травми за постоянните зъби

(Травми на пародонталните тъкани и Наранявания на твърдите зъбни структури) като представя тяхната патология, диагностични критерии, принципи на лечение, инструкции за пациента, проследяване и прогноза, представени в текст, схеми, фотоснимки и рентгенографии. Специална част на ръководството са представените реални клинични случаи, тяхното лечение и проследяване, общо 67 случая. Клиничните случаи са допълнени с тестови въпроси за самооценка. Интерактивното ръководството е предназначено за самоподготовка на студентите, специализантите, преподаватели и лекари по дентална медицина.

**Научни публикации и прояви:**

- Кабакчиева Р, Гатева Н, Димитров Р, и др. Avulsio и реплантация на постоянни детски зъби – избрана част от интерактивно софтуерно ръководство, 16ти научен конгрес на БЗС, Бургас, България, 9-11 юни 2016
- Kabaktchieva R, Gateva N, Gusiyska A, et al. Dental care for children after replantation of avulsed permanent incisors. JIMAB 2016;22(4):1392-402.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 51/2015 Оценка на възпалението и оксидативния стрес при обструктивна коронарна болест и малкосъдова болест**

Водещ изследовател: Проф. д-р Добрин Аврамов Свиначков, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Добрин Василев, дм
- Ас. Зоя Васкова
- Гл. ас. Жейна Чернева, дм
- Ас. Лилия Владимировна
- Ас. Любомир Досев
- Ас. Ралица Панчева
- Гл. ас. Аделина Цакова
- Доц. Валентин Лозанов, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, УМБАЛ „Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани са 90 пациенти – 25 с обструктивна коронарна болест; 30 – с микроваскуларна, 35 здрави пациенти. При всички са изследвани възпалителни маркери - плазмена концентрация на hsCRP и резистин и маркери за оксидативен стрес - уринна концентрация на 8-изопростани. Маркерите за оксидативен стрес (8-изопростани) се различават статистически между пациентите с обструктивна коронарна болест и с микроваскуларна болест ( $p=0,028$ ); между тези с обструктивна коронарна болест и здрави контроли ( $p=0,041$ ); както и между пациентите с микроваскуларна болест и здрави контроли ( $p=0,001$ ). При пациентите с микроваскуларна болест са измерени най-високи стойности – 0,52 pg/mkmol/lCre. За разлика от тях, маркерите за възпаление [(hsCRP ( $p=0,091$ ) и резистин ( $p=0,32$ ))] не се различават съществено при пациентите с микроваскуларна и обструктивна коронарна болест. Възпалението (hsCRP, резистин) и оксидативният стрес (8-изопростани) са маркери в патогенезата както на микроваскуларната, така и на обструктивната коронарна болест. Оксидативният стрес, обаче, изглежда е с по-важна роля за МВБ (най-високи стойности на 8-изопростани). Те биха могли да бъдат част от панел от показатели в диагнозата на микроваскуларната болест. Не се установява статистически значима разлика по отношение на възпалителните маркери (hsCRP, резистин) и оксидативния стрес (8-



изопростани) между групите със и без субклинична левокамерна дисфункция (GLS) както при пациенти с обструктивна, така и при тези с микроваскуларна болест. Това показва, че 8-изопростани, hs CRP и резистинът не се асоциират със субклинична левокамерна дисфункция при тези пациенти.

#### Научни публикации и прояви:

- Чернева Ж, Р Чернева, А Цакова, и др. Клинична оценка на маркерите за възпаление и оксидативен стрес в патогенезата на микроваскуларната болест. Българска кардиология 2016, XXII(3):60-4.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 52/2015** Проучване на честотата и големината на перипроцедурната мионекроза след перкутанна коронарна интервенция, възможността за предсказването и чрез интракоронарна електрокардиография и корелация с миокардна контрастна ехокардиография и миокардни деформационни параметри

Водещ изследовател: Проф. д-р Румяна Събчева Търновска-Къдрева, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Добрин Василев, дм
- Доц. Кирил Карамфилов, дм
- Гл. ас. Зоя Васкова
- Ас. Жейна Чернева, дм
- Ас. Лилия Владимирова
- Ас. Любомир Досев
- Ас. Ралица Панчева

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КВБ, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, Клиника по кардиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Комплексните перкутанни коронарни интервенции (ПКИ) представляват проблем пред съвременната практика. Елевацията на ST–сегмента (STE) при интракоронарната електрокардиограма (ИКЕКГ) е сензитивен белег за регионална исхемия, а резидуалната - за постпроцедурна мионекроза. Оценката на перфузията при миокардна контрастна ехокардиография (МКЕ) позволява корелация на мионекрозата и микросъдовото засягане. Сензитивен параметър за исхемия е глобалният лонгитудинален систолен strain (GLS). Включени са 14 пациенти, средната възраст  $60 \pm 6,3$  г., 11 (78,5%) мъже. След пласиране на коронарен водач е направен начален запис на ИКЕКГ в таргетния съд и разклоненията с референтен диаметър над 1 мм и финални записи от всички дистални разклонения. На 1 и 24 час след ПКИ са изследвани левокамерните обеми, фракция на изтласкване (ФИ), сегментната кинетика, диастолна функция, GLS и МКЕ с CSI (contrast score index) и относителната дължина на контрастния дефект (CDL%). ПКИ на LAD е проведена при 7 пациенти (50%), RCA при 6(42.8%), RCx при 3(21.4%), D1 при 1(7,1%), >1 съд при 2(14,3%) при едноклонова при 7(50%), двуклонова при 4(28.6%), триклонова коронарна болест при 3 пациента(21.4%). В края на процедурата при 6 пациента (42,8%) се наблюдават сигнификантни ST-промени, при 2 (33,3%) от тях се регистрира STE. При МКЕ са анализирани 68 от 76 сегмента (90%), средно 5.4/пациент. Ехокардиографските данни са съответно: ФИ  $48.5 \pm 15.6\%$ , CSI  $1,46 \pm 0,45$ ; CDL%  $12,2 \pm 4,9$ ; GLS %  $-18,6 \pm 2,4$  и ФИ  $49.2 \pm 17.4\%$ ; CSI  $1,52 \pm 0,54$ ; CDL%  $10,4 \pm 5,2$ ; GLS %  $-19,4 \pm 2,8$ . Предпроцедурно високосензитивният тропонин Т (hsTnT) е повишен при 9 (56,2%) пациенти ( $0,044 \pm 0.04$  ng/ml).

Постпроцедурно при 5 (35,7%) hsTnT е повишен петкратно над горната референтна граница (0,014 ng/ml), средната стойност на разликата с максималната стойност -  $0,383 \pm 0,254$  ng/ml. При 9 пациенти (56,3%) разликата е  $0,054 \pm 0,09$  ng/ml. Броят на изследваните пациенти не позволява статистически анализ с категорична сигнификантност. Настоящото изследване показва, че интегрален подход с включаване на данните от МКЕ, ИКЕКГ, GLS и биомаркери биха позволили анализ на факторите за перипроцедурна мионекроза при комплексни ПКИ. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 53/2015 Multiplex Real Time PCR при диагностика на едни от най-честите полово предавани бактериални инфекции при жени в репродуктивна възраст**

**Водещ изследовател:** Доц.д-р Георги Петков Пехливанов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Любка Стоянова-Митева, дм
- Доц. Весела Райкова, дм
- Д-р Гургана Манолова-Георгиева

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по кожни и венерически болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на настоящето проучване бе определяне достоверността и възможността за практическо приложение на два кита, използващи multiplex RT PCR методиката за доказване на *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Mycoplasma genitalium*; както и на *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma*; в клинични материали от симптоматични пациентки. Общо 139 влагалищни/цервикални секрета бяха проучени в рамките на 12 месечен период. *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *M. hominis* и *Ureaplasma* бяха доказани чрез приложението на конвенционални методи, сравнени с multiplex RT PCR. Честотата на различните бактериални причинители, установена чрез multiplex RT PCR бе както следва: *C. trachomatis* в 8 секрета (5,76%), *N. gonorrhoeae* – в 2 (1,44%), *M. genitalium* – в 1 (0,72%), *M. hominis* – в 9 (6,47%) и *Ureaplasma* – в 56 (40,29%). Ко-инфекции с 2 от изследваните микроорганизми бяха доказани в 10 материала (7,2%), а с 3 микроорганизма – в един материал. Multiplex RT PCR демонстрира по-висока чувствителност и специфичност в сравнение с останалите приложени методики за доказване на съответните бактериални причинители на СПИ (сексуално преносими инфекции) – клетъчно култивиране с последваща имунофлуоресценция за откриване на хламидии, култивиране на модифицирана среда Thayer Martin за гонококи и търговския кит Mycofast Evolution за откриване на *Ureaplasma* и *M. hominis* в генитални материали. Multiplex RT PCR е по-високо специфичен и чувствителен метод за диагностика на трудно култивируеми сексуално преносими причинители на бактериални инфекции, сравнено с най-често приложимите методики за доказване на тези агенти в рутинната лабораторна практика. Простотата му на изпълнение, както и бързината на протичане на реакцията, освен високата специфичност и чувствителност, позволяват приложението му в практиката и определят възможността за по-бързо поставяне на точна етиологична диагноза и започване на навременно и правилно лечение при изследваните пациенти.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 54/2015 Th17 лимфоцитна субпопулация и витамин Д при детска астма**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Пенка Илиева Переновска, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Доброслав Кюркчиев, дмн
- Гл. ас. Гергана Стоянова, дм
- Снежина Лазова, докторант
- Ас. Цветелина Великова, дм
- Ас. Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Калина Тумангелова-Юзеир, дм
- Петър Великов, студент

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по педиатрия, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, Клиника по педиатрия

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвахме 32 деца на средна възраст  $10 \pm 3$  г. (от 4 до 17 г.), разпределени в следните групи: с бронхиална астма ( $n=20$ ), муковисцидоза ( $n=12$ ) и здрави деца ( $n=10$ ), за процент Th17 лимфоцитна субпопулация в периферна кръв чрез флоуцитометрия (комбинацията от 4 моноклонални антители: anti-CD3-FITC, anti-CD4-PerCP, anti-CD161-Alexa, anti-CCR6-PE) и концентрация на IL-17A (pg/ml) в серум чрез ELISA. Пациентите с бронхиална астма имаха значимо по-висок процент на Th17 лимфоцитите ( $10.40 \pm 1.16$ ) в сравнение с децата с муковисцидоза ( $7.64 \pm 0.87$ ) ( $p=0.0035$  Man Whitney, ANOVA) и спрямо здравите деца ( $7.25 \pm 0.45$ ) ( $p<0.05$ ). Не установихме значима разлика между процента на Th17 лимфоцитите при деца с муковисцидоза и здрави деца ( $p<0.05$ ), нито значима корелация между нивата на Th17 лимфоцитите в периферна кръв и съответната концентрация на IL-17 в серума ( $p>0.05$ ). Не установихме значими разлики в серумните концентрации на IL-17 при различните групи деца ( $p>0.05$ ). При разделяне на групата с астма съобразно контрола и клиничния ход на заболяването установихме значително по-високи стойности на Th17 при пациентите с лош контрол и чести екзацербации, налагащи болнично лечение в сравнение с децата с добър контрол (без екзацербации през последната година) ( $p=0.03$  ANOVA). При разделяне на пациентите според контрола на две подгрупи и сравнението им по между им и с групата на децата с муковисцидоза се установи, че пациентите с добър контрол на бронхиалната астма имат стойности на Th17 по-близко до децата с муковисцидоза ( $p=0.98$ ), отколкото до децата с лош контрол на астмата ( $p=0.000$ ) (post hoc, Bonferroni correction). В заключение броят на Th17 клетки е значително повишен при пациенти с лошо контролирана бронхиална астма и тези пациенти биха били кандидати за бъдеща таргетна терапия.

**Научни публикации и прояви:**

- Лазова С, Великова Ц, Петрова Г, и др. Имунологични аспекти на детските белодробни заболявания. МедИнфо. 2016;08:22-24.
- Лазова С, Великова Ц, Петрова Г, и др. Имунологичното лице на детската астма. Детски и инфекциозни болести. 2016;VIII(1):8-15.
- Лазова С, Петрова Г, Переновска П, и др. Th17 лимфоцити при деца с хронични белодробни заболявания. XVII-та конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие, Сл. бряг, 21-23 май 2016, стр. 36.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 55/2015** Роля на промоторно хиперметиране в гена CD3Z за етиологията и патогенезата на дерматомиозита

Водещ изследовател: Доц. д-р Любомир Асенов Дурмишев, дм

Членове на изследователския екип:

- Доц. Радка Кънева, дб
- Зорница Каменарска, дф
- Мария Христова, дм
- Гюлнас Джебир
- Иван Попов

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по дерматология и венерология, УМБАЛ „Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** Установена е намалената експресия на  $\zeta$  верига TCR при няколко аутоимунни и възпалителни заболявания. Последните данни показват, че този дефицит може да се дължи както на полиморфизми в гена CD247, така и на промоторно хиперметиране.

Бяха изследвани 28 пациента с дерматомиозит у възрастни и 12 здрави контроли. За анализиране на промоторното метилиране в CD247 гена беше използван метил-специфичен PCR (MSP) на бисулфитно обработена ДНК с последващо директно секвениране. Бяха изследвани 11 CpG острова. Седем от изследваните острова са хемиметиларани при всички изследвани пациенти, а 3 са хомо (изцяло) метиларани. Само един остров (8-ми CpG остров) паказа разлика в статуса си на метилиране. Откритият полиморфизъм в rs840015 G/A в рамките на 8-ми CpG остров установихме, че оказва влияние върху метилирането, като генотипът AA води до 0% от метилиране и вероятно има защитен ефект за развитието на болестта.

**Научни публикации и прояви:**

- Dourmishev L, Hristova M, Kamenarska Z et al. Role of CD247 polymorphisms in dermatomyositis and systemic lupus erythematosus. 13th EADV Spring symposium, Athens, Greece, 19<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> May, 2016

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 57/2015** Нива на 25-хидрокси витамин Д в серум при деца с рецидивиращи вирус-индуцирани бронхообструктивни прояви

Водещ изследовател: Доц. д-р Иванка Огнянова Галева, дм

Членове на изследователския екип:

- Сирма Димитрова, дм
- Д-р Милена Иванова-Кръстанова
- Гл. ас. Снежана Кандиларова дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по педиатрия, УМБАЛ „Александровска”

**РЕЗУЛТАТИ:** През последните години редица епидемиологични проучвания асоциират ниските нива на 25 хидроксивитамин Д (25(OH)D) с повишена възприемчивост към респираторни инфекции и по-чести екзацербации при астматици. Цел: да се оцени зависимостта между серумното ниво на 25(OH)D и риска от ранна изява и персистиране на бронхообструктивните прояви до 5 годишна възраст. Представяме пилотно проспективно проучване обхващащо 129 деца на възраст от 3 до 36 м. (средна възраст 14,4 ± 8,8м.) хоспитализирани по повод остър епизод на бронхиална обструкция (за периода м.май 2012-м.юни 2013г.) в Клиника по педиатрия,

Александровска болница и проследени до 5 годишна възраст. Витамин Д дефицит (25(ОН)D <20 ng/ml) бе установен при 28 деца (22%), с недостиг (25(ОН)D 21-29 ng/ml) бяха 63 (49%) и нормални нива (25(ОН)D >30 ng/ml) при 38 (29%) от пациентите. Средната серумна концентрация на 25(ОН)D при децата с един епизод на бронхиална обструкция беше  $24,19 \pm 11,32$  ng/ml и респективно  $27,14 \pm 9,78$  в групата с рецидивиращи бронхообструктивни прояви. Не бе установена зависимост между ниските нива на 25(ОН)D и тежестта на клиничната изява, атопичният терен, поредността на пристъпа и риска от персистиране на симптоматиката за периода на проследяване. Нашите данни потвърдиха корелацията между дефицита на серумен 25(ОН)D (< 20 ng/ml) и ранната изява на бронхиална обструкция: възраст на първи пристъп - 8,75 м. при децата с дефицит на 25(ОН)D, 8,24 м. при стойности на 25(ОН)D между 21 и 29 ng/ml и 10,95 м. сред децата с нормална серумна концентрация на 25(ОН)D, ( $p=0,01$ ). Настоящото проучване демонстрира зависимост между статуса на витамин Д и възрастта на изява на бронхообструктивните прояви, но не и с персистиране на симптоматиката.

#### Научни публикации и прояви:

- С Милева, М Янкова, И Галева. Ролята на витамин Д при детската астма. MEDICAL Magazine 2015;21:26-8
- Милева С, М Янкова, И Галева, и др. Серумни нива на 25 хидроксивитамин Д при деца с рецидивиращи бронхообструктивни прояви. XVII-та национална конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие. Слънчев бряг, 21-23 май 2016г
- Mileva S, Yankova M, Galeva I, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in Bulgarian children with wheezing. EAACI Congress 2016, Vienna, Austria, 11 - 16 Jun 2016

Научният отчет е приет с *ДОБРА* оценка по скалата на СМН.

### **Договор 58/2015 Клинична корелация между хормоналния статус, функцията на автономната нервна система и прага на болката при пациенти с фибромиалгия**

Водещ изследовател: Проф. д-р Рашо Колев Рашков, дмн

#### Членове на изследователския екип:

- Валентина Решкова, дм
- Проф. Здравко Каменов, дмн
- Антоанета Гатева, дм
- Десислава Калинова, дм
- Д-р Аделина Цакова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КВБ, УМБАЛ”Св. Иван Рилски”, Клиника по ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** Извършено е проспективно проучване при болни с фибромиалгия за периода септември 2015 - юли 2016 година. Участват 41 болни с ФМ, на средна възраст  $46.1 \pm 10.5$  години. диагностицирани въз основа на критериите на Американския колеж по ревматология 1990 и 2010 г. Установи се, се общо 32,3 % са с променена функция на щитовидната жлеза –51,9% са с автоимунен тиреоидит, 3,7% са с Базедова болест, 14,7% са с нодозна струма. По-ниски нива на серумния кортизол има при автоимунен тиреоидит, отколкото болните без автоимунен тиреоидит ( $437.2 \pm 162.4$  спрямо  $579.9 \pm 140.2$ ;  $p=0.043$ ). Установи се значима разлика в скората за автономна невропатия

( $4.4 \pm 1.6$  спрямо  $3.1 \pm 1.2$ ;  $p=0.006$ ) при болни с различен тиреоиден статус:  $3.1 \pm 1.3$  при еутиреоидните,  $4.5 \pm 1.9$  при жените с медикаментозно компенсирани хипотиреоидизъм,  $5.0 \pm 1.2$  при тези с декомпенсиран хипотиреоидизъм;  $p=0.031$ . В хода на изследването заместително лечение с левотироксин получиха 19.4% от жените. Няма статистически значима връзка между естрадиол, АСТН, кортизол и автономната невропатия при фибромиалгия и между хормоналния статус и прага на болка, MFIS, FIQ, тревожност и депресия по HADS. Достоверна разлика между двете групи при фибромиалгия - изследваните жени в менопауза и пременопаузални жени има в общото състояние на фибромиалгията, оценено по VAS. Изводи: Оценката на тиреоидния статус на при болните е важна при па фибромиалгия. Разликата в концентрация на серумния кортизол при болни с и без автоимунен тиреоидит не оказва достоверно влияние върху болката, клиничните прояви и качеството на живот при фибромиалгия. Концентрацията на TSH има достоверно значение за функцията на автономната нервна система при болни с фибромиалгия. Хормоналният статус показва наличие на частично влияние около 30 % върху обобщения показател за психическо здраве (MCS) при болни с фибромиалгия. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 59/2015 Оптимизиране имунологичната диагностика при различните форми на прогресивна системна склероза чрез изследване на широк набор от автоантитела**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Доброслав Станимиров Кюркчиев, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Рашо Рашков, дмн
- Ас. Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Ас. Десислава Калинова, дм
- Ас. Валентина Решкова, дм
- Ас. Цветелина Великова, дм
- Калина Тумангелова-Юзеир, дм
- Александър Копчев, докторант
- Екатерина Куртева, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвахме 40 пациента, диагностицирани съобразно ACR критерии за прогресивна системна склероза (ПСС) на средна възраст  $50 \pm 13$  (25 - 73) години, от които 36 (90 %) бяха жени и 4 (10 %) – мъже. Серумите на пациентите бяха тествани чрез индиректна имуофлуоресценция на HEp-2 клетки за наличие на антинуклеарни антитела (ANA) и чрез имуоблот за наличие на склеродерма-специфични антитела (At) срещу Scl-70, CENP A, CENP B, RNAP-III (11kDa), RNAP-III (155 kDa), Fibrillarin (U3-RNP), NOR90, Th/To, PM/Scl-100, PM/Scl-75, Ku, PDGFR и Ro52. При 38 от пациентите наблюдавахме положителен резултат (титър  $\geq 1:80$ ) за наличие на ANA, като при 30 от тях се наблюдаваше специфичен флуоресцентен образ при висок титър на серумно разреждане (титър  $\geq 1:640$ ). При 9 от пробите флуоресцентният образ бе типичен за анти-CENP At, като тези At се позитивираха и на имуоблот. 8 от тях бяха положителни едновременно за CENP-A и CENP-B At. 11 проби (27.5%), изследвани чрез индиректна имуофлуоресценция демонстрираха типично, макар и неспецифично светене, като тези проби се позитивираха за анти-Scl-70 At на имуоблот. Останалите At бяха с честота както следва: 12.5% положителни за анти-RNAP-III (11) At, 40% – за

анти-RNAP-III (155) Ат, 12.5% – за анти-U3RNP Ат, 10% – за анти-NOR90 Ат, 22.5% – за анти-Th/To Ат, 2.5% – за анти-PM/Scl-100 Ат и 12.5% – за анти-PM/Scl-75 Ат, 20% – за анти-Ro52 антитела. При 2-ма от пациентите анти-Ro52 са единствените позитивирани Ат на имуоблот. Анти-PDGFR Ат не се позитивираха при нито един от изследваните пациенти. При 6 от пациентите, изследвани за склеродерма-специфични Ат, не се позитивира нито едно от 13-те Ат, а при останалите 34 души поне едно от Ат бе положително. При 21 пациента наблюдавахме наличие едновременно на 3 или повече Ат. Използването на индиректната имуофлуоресценция и внедряването на широк панел от склеродерма-свързани антитела в рутинна практика би улеснило диагностицирането на системната склероза, както и създаването на алгоритъм за изследване на антителата сред болни със склеродермия.

#### Научни публикации и прояви:

- Krasimirova E, Kalinova D, Velikova Ts, et al. New approaches for immunological testing of patients with Systemic sclerosis. VII-ма Работна среща "Експериментални модели и методи в биомедицинските изследвания", проведена в Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей - БАН, 16-18 май 2016 г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 60/2015 Реактивирание на HBV при пациенти с ревматоиден артрит и анкилозираш спондилит и участието на парвовирус В19 в патогенезата на тези заболявания**

**Водещ изследовател:** Проф. Румен Малинов Стоилов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Мариана Гойчева, дм
- Ас. Николай Стоилов, МФ
- Д-р Ивелина Жекова
- Проф. Павел Теохаров, дмн, НЦЗПБ
- Гл. ас. Елица Голкочева-Маркова, дб, НЦЗПБ
- Гл. ас. Стефка Иванова, дб, НЦЗПБ
- Доц. Зефира Михнева, дм, НЦЗПБ

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КВБ, УМБАЛ „Св. Ив. Рилски”, Клиника по ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** В проучването бяха включени 70 болни: 33 (47%) са с диагноза АС, и 37 (53%) – с РА, като болните бяха на лечение със Sulfasalazine или TNF - инхибитор. При 12 пациента е осъществено проследяване в две до три серумни проби през интервал от 1 до 6 месеца. При 4 (6%) от пациентите е доказано наличие на HBsAg, съответно при 2 с АС и при 2 с РА. Антитела срещу HBc антигена са доказани при 23 (33%) от изследваните пациенти: при 14 с АС и при 9 с РА. От 4 (6%) пациенти с доказан хроничен HBV (анти-HBc IgG и HBsAg положителни) при 2 се доказва и наличие на HBV ДНК с концентрация съответно 31IU/ml и 300IU/ml. От 12 проследени пациенти 6 са отрицателни по отношение на всички HBV маркери, 4 са положителни за анти-HBc IgG, 1 е едновременно положителен за анти-HBc IgG и HBsAg, и 1 пациент е с отрицателни серологични показатели, но е положителен за HBV ДНК. При нито един от пациентите не е установена промяна в HBV статус. Черидесет серумни проби: 15 с АС и 25 с РА, бяха тествани и за наличие на В19-IgG и - IgM, както и за вирусна В19 ДНК. Положителни за протективни В19-IgG антитела са 20 (50%) от пациентите, като

по отношение на поставената диагноза разпределението на положителните проби е равномерно. По отношение на настояща В19 вирусна инфекция В19 IgM антитела са доказани при 3 (8%) от пациентите, като 1 е с диагноза АС, а 2 – с РА. Едновременната детекция на двата класа В19 антитела се установява при 2 от 40 (5%) изследвани пациенти. При 5 (13%) от пациентите, 2 с диагноза АС и 3 – с РА се доказва наличие на В19 вирусна ДНК.

#### Научни публикации и прояви:

- Ivanova S, E Golkocheva-Markova, M Ivanova, et al. Serological parvovirus B19 screening of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. J BioSci Biotechnol 2015
- Golkocheva-Markova E, S Ivanova, M Ivanova, et al. Prevalence of hepatitis B markers among patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. J BioSci Biotechnol 2015
- Golkocheva-Markova E, M Ivanova, S Ivanova, et al. Preliminary screening for hepatitis B virus in treated patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and review on the literature. Proceedings of the 6th Workshop on Experimental Models and Methods in Biomedical Research, May 12-14, 2015, Sofia, Bulgaria
- Golkocheva-Markova E, M Ivanova, S Ivanova, et al. Preliminary screening for hepatitis B virus in treated patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and review on the literature. Proceedings of the Sixth Workshop on Experimental Models and Methods in Biomedical Research, May 12-14, 2015, Sofia, Bulgaria

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 61/2015 Нови диагностични и прогностични биомаркери при ревматоиден артрит**

Водещ изследовател: доц. Симеон Валентинов Монов, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Доброслав Кюркчиев, дм
- Гл. ас. Руска Шумналиева, дм
- Д-р Цветелина Великова, дм
- Дарина Качакова, дб
- Д-р Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Калина Тумангелова-Юзеир, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КВБ, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“

**РЕЗУЛТАТИ:** Средните серумни концентрации на калпротектина са по-високи при пациентите с РА в сравнение с тези с ОА (344,25 ng/ml и 209,33 ng/ml,  $p=0.002$ ) и здравите лица (188.13 ng/ml,  $p=0.000$ ). В групата на пациентите с РА локалните нива на калпротектина са по-високи от системните (584.25 срещу 344.25,  $p=0.000$ ), като между тях се установи умерена корелация ( $r=0.595$ ,  $p=0.006$ ). Локалните нива на IL-17A при болни от РА са по-високи в сравнение със системните, като анализът на ROC показва площ под кривата (AUC) = 0.885 (95% CI [0.775 ÷ 0.995],  $p<0.001$ ). Не се установява статистически значима разлика в серумната концентрация на IL-17A при болни от РА спрямо болни от ОА или здрави контроли ( $p > 0.05$ ). Установи се по-ниска концентрация на витамин Д в серума на болни от ОА в сравнение с РА ( $p=0.001$ ). Нивата на калпротектин показват асоциация с давност на заболяването над 6 месеца; с



наличието на положителен RF тип IgG и IgA; с леката синовиалната хипертрофия ( $p = 0.025$ ). Серумната концентрация на IL-17A при РА е по-висока при болни с лека болестна активност, измерена чрез DAS28 и SDAI. Употребата на кортикостероиди води до намаляване нивата на калпротектина както в серума (382.86 и 254.00 ng/ml,  $p = 0.027$ ), така и в синовиалната течност (663.57 и 399.17 ng/ml,  $p = 0.002$ ). Системната и локална концентрация на калпротектин корелира с показателите за болестна активност при РА, което прави калпротектин обещаващ и потенциално по-чувствителен биомаркер за болестна активност. Локалната дисрегулация в нивата на IL-17A в сравнение със системните нива показва, че IL-17A би могъл да се използва като биомаркер при проследяване на болните от РА, дори в случаите на субклинична болестна активност.

#### Научни публикации и прояви:

- Shumnalieva R, T Velikova, D Kachakova, et al. Serum and synovial concentration of calprotectin in rheumatoid arthritis patients, EWRR 2017, Athens, 2-4 March, 2017
- Shumnalieva R, T Velikova, D Kachakova, et al. Serum and synovial concentration of IL-17A in rheumatoid arthritis patients, EWRR 2017, Athens, 2-4 Mar, 2017
- Великова Ц, Шумналиева Р, Качакова Д, и др. Системната и локална концентрация на калпротектин корелира с клинични, имунологични и инструментални белези за активност при ревматоидния артрит, Национална конференция по ревматология, 11 – 14 Май 2017, гр. Ахелой
- Шумналиева Р, Великова Ц, Качакова Д, и др. IL-17A - обещаващ биомаркер за болестна активност при болни от ревматоиден артрит и остеоартроза, Национална конференция по ревматология, 11 – 14 Май 2017, гр. Ахелой

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН..

### **Договор 62/2015** Експресионен анализ на микроРибонуклеинови киселини в серум и определяне на диагностичната и прогностичната им стойност при пациенти с прогресивна системна склероза

Водещ изследовател: Проф. Златимир Господинов Коларов, дмн

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Симеон Монов, дм
- Гл. ас. Руска Шумналиева, дм
- Д-р Росица Дачева
- Доц. Радка Кънева, дб
- Дарина Качакова, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Вътрешни Болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ - ЕАД, Клиника по Ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** Нивата на експресия на miR-21 в серум са повишени при 50.0% от болните от ПСС в сравнение със здрави контроли при използване на ендогенна контрола и 52.94% при използване на екзогенна контрола. Експресията на miR-29 в серум е понижена при 44,12% от пациентите. ROC curve анализът показва площ под кривата (AUC) за експресията на miR-21 в серум = 0.634, с нива на чувствителност – 64.7 %, и специфичност – 64.3 %, но липса на статистическа значимост ( $p=0.147$ ). AUC за miR-29 е 0.605, с чувствителност 64.3 и специфичност 52.9, но резултатът не достига статистическа значимост ( $p=0.257$ ). Диагностичната стойност на комбинацията от изследваните miRNAs се повишава значително при провеждането на мултимаркерен ROC curve анализ - AUC=0.714 (95%CI=0.569-0.860),  $p=0.021$ , с чувствителност -

79,4%, и специфичност-42.9%. Нивата на miR-21 корелират с клиничните показатели на пациентите, като наличие на синдром на Рейно, белодробно засягане, показатели на кръвната картина, имунологични показатели. Установи се статистически значима корелация между нивата на miR-21 и нивата на хемоглобин (корелационен коефициент на Spearman 0.448,  $p=0.008$ ), наличието на тромбоза или тромбопения (корелационен коефициент на Spearman 0.463,  $p=0.006$ ). Нивата на miR-29 корелират с нивата на miR-21 в серум (корелационен коефициент на Spearman 0.517,  $p=0.00017$ ), както и с наличието на анти-Sc170 антитела (корелационен коефициент на Spearman 0.438,  $p=0.010$ ).

#### Научни публикации и прояви:

- Шумналиева Р, Дачева Р, Монов С, и др. Епигенетични промени при прогресивна системна склероза. сп. MD, 2015; 2: 94-97.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 64/2015 Оценка на ролята на K-ras статуса в диференциалната диагноза на малигнени и бенигнени кистични лезии на панкреаса**

Водещ изследовател: Проф. Борислав Георгиев Владимиров, дмн

#### Членове на изследователския екип:

- Доц. Йордан Генов, дм
- Гл. ас. Румяна Митова
- Ас. Яна Владимирова
- Гл. ас. Иван Иванов, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, УМБАЛ “Царица Йоанна-ИСУЛ”, Клиничен център по гастроентерология

**РЕЗУЛТАТИ:** Молекулярното изследване на аспириат от панкреасни кисти за наличие на K-ras мутация може да позволи ранна диагностика на малигнените и потенциално малигнените муцинозни кисти и навременно лечение. В изследването са включени 10 пациента с кистични панкреасни лезии (средна възраст  $56.8 \pm 12.8$  г.; 3 мъже, 7 жени). На базата на проведените образни изследвания, кистите са: унилокуларни в 50% от случаите и олиго/мутилокуларни при останалите болни. При 40% лезията е разположена в главата на панкреаса, в 50% - в тялото, в 10% - в опашката при среден размер  $32.5 \pm 13.75$  мм. При 20% в аспириата се установяват високи стойности на амилаза (максимално 1264), а при 30% – стойности на СЕА >100. Пациентите са диференцирани както следва: серозен кистаденом (SCA) – 3 пациента (всички от женски пол); интрадуктална папиларна муцинозна неоплазма (IPMN) – 2; муцинозна кистична неоплазма (MCN) – 3 пациента; други ненеопластични кисти – 2 пациента. При генетичното изследване на пациентите в 20% се установява наличие на k-ras мутация – съответно k-ras p.G12V и k-ras p.G12D (и в двата случая СЕА>100, MCN). При третия пациент с MCN не се установява мутация, при ниски нива на СЕА. Общо 4 пациента са насочени за оперативно лечение на базата на получените резултати – MD-IPMN, серозен кистаденом без малигнен потенциал, но с големи размери (60 мм) и клиника, и двама пациенти с MCN (с установените мутации). При хистологичното изследване на трайните препарати, пациентът с мутация k-ras p.G12V показва високостепенна епителна дисплазия. При останалите 6 пациента проследяването до момента не показва промяна в размерите или характеристиката на кистите. Получените резултати показват, че случаите с муцинозни кистични панкреасни тумори високите нива на СЕА в аспириат корелират често с наличието на k-ras мутация и потенциална малигненост на

лезиите. Изследването на k-ras статус при такива пациенти може да се използва за дефиниране на адекватно терапевтично поведение.  
Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 65/2015 Полуколичествено определяне на екзокринната функция и морфологична оценка при хроничен панкреатит чрез секретин-усилена магнитно резонансна холангиопанкреатография**

**Водещ изследовател:** Доц. Григорий Иванов Неделков, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Д-р Пламен Гецов

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Образна диагностика, УМБАЛ "Царица Йоанна-ИСУЛ"

**РЕЗУЛТАТИ:** На базата на проведеното проучване беше разработен протокол за секретин стимулирана магнитно резонансна панкреатография, адаптиран към наличния хардуер и софтуер в Клиника по Образна диагностика в УМБАЛ «Царица Йоанна-ИСУЛ». Понастоящем протоколът се използва рутинно в клиничната практика при комплексна оценката на пациенти с клинични данни за панкреатит. Информацията получена при настоящото проучване беше съпоставена с клиничните и лабораторните данни за всеки пациент. Стартирано бе създаването на модел с inclusion/ exclusion критерии, който позволява да се подберат предварително пациентите, при които секретин усилената магнитно резонансна холангиопанкреатография допринася в най-висока степен за диагнозата. Това ще позволи в бъдеще оптимизиране на разходите по оценка на пациенти със суспектен хроничен панкреатит. Получените при проучването данни бяха включени в лекционния материал за лекари специализиращи Гастроентерология през 2016г.

**Научни публикации и прояви:**

- Siminkovitch S, P Gecov, B Vladimirov, et al. 47th Annual Meeting of The American Pancreatic Association „Evaluation of secretin-enhanced MRCP in chronic pancreatitis“ Nov 2016;45(10)

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 67/2015 Секвениране (търсене на точкови мутации) на ген MKRN3 при пациенти с централен ранен пубертет**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Мая Минчева Константинова, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Елисавета Стефанова, дм
- Проф. Радка Тинчева, дм
- Доц. Албена Годорова-Георгиева, дм
- Д-р Михаела Димитрова-Младенова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по педиатрия, УСБАЛДБ, Клиника по ендокринология, диабет и генетика

**РЕЗУЛТАТИ:** Проучването е проспективно. Проведено е за период от единадесет месеца (от м. юли 2015 год. до м. юни 2016 год.). Включени са 7 момичета с уточнена диагноза „идиопатичен“ централен ранен пубертет, отговарящи на следните критерии: прогресиращи вторични полови белези преди навършване на 8 години; изпреварваща

костна възраст; повишени за възрастта базални нива на LH, FSH и естрадиол; нормален образ на ЦНС от ЯМР. Проведената генетична диагностика включва следните етапи: изолиране на ДНК от венозна кръв; амплификация на специфични ДНК фрагменти чрез PCR; пречистване на амплификационните продукти чрез ExoSAP-IT; секвениране на ген MKRN3 по Sanger с помощта на кит за секвениране Big Dye Terminator v.3.1; анализ на секвенциите с автоматичен секвенатор и обработка на получените данни със специализирана програма Sequencing Analysis v3.4.1. При ДНК секвенирането се установяват 2 хетерозиготни мутации в ген MKRN3. Първата е новооткрита frameshift мутация (c.1053\_1056delACAG, p.Arg351Serfs\*44). Втората мутация (c.482delC, p.Pro161Arg GFS\*10) е описана през 2014 г. при 2 момичета от Бразилия. Двете идентифицирани frameshift мутации в ген MKRN3 са с вероятен делеционен ефект и са причина за развитието на заболяването. Новооткритата мутация (p.Arg351Serfs\*44) в нашия случай е свързана с ранно начало и бързо прогресиране на пубертетните признаци. Получените резултати са в подкрепа на предходни изследвания и потвърждават тезата, че мутациите в ген MKRN3 са честа причина за развитие на централен ранен пубертет и се откриват и при спорадични случаи. Освен за изясняване на етиологията при пациента, целенасоченото търсене на мутации в ген MKRN3 ще допринесе и за проследяване и навременна диагностика на други членове на семейството.

#### Научни публикации и прояви:

- Dimitrova-Mladenova M, Stefanova E, Glushkova M, et al. A novel MKRN3 frameshift mutation in a Bulgarian girl with central precocious puberty; 55th Annual Meeting of the European Society of Paediatric Endocrinology, Paris, 10-12 Sep 2016.

Научният отчет е приет с *ДОБРА* оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 68/2015 Анализ на полиморфни варианти в кандидат гени асоциирани с отговора към терапия с метотрексат при деца с юношески идиопатичен артрит**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Стефан Недев Стефанов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Маргарита Ганева, докторант
- Гл. ас. Албена Телчарова
- Доц. Радка Кънева
- Рени Цвеова, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Педиатрия, УСБАЛДБ „Професор Иван Митев“ ЕАД; Клиника по ревматология, кардиология и хематология

**РЕЗУЛТАТИ:** Обхванати са 63 пациенти (50 момичета и 13 момчета) с диагностициран Юношески идиопатичен артрит според критериите на ILAR (International League of Associations for Rheumatology). Средната възраст на пациентите е 9.40 години (2.1-17.75 години), средната възраст на изява на заболяването е 5.15 години (0.83-16.25 години). Средната възраст на започване на терапия с Метотрексат (MTX) е 6.076 години. Всички пациенти провеждат терапия с Метотрексат в средна доза 7.65 мг/м<sup>2</sup>. Пациентите са разделени в две групи – такива провеждащи терапия само с MTX и оптимален отговор (n=30) към лечението с MTX и такива провеждащи лечение и с биологичен агент и съответно лош отговор към терапията с MTX (n=30). При всички пациенти са изследвани полиморфни варианти в гена MTHFR1 - c.677 C>T, rs1801133 и c.1298 A>C, rs180113. Не се установиха сигнификантни разлики в

разпределението на генотипните и алелните честоти на полиморфизмите с.677 C>T ( $\chi^2=1,04$ ;  $df=2$ ;  $\chi^2=0,11$ ;  $df=1$ ) и с.1298 A>C ( $\chi^2=0,60$ ;  $df=2$ ;  $\chi^2=0,03$ ;  $df=1$ ) между двете групи. Носителството на вариантния алел в хомо- или хетерозиготно състояние не показва статистически достоверна връзка с развитието на лош отговор към терапията с МТХ (с.677 C>T OR 0.64; с.1298 A>C OR 1.21). Сред четири от пациентите са регистрирани нежелани лекарствени реакции (гадене, световъртеж, главоболие, хепатотоксичност). Установи се, че всичките пациенти развили НЛР са носители на алелния вариант с.677 C>T (3 хетерозигота СТ и един хомозигот ТТ), т.е. носителството на този алел би могло да предвижда повишен риск от странични реакции. Вариантният алел с.1298 A>C се установи при един от тези четири пациенти, т.е. може да се предположи, че неговата роля е по-незначителна по отношение на изява на странични действия при терапията с МТХ. Установяването на полиморфни варианти, свързани с лекарствения отговор се нуждае от по-широкообхватно изследване. Това би довело до ранно откриване на децата с лош или липсващ отговор към провежданата терапия с МТХ.

#### Научни публикации и прояви:

- Ганева М, Стефанов С. Генетични маркери за оценка на ефективността от терапията при Ювенилен идиопатичен артрит. Практическа педиатрия. 2016;1:4-5.
- Ganeva M, Stefanov S, Telcharova A, et al. Assessment of Disease Activity and Prognosis in a Group of JIA Patients. 23rd PReS Congress. Genoa, Italy. September 28-October 1, 2016.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 69/2015** Проучване ролята на хиповитаминоза D за възникването и тежестта на протичането на възпалителните заболявания на долните дихателни пътища чрез сравнително изследване нивата на витамин D при деца с остра пневмония и здрави контроли

Водещ изследовател: Доц. д-р Даниел Илиев Илиев, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Ас. Надежда Римпова
- Д-р Емил Шалдъров
- Гл. ас. Аделина Цакова, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Педиатрия, СБАЛДБ «Проф. Д-р И. Митев» ЕАД, Клиника по пулмология с отделение за интензивно лечение.

**РЕЗУЛТАТИ:** За целта на проучването бяха изследвани 96 болни от остра пневмония деца и 97 здрави контроли на възраст от 0 до 17 год за периода юни 2015 – декември 2016г. Децата се разпределиха в три възрастови групи – 0-1г.; 1-6г. и над 6г. На всички деца се определи серумно ниво на 25 (ОН)VitD по електрохемилюминесцентен метод. За дефицит се приеха стойности <25 nmol/l; за недостатъчност 25-80 nmol/l и за норма 80-200 nmol/l. При болните се дефинираха следните критерии за тежест на протичането на пневмонията: брой дни болничен престой, продължителност на интравенозната и перорална антибиотична терапия, брой антибиотици, използвани при лечението, ниво на възпалителна активност, според стойностите на CRP, СУЕ и левкоцити. Не се установи статистически значима корелация между нивото на витамин D и тежестта на протичането на пневмонията по тези критерии. При болните деца със завишени показатели на възпалителна активност се забеляза тенденция към по-ниски серумни

нива на 25 (ОН)Vit.D. Не се установиха по-ниски нива на витамин D при болните деца. Статистически значимо по-ниски са нивата на здравите - средно ниво при контролите 51,80, а при децата с остра пневмония 69,09, P=0.009. Най-ниски нива имат децата над 6 год. със средни стойности 52,24, P=0,001. В групата на здравите 9.7 % са с дефицит, 72.7% са с недостатъчност и 11.6% са с нормални стойности на серумния витамин D. В групата на болните 3.8% са с дефицит, 61.1% са с недостатъчност и 27.8% са с нормални нива. Хиповитаминоза D не е свързана с по-често и по-тежко протичане на остриите пневмонии при изследваните деца. Както при болните, така и при здравите преобладава недостатъчност на витамин D, като това е по-изразено за здравите. Считаме, че е необходимо мащабно изследване на статуса на витамин D при българската популация от здрави деца, с оглед преценка на препоръките за хранителен внос и суплементация.

#### Научни публикации и прояви:

- Римпова Н, Д Илиев, А Цакова. Проучване ролята на хиповитаминоза D за възникването и тежестта на протичането на остриите пневмонии в детската възраст, 17 Национална конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие, Слънчев бряг 21-23 май 2016
- Rimпова N, A Tsakova, D Iliev. Vitamin D – non-classical effects and association of its deficiency with acute pneumonia in children, IIIrd International meeting of the Bulgarian National Society for Pediatric Endocrinology, Arbanasi, Bulgaria, Dec 1-3, 2016
- Римпова Н, Д Илиев. Витамин D – биологични функции и значение на дефицита му Педиатрия (Supplementum) 2015;55:48-50
- Илиев Д, Н Римпова. Некласически ефекти на витамин D. влияние върху имунитета и полята на хиповитаминоза D при остриите пневмонии в детската възраст Medical Magazine 2015;21:34-6

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 70/2015 Пикова костна маса и хормонален статус при девойки в пубертетно-юношеския период с нормален и нарушен менструален цикъл**

Водещ изследовател: проф. д-р Милко Маринов Сираков, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Проф. Георги Георгиев, дм
- Доц. Милена Янчева-Стойчева, дм, ФОЗ
- Доц. Пламен Попиванов, дм
- Диана Христова, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Акушерство и гинекология, УСБАЛАГ „Майчин дом“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проучването е проспективно за периода 2015г.-2017г. и е проведено в СБАЛАГ „Майчин дом“ - Кабинет по детско-юношеска гинекология. Включиха се 46 пациентки на възраст от 12 до 18 години с различни менструални нарушения както следва - първична и вторична аменорея, опсоменорея, закъснял пубертет, анорексия невроза, млади момичета атлети, хипофизарна патология, хипогонадизъм. На всяка пациентка бяха определяни: стадий на пубертетно развитие по Tanner, общ и гинекологичен статус, клинична антропометрия, BMI, ехографско изследване, серумни нива на Estradiol, Progesteron, Prolactin, LH и FSH, остеодензитометрия на гръбначен стълб по метода DXA. Отдиференцираха се най-често срещаните менструални

нарушения и се съпоставиха с хормоналния статус и BMI. Откри се положителна корелационна връзка между давността на аменореята, BMI и тежестта на отклонение в Z-score (от -1 до -2SD). Определиха се основните рискови фактори и свързаните с тях менструални нарушения. Изводите от проучването са, че навременна диагноза и адекватна терапия профилактират бъдещи репродуктивни проблеми и ранно развитие на остеопороза.

#### Научни публикации и прояви:

- Христова Д, Сираков М. Хипоместруални нарушения и влиянието им за достигане на оптимална пикова костна маса в пубертетно-юношеска възраст. Акушерство и гинекология. 2017;56(3):21-5
- Христова Д, Сираков М. Пикова костна маса и хормонален статус при девойки в пубертетно-юношеския период с нормален и нарушен менструален цикъл. XX Национална гинекологична конференция, Боровец, 16-18 Март 2017г.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 71/2015 Изследване на антитела към цинков транспортер 8 (ZnT8) при пациенти със захарен диабет тип 1**

Водещ изследовател: Доц. д-р Илияна Атанасова Борисова, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Гл.ас. Грета Грозева-Дамянова, дм
- Гл.ас. Невена Чакърва, дм
- Ас. Румяна Димова-Драганова, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен Център по Ендокринология и Геронтология, УСБАЛЕ „Акад.Ив. Пенчев“ ЕАД, Клиника по Диабетология

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани са 70 лица (40 мъже и 30 жени), средната възраст  $37.24 \pm 11.08$  години, среден ИТМ  $23.46 \pm 4.49$   $\text{kg/m}^2$ , с давността на заболяването до 5 години, като при 47% захарният диабет е новооткрит или с давност под 1 година. При 85.7% от участниците се установяват едно или повече от изследваните антитела. Антителата към ZnT8 са втори по честота - 45.7%, след GAD 65-Ab - 77.1% и преди IA 2-Ab - 34.3%. Негативни и към трите антитела са 14.3% от изследваните. Позитивни само с ZnT8-Ab са 2.9%, което съставлява 16.6% от случаите на идиопатичен захарен диабет. В подгрупата с новооткрит захарен диабет и диабет с давност под 1 година процентът на антиглюкозаположителност към ZnT8 е сигнификантно по-висок – 63.6%, ( $p=0.04$ ). Вероятността за наличие на положителни антитела към ZnT8 в тази подгрупа е 4.5 пъти по-голяма спрямо тази при останалите пациенти - OR 4.5 (95% CI 1.6-12.5). Изследването на комбинацията GAD 65-Ab + IA-2-Ab води до идентифициране на 83% от случаите на захарен диабет тип 1 ( $F=[2,3]$  43.4,  $p<0.001$ ,  $r=0.462$ ). Използването на ZnT8-Ab вместо IA 2-Ab като втори имунологичен маркер идентифицира по-висок процент от случаите - 87% ( $F=[2,3]$  46.6,  $p < 0.001$ ,  $r=0.486$ ), а комбинацията от трите антитела диагностицира 92% от случаите на захарен диабет тип 1. ( $F=[3,3]$  50.7,  $p = 0.043$ ,  $r=0.515$ ).

#### Научни публикации и прояви:

- Грозева Г, Танкова Ц, Атанасова И, и др. Честота и диагностична стойност на антителата към цинков транспортер 8 (ZnT8) в българска популация пациенти със захарен диабет тип 1. Ендокринология, 2017(1).

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 72/2015** Сърдечносъдов риск при пациенти с феохромоцитом, определен чрез измерването на някои маркери за сърдечна недостатъчност**Водещ изследовател:** проф. Георги Кирилов Георгиев, дмн**Членове на изследователския екип:**

- Атанаска Еленкова, дм
- Йоанна Матротова, дм
- Владимир Василев, дм
- Силвия Вьндева, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по ендокринология и геронтология (КЦЕГ), УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев”**РЕЗУЛТАТИ:** Феохромоцитомът е рядък невроендокринен тумор с честота 2-3 на 100 000 население. Той е свързан с повишена честота на сърдечно-съдови инциденти, дължащи се както на повишеното артериално налягане, така и на директния ефект на катехоламините върху сърцето, водещ до катехоламинова кардиомиопатия. Целта на настоящето проучване бе да се установят някои допълнителни маркери за сърдечносъдов риск при пациентите с феохромоцитом. За осъществяването ѝ бяха изследвани нивата на ProADM и BNP-32 при 11 пациента с феохромоцитом и бяха сравнени с две контролни групи: 12 здрави контроли и 10 пациента със сърдечна недостатъчност. Установиха се повишени стойности на ProADM при пациентите с феохромоцитом спрямо здравите контроли ( $9.63 \pm 4.87$  vs.  $3.45 \pm 0.69$  пмол/л,  $p=0.013$ ). В тази група бе налице и корелация на маркера с уринните мета- и норметанефрини, както и систолното артериално налягане. Нивата на BNP-32 също бяха повишени при пациентите с феохромоцитом спрямо здравите лица ( $283 \pm 152$  пг/мл vs.  $86 \pm 48$  пг/мл,  $p=0.041$ ), но не достигнаха стойностите при пациентите със сърдечна недостатъчност ( $456 \pm 103$  пг/мл). Повишените стойности на ProADM при пациентите с феохромоцитом и корелацията с метанефрините показва, че той може да се използва като допълнителен маркер в диагностиката и проследяването на това заболяване. Повишените стойности на BNP-32 при тези пациенти показват нарушена сърдечна функция, което налага предприемането на превантивни мерки по отношение на бъдещите сърдечносъдови усложнения при тези пациенти.Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.**Договор 73/2015** Въглехидратни нарушения при пациенти с пролактином: честота и повлияване от лечението с допаминови агонисти. Изследване на някои маркери за инсулинова чувствителност и ендотелна дисфункция**Водещ изследовател:** Проф. д-р Сабина Захариева Захариева, дмн**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Атанаска Еленкова, дм
- Проф. Георги Кирилов, дм
- Проф. Димитър Чаръкчиев, дм
- Ивайла Узунова, докторант
- Здравка Абаджиева
- Росица Николова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по ендокринология и геронтология (КЦЕГ), УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев”**РЕЗУЛТАТИ:** Проведохме две проучвания с различен дизайн. *Ретроспективно проучване:* Анализирани бяха около 120 милиона псевдоанонимизирани електронни



записи на над 5 млн. българи от базата данни на НЗОК за три последователни години (2012-2014 г.) с помощта на VITool. Честотата на захарен диабет (ЗД) в Българска популация беше приблизително 8%, а в младата таргетна група (15-44 год.възраст) беше около 1.2% (2012 г.–1.18%; 2013 г.– 1.2%; 2014 г.– 1.2%). Анализът на лицата с хиперпролактинемия установи не само по-висока честота на ЗД в младата възрастова група, но и тенденция за увеличаването ѝ през изследвания тригодишен период (2012 г.– 3.96%; 2013 г.- 4.8%; 2014 г. - 5.4%). *Крос-секционна проучване:* Изследвани бяха 138 лица, набирани проспективно в 2 групи: 70 пациентки с пролактином и 68 здрави жени, сравними по възраст и процент на пушачи, артериална хипертония и дислипидемия. Обезитет беше наблюдаван 10 пъти по-често при пациентките в сравнение с контролната група (14.3% vs. 1.47%;  $p=0.005$ ). Въпреки че нарушения във въглехидратната обмяна бяха доказани при 6 пациентки (1 новооткрит ЗД тип 2; 1 НГТ и 4 НГГ) в сравнение с 2 контроли (1 НГТ и 1 НГГ) резултатите не достигнаха сигнификантност (8.57% vs. 2.94%;  $p=0.157$ ). Корелационният анализ на всички участници демонстрира сигнификантна негативна зависимост между нивата на Адипонектин от една страна и ИТМ (Spearman's  $r = -0.346$ ;  $p=0.00003$ ), базалните нива на Инсулин ( $r_s = -0.258$ ;  $p= 0.002$ ), глюкозата на гладно ( $r_s = -0.251$ ;  $p=0.003$ ) и НОМА-индекса ( $r_s = -0.279$ ;  $p=0.00097$ ) от друга. Не установихме значима корелация между нивата на Пролактин и Адипонектин нито при новодиагностицираните (нелекувани), нито при лекуваните с ДА пациенти с пролактином. От друга страна, умерена негативна корелация беше демонстрирана между нивата на Адипонектин и кумулативната доза при лекуваните с Каберголин жени с пролактином ( $r_s = -0.390$ ;  $p=0.036$ ). Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 74/2015 Място и значение на алергичния риносинусит в патогенезата на бронхиалната астма в детска възраст**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Димитър Темелков Костадинов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Албена Спасова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по Белодробни Болести, УСБАЛББ „Света София” – ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** Ранната диагностика и лечение на децата с алергичен ринит (АР) са от значение с цел да се осигури по-високо качество на живот и да се спре прогресията до астма.

Това изследване има за цел да се оцени ефективността на определянето на серумните нива на ЕСР при деца с респираторни алергии. Нашето изследване включва 60 пациента с клиника на алергичен ринит разпределени в следните групи: Група 1 - деца с алергичен ринит ( $n = 37$ , 61,7%), Група 2 са деца с неалергичен ринит с еозинофилия синдром ( $n = 19$ , 31,7%) и Група 3- деца с неалергичен ринит без еозинофилия ( $n = 4$ , 6,7%). При всеки пациент са изследвани: ЕСР в серум, кожно алергични проби, еозинофили в назален секрет и общ серумен IgE. Серумните нива на ЕСР бяха измерени чрез имунна методика (Pharmacia CAP). Пациентите с астма и алергичен ринит, имат по-високи стойности на общ IgE спрямо тези само с алергичен ринит. Няма статистически значима разлика в нивата на ЕСР между трите групи, въпреки че средната концентрация на ЕСР е по-висока при астматиците с алергичен ринит. Установихме, че степента на алергичното възпаление при алергичния ринит с астма може да повлияе на серумните нива на ЕСР.

**Научни публикации и прояви:**

- Спасова А, С Велизарова. Антибиотична терапия в терапевтичния алгоритъм на алергичния риносинусит в детска възраст. Български медицински журнал, 2016;1(2):38-41.
- Спасова А, С Велизарова. Алергичен риносинусит – диагностичен алгоритъм в детска възраст. Български Медицински Журнал 2016;10(2):42-6.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 75/2015 Фенотипизиране на бронхиална астма**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Ваня Милошева Юрукова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Янина Славова-Маринова, дм
- Проф. Марта Балева, дмн
- Деница Димитрова, докторант
- Ас. Цветелина Великова дм
- Ас. Екатерина Иванова-Тодорова дм
- Калина Тумангелова-Юзеир, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по белодробни болести, СБАЛББ „Света София“

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящото проучване изследвахме 42 пациента с умерено тежка и тежка БА. Оценихме клиничните характеристики, определихме контрола на заболяването и проведохме изследвания за оценка на локалното и системно възпаление с цел фенотипизиране и разкриване на подлежащи механизми за развитие на БА. При пациентите с контролирана и неконтролирана БА не открихме значими различия в клиничните характеристики с изключение в експозицията на цигарен дим. При пациентите с неконтролирана БА бяха измерени по-ниски функционални параметри на дишането, по-чести екзацербации през последната една година и нива на FeNO над 50 ppb във връзка с периферна и локална еозинофилия. Тези данни потвърждават наличие на персистиращо възпаление, въпреки кортикостероидното лечение. Установихме значимо по-високи нива на серумен периостин ( $1.68 \pm 0.52$  ng/ml) и IL-6 ( $2.132 \pm 1.812$  pg/ml) при пациентите с БА, в сравнение със здрави контроли (респективно  $p=0.001$ ,  $p=0.001$ ). Нивата на серумен периостин при пациенти с FEO1 < 80% бяха значимо по-високи в сравнение с тези при нормална белодробна функция ( $p=0.04$ ). По-високи нива на периостин наблюдавахме и при пациентите на висока доза ИКС ( $p=0.013$ ) в сравнение с тези на средна и ниска доза ИКС. Установихме умерена корелация между серумните нива на IL-17A и периостин  $r = 0.403$  (95% CI = 0.113-0.630),  $p=0.008$ . Установихме ниски нива на серумен IL-6 при пациенти с sIgE антитела към домашен прах. В допълнение след проведен клъстерен анализ установихме тенденция за по-ниски нива на IL-6 в клъстерите с атопия. Това е първото проучване в България, при което се използва клъстерен анализ за фенотипизиране на пациенти с бронхиална астма. Дефинирахме 4 клъстера: Клъстер 1 (n=14): Късна, неатопична астма с намалена белодробна функция; Клъстер 2 (n=13): Късна, атопична астма с много симптоми, екзацербации и история за тютюнопушене; Клъстер 3 (n=6): Късна, еозинофилна астма с чувствителност към аспирин/НСПВС; Клъстер 4 (n=7): Атопична астма с ранно начало. Клъстер 4 демонстрира статистически значимо по-високи нива на IL-17A при сравнение с клъстер 1 и 2 (респективно  $p=0.021$ ,  $p=0.023$ ).

**Научни публикации и прояви:**

- Youroukova V, Dimitrova D, Valerieva A, et al. Phenotypes determined by cluster analysis in moderate to severe bronchial asthma. Folia Med (Plovdiv). 2017;59(2):165-173.
- Dimitrova D, Youroukova V, Slavova Y, et al. Serum periostin as a biomarker for diagnosis and management of patients with moderate and severe persistent asthma. 3rd European Update Congress in Pneumology. Pneumo Update Europe 2016. Prague, 24-25 Jun 2016.
- Youroukova V, Dimitrova D, Slavova Y, et al. Cluster Analysis Of Patients With Moderate To Severe Uncontrolled Bronchial Asthma. International Severe Asthma Forum 2016 (ISAF 2016). Manchester, UK. 17 - 19 Nov 2016
- Dimitrova D, Youroukova V, Velikova Ts, et al. Serum Periostin Levels As A Biomarker For Impaired Lung Function In Adult Patients With Moderate To Severe Asthma. International Severe Asthma Forum 2016 (ISAF 2016). Manchester, UK. 17 - 19 Nov 2016
- Dimitrova D, Youroukova V, Slavova Y, et al. Markers of inflammation in uncontrolled moderate and severe persistent asthma. VI congress of BRS. Golden Sands resort, Bulgaria. 9-12. 06. 2016. Thoracic Medicine 2016, VIII (1):34.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 77/2015 Инструментални, имунологични и серологични корелации при пациенти с ранна склеродермия и оптимизиране на ранната диагностика**

**Водещ изследовател:** Доц. Иван Йорданов Шейтанов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Цветелина Йонева, дм
- Проф. Огнян Георгиев, дмн
- Проф. Анастас Баталов, дмн, МФ, МУ – Пловдив
- Ас. Росица Каралилова, дм, УМБАЛ „Каспела“, Пловдив
- Доц. Доброслав Кюркчиев, дм
- Ас. Екатерина Иванова-Тодорова, дм
- Яна Здравкова, дм
- Рада Ганчева, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, София, Клиника по ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** Според EUSTAR Raynaud's феномена, наличието на puffy fingers и наличието на ANA представляват „червен флаг“ за вероятна ранна склеродермия. В проучването бяха включени 10 последователни болни на средна възраст от 33 до 53 години (45.2). При всички болни бе проведена видеокапиляроскопия. Най-често срещан е ранния склеродермен модел (при 62.5%), при 37.5% има данни за активен и при нито един късен капиляроскопски модел. От изследваните пациенти, при 8 (80%) беше установено наличие на ANA титър от 1:80 до >1:1280. Този титър на положителни антинуклеарни антитела при >60% корелира и с наличието на специфични антитела, насочени срещу конкретни склеродермни антигени. При двама от пациентите не бяха установени специфични автоантитела. Анализът на данните за разпределението на автоантителата от панела „Системна склероза профил“ показва, че най-често срещаните антитела са тези, насочени срещу РНК полимеразата III (34%), като само при 1 пациент е установено припокриване с класическите анти РМ-Scl75 антитела. Клиничната картина

е на артрит, пулмофиброза и понижаване на белодробния дифузионен капацитет, което не е типично за болните с този вид антитела. Налице е и тежък васкулит с дигитални улцерации, бъбречно засягане с нискостепенна протеинурия. Втори по разпространение са антителата, насочени срещу различните форми на центромер-асоциирани протеини-22%. Клиничната картина е на симптоматичен васкулит с дигитални улцерации и белодробна фиброза с намаление на ФВК и дифузионния капацитет без развитие на пулмонална хипертония, също на на изолирано кожно засягане. В малък процент от пациентите са открити и антитела, насочени срещу Th/To-РНК свързани протеини, част от РНК-аза Р комплекс. При тези пациенти клиничната картина е на припокриващо ревматично заболяване-артрит по ревматоиден тип, Синдром на Съогрен и стигми на системна склероза. Болните с дигитални улцерации и кожен васкулит имат капиляроскопски модел на активна склеродермия, но също така и на ранна склеродермия. Наблюдава се асоциация с анти-CENP и с анти-PM/Scl75. При тези болни има данни за белодробно ангажиране с нарушение в функционалните показатели.

Научният отчет е приет със **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 78 /2015** Пилотно проучване на човешки папилома вирус и херпес вируси при орални прекарцерози и неоплазми

Водещ изследовател: Проф. д-р Ангелина Илиева Киселова-Янева, дм, дмн

Членове на изследователския екип:

- Доц. Ася Кръстева-Панова, дм
- Доц. Росен Коларов, дм
- Д-р Светослав Славков
- Д-р Даниел Марков
- Д-р Йордан Гълъбов, докторант
- Антония Добрева, студент
- Д-р Веселин Гълъбов

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, Катедра „Образна и орална диагностика”

**РЕЗУЛТАТИ:** В световен мащаб около 5 до 10% от населението е заразен с HPV. Приема се, че почти всички карциноми на шийката на матката и вулвата се дължат на инфекция с HPV16 и 18. За щастие цервикален скрининг на рак е едновременно чувствителен и специфичен, което е довело до значително намаляване на това заболяване. Папилома вирусите участват в канцерогенезата на много други видове рак (в областта на главата и шията, пениса, ануса). Възможна е бъдеща епидемия от орофарингеален рак, тъй като се увеличава броят на хората, които поддържат вируса в орофарингеалната лигавица. Изследвахме наличието на високо рискови и ниско рискови HPV типове в биопсичен материал на 48 неопластично болни - 16 жени и 32 мъже от 35 до 90 години. Установихме носителство на HPV при 11 болни – 23% и то предимно при мъже (девет). Положителните за HPV генотип 16 са само двама, за HPV генотип 11 – 3 ма и най-често за HPV генотип 6 – 6 лица. Вероятно различни географски и демографски региони трябва да изяснят съпътстващата роля на другите генотипове в канцерогенезата на оралните и орофарингеалните карциноми. Ние установихме, че наличието на HPV в биопсичен материал при е два пъти по-често при мъжете и не нараства с възрастта.

Научният отчет е приет със **ЗАДОВОЛИТЕЛНА** оценка по скалата на СМН.

## МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ

### **Договор 19/2015 Психо-социални рискове на сменния труд**

**Водещ изследовател:** Проф. Емил Влайков Воденичаров, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Анелия Димитрова-Каменова
- Ас. Влайко Воденичаров
- Д-р Слава Джонева
- Доц. Константин Митов, дф
- Инж. Кирил Младенов
- Светлана Тодорова, лаборант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по хигиена, медицинска екология и хранене

**РЕЗУЛТАТИ:** **Цел на изследването** – проучване на хронотипа, нивата на стрес и евентуалните връзки между тях сред служители, работещи в казина на територията на България. За осъществяване целите на изследването са приложени два въпросника сред 388 служители (221 жени и 167 мъже), работещи като крупиета или управители в 18 казина. Използваните въпросници са MEQ (Morningness–eveningness questionnaire) за определяне на хронотипа и PSS (Perceived stress scale) за възприет стрес. Направени са измервания на нивата на кортизол в слюнка на 32 от служителите по време на работа. Данните са статистически обработени с програмата MED CALC. При сравняване на рисковете за развиване на високо ниво на стрес при мъже и жени е установено, че за работещите в казината жени, рискът от развиване на високо ниво на стрес е 3,74 пъти по-голям от този при мъжете. При управителите този риск е 1,54 пъти по-голям от на останалите служители. Данните от въпросника за хронотип показват превес на служителите с междинен тип (70,4%). От получените резултати на тази извадка не се открива връзка между типа хронотип и нивата на възприет стрес. Открита е статистически значима корелационна зависимост между стойностите на двете променливи за нивото на възприет стрес и стойностите на кортизол. Изследването показва групата на работещите в казина жени като по-рискова относно нивата на възприет стрес.

**Научни публикации:**

- Vodenicharov V, Vodenicharov E, Mitov K et al. Stress levels and risks among casino employees in Bulgaria. Acta morphol et antropol. 2016;23:111-4.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 30/2015 Проучване на нагласата и факторите, повлияващи генеричното предписване и отпускане на лекарствени продукти в кардиологията**

**Водещ изследовател:** Доц. Маноела Методиева Манова-Овчарова, дф

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Валентина Петкова-Димитрова, дфн

- Доц. Александра Савова, дф
- Доц. Асена Стоименова, дф
- Мария Димитрова, дф
- Зорница Спасова-Миткова, дф
- Константин Ташков, студент

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра „Организация и икономика на фармацията“

**РЕЗУЛТАТИ:** Настоящото проучване е първата сравнителна оценка в България за отношението на фармацевтите и кардиолозите към генеричните лекарства. Създадени са 2 въпросника (анкети) за проучване на мнението им по отношение на предписването и отпускането на генерични лекарства и употребата на фиксирани дозови комбинации (ФДК) в кардиологията. Седем от въпросите степенуват предпочитанията в 5 степенната скала на Ликерт, шест въпроса са отворени и насочени към изясняване на причините за предписване и отпускане на генерични лекарства и ФДК. Използван е тетра-клас анализ за оценка на удовлетвореността от генерични лекарства и ФДК в кардиологията. Фармацевтите са анкетирани на място в аптеките. Общият брой на анкетираните фармацевти е 144. Резултатите показват, че те имат преобладаващо положително отношение към безопасността на генеричните лекарства, но като цяло отношението им към генеричните лекарства е негативно. Според фармацевтите средно 56,6% от техните пациенти се лекуват с генерични лекарства, а 78% използват ФДК, действащи върху сърдечно-съдовата система. В проучването са участвали 50 кардиолози. Въпросникът бе разпространен с помощта на Дружеството по кардиология. Резултатите показват, че кардиолозите имат преобладаващо положително мнение относно ефикасността и безопасността на генеричните лекарства. Те посочват, че около 57 % от всички предписвани лекарства са генерични. Отношението им към ФДК, също е положително, тъй като 65% от кардиолозите посочват, че предпочитат да предписват комбинации и ги препоръчват на пациентите с хронични заболявания като хипертония, с цел подобряване на камплайнса. Резултатите показват, че лекарите и фармацевтите имат различно отношение към генеричните лекарства и ФДК. Лекарите са по-удовлетворени и положително настроени към генеричните лекарства от фармацевтите, докато удовлетвореността и отношението към ФДК са високи и в двете групи медицински специалисти.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Mitkova Z, Tachkov K, Petrova G, et al. Factors influencing generics and fixed dose combinations recommendation by pharmacists for cardiology patients. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2015;9(43):1020-5.
- Petrova G, Doneva M, Mitkova Z, et al. Generics and fixed-dose combinations in cardiology: satisfaction analysis of pharmacists and cardiologists. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2015;30(1):204-11.
- Mitkova Z, Milushewa P, Zlatareva A, et al. Study the cardiologists knowledge and perception about generic and fixed dose combination medicines in cardiology. Pharmacia.2015;62(4),22-9.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 36/2015 Моделиране на резултатите и разходите при имплантиране на херниални платна**

**Водещ изследовател:** Доц. Миглена Георгиева Кирилова-Донева, дбм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Маноела Манова, дф
- Гл.ас. Мария Димитрова, дф
- Гл.ас. Мария Камушева, дф
- Доц. Десислава Пашкулева, БАН

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра „Организация и икономика на фармацията“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведено беше експерименталното изследване на техническите характеристики на предпочитани от специалистите четири леки и ултра леки херниални платна (ХП) с плътност 16–48 g/m<sup>2</sup> чрез едномерен опън- Optilene (Braun, Germany), Parietex (Covidien, France), TiO<sub>2</sub>Mesh, (BioCer Entwicklungs, Germany), Vypro II (Ethicon). Получените резултати от едномерен опън потвърждават, че леките платна са по-подходящи за хирургическата практика- най-близки механични свойства до свойствата на човешката тъкан има Parietex, а най-близка деформируемост TiO<sub>2</sub>Mesh. Предложен е алгоритъм за оценка на приложимостта на ХП, който допълва съществуващите алгоритми за оценяване на ХП като предлага се да се сравни близостта на херниалните платна и нативната тъкан по отношение на тяхната еластичност и деформируемост, като се използват резултатите от едномерен експеримент на опън. Предложеният алгоритъм ще способства за подобряване резултатите от херниални операции- намаляване на реоперациите и дискомфорта на пациентите. Оценени са разходите за херниални операции според вида операция (стандартна с платно или лапароскопска), размера и материала на платното (7x15, 15x15), вида медицински център (клиничен център или общинска болница) и спешността на операцията(планова или спешна). Бяха оценени и сравнени разходите за планови и спешни херниални операции в България с цел остойностяване на разходите, които реимбурсира НЗОК и тези, които заплаща пациентът.

Определени бяха чрез мета анализ процента усложнения, хронична болка и реоперации при различни хирургически техники и материал на платната, с цел използване в предложения модел. Разработено е „дърво на решенията”, което да спомогне за оценяването на очакваните разходи, свързани с алтернативните терапевтични възможности за пациентите при планови и спешни операции, както и при операции с различни оперативни техники.

**Научни публикации и прояви:**

- Сопотенски С, Кирилова-Донева М, Пашкулева Д, и др. Херниални платна – проблеми и решения. Български медицински журнал. 2016;1:30-5.
- Kirilova-Doneva M, Pashkouleva D, Sopotensky S, et al. Application of light and partially resorbable meshes in Bulgaria. Series on Biomechanics. 2015;29(4):27-32.
- Kirilova-Doneva M, Kamusheva M, Petrova G, et al. Comparison of costs for elective versus emergency hernia repair and its reimbursement in Bulgaria. EESJ 2016;9(13):43-9.
- Kirilova-Doneva M, Pashkouleva D, Sopotensky S, et al. Application of light and partially resorbable meshes in Bulgaria. 5<sup>th</sup> Eurosummer School on Biorheology & Symposium on Micro and Nano Mechanobiology of Cells, Tissues and Systems. Varna. 1-5.09.2015

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 37/2015** Технологично и биофармацевтично охарактеризиране на хронофармацевтични лекарствени форми с монтелукаст натрий

Водещ изследовател: Доц. Милен Венциславов Димитров, дф

Членове на изследователския екип:

- Проф. Валентина Петкова, дфн
- Ас. Теодора Попова

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по технология на лекарствените средства с биофармация

**РЕЗУЛТАТИ:** Разработени и технологично и биофармацевтично охарактеризирани са хронофармацевтични лекарствени форми съдържащи монтелукаст натрий с потенциална приложимост в педиатрията. Обобщени и интерпретирани са получените данни и са предложени оптимални моделни състави, във връзка със специфичните нужди на лечението на нощната астма при педиатричната популация. Освобождаването на монтелукаст натрий от матричните пелети с етилцелулоза може да се забави чрез увеличаване на етанолната концентрация на свързващия разтвор, увеличаване на количеството и молекулната маса на участващата етилцелулоза и увеличаване размера на отворите на решетката на екструдера. От биофармацевтична гледна точка за целите на поддържаща терапия подходящи пелетни формулации се явяват състави Т3 и Т16. От двата състава Т3 се характеризира, както с по-лесна и бърза сферонизация, така и с по-оптимизирано освобождаване (количествено освобождаване на монтелукаст натрий на 7-мия час), в сравнение с Т16 (количествено освобождаване се наблюдава още на 5-тия час), което го прави потенциален кандидат за прилагане като лекарствена форма с удължено освобождаване при терапия на нощна астма при деца. Резултатите от проучването ще подпомогнат магистър-фармацевтите, работещи в аптеки за обслужване на пациенти страдащи от астма и за формирането на добри практики за консултиране при отпускане на лекарствени продукти за лечение на обструктивни белодробни заболявания.

**Научни публикации и прояви:**

- Popova T, Petkova V, Dimitrov M. Formulation approaches to pulsatile-release chronotherapeutic drug delivery system with montelukast sodium. WJPPS 2016;5(6):1-17

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 38/2015** Анализ на разходите за лечение и оценка на качеството на живот на пациенти с хроничен хепатит С в България

Водещ изследовател: Доц. Александра Цветанова Савова, дф

Членове на изследователския екип:

- Доц. Миглена Кирилова-Донева, дбм
- Доц. Йордан Генов, дм
- Доц. Константин Митов, дбм
- Гл.ас. Мария Димитрова, дф
- Гл.ас. Мария Камушева, дф
- Калоян Павлов, докторант

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра „Организация и икономика на фармацията“



**РЕЗУЛТАТИ:** Хроничният хепатит С е водеща причина за хронично чернодробно заболяване с дългосрочни усложнения, като екстензивна фиброза, цироза и хепатоцелуларен карцином. Проведеното проучване върху разходите за лечение на 301 пациенти с хроничен хепатит С и цироза за 3-годишен период, проследявани в клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“, показва, че около 93% от пациентите са били диагностицирани с цироза степен А и В по Child-Pugh. Поради наличието на цироза тези пациенти са били противопоказани за антивирусно лечение, като лекарствената терапия при тях е насочена основно към лечението на свързаните с цирозата усложнения. 97% от докладваните усложнения са езофагиални варици. 847 хоспитализации са били отчетени за разглеждания 3-годишен период със средна продължителност на хоспитализацията от 17 дни. Смъртността в изследваната кохорта от пациенти е 7% и е сравнително висока. Общите директни медицински разходи възлизат на около 1,2 милиона лева, като средните разходи за пациент на годишна база са около 1 343 лева. Структурата на разходите е разпределена в съотношение 2/3 за НЗОК и 1/3 за лечебното заведение и пациентите, като по-голям е делът на разходите за пациентите. С напредване на тежестта на цирозата и развитието на повече усложнения се наблюдава и понижаване в качеството на живот на пациентите. Наблюдава се статистически значима корелация между възрастта, проследяването, броя хоспитализации и тежестта на цирозата. На базата на така получените резултати може да се направи заключението, че хроничен хепатит С-свързаната цироза води до повишен риск от развитие на усложнения, изискващи допълнително лечение, както и до повишени директни медицински разходи, като основно влияние оказват хоспитализациите.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Петрова Г и др. „Колко ни струва лошият контрол на хроничните вирусни хепатити“ – доклад на Кръгла маса на тема „Хепатитът: скрита епидемия или решим проблем“ Европейският контекст и значимост на въвеждането на Национална програма за профилактика, скрининг, ранна диагностика и лечение на вирусните хепатити в Р. България, организирана от Комисията по здравеопазване към 43-тото Народно събрание на Р. България, Българската асоциация за изучаване на черния дроб и Национално сдружение за борба с хепатита „ХепАсист“ – 05.03.2015.
- Dimitrova M, Petrova G, Genov J, et al. Cost analysis of the chronic HCV-related cirrhosis in Bulgaria. ISPOR 18<sup>th</sup> Annual European Congress, Milan Italy, Nov 2015

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 48/2015 Оценка на психосоциалните рискове в организационна среда с висок професионален риск - здравеопазване”**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Каролина Дошева Любомирова, дм

#### **Членове на изследователския екип:**

- Невена Цачева-Христова, дм
- Доц. Янка Проданова, дм
- Доц. Милена Стойчева, дм
- Доц. Ружа Николова, дм
- Гл.ас. Милена Табанска-Петкова
- Гл.ас. Тодор Кундуржиев
- Гл.ас. Ива Митева

**Базова организация:** МУ-София, ФОЗ, Катедра „Трудова медицина“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведено е проучване за оценка на психосоциалните рискове сред работещи в системата на здравеопазването. За целта е адаптиран въпросник за установяване на наличието на психосоциални рискове на работното място. Въпросникът е разпространен сред 2500 души, работещи в университетски и общински болници в град София. При анализирането на данните в попълнените анкетни карти се установи, че над 30% от участниците са във възрастова група над 55 години, с трудов стаж на 10 години. Близко половината от участниците са медицински сестри (47,2%), следвани от лекарите (34,6%) и санитарите (18,2%). Установихме водещите причини за психологичен дискомфорт сред анкетиранияте, а именно: работа под високо напрежение (съобщават 89,9%), получаването на противоречиви задачи (т.е. не добро дефиниране на работните задачи)- 33,4%, липса на влияние върху методи в работата -37,5%. За лоша социална среда като причина за стрес съобщават 20%, а слабо сътрудничеството с колегите отбелязват 35,5%. Почти половината (43,6%) считат, че са налице междуличностни конфликти, които влияят на работата, както и че е необходимо допълнително обсъждане на проблемите, свързани с работата, както и подобряване на отношения с ръководителите. Болшинството от участниците (57,3%) работят в страх от рискът от агресия от страна на обществеността /устни обиди, заплахи и физически нападения/. Получените данни бяха съпоставени с резултати от извършени оценки на здравния риск в проучваните болници. Потвърдено бе, че водещи са физиологичните рискове, а идентифицираните физични, биологични и химични рискове на работното място са в приемливи нива и са взети мерки за управлението им. От направения анализ на заболяемостта с временна наработоспособност се установи, че здравето състояние на работещите в проучваните болници може да се оцени, като задоволително. Отправени бяха препоръки за намаляване на установените рискове и бе разработен наръчник за избягване на съществуващите рискови фактори на работните места и за повишване на устойчивостта на работещите системата на здравеопазването.

**Научни публикации и прояви:**

- Samuneva M, Todor K, Lyubomirova K, et al. Specific occupational health risks among medical doctors in Bulgaria. Praemedicus 2016.
- Любомирова К, Самунева М, Ангелов К, и др. Анализ на субективната перцепция за здравен риск сред медицински специалисти в България. ИНГА 2016.
- Lyubomirova K, Tzacheva N, Samuneva M. Specific Health Risks among Medical Doctors in Bulgaria. Second Macedonian Congress on Occupational health with International Participation. 12-14 Oct, 2016, Skopje, Macedonia

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 49/2015 Социализация, ресоциализация и социална адаптация чрез приложимост на артериална терапия в социални и рехабилитационни заведения**

**Водещ изследовател:** Проф. Пенка Ангелова Маринова, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Ас. Павлинка Добрилова, дм
- Ас. Анна Маринова, дм
- Ивета Маринова, докторант

**Базова организация:** МУ-София, Филиал „Проф. д-р Иван Митев“, гр. Враца

**РЕЗУЛТАТИ:** Чрез научното изследване се установи приложимостта на артериалната терапия в социалните заведения и възможностите за прилагането ѝ в рехабилитационни

заведения. Резултатите от проведеното анкетно проучване сред служители и потребители на услуги в рехабилитационни и социални заведения и студенти от специалност „трудотерапия“ показват ниската използваемост на арттерапевтичната дейност в трудотерапевтичните центрове на социалните заведения и липсваща такава в рехабилитационните заведения и балнеохотели, където няма обособени трудотерапевтични центрове. Арттерапията е значима трудотерапевтична дейност застъпена в социалните домове в процесите на социализация, ресоциализация и социална адаптация, но не се използват пълноценно всички нейни възможности. От арттерапевтичните дейности много малка част се прилагат в практиката, като такива са предимно изработването на картички и оцветяването. Не се прилагат нови, съвременни методи и останалите направления в арттерапията като театротерапия, музикотерапия, игрова трудотерапия, танцотерапия, квиллинг, декупаж и др. В резултат на успешно реализираните арттерапевтични сесии се вижда, че въпреки слабата си информираност относно арттерапевтичните дейности, потребителите имат желание да се включат в арттерапия. Това показва готовност за работа с арт материали и позитивна нагласа при наличието на повече информация и професионализъм от страна на арттерапевта или трудотерапевта. Създадена е оценъчна карта за рехабилитационните заведения, която ще улесни дейността на трудотерапевта.

#### Научни публикации и прояви:

- Добрилова П, Маринова А, Михайлова И и др. Приложимост на трудотерапевтичната дейност в дневен център за лица с увреждания. Сестринско дело. 2016;2:7-10
- Михайлова И, Цачева Н, Маринова А и др. Арттерапията и необходимостта от нея в специализираните рехабилитационни заведения у нас. Медицински мениджмънт и здравна политика. 2016;1:31-42
- Михайлова И, Маринова А, Добрилова П. Арт-терапевтичната трудова дейност в процесите на социализация, ресоциализация и социална адаптация. Science & Technologies. Medicine. 2015;1:159-63
- Dobrilova P, Mihailova I, Marinova A et al. Art therapy – a modern approach to life quality improvement for handicapped people, Abstract book, 4th world conference on psychology and sociology, Rome, Italy, 26-28 Nov 2015
- Marinova A, Dobrilova P, Mihailova I et al. Art therapy – an unpopular method of effect on the mental health in rehabilitation institution in Bulgaria, Abstract book, 4<sup>th</sup> world conference on psychology and sociology, 26-28 Nov 2015, Rome, Italy

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## КОНКУРС „МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ’ 2014“

### МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ

#### **Договор 1-Д/2014** Имуноцитохимично изследване на допаминергичната невротрансмисия в ретината на нисши гръбначни

**Докторант:** Десислава Иванова Жекова, зачислена 2013 г.

**Научен ръководител:** Проф. Лилия Витанова, дм, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по физиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на нашето изследване беше да установим, използвайки индиректния имунофлуоресцентен метод, наличието на допаминергични неврони и разпределението на двата класа допаминови рецептори в ретината на жаба и костенурка – съответно основни представители на *Amphibia* и *Reptile*. Получените от нас резултати показват, че допаминергичната невротрансмисия е широко застъпена в ретините на изследваните видове. При двата животински вида се визуализират допаминергични неврони. Това бяха допаминергичните амакринни кетки. Допаминовите рецептори както от клас D1, така и от клас D2 се експресират в изследваните ретини. Сходство с бозайници беше установено най-вече по отношение на D<sub>1A</sub>/D<sub>1</sub> рецепторите. В зависимост от изследваният рецептор успяхме да визуализираме всички ретинални слоеве, като и хоризонтални клетки, амакринни клетки, гаанглийни клетки и/или т.н. “displaced amacrines”, включително и Мюлерова глия, които експресират определен тип допаминов рецептор. На базата на получените от нас данни може да се допусне, че в ретината на жаба и костенурка допаминът изпълнява както навротрансмитерна, така и невромодулаторна функция.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Zhekova D, Vitanova L. Immunofluorescent investigation of D1 class dopaminergic receptors in the retina of cold-blooded vertebrates. Anniversary Scientific Conference “Science for Health”, Plovdiv 20-22.05.2015; Vol. 57 Suppl. 1/2015

*Оценки по скалата на СМН:*

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 2-Д/2014** Проучване на асоциацията между полиморфизми в 6 кандидат-гена: *IL17RC*, *GPR126*, *VDR*, *BMP4*, *Lep*, *TGFB1* и предразположението към идиопатична сколиоза

**Докторант:** Светла Тодорова Николова

**Научен ръководител:** Доц. Алексей Савов, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по акушерство и гинекология

**РЕЗУЛТАТИ:** Нашето проучване потвърди: 1) асоциацията между 3 полиморфизма в 3 кандидат-гена (*IL17RC*, *GPR126*, *TGFB1*) и етиологията на идиопатичната сколиоза; 2) липсата на асоциация между 3 полиморфизма в 3 кандидат-гена (*Lep*, *BMP4*, *VDR*) и

етиологията на идиопатичната сколиоза; 3) асоциацията между 2 полиморфизма в 2 кандидат-гена (*IL17RC*, *TGFB1*) и прогресията на идиопатичната сколиоза при български пациенти. Беше потвърдена ролята на 3 кандидат-гена при кавказката популация (*IL17RC*, *GPR126*, *TGFB1*). В допълнение, беше намерена асоция между: 1) 2 кандидат гена (*TGFB1* и *IL17RC*) и фамилната идиопатична сколиоза; 2) 3 кандидат-гена (*TGFB1*, *IL17RC* и *GPR126*) и нефамилната идиопатична сколиоза; 3) 3 кандидат-гена (*TGFB1*, *GPR126* и *IL17RC*) и женския пол; 4) генът *IL17RC* и мъжкия пол; 5) 3 кандидат-гена (*VDR*, *BMP4* и *GPR126*) и типа на гръбначната крива. По този начин беше получена, както потвърдителна, така и нова информация за генетичните основи на идиопатичната сколиоза при български пациенти. Идентифицирането на молекулни маркери с диагностична и прогностична стойност ще бъде полезно в клиничната практика за ранна диагностика на предразположението към сколиоза при родственици и за по-точна прогноза на риска от бърза прогресия на деформацията при засегнати индивиди. Това ще позволи провеждане на профилактични мероприятия и ранна терапия.

#### Научни публикации и прояви:

- Nikolova S, Yablanski V, Vlaev E, et al. In Search of Biomarkers for Idiopathic Scoliosis: Leptin and BMP4 Functional Polymorphisms. *J Biomark.* 2015;2015:425310
- Nikolova S, Yablanski V, Vlaev E, et al. Association Study between Idiopathic Scoliosis and Polymorphic Variants of VDR, IGF-1, and AMPD1 Genes. *Genet Res Int.* 2015:852196

Оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 4-Д/2014 Синтез и охарактеризиране на 1-заместени арилпиперазини с ксантинов заместител при N4 с потенциална антиоксидантна и антипролиферативна активност**

Докторант: Лилия Антонова Андонова

Научен ръководител: Проф. Александър Златков, дф

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Фармацевтична химия.

**РЕЗУЛТАТИ:** Синтезирани са общо 12 нови съединения – 6 със заместител 1-(пропил)-теобромин и 6 със заместител 1-(бутил)-теобромин. Получените съединения са коректно охарактеризирани и структурата им е доказана с данни от ИЧ-и ЯМР-спектроскопия, ТСХ и елементен анализ за С, Н, N и халоген, където е необходимо. С цел изучаване на структурата на получените съединения, в допълнение на експериментално определените характеристики, част от новосинтезираните съединения дисертантката е подложила на изследване чрез методите на изчислителната химия като са определени на физикохимичните им характеристики и спектралното им поведение в ултравиолетовата област с помощта на ZINDO/S изчисления. Установено е, че теоретичните стойности за УВ спектрите корелират с експериментално определените. Определен също така е и приносът на отделната абсорбираща група, съответстваща на възбуденото състояние на всяко от изследваните съединения. Новосинтезираните съединения са преминали първичен скрининг по отношение определяне на радикал свързващата и антиоксидантна активност. Установено е, че две от тях, съдържащи хидроксилна група в структурата си, проявяват най-силен ефект. При изследване на

потискането на липидната пероксидация отново съединение от първата серия показва висока активност, докато при производните от втората серия резултатите не се различават статистически значимо от контролата. Антипролиферативната активност на две от новополучените съединения е сравнима с тази на референтното лекарство Cisplatin, а при RЕН клетъчна линия едното показва дори по-изразено инхибиране на малигнено клетъчната жизненост и пролиферация в сравнение с клинично използвания цитостатик.

#### Научни публикации и прояви:

- Andonova L, Zheleva-Dimitrova D, Georgieva M, et al. Synthesis and antioxidant activity of some 1-aryl/aralkyl piperazine derivatives with xanthine moiety at N4. *Biotechnol & Biotechnolog Equip.* 2014;28(6):1165-71.
- Andonova L, Momekov G, Georgieva M, et al. ZINDO/S computations of absorption bands in the UV spectra of some N4-substituted aralkylpiperazines with antiproliferative activity. *Int J Pharm Pharmaceut Res* 2015;2(3):44-59.

Оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 5-Д/2014 Сравнителен анализ на надземните части на *Astragalus glycyphylloides* и *Astragalus glycyphyllos***

Докторант: Александър Михайлов Шкондров

Научен ръководител: Проф. Илина Кръстева, дф

Базова организация: МУ – София, ФФ, Катедра по фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** От надземните части на два български вида (*A. glycyphylloides* и *A. glycyphyllos*), чрез прилагане на хроматографски методи (КХ, ПТСХ и Полупрепаративна ВЕТХ) са изолирани чисти вещества с отнасяния на флавоноиди и тритерпенови сапонини. Тяхното структурно определяне предстои. Обезмасленият екстракт от *A. glycyphyllos* (ЕАГ), от който са изолирани част от флавоноидите и тритерпеновите сапонини, е изследван *in vivo* за хепатопротективна и антиоксидантна активност върху модел на тетрахлорметан-индуцирана хепатотоксичност. В комбинация с тетрахлорметан ЕАГ проявява концентрационно и дозо-зависим, статистически значима хепатопротективна и антиоксидантна активност. Доказаната в настоящото проучване фармакологична активност на обезмасления екстракт от *A. glycyphyllos*, съизмерима с тази на класическия хепатопротектор силимарин, съответства на по-рано публикувани данни за същата на екстракт от *A. glycyphylloides*. Това прави изолираните от двете растения вещества потенциални кандидати за по-нататъшни изследвания като възможни хепатопротектори и антиоксиданти.

#### Научни публикации и прояви:

- Shkondrov A, Simeonova R, Kondeva-Burdina M, et al. Study to evaluate the antioxidant activity of *Astragalus glycyphyllos* extract in carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Eur J Med Plants.* 2015;7(2):59-66.

Оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 6-Д/2014 Създаване на специализирано учебно помагало по дентална биохимия**

**Докторант:** Николай Димитров Ишкитиев

**Научен ръководител:** Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Обобщаването, систематизирането и подходящото илюстриране на най-актуалната информация, обхващаща специфичните за оралните тъкани биохимични процеси не е извършвано досега в България. Учебни помагала с подобна насоченост в световен мащаб се срещат изключително рядко. Създаването на такова помагало би помогнало за повишаването на подготовката на студентите и специалистите по дентална медицина, защото ще ги запознава с конкретните биохимични (молекулни) процеси и механизми, протичащи в норма и патология. Актуалната биохимична информация (включваща и научни публикации от последните години) беше систематизирана на базата на цитохистологичните и морфологични характеристики на отделните оралните тъкани (емайл, дентин, пулпа, цимент, периодонциум, алвеооларна кост, слюнчени жлези). Структурирането на помагалото на глави, описващи съвременните познания за специфичните молекулни механизми, обуславящи функционирането на конкретната орална тъкан, акцентира върху взаимовръзките между биохимичните, цитологични и физиологични характеристики на разглежданата орална структура. Подходящото илюстриране със схеми, таблици, микроскопски снимки и друг доказателствен материал от лабораторни методи ще онагледява и спомага за усвояването на изложената информация.

*Оценки по скалата на СМН:*

***ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;*

***ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

***ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

**Договор 10-Д/2014 Флавоноиди в *Astragalus thracicus* – диворастящи и конвенционални *in vitro* култури**

**Докторант:** Христо Николаев Василев

**Научен ръководител:** Проф. Илиана Йонкова, дфн

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакогнозия и ботаника

**РЕЗУЛТАТИ:** Направено е проучване на флавоноидния състав на екстракти от ендемичния за Балканите вид *Astragalus thracicus*. Създадени са за първи път *in vitro* култури върху различни хранителни среди, като различните среди търпят промяна в концентрацията на макро- и микро- елементите, от една страна, и хормоналния състав от друга. Направено е фитохимично проучване на флавоноидния състав на вида като по този начин се дава основна представа за флавоноидния състав на това растение. Изолирани са пет чисти вещества, като работата по тяхното идентифициране продължава. Посредством метода на вътрешния свидетел е определено наличието на С-глюкозида ориентин. Неговото присъствие е проследено в екстракти от интактни надземни части и корени и е сравнено с растенията, получени в *in vitro* условия. От HPLC скрининга беше установено добро общо флавоноидно съдържание. Това беше предпоставка да се изследва радикал-свързващата активност на екстрактите с помощта на свободния радикал DPPH. Надземните части от интактното растение дадоха добър резултат като радикал-свързващ потенциал равняващ се на 1094,01 µg еквивалент аскорбинова киселина и 1166,82 µg Хиперозид. Съизмерим с диворастящите растения радикал-свързващ потенциал показаха екстрактите от растения отгледани в MS и HP9

хранителна среда, равняващи се на 968,77 µg, респективно 940,73 µg еквивалент аскорбинова киселина и 1036,50 µg, съответно 1007,34 µg Хиперозид. Това показва, че средата НР9, при която концентрацията на макро- и микро- солите е намалена наполовина показва незначително по-ниска активност. Това дава възможност при промишлено производство да се използва икономически по-изгодната среда НР9. Като цяло получените резултати дават основание да се твърди, че растенията отгледани в ин витро условия, могат да се използват като успешно-продуцираща алтернатива на диворастящите растения.

**Научни публикации и прояви:**

- Vasilev H, Ionkova I. DPPH radical scavenging activity of extracts obtained from *Astragalus aitosensis* Ivanisch. and *Astragalus thracicus* Griseb. Proceedings of the Eighth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (Proceedings of the 8th CMAPSEEC) Durres, Albania, Mar 2014
- Vasilev H, Ionkova I. HPLC investigation of the flavonoid composition of *Astragalus thracicus* Griseb. Book of Abstracts: "International Symposium: Natural products and drug discovery – future perspectives", 13-14 Nov 2014, Vienna, Austria.

Оценки по скалата на СМН:

*ВИСОКА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 11-Д/2014 Апоптоза и хипоксия при плоскоклетъчния карцином на ларинкса – молекулярни и генетични фактори**

Докторант: Тодор Мирославов Попов

Научен ръководител: Проф. Иван Чалъков, дм

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по ушни, носни и гърлени болести

**РЕЗУЛТАТИ:** За проекта бяха изследвани мРНК експресия на гените bcl-2, p53, c-Мус, РКМ в ларингеалната туморна тъкан на 63 пациента. Най-младият пациент е на 41 години, а най-старият е на 84. Средната възраст е 60.52. Откри се силна корелация между мРНК експресия на пируваткиназа М и c-Мус,  $rs(98) = .576$ ,  $p < .0005$ . Допълнително открихме статистически значима умерено позитивна корелация между нивата на експресия на пируваткиназа М и p53  $rs(98) = .352$ ,  $p < .05$ . Използван бе метода на Spearman. Третата асоциация в експресията, която имаше статистическа значимост бе между bcl-2 и p53. Открихме статистически значима умерено позитивна корелация между нивата на експресия на двата гена  $rs(98) = .374$ ,  $p < .05$ . Открихме и силна корелация чрез теста на Спийрман между нивата на мРНК експресия на HIF-1 alpha и пируваткиназа М ( $rs(98) = .431$ ,  $p < .005$ ). Аналогична по сила корелация открихме и между нивата на експресия на HIF-2 alpha и bcl-2 ( $rs(98) = .447$ ,  $p < .005$ ). Генът bcl-2 има и статистически значима корелация в умерено до силна степен и с гените VEGFR1, VEGFR2 и MMP2, като техните нива в групата пациенти ние бяхме изследвали при предходни проекти.

**Научни публикации и прояви:**

- Попов Т, Чалъков И. Клинико-патологичен профил на пациентите с карцином на ларинкса в България. Medical Magazine. 2014;9:94-6.
- Popov T, Chalakov I. Metastasizing – from the molecule to the macroscopic lesion. Oto-Rhino-Laryngology 2014;1:33-9.
- Popov T, Goranova T, Stancheva G et al. Relative quantitative expression of HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α and VEGF-A in laryngeal carcinoma. Oncology Letters 2015;9:2879-85.



Оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 13-Д/2014 Фитохимично проучване и изолиране на биологично активни вещества от семена на *in vitro* култури от *Gloriosa superba***

Докторант: Янчо Ангелов Зарев

Научен ръководител: Проф. Илиана Йонкова, дфн

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по фармакогнозия и ботаника

**РЕЗУЛТАТИ:** В предложеното изследване видът *Gloriosa superba* е разгледан като потенциален източник на биологично активни вещества с противотуморна активност. Проведеното изследване на тотални екстракти на установените от нас *in vitro* култури от вида показва наличие на сходна антипролиферативна активност, дължаща се вероятно на общи компоненти за тях. Първоначалното фитохимично изследване на същите екстракти показва липса на основните за вида метаболити, колхицин и колхикозид. Изолирането на компонентите носители на тази активност предстои. В хода на проведеното фитохимично проучване на семената от *Gloriosa superba* бяха изолирани сходна група съединения, чието хроматографско поведение сочи за структура съдържаща индолов пръстен. В литературата няма данни за изолиране на подобни съединения от вида. Предстои провеждането на спектрален анализ за изясняване структурата на изолираните съединения. Във връзка с нарастващия интерес към колхикозида е предложен биотехнологичен метод за неговия биосинтез. Използвайки клетъчни суспензионни култури бе постигната концентрация на колхикозид 0.01299 мг/мл в тотален екстракт след 14 дневно култивиране. Наличието на гликозидиран колхицин след биотрансформацията е доказано чрез хроматографски методи ( $R_f = 0.275$ ;  $RT\ 11.557\ \text{мин} \pm 0.12$ ) и спектрални методи – UPLC MS/MS ( $R_t = 3.12$ ; Молекулна формула  $C_{27}H_{33}NO_{11}$ ; Молекулна маса 547.554; Молекулен йон: 548.21  $[M+H]^+$ ) на анализ. В заключение предложеният от нас биотехнологичен метод дава нов път на биосинтез базиран на клетъчни суспензионни култури установени за пръв път в нашата лаборатория.

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 16-Д/2014 Репликативно проучване за установяване на потенциална асоциация между полиморфни варианти във водещи кандидат – гени от геноми – асоциативни проучвания и исхемична болест на сърцето при български пациенти**

Докторант: Рени Стойова Цвеова

Научен ръководител: Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на това проучване беше да се определят алелните и генотипни честоти на три полиморфни варианта: полиморфизъм в близост до локус *SORT1*-

*CELSR2-PSRC1* (rs599839), генетичен вариант, намиращ се в локус *HCG27 - HLA-C* (rs3869109) и единичен нуклеотиден полиморфизъм в интрон 8 на гена *ADAMTS7* (rs1994016) в две основни групи – на пациенти с исхемична болест на сърцето и на популационни контроли без данни за заболяването. По време на анализа бяха установени високи алелни честоти на проучваните варианти при здрави индивиди с български произход. Не беше наблюдавано отклонение от равновесието по Харди - Вайнберг на изследваните варианти с изключение на rs3869109. Алелните и генотипни честоти на анализираният маркер съответстват на тези, докладвани при европейци. Не беше установена значима асоциация на нито един от трите полиморфизма с риска за исхемична болест при българи. Подобни резултати бяха получени и при анализа на връзката на тези маркери със стойностите на систоличното и диастоличното артериално налягане, както и с нивата на триглицериди и холестерол в кръвта. Необходимо е разширяване на групата на изследваните пациенти и контроли с цел увеличаване на силата на проведения експеримент и получаване на надеждни резултати. След прилагане на множествен регресионен анализ бяха идентифицирани две статистически епистатичните взаимодействия между трите изследвани варианта по отношение на риска за исхемична болест на сърцето (*SORT1-CELSR2-PSRC1* rs599839 и *HCG27 - HLA-C* rs3869109 OR 2.65,  $p = 0.01$ ), стойностите на систоличното артериално налягане (*SORT1-CELSR2-PSRC1* rs599839 и *HCG27 - HLA-C* rs3869109  $\beta = -26.55$ ,  $p = 0.02$ ) и стойностите на диастоличното артериално налягане (*HCG27 - HLA-C* rs3869109 и *ADAMTS7* rs1994016  $\beta = -13.52$ ,  $p = 0.004$ )

#### Научни публикации и прояви:

- Tzveova R, Vandeva S, Matrozova Y, et al. Polymorphic variants in leading candidate-genes from genome-wide association studies and coronary artery disease risk – part two. *Cardiovascular diseases*, 02/2014, XLV, p. 48-57.

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 17-Д/2014 Анализ на спектъра от соматични мутации в тумори от български пациенти с рак на гърдата чрез секвениране от ново поколение**

Докторант: Даниела Росенова Дачева

Научен ръководител: Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Рака на гърдата е най-често диагностицираното злокачествено заболяване и най-честата причина за смърт при жените в България. Туморната хетерогенност при рака на гърдата е известна характеристика на тези тумори, но „driver“ соматични мутации и процесите, в които те участват все още не са напълно и мащабно проучени. Резултатите от проведения новогенерационен секвенционен анализ (NGS) в рамките на този проект показват наличие на патогенни мутации при всички изследвани пациенти. Общият брой на откритите аотирани варианти наброява 630 и включва всички видове еднонуклеотидни замени (SNV) и малки инсерции и делеции. Общо 48 известни различни патогенни мутации бяха открити- 4 мутации водещи до стоп кодон (Stop-gained), 38 малки инсерции/делеции, 6 известни патогенни миссенс мутации, разпределени сред 44% от изследваните гени. В допълнение 136 нови потенциално патогенни миссенс мутации бяха открити. Сред патогенните мутации 39,6% се откриват в гените ATM, ERBB4, PIK3CA и APC. Някои от мутациите се

срещат при над 50% от изследваните проби: с.5228delC в ATM, с.1815delT в BRAF, с.891dupT в ERBB4, с.5871T>A в ATM and с.1598T>C в SMAD4. Статистическите анализи за връзката на броя мутации с клиничните показатели показаха тенденция за натрупване на повече мутации с възрастта и липса на значима корелация с диференцираността, размера и молекулярни тип тумор на гърдата.

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 18-Д/2014 Изследване на ролята на гените SALL1, EYA1 и SIX1 в етиологията на вродени аномалии на бъбреци и отделителна система**

**Докторант:** Валентин Мартинов Пенчев

**Научен ръководител:** Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Вродените аномалии на бъбреците и отделителната система (ВАБОС) са разнообразна група педиатрични заболявания, която включва бъбречна агенезия, раздвоен уретер, бъбречна хипоплазия и дисплазия, и др. ВАБОС представляват приблизително 1/3 от всички малформации, открити по време на рутинната ехография за фетална морфология. В хода на настоящото проучване бяха подбрани пациенти, при които не са открити дефекти в TCF2 и PAX2 гените. Директният ДНК анализ (секвениране по Сенджър) бе насочен към кодиращите участъци на гените SALL1, EYA1 и SIX1. В резултат бяха детектирани четиринадесет промени в последователността на ДНК, като три от тях с потенциално асоцииране към патогенезата на ВАБОС. Събирането на още пациенти и шрилагането на по-мощни методи като новогенерационното секвениране със сигурност ще допринесат за в бъдеще за още по-детайлно проучване на тези тежки и комплексни заболявания.

**Научни публикации и прояви:**

- Penchev V, Boueva A, Zlatanova G, et al. Different type of mutations are responsible for expression of CAKUT phenotype in Bulgarian population, European Human Genetics Conference, Glasgow, Scotland, UK, 06-09.06.2015.
- Пенчев В. Генетика на нефрологични заболявания при деца. Годишен симпозиум „Акад. Чудомир Начев“, София, 25 октомври, 2014

*Оценки по скалата на СМН:*

*ВИСОКА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 23-Д/2014 Моделиране на взаимодействието на йонизиращото лъчение с очната леща и разработване на методика за калибриране на индивидуални дозиметри за оценка на дозата на очната леща на персонала, работещ в интервенционалната рентгенология и кардиология**

**Докторант:** Анна Руменова Загорска, зачислена 2013 г.

**Научен ръководител:** Проф. Борис Тенчов, дф, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Медицинска физика и биофизика.

**РЕЗУЛТАТИ:** В рамките на този проект са създадени антропоморфен математичен модел на главата, окото и очната леща. Симулиране на транспорта на рентгеновите фотони за геометрия на облъчване, характерна за интервенционалната рентгенология е извършено в XRayImaging Simulator. Оценена е ефективната и средната енергия и е изчислен първият слой на полуотслабване на разсеяното лъчение в характерна позиция на медицинския специалист. Оценено е разпределението на дозата в окото и очната леща на оператора, въз основа на което се реши, че величината индивидуален дозов еквивалент  $H_p(3)$ , ще дава по-добра оценка за реално получената доза. Изработени са два фантома за калибриране: кръгъл цилиндър със сферичен сегмент и елиптичен цилиндър. Извършени са тестове за енергийна и ъглова зависимост на фантомите с два типа дозиметри. Дозиметрите тип EYE-D<sup>TM</sup>(MCP-N) напълно удовлетворяват изискванията на международните стандарти. Предложени са коефициенти за преминаване от въздушна керма в  $H_p(3)$  при ъгъл на облъчване  $0^\circ$ : 1) за качества на лъченията от серията тесен спектър - и за двата фантома; 2) за RQR-серии - за кръгъл фантом. Получените коефициенти за кръгъл фантом съвпадат с до 6 %, в сравнение с предложени от други автори. Разработена е методика за калибриране и оценка на индивидуални дозиметри за очна леща.

#### Научни публикации и прояви:

- Zagorska A, Bliznakova K, Buchakliev Z. Towards the estimation of the scattered energy spectra reaching the head of the medical staff during interventional radiology: A Monte Carlo simulation study, 2015 J. Phys.: Conf. Ser. 637 012036
- Zagorska A, Buchakliev Z, Bliznakova K. Scattered spectra simulations in interventional radiology and calibration of personal dosimeters for eye dose, Physics in the protection of human health and environment, The Light in Medicine, editors B. Tenchov, L. Traikov 2015; pp 347-364.
- Dilkovska-Petrova T, Zagorska A, Bliznakova K. The Role of Cloud Services in Research Projects (Case Study) Big Data, Knowledge and Control Systems Engineering - BdKCSE'2015, editor Rumen D. Andreev, Ist sai Press, 2015; p. 75-88.

Оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 24-Д/2014 Мутационен анализ на ген *LRRK2* при български пациенти с болест на Паркинсон**

Докторант: Калина Йонкова Михова

Научен ръководител: Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн и Чл.- кор. проф. Лъчезар Трайков, дм, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Болестта на Паркинсон е най-често срещаното моторно невродегенеративно заболяване, характеризиращо се с ригидност, брадикинезия, тремор, постурална нестабилност и немоторни симптоми – когнитивни нарушения, невропсихиатрични симптоми и др. Мутации в ген *LRRK2* са най-честата причина за развитие на болест на Паркинсон, както при фамилни, така и при спорадични случаи. В настоящето изследване бяха включени 137 пациента с болест на Паркинсон и Паркинсон + симптоми, изследвани с директно секвениране по Сангер. Открихме три нови неописани нуклеотидни варианта, засягащи функционални консервативни домени на белтъка - cDNA.4299T>C, cDNA.4335C>T и cDNA.5331A>G. Програмите за

предикция предсказват висока степен на патогенност при две от тях. Открити бяха и описани мутации с.4229C>T, rs72546327 и rs7133914 с.4193G>A, p.R1398H с неясно клинично значение. Откриването на нови варианти, както и резултатите от предходни изследвания, могат да доведат до предположение, че българската популация се различава по честота и разпространение на мутациите, спрямо другите европейски популации. Скринингът и разпространението на известни мутации, както и откриването на нови, неописани до момента би довело до изясняване на ролята им за развитие на заболяването. Това би довело до повишаване възможностите за ранна диагностика и изясняване на генотип-фенотипните корелации, спомагащи изясняването на функцията на белтъка и връзката му с патологията на болестта.

#### Научни публикации и прояви:

- Михова К. Генетични и геномни изследвания при невродегенеративни заболявания, Годишен симпозиум „Акад. Чудомир Начев“, София, 25 октомври 2014, стр. 16

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ

### Договор 3-Д/2014 Миокини и риск от захарен диабет тип 2

Докторант: Явор Сашов Асьов

Научен ръководител: Проф. Здравко Каменов, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Миокините са вещества, които се отделят от мускулите в резултат на физическа активност. В настоящото проучване сравнихме нивата на два такива миокина – иризин и фракталкин между три групи пациенти – предиабетици (n=60), диабетици (n=50) и такива с нормогликемия (n=50), като групите не се различаваха статистически по тяхната възраст, полово разпределение, ИТМ и ниво на физическа активност. Установихме, че иризинът прогресивно намалява с влошаване на гликемията – нивата му са най-високи при нормогликемия, по-ниски при предиабет и най-ниски при диабетици. В допълнение, серумните нива на иризин се асоциират негативно с биохимични параметри, определящи рисковия метаболитен профил на пациентите – триглицериди, чернодробни ензими, гликиран хемоглобин и имунореактивен инсулин. Фракталкинът не се различаваше статистически между изследваните групи пациенти. Fatty Liver Index е сурогатен за чернодробна стеатоза показател, за калкулирането на който се използват биохимични показатели. За него установихме позитивна корелация с гликирания хемоглобин, имунореактивния инсулин и пикочната киселина, а негативна с HDL-холестерола. От практическо значение бе изследването на предиктивната стойност на ултразвуковото измерване на мастната маса. В сравнителен корелационен анализ, установихме, че то корелира по-добре с метаболитните профили на пациентите и серумните нива на иризина от най-използвания сурогатен показател за оценка на мастната маса – обиколката на талията.

**Научни публикации и прояви:**

- Assyov Y, Kamenov Z, Tsakova A, et al. A comparison of four clinical methods for the evaluation of metabolic syndrome in women. 22nd European Congress on Obesity, Prague, Czech Republic – ECO. 6-9 May, 2015. Abstract 609
- Kamenov Z, Assyov Y. Neck circumference – a more informative indicator for metabolic disturbances compared to waist circumference? 24<sup>th</sup> Clinical Congress of the American Association of Clinical Endocrinologists – AACE, Nashville Tennessee, USA. 13-17 May, 2015. Abstract 606
- Kamenov Z, Assyov Y, Tsakova A. Irisin in the glucose continuum – from normal glucose tolerance through prediabetes to type 2 diabetes mellitus. 24<sup>th</sup> Clinical Congress of the American Association of Clinical Endocrinologists – AACE, Nashville Tennessee, USA. 13-17 May, 2015
- Assyov Y, Gateva A, Tsakova A, et al. Irisin in the Glucose Continuum. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2016;124(1):22-7.

Оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 7-Д/2014 Сърдечно-съдов риск при захарен диабет тип 2**

**Докторант:** Александра Николаева Дончева

**Научен ръководител:** Проф. Михаил Боянов, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта бе да се оцени сърдечно-съдовият риск при пациентите със ЗД2 и връзката му с маркери за ранна атеросклероза. Участваха 97 пациенти със ЗД2- 60 жени и 37 мъже (средна възраст  $63.2 \pm 9.3$  години). Рискът за фатални и нефатални ССЗ и инсулт се изчисли с UKPDS Risk engine 2.0 по възраст, давност на диабета, тютюнопушене, систолно артериално налягане, наличие на предсърдно мъждене, гликиран хемоглобин, тотален и HDL-холестерол. Серумните нива на N-терминален про В-тип натриуретичен пептид (NT-proBNP) се изследваха с електрохемилюминисцентен, а асиметричен диметиларгинин (ADMA) - с ензимен имуноанализ. Изчисленият среден риск за нефатални сърдечно-съдови заболявания (CHD) е 20.65%, за фатални CHD е 15,5%, за инсулт е 16,78%, и за фатален инсулт- 2,58%. Средните серумни нива на NT-proBNP са  $32.85 \pm 55.35$  pmol/l, като 53.6% имат стойности под референтните. Средните нива на ADMA са  $0.62 \pm 0.19$   $\mu$ mol/l, като при 70.1% те са в референтните граници. Установи се S-тип зависимост между нивата на NT-proBNP и риска от нефатални и фатални CHD ( $R^2 = 0.072, 0.082$ ) и линейна зависимост с риска от фатален и нефатален инсулт ( $R^2 = 0.279, 0.257$ ). Не се установи зависимост със серумните нива на ADMA. Рискът от ССЗ и инсулт корелира с NT-proBNP, но не и с ADMA.

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 8-Д/2014 Значение на хомоцистеин и васпин и тяхната корелация със сърдечна автономна дисфункция при пациенти с различна степен на нарушение на глюкозния толеранс – предиабет (нарушена гликемия на гладно, нарушен глюкозен толеранс) и новооткрит захарен диабет тип 2**

**Докторант:** Румяна Бойкова Димова-Драганова

**Научен ръководител:** Проф. Цветалина Танкова, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен Център по Ендокринология

**РЕЗУЛТАТИ:** Не се установи разлика в нивата на васпин между групите според глюкозен толеранс, наличието на метаболитен синдром (МС) и автономна дисфункция. В групата с новооткрит захарен диабет тип 2 васпин корелира позитивно с общотелесната мастна маса и реципрочно с плазмената глюкоза на гладно и HbA1c. Лицата с нормален глюкозен толеранс (НмГТ) и МС демонстрират позитивна корелация между васпин и възрастта и AGEs, докато при тези с НмГТ без МС васпин корелира само с възрастта. В групите с МС васпин корелира позитивно с възрастта, общотелесната мастна маса, и AGEs; докато в групите без МС само с възрастта. Васпин корелира негативно със симпатиковата и парасимпатиковата активност в покой ( $r = -0.305$ ,  $p=0.01$ ,  $r = -0.304$ ,  $p=0.01$ , съответно), дълбоко дишане ( $r = -0.243$ ,  $p=0.042$ ,  $r = -0.417$ ,  $p<0.001$ , съответно), Валсалва ( $r = -0.243$ ,  $p=0.043$ ,  $r = -0.327$ ,  $p=0.006$ , съответно), и изправяне ( $r = -0.312$ ,  $p=0.009$ ,  $r = -0.337$ ,  $p=0.004$ , съответно) при лицата с НмГТ. Подгрупата с НмГТ+МС демонстрира негативна корелация между васпин и симпатиковия тонус в покой ( $r = -0.389$ ,  $p=0.021$ ), симпатиковия и парасимпатиковия тонус при дълбоко дишане ( $r = -0.405$ ,  $p=0.016$ ,  $r = -0.352$ ,  $p=0.038$ , съответно), и изправяне ( $r = -0.358$ ,  $p=0.035$ ,  $r = -0.335$ ,  $p=0.049$ , съответно), докато в подгрупата с НмГТ-МС васпин корелира негативно само с парасимпатиковата сила в покой ( $r = -0.379$ ,  $p=0.025$ ), дълбоко дишане ( $r = -0.510$ ,  $p=0.002$ ), Валсалва ( $r = -0.415$ ,  $p=0.013$ ), и изправяне ( $r = -0.384$ ,  $p=0.023$ ).

**Научни публикации и прояви:**

- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. "Is vaspin related to cardio-metabolic status and autonomic function in early stages of glucose intolerance and in metabolic syndrome?". Diabetol Metab Syndr. 2016;8:46.
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. Serum vaspin relation to cardiovascular autonomic function in euglycemic subjects with or without metabolic syndrome. Endokrinologia 2015;4:197-205.
- Dimova R, Tankova T. The role of vaspin in the development of metabolic and glucose tolerance disorders and atherosclerosis. BioMed Res Int. 2015:823481.
- Dimova R. Clinical significance of homocysteine for the increased cardio-vascular risk and the development of chronic complications in subjects with diabetes mellitus. Nauka Endocrinologia. 2015;1:7-13.
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. The role of vaspin in the early stages of glucose intolerance and in metabolic syndrome. 8th World Congress on Prevention of Diabetes and its Complications, Cartagena, Colombia, 15-17 Oct 2015, p:6.
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. Correlation between vaspin levels and autonomic tone in normoglycemia, prediabetes and newly-diagnosed type 2 diabetes. IDF World Diabetes Congress 2015, Vancouver, Canada, 30-01 Dec 2015, p:296.

*Оценки по скалата на СМН:*

**ОТЛИЧНА** - за извънредната научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 9-Д/2014** Определяне на сонографските параметри на бъбрек, сърце, каротиди и серумните нива на IL-1 $\beta$  и IL-18 при болни с хронична подагра

Докторант: Рада Николаева Ганчева

Научен ръководител: Проф. Златимир Коларов, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Клиника по ревматология

**РЕЗУЛТАТИ:** Изследвани са 211 лица разделени в пет групи: здрави - 20 мъже и 21 жени на възраст  $55.29 \pm 12.9$  г; болни с остеоартроза - 15 мъже и 20 жени на възраст  $61 \pm 9.7$  г; с асимптомна хиперурикемия - 23 мъже и 18 жени на възраст  $54.6 \pm 15.6$  г; подагрици без тофи - 45 мъже и 7 жени на възраст  $55.9 \pm 11.6$  г; подагрици с тофи - 41 мъже и 1 жена на възраст  $58.8 \pm 11.4$  г. RRI е сигнификантно по-висок при подагриците с тофи в сравнение с тези без тофи ( $p=0.002$ ). При подагриците с тофи в сравнение с тези без тофи има тенденция за сигнификантно по-голям LVMi ( $p=0.071$ ). Стойността на Em е сигнификантно най-ниска при подаграта с тофи. В IMT няма значима разлика между двете групи с подагра ( $p=0.102$ ), но болните с тофи бяха със сигнификантно по-висок CCARI ( $p=0.002$ ). При болните от подагра IL-1 $\beta$  беше недектируем. В нивото на IL-18 няма значима разлика между четирите групи болни ( $p=0.154$ ). Концентрацията на IL-1 $\beta$  и IL-18 не корелира с ехографските показатели и нивото на пикочната киселина. Можем да предположим, че тофите повишават сърдечно-съдовия риск, и че серумното ниво на IL-1 $\beta$  и IL-18 не отразява тежестта на болестта и сърдечно-съдовия риск при болни от подагра.

**Научни публикации и прояви:**

- Gancheva R, Kundurdjiev A, Kundurzhiev T, et al. Ultrasonographic assessment of diastolic function of the left ventricle as an indicator of cardiovascular risk in patients with gout. 4<sup>th</sup> National Conference in Osteoporosis and Osteoarthritis, 11-13 Dec 2014, Plovdiv.
- Gancheva R, Kundurdjiev A, Ivanova M, et al. How the appearance of tophi changes ultrasonographic parameters independently associated with cardiovascular risk. 6th European Crystal Workshop, 5-6 Mar 2015, Paris, France, p. 14.

Оценки по скалата на СМН

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 12-Д/2014** Изследване на оментин и копептин като маркери за ранна диагностика при пациенти с метаболитен и преметаболитен синдром

Докторант: Даниела Георгиева Василева

Научен ръководител: Доц. Николай Рунев, дм

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра Пропедевтика на Вътрешните Болести, Клиника по Кардиология

**РЕЗУЛТАТИ:** Въпреки, че етиологията на метаболитния синдром не е напълно изяснена, от клинична гледна точка е важна ранната предикция на констелация и предотвратяване развитието им. В настоящия проект се потърси се връзка между стойностите на копептин и оментин и наличието на констелациите преметаболитен и метаболитен синдром. В проучването бяха включени пациенти, разделени в три групи - група 1 здрави контроли ( $n=24$ ), група 2 преметаболитен синдром ( $n=30$ ) и група 3 със метаболитен синдром ( $n=30$ ). Пациенти с преметаболитен синдром демонстрират



сигнификантно по-ниски КЗ на гладно в сравнение с групата на метаболитен синдром. Налична е корелация между ОТХ и броя на рисков фактори при пациентите с метаболитен синдром. При пациентите с метаболитен синдром се демонстрират сигнификантно по-високи стойности на ИТМ, абдоминално затлъстяване, а също и на резултатите от липидния профил, артериалното налягане. Установихме значимо по-високи нива на оментин при пациентите с метаболитен синдром в сравнение с тези с преметаболитен и с контролите. Установи се разлика в стойностите на копептин и оментин при групите здрави контроли и преметаболитен синдром, без обаче тя да достига статистическа значимост. И при двете групи /ПрМС и МС/ преобладават пациентите с диастолна дисфункция. Данните са сравними с изнесените данни в международен мащаб. Резултатите потвърждават установената зависимостта между нивата на оментин и метаболитен синдром. В заключение двата биомаркера могат да се използват за скринг на пациенти с рисков профил по отношение на отклонения в метаболитния профил. Тези резултати подчертават необходимостта от бъдещи проучвания в областта на метаболизма и сърдечно-съдовите усложнения.

*Оценки по скалата на СМН:*

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 14-Д/2014 Роля на серумните липиди във вирусната кинетика, патогенезата и терапевтичния отговор на хроничната HCV инфекция. Проследяване и съпоставяне на липидния статус с клинични, образни, лабораторни, вирусологични и хистологични методи за оценка на чернодробното заболяване**

Докторант: Иван Цветанов Вълков

Научен ръководител: Проф. Красимир Антонов, дмн

Базова организация: МУ-София, Клиника по гастроентерология

**Резултати:** Lp(a) беше в отрицателна корелация с наличието на чернодробна цироза ( $r = -0.216$ ,  $p = 0.033$ ); стадия на фиброза ( $r = -0.239$ ,  $p = 0.045$ ); FIB-4 скор ( $r = -0.294$ ,  $p = 0.003$ ); APRI скор ( $r = -0.273$ ,  $p = 0.006$ ); ГГТ ( $r = -0.228$ ,  $p = 0.004$ ) при пациенти инфектирани с HCV генотип 1. Неотговорилите на предшествашо антивирусно лечение имаха по-висока ГГТ ( $p = 0.037$ ) и по-нисък Lp(a) ( $p = 0.010$ ) от групата на нелекуваните. Нямаше статистически значима разлика в средните стойности на Lp(a) между генотип 1 и 3. Общият холестерол корелираше отрицателно с чернодробната фиброза ( $r = -0.279$ ,  $p = 0.011$ ) и наличието на цироза ( $r = -0.343$ ,  $p = 0.001$ ). Същото се отнасяше и за връзката между LDL с чернодробната фиброза ( $r = -0.308$ ,  $p = 0.005$ ) и наличието на цироза ( $r = -0.343$ ,  $p = 0.001$ ). Общият холестерол и LDL корелираха поотделно с наличието на стеатоза ( $r = 0.265$ ,  $p = 0.005$ ;  $r = 0.257$ ,  $p = 0.006$ ). Триглицеридите корелираха положително с нивата на HCV RNA ( $r = 0.274$ ,  $p = 0.003$ ) и наличието на чернодробна цироза ( $r = 0.207$ ,  $p = 0.032$ ). Наличието на чернодробната цироза бе свързано с висок вирусен товар ( $p = 0.029$ ). Изводи: Lp(a) е по-нисък при напреднала чернодробна фиброза и чернодробна цироза. Серумните нива на триглицеридите и VLDL, и стадия на чернодробната фиброза са положително взаимосвързани. Нивата на серумните триглицериди са в положителна връзка с нивото на вирусно размножаване. Общият холестерол и LDL кореспондират с наличието на чернодробна стеатоза. С напредване на чернодробната фиброза и загубата на хепатоцити се наблюдава намаляване на серумните им нива.

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 15-Д/2014 Честота на витамин D дефицит, метаболитен синдром и захарен диабет тип 2 при пациенти с ХОББ**

Докторант: Евгени Витков Меков

Научен ръководител: Доц. Янина Славова-Маринова, дм

Базова организация: МУ-София, МФ, Клиничен център по белодробни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Честотата на витамин D дефицит и недостатъчност и захарен диабет тип 2 (ЗД) при пациенти с ХОББ, хоспитализирани поради екзацербация е висока, а тази на метаболитен синдром (МС) - ниска. Витамин D дефицит и недостатъчност се наблюдава по-често при жени. МС също е по-чест при жени, докато ЗД е по-чест при мъже, но и в двата случая разликата не е статистически значима. Налице е корелация между наличието на ЗД и МС. Витамин D статусът и нивото на витамин D не показват зависимост с наличието на МС и ЗД. Броят на преживените фрактури корелира с хиповитаминоза D. Наличието на ЗД е свързано с по-висока честота на тежки екзацербации и по-дълъг болничен престой. Витамин D дефицитът е рисков фактор за удължен болничен престой, докато МС е свързан с по-висока честота на екзацербациите. Намаленото ниво на витамин D и наличието на МС са свързани с влошено качество на живот като mMRC корелира по-добре с нивото на витамин D, докато САТ въпросникът – с МС. Наличието на ЗД не оказва влияние върху качеството на живот. Намаленото ниво на витамин D е свързано с влошена белодробна функция. Наличието на МС или ЗД не влошава белодробната функция, но новооткритият ЗД е свързан с намален ФВК.

**Научни публикации и прояви:**

- Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, et al. Vitamin D deficiency and insufficiency in hospitalized COPD patients. PLoS ONE 2015;10(6):e0129080.
- Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, et al. Metabolic syndrome in hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease. PeerJ 2015;3:e1068.

Оценки по скалата на СМН:

*ОТЛИЧНА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 19-Д/2014 Изследване активацията и секрецията на IL-10 при периферни, кръвни, моноклеарни клетки, изолирани от здрави хора след култивирането им със среда от клетъчни култури, получени от Glioblastoma multiforme**

Докторант: Калина Динкова Тумангелова

Научен ръководител: Доц. д-р Доброслав Кюркчиев, дм

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, Лаборатория по клинична имунология

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящето изследване беше да се проследят *in vitro* някои от механизмите, чрез които Глиобластома мултиформе (ГБМ) подтиска имунната система, чрез изследване наличието на супресивни хуморални фактори, секретирани от туморните клетки в клетъчни култури. В литературата данните за влиянието на фактори секретирани от клетки на ГБМ върху клетките на имунната система е слабо проучено. На първи етап от нашето проучване подбрахме здрави донори от които изолирахме периферни кръвни мононуклеарни клетки (PBMCs). Установихме, че след третиране с контролна среда Т-лимфоцитната популация от изследваните PBMCs се активира нормално като средната стойност на индекса на стимулация беше 26.53. За разлика от тях обаче, Т лимфоцитите от PBMCs, престояли 60 часа в среда от ГБМ клетъчна култура, загубват способността си да се активират в пълни размери и индексът на стимулация (средно 13.18) е значимо по-нисък. При сравняване на средните стойности на индекса на стимулация на Т-лимфоцити в групата на PBMCs, третирани с контролна среда и в групата на третирани със среда от ГБМ култивирани клетки, установихме статистически значима разлика между тях ( $p=0.007$ ). Нашият екип изследва IL-10 в супернатанти от култивирани със среда от ГБМ клетъчни култури и с контролна среда PBMCs, но не установихме разлика в нивата му.

#### Научни публикации и прояви:

- Tumangelova-Yuzeir K, Ivanova-Todorova E, Velikova T et al. Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy humans, show a reduced ability to activation after culturing with medium from cell cultures derived from Glioblastoma multiforme, Yearbook of Bulgarian Association for Clinical Immunology 2015, p. 48-57
- Tumangelova-Yuzeir K, Ivanova-Todorova E, T Velikova et al. Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy humans, show a reduced ability to activate after culturing with medium from cell cultures derived from Glioblastoma multiforme, XI National Conference on Medical Biology, Plovdiv, 15-17 May 2015

Оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 20-Д/2014 г. Роля на мутациите в митохондриалната ДНК в патогенезата на несиндромната слухова загуба свързана с употреба на аминогликозидни антибиотици**

Докторант: Иглика Петрова Станчева

Научен ръководител: Проф. д-р Диана Попова, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по ушни, носни и гърлени болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Аминогликозид-индуцираната слухова загуба, причинена от мутации в мДНК е описана в различни популации още през 1993 година. Целта на настоящето проучване е за първи път в България да се определи ролята и значимостта на мутациите A1555G (MT-RNR1) и A7445G (MT-ST1) в патогенезата на несиндромната слухова загуба при пациенти приемали аминогликозидни антибиотици. Извършено е генетично изследване на 48 пациенти с различно ниво на слухова увреда, подбрани по предварителни критерии. Първоначало са търсени мутации/или полиморфизми в GJB2, т.к. в предходни проучвания установихме, че те обясняват около 1/3 от случите с неустановена причина за слухова увреда. При 16,7% (8/48) открихме следните генотипове: с.35delG/WT (6,3%), p.W24X/p.W24X (4,2%), с.35delG/p.W24X (2,1%), p.Val27Ile/p.W24X/p.Glu114Gly (2,1%). След това всички пациенти бяха изследвани за

митохондриалните мутации A1555G и A7445G. Последните не се установиха при нито един. Беше открита нова, непубликувана до момента синонимна мутация в кодон 404 (р.Thr404Thr), водещ до нуклеотидна замяна на С с Т при майка и дъщеря. Тя обаче не обяснява слуховата загуба. Резултатите показват първостепенното значение на конексин 26 за генетичните слухови увреди. Липсата на открити мутации в митохондриалните гени MT-RNR1 и MT-ST1 предполага, че те не играят съществена роля за намалението на слуха в изследваната популация. Търсенето трябва да продължи с изследване на други гени отговорни за увреждането на слуха.

#### Научни публикации и прояви:

- Popov T, Stancheva I, Kachakova D, et al. Auditory Outcome After Cochlear Implantation in Patients With Congenital Nonsyndromic Hearing Loss: Influence of the GJB2 Status, *Otology & Neurotology* 2014;35(8):1361-6.
- Stancheva I, Popova D, Varbanova S, et al. Role of mutations in mtDNA of hearing damage after taking aminoglycoside antibiotics. Spring Conference "Current concepts in the treatment of ear, nose and throat." Plovdiv. 27-29 Mar 2015

Оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 21-Д/2014 Връзка на неврокогнитивни нарушения при болни с БАР-тип 1 и генетични полиморфизми в 5HTTLPR, FKPB5, 5HTR2A, NR3C1, MAOA – и VNTR гените**

Докторант: Младен Германов Пенчев

Научен ръководител: Проф. Вихра Миланова, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по психиатрия

**РЕЗУЛТАТИ:** В настоящето изследване бяха генотипирани 122 пациенти с биполарно афективно разстройство за полиморфизми в *FKPB5*, *5HTR2A*, *NGF* гените. Пациентите бяха изследвани когнитивно и резултатите им бяха сравнени с тези на 120 контроли. Пациентите показаха по-лоши резултати на всички тестове (ТМТ – А,  $p < 0,000$ ; ТМТ – В,  $p < 0,000$ ; DST,  $p < 0,000$ ; VFT,  $p < 0,000$ ). Бяха установени някои статистически зависимости между генотипите и представянето на пациентите на когнитивните тестове, като най-значим се оказа *HTR2A\_rs6311* полиморфизмът (съответно  $p = 0,045$  за ТМТ-А,  $p = 0,049$  за ТМТ-В и  $p = 0,008$  за VF). Установихме, че по-късното начало, по-продължителното боледуване и психотичните симптоми са свързани с по-лоши резултати на тестовете. С цел прецизиране на влиянието на отделните променливи, се проведе регресионен анализ, за да се установи тежестта на влияние на съответния фактор. Статистическите зависимости, които установихме са следните: между възрастта при началото на заболяването и резултатите на когнитивните тестове (ТМТ-А,  $p = 0,026$ ; ТМТ-В,  $p < 0,000$ ; DST,  $p = 0,003$ ; VFT,  $p = 0,1$ ) и годините боледуване и резултатите на когнитивните тестове (ТМТ-А,  $p = 0,023$ ; ТМТ-В,  $p < 0,000$ ; DST,  $p = 0,004$ ; VFT,  $p = 0,05$ ). Отчете се и определено влияние на клиничната картина (ТМТ-А,  $p = 0,035$ ; ТМТ-В,  $p = 0,004$ ; DST,  $p = 0,017$ ; VFT,  $p = 0,52$ ). Данните от регресионният анализ показаха, че годините боледуване, началната възраст при разболяването и клиничната картина влияят върху когнитивните функции съществено и тези фактора могат да се използват като предиктор за когнитивни нарушения.

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 27-Д/2014 Серумни нива на маркери на възпаление при пациенти със захарен диабет тип 2 и латентен автоимуен захарен диабет и връзката им със степента на гликемични нарушения и придружаващи хронични усложнения сред българската популация**

**Докторант:** Емануела Цветкова Захаријева

**Научен ръководител:** Проф. Здравко Каменов, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** В проекта са включени 51 души със захарен диабет, 15 с предиабетно състояние и 14 здрави контроли. С ELISA се изследваха антитела GAD65 и IA2 и се измери се нивото на TNF alfa и IL6. В 15,7% (n=8) от случаите с диабет измерихме положителни антиGAD65 антитела, в 5,9% (n=3) са положителни двете. Лицата с латентен автоимуен диабет (LADA) имат по-благоприятни антропометрични показатели, по-добър липиден профил, по-добър контрол над систолното артериално налягане. Установихме и по-нисък HbA1c (7,5% vs 9,2%, p=0,014) като 87,5% от пациентите с LADA вече бяха на инсулинолечение срещу 20,9% от тези с отрицателни антитела при сравнима давност на диабета (2,9vs4,2г). При лицата с автоимуен отговор нивото на IL6 е по-ниско (1,84 vs 3,84pg/ml, p=0,04), не корелира с гликемията, а само с триглицеридите. Наличието на хронични усложнения не се различава значително в двете групи диабетичи. Нивото на IL6 и TNF alfa не е променено при настъпили усложнения и не корелира с гломерулната филтрация. Положителните антитела се асоциират с по-добра бъбречна функция. Пациентите с предиабет нямат положителни антиостровни антитела. Нивото на цитокините не се отличава значително от това при контролите и диабетичите, но установихме отрицателна корелация между TNF alfa и ИТМ, триглицеридите и VLDL-холестерола.

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 28-Д/2014 Получаване и съхранение на тъкани за до разширяване на тъканна банка от пациенти с карцином на млечната жлеза**

**Докторант:** Мариела Борисова Василева

**Научен ръководител:** Проф. Георги Тодоров Тодоров дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по хирургия

**РЕЗУЛТАТИ:** Биобанката е съставена от 50 проби от туморна тъкан и 49 проби от периферна кръв. Създадената база данни съдържа информация за 49 пациенти (един от пациентите е с билатерален синхронен карцином), които са отговорили на критериите за включване в проекта. Те са на възраст от 33 до 84 години в момента на диагнозата (средно 58,5 години). 11 пациенти от всички 49 отговарят на критериите за наследствен карцином. 14 от всички пациенти имат доказан множествен карцином. Хистологичното изследване показва, че 41 от туморите са инвазивни дуктални карциноми, 5 са инвазивни лобуларни и 2 са чисти форми на дуктален карцином ин ситу. 6 от пациентите са

тройно негативни, а 10 са едновременно естроген и прогестерон негативни. Резултатите от попълненият въпросник показват, че индексът на телесна маса при изследваните пациенти е 27,17кг/м<sup>2</sup>. От 48 пациентки, попълнили коректно въпросникът, 6 нямат деца, а други 7 никога не са кърмили. Средната възраст на менархе е 13,4 години, а на менопауза 50,1 години. От 44 пациентки, отговорили на този въпрос 14 са били пушачи и 30 непушачи. Към датата на последно проследяване на пациентите (1.05.2015г.) починали са 4. Двама от тях са били с тройно негативен карцином и двама са били с данни за далечни метастази в момента на диагнозата.

**Научни публикации и прояви:**

- Vasileva M, Sedloev T, Angelov K, et al. Annual report of Medical University of Sofia Breast Cance Biobank. 5th Turkish - Bulgarian Breast & Endocrine Surgery Club Meeting 27-28 May 2015, Varna Bulgaria

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 35-Д/2013 Определяне атопичния статус на деца с астма и измерване температурата на издишания въздух за мониториране на възпалението на дихателните пътища и нивото на контрол**

**Изпълнител:** Снежина Михайлова Лазова

**Научен ръководител:** Проф. Пенка Переновска, дм

**Базова организация:** МУ-София, Медицински факултет, Катедра по педиатрия.

**РЕЗУЛТАТИ:** Най-честите и рискови за настъпване на ексацербация/хоспитализация алергени при децата с БА са *D. pteronyssimus*, тревни полени, следвани от *D. farinae*, *Alternariq alt.* и котка. При децата с АР и позитивни специфични IgE спрямо микроакари, *Alternariq alt.*, се установиха по-висок процент назални еозинофили в сравнение с децата без симптоми на АР и негативни специфични IgE. Наличието на алергия спрямо дървесни полени и домашна прах (бреза, *D. pteronyssimus*. и *D. farinae*) е рисков фактор за по-трудно постигане на контрол на астмата. Децата със симптоми на АР с голяма вероятност показват позитивен резултат от Phadiator и позитивни IgE спрямо *D. pteronyssimus.*, с по-голяма вероятност получават пристъпи при контакт с алерген и по-често имат ограничение във физическата активност. Установи се висока честота на позитивни IgE спрямо картоф и морков при децата с положителни аероалергени, вероятно в резултат на кръстосана реактивност с тревни/дървесни полени. Точното откриване на провокиращия алерген помага за поддържане на подобър контрол при атопични пациенти чрез техниката на отбягване и за разработването на план с препоръки за пациентите, които не са в състояние да бъдат тествани (по финансови, социални или религиозни причини). Децата с лош контрол на астмата, както и тези с АР показват тенденция за по-висока стойност на ТИВ в сравнение с добре контролираните пациенти и тези без симптоми на АР.

**Научни публикации и прояви:**

- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Severe asthma and allergy– allergen significance, Science Pulmology, 9, 2014, N4
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Severe asthma in childhood and allergens Merit Res J Med Medical Sci 2015;3(3):092-5

- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Exacerbation risk and atopic status in children with asthma. *Sci Pulmol*, 2015, N4
- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Atopic status and bronchial asthma in children. *Health navigator – Paediatrics*, 2015;3
- Petrova G, Lazova S, Papochieva V et al. Allergic rhinitis prevalence and impact on asthma control therapy in children. *Allergy* 2014;69,S99,546
- Petrova G, Lazova S, V Papochieva et al. Allergic rhinitis does it have an impact on controller asthma therapy choice. *Eur Respir J* 2014;44:Suppl. 58,1168
- Lazova S, G Petrova, D Miteva, et al. Small airway indices, bronchodilator response and asthma control in children. *Eur Respir J* 2014;44:Suppl. 58, 3516 1936
- Lazova S, Petrova G, Miteva, D et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens. *Clin and Transl Allergy* 2015;P16
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Bronchodilator response and small airway indices in asthmatic children. Jubilee Scientific Conference "135 years Hospital Alexandrovska" October 31, 2014, Sofia, University Hospital "Aleksandrovska"
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Atopic status and exacerbation risk in children with bronchial asthma, XIIIth National Paediatric Congress with international participation 28 - 31 May 2015, Nesebar, Bulgaria
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Atopic status and bronchial asthma in children. XVI-th National Conference for GPs and paediatricians with international participation 9 to 11 October 2015 Pravets
- Lazova S, Perenovska P, Petrova G et al. Bronchodilator response and small airway indices in asthmatic children. Pediatric Allergy and Asthma Meeting (PAAM 2013), 17-19 Oct 2013, Athens, Greece
- Petrova G, Lazova S, Papochieva V et al. Allergic rhinitis prevalence and impact on asthma control therapy in children. The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Annual Congress 2014, Copenhagen, 7–11 Jun
- Petrova G, Lazova S, V Papochieva et al. Allergic rhinitis does it have an impact on controller asthma therapy choice. European Respiratory Society International Congress 2014, Munich, Germany, 6-10 Sep
- Lazova S, G Petrova, D Miteva et al. Small airway indices, bronchodilator response and asthma control in children. European Respiratory Society International Congress 2014, Munich, Germany, 6-10 Sep
- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens. 2-nd International Severe Asthma Forum (ISAF 2014), 13-15 Nov 2014, Athens, Greece
- Lazova S, Petrova G, Matovska L, et al. Small airway indices in asthmatic children, poster presentation, 4-th Meeting of three respiratory societies: Slovenia, Croatia, Hungary, Bled. Slovenia, May 22-23, 2015
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Specific IgE and asthma in children, poster presentation №856, EAACI Annual Congress, 6-10 Jun 2015, Barcelona, Spain
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Asthma control questionnaire and specific IgE in children, Paediatric Allergy and Asthma Meeting, 15-17 Oct 2015, Berlin, Germany

Оценки по скалата на СМН:

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ

### **Договор 26-Д/2014 Проучване на социалните и икономически аспекти на лечението на диабет при деца**

**Докторант:** Елина Свиленова Петкова

**Научен ръководител:** Проф. Валентина Петкова-Димитрова, дф, дфн

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по организация и икономика на фармацията

**РЕЗУЛТАТИ:** Получените резултати се характеризират с пряка практическа насоченост към лечението на диабет тип 1 при деца, като те ще дадат възможност за подобряване на терапията, както и избягване на усложненията от диабета, като гарантират добро качество на живот на пациентите. Резултатите от проучването и точно обучителното ръководство „Диабетично детско хранене” ще помогне на самите деца, както и на родителите им със съвети за двигателен режим, хипогликемия и хипергликемия, както и за препоръки за избягване от късните съдови усложнения. Проведеният фармакоикономически анализ сред трите начина на лечение на диабет тип 1 при деца – с инсулинова помпа, с аналогов и човешки инсулин чрез инсулинови писалки показва най-добрата разход-ефективна терапия. В групата на инсулиновите помпи бяха наблюдавани стойности на гликирания хемоглобин(6,94%) близки до референтните( $\geq 6,5\%$ ), както и по-добра гъвкавост при лечението. В България обаче инсулиновите помпи не са стандартно лечение при децата с диабет. Те не са включени в Позитивния лекарствен списък и тяхната употреба е ограничена. Резултатите от проведеното изследване могат да послужат пред НЗОК в България за доказателство, че инсулиновите помпи са разход-ефективна терапия, както и като доказателство, за да бъдат включени в Позитивния лекарствен списък.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Petkova E, Petkova V, Mitov K et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections for children treatment-pharmacoeconomic analysis, WJPR, 2015;4(4):01-11.
- Yordanova S, Petkova V, Petrova G, et al. Comparison of health-related quality-of-life measurement instruments in diabetic patients, Biotech & Biotechnolog Eq, 2014;28(4):769-74.
- Petkova E, Petkova V, Petrova G et all, Assessment of effect of continuous subcutaneous insulin infusion treatment, insulin analog and human insulin of children with diabetes, ISPOR 17th Annual European Congress, Amsterdam, The Netherlands, November 8-12, 2014, A 355
- Petkova E, Petkova V, Dimitrova M et al. Children with diabetes. The treatment and effect of continuous insulin infusion. International scientific and practical internet conference “Social pharmacy: state, problems and perspectives”. Kharkiv, Ukraine, 17-20 Mar 2014, 73-5

*Оценки по скалата на СМН:*

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.



**КОНКУРС „МЛАД ИЗСЛЕДОВАТЕЛ 2015,,****МЕДИКО-БИОЛОГИЧНА ОБЛАСТ****Договор 3-Д/2015 Фитохимично фракциониране и охарактеризиране на биологично активни вещества от български видове *Astragalus* L. – *A. glycyphyllos* и *A. glycyphylloides***

**Докторант:** Александър Михайлов Шкондров

**Научен ръководител:** Проф. Илина Кръстева, дф

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакогнозия

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведено е фитохимично проучване на надземните части на два български вида – *A. glycyphylloides* и *A. glycyphyllos* (Fabaceae). Чрез прилагане на хроматографски методи (колонна хроматография, препаративна тънкослойна хроматография и полупрепаративна ВЕТХ) от екстракти с различна полярност, са изолирани чисти вещества с отнасяния на флавоноиди и тритерпенови сапонини. Тяхното структурно определяне продължава. За пръв път е изолиран флавоноидът кемпферол-3-*O*-[2-*O*- $\beta$ -D-галактопиранозил-6-*O*- $\alpha$ -L-рамнопиранозил]- $\beta$ -D-глюкопиранозид (Камелиазид А) е изолиран от представител на семейство Fabaceae. Това допълва данните за химичния състав на таксона.

**Научни публикации и прояви:**

- Krasteva I, Shkondrov A, Ionkova I, et al. Advances in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of Bulgarian *Astragalus* species. *Phytochem Rev.* 2016;15(4)

*Оценки по скалата на СМН:*

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 6-Д/2015 Сравнителен анализ на антиоксидантното и цитотоксично действие на новосинтезирани 4-метокси ароил хидразони в *in vitro* тест системи**

**Докторант:** Надя Георгиева Христова-Авакумова

**Научен ръководител:** Доц. Вера Хаджимитова, дбф

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проекта е да се проследи ефектът са три новосинтезирани 4-метокси ароилхидразона върху модели за свободно-радикално увреждане (вкл. клетъчни линии). Изследваните вещества проявиха висока антиоксидантна активност (АОА) във всички системи. В АВТС системата вещества имат по-силна активност от референта Trolox. При сравнение с предходни резултати определящи активността на 3-метокси производни установихме, че преместването на метокси групата от трета на четвърта позиция оказва благоприятен ефект върху активността им. Данните от двата метода на липидна пероксидация на лецитин доказват по-добри АОА в системата, в

която ефектът не може да се дължи на хелиращи свойства, тъй като липидната пероксидация се индуцира от комплекс – Fe-EDTA. Сравняването на резултатите от двете моделните системи съдържащи дезоксирибоза помежду им, с такива на класически антиоксиданти, скевинджъри на хидроксилни радикали и предходни изследвания на същите вещества, е предпоставка да предположим сходен ефект на действие. Той не зависи от механизма на инициране на свободно-радикалното увреждане. МТТ теста, показва по-изразен цитотоксичен ефект при неопластичните линии. Структурната модификация свързана със заместване с хидроксилна група в хидразидното ядро благоприятства в най-голяма степен антиоксидантният ефект в повечето системи е свързана с необходимостта от по-високи средни инхибиращи концентрации на третиране при всички клетъчни линии.

#### Научни публикации и прояви:

- Hristova-Avakumova N, Yoncheva K, Mladenova B, Hadjimitova V. Retention of antioxidant activity of hydrazones by their encapsulation in chitosan-alginate nanoparticles. 17th International Workshop on Nanoscience and Nanotechnology, София 27-28 ноември 2015г.
- Христова-Авакумова Н, Николова-Младенова Б, Хаджимитова В. Радикал улавяща активност на новосинтезирани 4-метокси производни хидразони. Протективен ефект в липид съдържащи моделни системи *in vitro*. Трети национален конгрес по физически науки, София 29.09-2.10, 2016.

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 7-Д/2015 Ацилфлороглуциноли от българския вид *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson - изолиране, структурно охарактеризиране и изпитване за цитотоксична и антинеопластична активност**

Докторант: Яна Емилова Илиева

Научен ръководител: Доцент Параскев Недялков, дф и Проф. Георги Момеков, дф

Базова организация: МУ-София, ФФ, Катедра по Фармакогнозия, Катедра по Фармакология, токсикология и фармакотерапия

**РЕЗУЛТАТИ:** В резултат на фитохимично проучване на дихлорметановия екстракт на вида Жълт кантарион *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson са изолирани четири нови природни съединения, които са идентифицирани с помощта на спектрални техники (УВ, ИЧ, ЯМР, МС). Съединението 5-хидрокси-2,2,4,6-тетракис(3-метилбут-2-ен-1-ил)-6-(2-метилпропаноил) циклохекс-4-ен-1,3-дион беше наименовано хицерфорин. Веществото (2S,5R)-2-(2-хидроксипропан-2-ил)-5,7,7-трис(3-метилбут-2-ен-1-ил)-5-(2-метилпропаноил)-2,3,4,5,6,7-хексахидро-1-бензофуран-4,6-дион беше наименовано фурохицерфорин А. На веществото (2R,5R)-2-(2-хидроксипропан-2-ил)-7,7-бис(3-метилбут-2-ен-1-ил)-5-(3-метилбутил)-5-(2-метилпропаноил)-2,3,4,5,6,7-хексахидро-1-бензофуран-4,6-дион беше дадено име фурохицерфорин В. И съединението (2R,7S)-2-(2-хидроксипропан-2-ил)-5,5,7-трис(3-метилбут-2-ен-1-ил)-7-(2-метилпропаноил)-2,3,4,5,6,7-хексахидро-1-бензофуран-4,6-дион беше наименовано фурохицерфорин С. Установена е цитотоксичността на гореизброените вещества върху група човешки туморни клетъчни линии (SKW-3, K-562, MDA-MB, HL-60, HL-60/DOX) и човешката нетуморигенна

клетъчна линия НЕК-293. Установи се, че  $IC_{50}$  варира в границите на 2.92 – 26.64  $\mu\text{M}$  при туморните клетъчни линии и 31.11 и 59.67  $\mu\text{M}$  при нетуморигенната клетъчна линия НЕК-293. Следователно изолираните съединения притежават подчертана цитотоксичност при ниски микромолярни концентрации. Установи се, че съединението хицерфорин е главното и най-изразено цитотоксично сред изследваните с  $IC_{50}$  стойности 2.92 – 8.03  $\mu\text{M}$  при туморните кл. линии. Съединението е с най-голям потенциал да бъде евентуално използвано за водеща структура при разработването на антинеопластични лекарствени продукти. Предварителните фармакодинамични проучвания върху това вещество показват, че цитотоксичните му свойства са медиирани от индукция на апоптоза чрез вътрешния сигнален път.

#### Научни публикации и прояви:

- Пиева У, Р Nedialkov, G Momekov. A cytotoxic acylphloroglucinol from *Hypericum cerastoides* (Spach) N. Robson. Втора международна конференция по оползотворяване на природни продукти (ICNPU 2015). Пловдив, България. 14-17 октомври, 2015 г.
- Пиева У, Р Nedialkov, G Momekov. Novel acylphloroglucinols from *Hypericum cerastoides* (Spach) N. Robson. Девета конференция по медицински и ароматни растения на югоизточните европейски държави (9th CMAPSEEC). Пловдив, България 26-29 Май, 2016 г.

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

#### **Договор 11-Д/2015 Ефекти на кампферол и кампферол-3-глюкозид върху пролиферацията на кератиноцити и зарастването на рани**

Докторант: Весела Валентинова Лозанова

Научен ръководител: Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на настоящия проект беше да се установят ефектите от третиране с флавоноидите кампферол и кампферол-3-глюкозид при нормални човешки кератиноцити, с фокус върху влиянието на тези молекули върху процесите на пролиферация и програмирана клетъчна смърт. беше установено, че кампферола и кампферол-3-глюкозида в концентрация от 0 до 50  $\mu\text{g/mL}$  не водят до значима промяна в жизнеспособността на клетките, като при концентрация 10  $\mu\text{g/mL}$  тези флавоноиди не предизвикват и промяна във вътреклетъчните нива на свободнорадикалови форми на кислорода. С помощта на имуноцитохимични методи и на Western blot беше установено, че изследваните флавоноиди не повлияват важни вътреклетъчни сигнални протеини. Кампферолът и кампферол-3-глюкозида не оказват влияние върху нивата и активността на вътреклетъчните кинази MEK-1/2, p38 MAPK и ERK-1/2, които са компоненти на MAP киназната сигнална роля, играеща ключова роля при контрола на апоптозата, пролиферацията и диференциацията. Тези концентрации на флавоноидите не повлияват и експресията и активността на Akt киназата, ключов компонент на PI3K каскада, както и на рецептора на епидермалния растежен фактор (EGFR), участващ при отговора на клетката към извънклетъчни сигнали. Използването на кампферол и кампферол-3-глюкозид в концентрация 10  $\mu\text{g/mL}$  не повлия и клетъчната миграция, изследвана чрез “scratch assay” експерименти, широко използван като модел за зарастване на рани. Краткотрайното третиране на нормални човешки кератиноцити с

кампферол и кампферол-3-глюкозид не води до статистически значими изменения на нормалния клетъчен метаболизъм, изследван посредством анализ на ключови вътреклетъчни протеини, участващи в сигнализацията, както и на база на клетъчната жизнеспособност и морфология.

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 15-Д/2015 Експресионен анализ на микро РНКи като молекулни маркери за ранно диагностициране и прогноза при ларингеален карцином**

**Докторант:** Силва Гаро Гирагосян

**Научен ръководител:** Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн и Доц. Радка Кънева, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Медицинска химия и Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Ларингеалният плоскоклетъчен карцином (ЛПКК) е един от най-често срещаните карциноми на главата и шията. ЛПКК се характеризира с висока честота в България и Европа. Не се наблюдава промяна в преживяемостта, въпреки съвременните подходи на лечение. Затова е необходимо да се установят биомаркери, които успешно да се прилагат в клиничната и медико-биологичната практика при диагностициране и терапия на пациенти с ЛПКК. Микро РНКте са малки некодиращи последователности, които активно участват в регулацията на клетъчните процеси. Бяха изследвани miR-155 и miR-210 при 35 пациента с рак на ларинкса. Установиха се значими повишени нива на двете микро РНК в туморната ларингеална тъкан в сравнение с кореспондиращата ѝ нормална ларингеална тъкан: miR-155 ( $p=0.0018$ ) и miR-210 ( $p<0.001$ ). Анализ на ROC крива показва, че miR-155 може да разграничи туморна от нормална ларингеална тъкан с  $AUC=0.679$ ,  $p=0.007$  и miR-210 може да служи като маркер за разграничаване на туморна от нормална ларингеална тъкан с  $AUC=0.831$ ,  $p<0.001$ , което я прави по-добър маркер за разграничаване на туморна от нормална тъкан в клиничната и медико-биологична практика. В допълнение за установиха положителни корелационни зависимости между изследваната miR-210 и HIF1 $\alpha$  и VEGFA. От получените резултати можем да заключим че miR-155 и miR-210 имат роля в туморната прогресия и участват в процесите на клетъчна регулация при настъпване на хипоксия, както и тяхната потенциална роля за прожжение в медицинската практика. Необходимо е да се валидират получените резултати от изследваната извадка в разширена група за потвърждаване на първоначалните резултати.

**Научни публикации и прояви:**

- Giragosyan S, Stancheva G, Popov T, et al. Expression of hypoxia related miRNAs in laryngeal squamous cell carcinoma. EACR24 congress, Manchester, UK, 9-12 Jul, 2016

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 16-Д/2015 Анализ за наличие на герминативни мутации в панел от 94 тумор-асоциирани гени чрез новогенерационно секвениране при български пациенти с фамилен рак на гърдата**

**Докторант:** Даниела Росенова Пенчева

**Научен ръководител:** Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн и Доц. Радка Кънева, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Ракът на гърдата е най-често диагностицираното злокачествено заболяване и най-честата причина за смърт при жените в следствие на раково заболяване. Около 5% до 10% от случаите се смята, че са наследствени. Патогенни мутации в гените BRCA1 и 2 сред такива пациенти се откриват при 15% до 20% от случаите. Други по-малко известни гени също се асоциират с повишения риск от развитие на тумори на гърдата, като например мутации в тумор-супресорните гени TP53, PTEN, RAD51C, CDH1, ATM, CHEK2 или PALB2. Панелите от гени за следващо поколение секвениране позволяват бързото и едновременно анализиране на голям брой гени с висока или ниска пенетрантност при тези пациенти. Всички пациенти, взели участие в проекта, са анализирани предварително за наличието на точкови мутации чрез директно секвениране и големи инсерции и делеции чрез MLPA анализ в BRCA1 и 2 гените и в тях не се откриват патогенни мутации. За да се анализира наследствения компонент при тези пациенти, отвъд BRCA1 и 2 гените, беше използван панел от 94 тумор асоциирани гени и следващо поколение секвениране с Illumina TruSight cancer panel. Патогенни и вероятно патогенни мутации бяха открити в следните гени: 1 нова frameshift мутация в ATM гена; 6 нови вероятно патогенни missense мутации в гените PTCH1, RAD51C, MET, MUTYH, ATM и CHEK2; 7 публикувани в литературата патогенни missense варианти в гените WRN, ERCC4, PALB2, PRF1, RET, SDHB и AIP.

**Научни публикации и прояви:**

- Dacheva D, Dodova R, Mitkova A et al. "Exploration of the clinical utility of next generation sequencing with TruSight cancer panel for BRCA negative Hereditary Breast and Ovarian Cancer patients". Постер; „San Antonio Breast Cancer Symposium“, Сан Антонио, Тексас, САЩ, 8 – 12 Декември 2015 г.

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 17-Д/2015 Приложение на секвениране от ново поколение за откриване на мутации водещи до различни проявления на вродени аномалии на бъбреци и отделителна система**

**Докторант:** Валентин Мартинов Пенчев

**Научен ръководител:** Акад. проф. д-р Ваньо Митев, дм, дбн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Кистите на бъбреците са една от най-честите малформации в пренаталния и постнаталния период от развитието на човек. Тези случаи често се асоциират с развиването на хронична бъбречна недостатъчност и бъбречна недостатъчност в крайна фаза, което води до значителна смъртност. Благодарение на

множеството проведени проучвания през последните години в различни популации и етнически групи бе показана ролята на множество генетични фактори в патогенезата. За сега са идентифицирани над 70 гена, които участват във формирането на кисти в бъбреците. Голяма част от тях участват в правилното формиране и функциониране на цилията, което води до развитието на някои заболяване от голямата група на цилиопатиите, които са дегенеративни заболявания, при които е нарушено функционирането на комплекса цилия-центрозома. Друга група гени, дефекти в които са отговорни за подобни патологични фенотипове са различни транскрипционни фактори, които регулират процесите на органогенеза и ембрионално развитие. Резултатите от осъщественото проучване демонстрират хетерогенността на вродените аномалии на бъбреците и отделителната система и особено на случаите с комбинирани патологии на други органи или системи. Намерените дефекти в NPHP3, NPHP4 и NPHP1 гените показват ползата от прилагането на мощни молекулярно-генетични технологии като НГС. Резултатите ще помогнат за по-адекватното диагностициране и консултиране на пациентите и техните семейства.

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА - за извършената научноизследователска дейност;*

*ВИСОКА - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

*ВИСОКА - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

### **Договор 19-Д/2015 Разработване на индивидуален дозиметър за измерване на дозата на очната леща в интервенционалната рентгенология и кардиология**

**Докторант:** Анна Руменова Загорска

**Научен ръководител:** проф. Борис Тенчов, дбн, дф

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Това проучване представя нова касета за термолуминесцентни детектори „XRaуM“, предназначена за оценка на дозата на очната леща в интервенционалната рентгенология и кардиология. С проект 19-Д/2015 на Медицинския университет – София бе разработен и произведен ергономичен дозиметър с термолуминесцентни детектори (ТЛД), калибриран във величината индивидуален дозов еквивалент на дълбочина 3 mm,  $H_p(3)$ , Sv. Целта на работата бе да бъде намален енергийният отговор на детекторите, с цел да се намали неопределеността на измерването. Изследванията за вида и дебелината на използваните филтри бяха извършени във Вторична Стандартна Дозиметрична Лаборатория, към Национален център по радиобиология и радиационна защита, със стандартни лъчения „N“ от типа тесен спектър. Новата касета с размери 40 x 20 x 4 mm<sup>3</sup> бе конструирана да съдържа два MCP-N (LiF:Mg,Cu,P) детектора, разположени под два полусферични филтъра, изработени съответно от 1,2 mm алуминий (Al) и полиметил-метакрилат (PMMA) с 1 mm дебелина. Енергийната зависимост на отговора на детекторите бе оценена на  $\pm (15 \div 25) \%$  за PMMA филтъра и до -20 % за Al филтър. За оценка на претегления отговор на „XRaуM“ по отношение на енергията на лъчението бе приложен компенсационен метод. Резултатите показват енергийна зависимост в рамките на  $\pm 10 \%$  за изследвания енергиен диапазон между 30 и 100 keV.

**Научни публикации и прояви:**

- Загорска А, Црънчев Ц, Бучаклиев З и др. Конструиране на нов дозиметър с термолуминесцентни детектори за оценка на дозата на очната леща в

интервенционалната рентгенология, НКМФБИ 2016, София, България 3-5.11.2016 г

- Загорска А, Црънчев Ц, Бучаклиев З и др. Конструирание на нов дозиметър с термолуминесцентни детектори за оценка на дозата на очната леща в интервенционалната рентгенология, НКМФБИ 2016, София, България 3-5.11.2016 г

Оценки по скалата на СМН:

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 20-Д/2015 Роля на витамин Д в протичането на колаген-индуциран ревматоиден артрит**

**Докторант:** Любомир Трифонов Маринов

**Научен ръководител:** Проф. Николай Данчев, дм и Доц. Ирина Николова, дм

**Базова организация:** МУ-София, ФФ, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** В експеримента с колаген индуциран артрит бяха използвани общо 200 мишки (100 мъжки и 100 женски). Експериментално беше индуциран на артрит, посредством инжектиране на колаген тип 2СII и СFA, под форма на емулсия. Всяка мишка е инжектирана с 50 µl от емулсията. Емулсията беше инжектирана в интрадермално, на 1.5 см дистално от основата на опашката на мишката. Допълнителна имунизация се извърши на 21ви ден от първоначалната имунизация. Общо 86 мишки развиха артрит (68 мъжки и 18 женски). Статистически достоверно ( $p < 0.01$ ) по-малко артритни прояви се наблюдаваха при женските животни, в сравнение с мъжките животни. Тежестта на проявите при женските животни беше значително по-лека в сравнение с мъжките. Само при 3 женски животни от общо 20 (група III – индуциран артрит без третиране, 15%) се проявиха възпалителни изменения, докато 100% се проявиха при мъжките животни от група III. Витамин Д оказва съществена роля в нормалния клетъчен цикъл, възпалението и имунитета. Витамин Д не оказва влияние върху прогресията на колаген-индуциран артрит, но броят на засегнатите стави и тежестта на засягане е значително по-малка в групите предварително третирани (2 седмици преди индуциране на артрит). Резултатите от проучването демонстрират, че вит. Д има положителен ефект върху възпалителни заболяване като ревматоидния артрит. Methotrexate, Leflunomide и Etanercept статистически достоверно ( $p < 0.05$ ) намаляват възпалителните промени, като те се запазват и още 60 дни след приключване третиранието на животните. Methylprednisolone статистически достоверно ( $p < 0.01$ ) намалява възпалителните промени в сравнение с останалите използвани НСПВС. Еторикококсиб и диклофенак намаляват в съпоставима степен възпалителните промени без статистически достоверна разлика между тях.

**Научни публикации и прояви:**

- Marinov L, I Nikolova, N Danchev. The role of vitamin D in collagen-induced arthritis in mice. VI<sup>th</sup> Congress of Pharmacy with International Participation October 13–16, 2016 Sandanski, Bulgaria
- Marinov L, Nikolova I, Danchev N. The Effect of Etanercept in Collagen-Induced Arthritis in Mice. National PhD Conference on Biology, 1.11.2016, Plovdiv, Bulgaria

- Trendafilova I, M Popova, A Szegedi, et al. Design of mesoporous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MS nanoparticles as drug delivery platform of prednisolone. International Conference On Nanomedicine And Nanobiotechnology (ICONAN) 28-30.09.2016 Paris, France
- Trendafilova I, M Popova, A Szegedi, et al. Prednisolone loaded mesoporous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MS nanoparticles 18th International Workshop on Nanoscience and Nanotechnology, NANO 2016, 18-19 Nov 2016

Оценки по скалата на СМН:

**ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 23-Д/2015 Потвърждаване на потенциално патогенни хромозомни микроаберации при пациенти с епилепсия и умствено изоставане, открити чрез метода на сравнителната геномна хибридизация**

**Докторант:** Валентина Любенова Пейчева

**Научен ръководител:** Акад проф Ваньо Митев, дм, дбн и Доц. Радка Петрова Кънева, дб

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра Медицинска Химия и Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Комплексните епилептични синдроми представляват многофакторни, понякога автозомно доминантни заболявания, при които епилептичните пристъпи се явяват в комбинация с умствено изоставане, разстройства от аутистичния спектър, общи и лицеви дисморфизми и задръжка или пълната липса на реч. Голяма част от тях се дължат на небалансирани микроструктурни хромозомни изменения- делеции и/или дупликации, засягащи различни по размер фрагменти от ДНК. В настоящото проучване проведохме потвърдителен анализ чрез количествен PCR (qPCR) в реално време на 14 хромозомни микроаберации, открити чрез метода на сравнителна геномна хибридизация (aCGH) при 25 пациента с комплексни епилептични синдроми. qPCR анализът потвърди 7 микроделеции в 6 пациента от нашата кохорта в хромозомни райони 1p36.33, 16p13.3, 6p25.1, 7p22.3, 3p21.33, 1p34.2 и 10q21.3. От тях една делеция в 1p34.2 доведе до потвърждение на предполагаемата диагноза от GLUT дефицит, 2 делеции в 1p36.33, 16p13.3 бяха определени като потенциална причина за комплексния фенотип при пациента, в чийто геном бяха открити. Настоящото проучване доведе и до асоциация на една от делециите с нов, неописан досега микроделеционен синдром. Останалите три, засягащи конкретни гени, свързани с нормалното развитие на мозъка, биха могли да са отговорни за част от симптоматиката на изследваните пациенти. За изясняване на генотип- фенотип корелациите между откритите дефекти и клиничните характеристики на пациентите, е необходимо да се продължи с по – нататъшни изследвания, като функционален анализ, както и секвениране от ново поколение на таргетен панел от гени за търсене на еднонуклеотидни дефекти в гени, свързани с невроналното развитие. Тези дефекти биха допълнили генетичните причини за комплексния фенотип, наблюдаван при нашите пациенти. qPCR анализът се оказа бърз, удобен и евтин метод, подходящ за рутинната диагностична практика. Изясняването на генетичните причини за тежките невропсихически синдроми, би довело до разясняване на приноса им в развитието на тези комплексни заболявания с неясна етиология, поточно генетично консултиране на семействата в бъдеще, както и повишаване на възможностите за ранна диагностика.



**Научни публикации и прояви:**

- Иванова Н, В Пейчева, К Каменарова, и др. Молекулярно-генетичен анализ при пациенти със синдром на GLUT1-дефицит (GLUT1-DS) XVII-та национална конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие, 20-22 май, Слънчев бряг
- Peycheva V, N Ivanova, G Maksimov, et al. „7p22.3 microdeletion and 6q26 microduplication found in Bulgarian patients with complex epileptic syndromes” 12th European Congress on Epileptology, Sep 11-15, Prague 2016

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 24-Д/2015 Изследване на полиморфизми в гени *COMT*, *MTHFR* и *MAO* и тяхната асоциация при български пациенти с болест на Алцхаймер и с болест на Паркинсон**

Докторант: Калина Йонкова Михова

Научен ръководител: Акад. Проф. Ваньо Митев, дмн, дбн и Чл. Кор. Проф. Лъчезар Трайков, дм, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра Медицинска Химия и Биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Болестта на Алцхаймер (БА) и болестта на Паркинсон (БП) са най-често срещаните невродегенеративни заболявания с голяма социална и икономическа значимост. В световен мащаб от населението над 65 годишна възраст 6-8% са засегнати от БА и 1-2% от БП. С развитието на болестта или в следствие на лечението могат да се развият редица невропсихиатрични симптоми. В настоящето изследване бяха включени 140 пациента с болест на Паркинсон, 200 пациента с болест на Алцхаймер и 100 здрави контролни индивиди чрез ТаqMap SNP генотипиране. Генотипирани бяха полиморфизми в гени *COMT* (rs4680), *MTHFR* (rs1801133), *MAO* (rs1799836). Настоящото проучване показва статистически значима асоциация на *MTHFR* (rs1801133) с болест на Алцхаймер. Носителството на редкия алел Т е по-често срещан при контролни индивиди, спрямо засегнатите, което означава, че носителството на алел Т (P=0.018) е свързано с понижен риск (OR=0.6611) от развитие на заболяването. Асоциация с варианти в гени *COMT* (rs4680), *MAO* (rs1799836) не беше открита при пациенти с БА и БП. Асоциация не беше открита и при пациенти с БП за *MTHFR* (rs1801133). Това може да се дължи на разлика в българската популация, спрямо европейската или на малкия брой пациенти и контроли, включени в изследването. Откриването на нови маркери, асоциирани със заболяванията би довело до изясняване на ролята им за развитие на заболяването, както и повишаване възможностите за ранна диагностика, изясняване на генотип-фенотипните корелации, спомагащи по-навременното поставяне на диагноза и лечението на пациента.

**Научни публикации и прояви:**

- Mihova K, S Mehrabian, R Pavlova, et al. Association study of MAOB and COMT polymorphisms in Bulgarian patients with Parkinson disease, The European Human Genetics Conference, 21-24 May, 2016, Barcelona, Spain / vol.24, Supplement 1, E-P09.30, p.656

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 25-Д/2015 Изследване ефекта на SSRI върху невровъзпаление в експериментален модел на неонатална епилепсия**

Докторант: Евгений Юриев Харитов

Научен ръководител: Проф. Надка Иванова Бояджиева, дмн

Базова организация: МУ-София, МФ, Катедра по фармакология и токсикология

**РЕЗУЛТАТИ:** Цел на проучването е да се определят ефектите на Escitalopram върху степента на епилептогенна активност и нивата на провъзпалителни цитокини IL-1beta и TNF-alfa в неонатален LPS-модел на възпаление. Резултатите от проучването демонстрират: Постнаталното прилагане на LPS понижава гърчовия праг при плъхове с пиликарпинов модел на епилепсия в зряла възраст. Прилагането на Escitalopram в периода след постнаталното третиране на LPS и преди Pilocarpin довежда до статистически сигнификантно намаляване на показателите за епилептогенна активност (скор по скалата на Рейсин и броя на WDS). Беше установено, че проинфламаторните цитокини IL-1beta и TNF-alfa са въввлечени в LPS-индуцираното редуциране на гърчовия праг. Особено важно, беше установено, че Escitalopram редуцира нивата на двата цитокина и това корелира с най-изразен антиепилептичен ефект. В заключение, резултатите от настоящето проучване дават основание да се предположи, че escitalopram оказва антиепилептичен ефект, чрез редуциране на проинфламаторните цитокини. Това е основа за доказване на общ патогенетичен механизми между депресия и епилепсия и възможност за прилагането на SSRI като средства с антидепресивни и антиепилептични ефекти при свързана с епилепсия депресивна симптоматика.

**Научни публикации и прояви:**

- Харитов Е, Ангелеска Е, Бояджиева Н. Епилепсия и депресия: Коморбидност и биологични основи. Лекарска практика, 2015;2:12-21.
- Харитов Е, Ангелеска Е, Бояджиева Н. Невробиологични ефекти на стреса в ранна възраст върху епилептогенезата. Лекарска практика, 2015;1:3-11.
- Харитов Е, Ангелеска Е, Бояджиева Н. Роля на имунитета и невровъзпалението в патогенезата на епилепсията. Български медицински журнал, 2015;1:28-33.

Оценки по скалата на СМН:

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

## МЕДИКО-КЛИНИЧНА ОБЛАСТ

**Договор 1-Д/2015 Терапия на панкреасна екзокринна недостатъчност – проследяване и оптимизиране**

Докторант: Мила Димитрова Ковачева-Славова

**Научен ръководител:** проф. д-р Борислав Владимиров, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КЦГЕ, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проследени бяха общо 100 пациента с хроничен и остър панкреатит, панкреасни тумори и резекции, водещи до панкреасна екзокринна недостатъчност (ПЕН). Средната възраст на пациентите в проучването беше  $50,16 \pm 13,72$  години, 59% бяха мъже, 41% - жени. Всички приемаха панкреасна ензимна заместителна терапия (ПЕЗТ) в доза спрямо степента на ПЕН. 44 от изследваните бяха мониторираны повторно 6 месеца след коригиране на терапията. Протеинова малнутриция с нисък преалбумин и ретинол-свързващ протеин (РСР) наблюдавахме в 40% и 39% от всички изследвани пациенти. Тя не корелираше с пола, етиологичния фактор (най-чест-етилизмът), с анамнестичните данни за консумативен и стеатореен синдром. Демонстрира се значимо повлияване на преалбумин и РСР от възрастта, морфологичните промени и ВМІ при ХП. Установихме позитивни връзки на преалбумин и РСР с другите нутритивни параметри (хемоглобин, РСР, магнезий, албумин) и липиден профил и негативна корелация с CRP при пациенти с ХП, ОП. Не открихме значимо влияние на ПЕН върху стойностите на преалбумин при WON и дренажи. Дефицит на витамин Е наблюдавахме в 43,75%, по-често имаше недостатъчност на витамин А (31,25%) отколкото дефицит (4,68%), като най-ниски нива наблюдавахме при пациентите с резекции/тумори. Витамин А корелираше с консумативния синдром. Стойностите на витамин А и Е се влияеха от структурните промени. Във всички групи имаше нутритивни дефицити вкл. на мастноразтворими витамини въпреки адекватния клиничен отговор към ПЕЗТ. При допълнителното проследяване след коригиране на ПЕЗТ демонстрирахме подобряване на общото състояние и клинична картина със значимо повишаване на ВМІ и стойностите на нутритивните параметри. Отчетохме рисковите фактори за сърдечно-съдови инциденти и посредством липиден профил и аполипопротеини А1, А2, В установихме повишен сърдечно-съдов риск в 2/3 от пациентите. Дислипидемията корелираше с пола и диагнозата като бе по-тежка при мъжете и при ХП. Качеството на живот се подобри след адекватно дозирана ПЕЗТ с овладяване на клиничната симптоматика и малнутрицията.

**Научни публикации и прояви:**

- Kovacheva-Slavova M, S Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Cardiovascular Risk Assessment in Patients with Chronic and Recurrent Pancreatitis- preliminary data. Pancreatol. 2016;16
- Kovacheva-Slavova M, S Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Evaluation of Prealbumin and Retinol Binding Protein as Severity Markers during Episode of Acute Pancreatitis- Falk Simposia 200, Oct 16-17, 2015 Freiburg

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;

*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 2-Д/2015 Миокини в глюкозния континуум**

**Докторант:** Явор Сашов Асьов

**Научен ръководител:** проф. Здравко Каменов, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести, Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Александровска“

**РЕЗУЛТАТИ:** Миокините са вещества, които се отделят от мускулите в резултат на физическа активност. В настоящото проучване сравнихме нивата на два такива миокина – миостатин и сестрин-3 между три групи пациенти – предиабетици (n=60), диабетици (n=50) и такива с нормогликемия (n=50) за миостатин и между предиабетици (n=40) и такива с нормогликемия (n=40) за сестрин 3. Групите не се различаваха статистически по тяхната възраст, полово разпределение, ИТМ и ниво на физическа активност. Установихме, че миостатинът прогресивно нараства с влошаване на гликемията – нивата му са най-високи при ЗДТ2, по-ниски при предиабет и най-ниски при лицата с нормогликемия. В допълнение, серумните нива на миостатин се асоциират позитивно с биохимични параметри, определящи рисковия метаболитен профил на пациентите – триглицериди, чернодробни ензими, гликиран хемоглобин и имунореактивен инсулин. Сестрин-3 не се различаваше статистически между изследваните групи пациенти и корелираше слабо единствено с плазмената гликемия на гладно.

Fatty Liver Index е сурогатен за чернодробна стеатоза показател, за калкулирането на който се използват биохимични показатели. За него установихме позитивна корелация с гликирания хемоглобин, имунореактивния инсулин и пикочната киселина, а негативна с HDL-холестерола.

От практическо значение бе изследването на предиктивната стойност на ултразвуковото измерване на мастната маса. В сравнителен корелационен анализ, установихме, че то корелира по-добре с метаболитните профили на пациентите и серумните нива на миостатин от най-използвания сурогатен показател за оценка на мастната маса – обиколката на талията.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Assyov Y, Gateva A, Tsakova A, et al. A comparison of the clinical usefulness of neck circumference and waist circumference in individuals with severe obesity. *Endocr Res.* 2017;42(1):6-14.
- Асьов Я, А Гатева, З Каменов. Разпространение на метаболитни нарушения и сърдечно-съдови рискови фактори при български пациенти със затлъстяване. Юбилеен национален конгрес по ендокринология. 8-11 октомври 2015, Пловдив.
- Асьов Я, Ж Бонева, З Каменов. Абдоминална ехография за оценка на мастната маса при жени с метаболитен синдром. Юбилеен национален конгрес по ендокринология. 8-11 октомври 2015, Пловдив. Постер 06, книга с абстракти стр. 105.
- Гатева А, Я Асьов, З Каменов. Дебелина на интима медиа на каротидната артерия при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна. Юбилеен национален конгрес по ендокринология. 8-11 октомври 2015, Пловдив.

*Оценки по скалата на СМН:*

**ОТЛИЧНА** - за извънредната научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 4-Д/2015** Изследване нивата на плазмените концентрации на Ендотелин-1 (ЕТ1) и неговия рецептор ЕТА при пациенти с глаукома и оценка на промените в ретинния неврофибрилерен слой (РНФС)

Докторант: Биляна Грозданова Михайлова

Научен ръководител: Проф.д-р Ива Тодорова Петкова, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по Офталмология, УМБАЛ Александровска

**РЕЗУЛТАТИ:** Ендотелин-1 (ЕТ-1) е мощен вазоактивен пептид, има ключова роля в регулацията на очната перфузия и вероятно в патогенезата на глаукомата. Няколко проучвания установяват високи нива на ЕТ-1 и неговите рецептори - ЕТ<sub>А</sub> и ЕТ<sub>В</sub> при пациенти с първична откритоъгълна глаукома (ПОЪГ) и нормотензивна глаукома. Да се определят плазмените концентрации на ЕТ-1 и ЕТ<sub>А</sub> при здрави доброволци, пациенти с ранна и напреднала ПОЪГ. Да се определи наличие и степен на корелация между плазмените концентрации на споменатите по-горе маркери с дебелината на перипапиларния и макулния ретинен неврофibriлерен слой - РНФС (pRNFL, mRNFL). В научния проект се включиха общо 75 пациента - 25 (контролна група), 22 (начална глаукома), 28 (напреднала глаукома) на възраст от 45 до 83 години. Плазмата, в състава на взетата кръв, се центрофугира, отдели в епендорфни епруветки и се замрази като на по-късен етап се обработи по ELISA метод. С оптична кохерентна томография (Topcon 3D OCT 2000+) се измери дебелината на mRNFL и pRNFL в  $\mu\text{m}$ . Бяха ползвани дескриптивни, дисперсионни и корелационни статистически методи и тестове. Средната плазмена концентрация на ЕТ-1 е най-ниска в контролната група ( $4.88 \pm 1.75$  pg/ml). По-висока е тя в групите с начална и напреднала глаукома ( $6.33 \pm 2.38$  pg/ml и  $6.34 \pm 1.56$  pg/ml). Установи се значима разлика в нивата на ЕТ-1 между контроли и начална глаукома, между контроли и напреднала глаукома, но не между начална и напреднала глаукома. Нивата на ЕТ<sub>А</sub> са най-високи в контролната група ( $1209.28 \pm 314.48$  pg/ml) и значима разлика се открива при сравнителен анализ между трите групи. Установи се корелационна зависимост на ЕТ-1 с долен квадрант на pRNFL и долна и тотална дебелина на mRNFL. Като заключение може да се каже, че наблюдаваната значима разлика в плазмените нива на ЕТ-1 и неговия рецептор ЕТ<sub>А</sub> между здрави и болни с глаукома доказва, че ЕТ-1 има значение в патогенезата на глаукома при част от пациентите и това е възможност да се помисли за нов подход в лечението на глаукома - антагонисти на ендотелините.

*Оценки по скалата на СМН:*

**ОТЛИЧНА** - за извършената научноизследователска дейност;

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;

**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 8-Д/2015 Оценка връзката между маркери за системно възпаление (CRP, IL-6, IL-10, IL-33, CCL2/MCP-1), витамин Д статуса и хода на протичане на болестта при пациенти с хронична спонтанна уртикария**

**Докторант:** д-р Анна Валериева Димитрова

**Научен ръководител:** Проф. Васил Димитров, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КЦ по алергология, УМБАЛ «Александровска»

**РЕЗУЛТАТИ:** При 45 болни с хроничната спонтанна уртикария ХСУ определихме нива на IL-6, IL-10, IL-33, CCL2/MCP-1, чрез имуноензимни методи (ELISA) и ги сравнихме с данни за нива на посочените цитокини при здрави лица. Изследван бе витамин Д статуса на пациентите с ХСУ. Според тежестта на болестта дефинирахме 2 пациентски групи: лека/средно тежка и тежка/много тежка ХСУ. Изследваните пациенти бяха определени по демографски характеристики и сравнени според получените стойности на изследваните цитокини. При пациенти с ХСУ се измериха сигнификантно повишени стойностите спрямо здрави лица за IL-6 ( $1.91 \pm 0.50$ , pg/ml, vs.  $0.03 \pm 0.02$ ) ( $p < 0.001$ ), за IL-10 ( $5.91 \pm 0.48$ , pg/ml vs.  $0.86 \pm 0.51$ ) ( $p < 0.001$ ) и за IL-33

( $0.89 \pm 0.41$ , pg/ml vs.  $5.04 \pm 1.02$ ) ( $p=0.005$ ). Стойностите на hsCRP бяха различни при болни с лека/средно тежка ( $1.97 \pm 0.45$ ) спрямо тези с тежка ХСУ ( $5.37 \pm 0.94$ ) ( $p=0.03$ ), както и за СУЕ ( $8.09 \pm 1.32$  vs.  $15.38 \pm 2.62$ ) ( $p=0.015$ ). За CCL2/MCP-1 резултатите не достигнаха значима разлика, макар да има набелязана тенденция за повишени стойности при пациенти с ХСУ ( $p=0.076$ ). Открита бе сигнификантна разлика според нивото на IL-33 при пациенти с ХСУ и съпътстващ агиедем ( $p=0.048$ ). От направения корелационен анализ получихме данни за слаби, но сигнификантни корелации между hsCRP – СУЕ ( $r = 0.417$ ,  $p = 0.005$ ), D-dimer – СУЕ ( $r = 0.476$ ,  $p = 0.007$ ), IL-10 – IL-33 ( $r = 0.368$ ,  $p = 0.014$ ) и брой на моноцитите – IL-10 ( $r = 0.420$ ,  $p = 0.006$ ), CCL2/MCP-1 и IL-6 ( $r = 0.426$ ,  $p = 0.001$ ), както и за CCL2/MCP-1 и IL-33 ( $r = -0.281$ ,  $p = 0.040$ ). Създадена бе първата в България генетична биобанка с ДНК проби от пациенти с тежка/много тежка ХСУ, което ще помогне за бъдещи научни изследвания в тази насока. Изследваните показатели IL-6, IL-10, IL-33, hsCRP и СУЕ са обещаващи маркери за активността на болестта при пациенти с ХСУ.

*Оценки по скалата на СМН:*

***ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;*

***ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

***ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

### **Договор 9-Д/2015 Секвениране (търсене на точкови мутации) на ген KISS1R при пациенти с централен ранен пубертет**

**Докторант:** д-р Михаела Сашова Димитрова-Младенова

**Научен ръководител:** Доц. д-р Елисавета Стефанова, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по педиатрия, Клиника по ендокринология, диабет и генетика, СБАЛДБ „Проф. Иван Митев“

**РЕЗУЛТАТИ:** Проучването е проспективно. Проведено е за период от девет месеца (от м. август 2015 год. до м. май 2016 год.). Включени са 8 момичета с уточнена диагноза „идиопатичен“ централен ранен пубертет, отговарящи на следните критерии: прогресиращи вторични полови белези преди навършване на 8 години; изпреварваща костна възраст; повишени за възрастта базални нива на LH, FSH и естрадиол; нормален образ на ЦНС от ЯМР. Проведената генетична диагностика включва следните етапи: изолиране на ДНК от венозна кръв; амплификация на специфични ДНК фрагменти чрез PCR; пречистване на амплификационните продукти чрез ExoSAP-IT; секвениране на ген KISS1R (5 екзона) по Sanger с помощта на кит за секвениране Big Dye Terminator v.3.1; анализ на секвенциите с автоматичен секвенатор и обработка на получените данни със специализирана програма Sequencing Analysis v3.4.1. При секвенирането не се установяват мутации в KISS1R на ген при изследваните пациенти с централен преждевременен пубертет. Установяват се два полиморфизма на гена (rs10407968; rs350132), които не променят неговите експресия и функция. Резултатите от проведеното проучване са в подкрепа на предишни изследвания и потвърждават тезата, че мутации в ген KISS1R не са честа причина за развитие на централен ранен пубертет. Следователно, не е оправдано рутинното секвениране на ген KISS1R при пациенти с идиопатичен централен ранен пубертет в клиничната практика. Киспептиновият рецептор, кодиран от KISS1R, има доказана роля в пубертетното развитие. Това насочва бъдещите научни изследвания към търсене на мутации в регулаторните региони, които променят генната експресия.

*Оценки по скалата на СМН:*

***ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;*

**ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

**Договор 12-Д/2015 Проследяване на чревното възпаление при пациенти с възпалителни чревни заболявания посредством изследване на фекален калпротектин**

**Докторант:** д-р Радислав Венциславов Наков

**Научен ръководител:** доц. д-р Ваня Герова-Нанкова, дм; МУ

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ”

**РЕЗУЛТАТИ:** Настоящото проспективно проучване включва 40 пациенти с възпалителни чревни заболявания - ВЧЗ (20 с УК, 20 с БК) и 10 здрави контроли. При всички е извършена илеоколоноскопия, изчислени са съответните клинични и ендоскопски индекси за активност, направени са пълни лабораторни изследвания и е изследван фекален калпротектин (ФКП) чрез бърз количествен имунохроматографски метод (Quantum Blue® Calprotectin). При ROC анализ на пациентите с УК, най-голяма зона под кривата (AUC) има при ФКП (AUC 0,925,  $p < 0,001$ ), последвана от CRP (AUC 0,795,  $p = 0,001$ ), фибриноген (AUC 0,736,  $p = 0,008$ ), левкоцити (AUC 0,717,  $p = 0,015$ ), СУЕ (AUC 0,646,  $p = 0,103$ ) и тромбоцити (AUC 0,497,  $p = 0,971$ ). При пациентите с БК, ROC анализът описва най-голяма зона под кривата при ФКП (AUC 0,733,  $p = 0,017$ ), последвана от CRP (AUC 0,694,  $p = 0,048$ ). При останалите показатели няма статистическа значимост. Не беше наблюдавана статистически значима разлика между стойностите на ФКП на здравите контроли и пациентите с УК в ремисия ( $p = 0,205$ ), но такава бе на лице между контролите и УК в активност ( $p < 0,001$ ), и пациентите с УК в ремисия и в активност ( $p < 0,001$ ). Имаше значима разлика между стойностите на ФКП на контролите и пациентите с БК в ремисия ( $p = 0,001$ ), тези в активност с L1 ( $p < 0,001$ ), активност L2 и L3 ( $< 0,001$ ) и всички пациенти с активна БК ( $< 0,001$ ). Имаше статистически значима разлика и между стойностите на ФКП на пациентите с БК в ремисия и тези с активност L1 ( $< 0,001$ ), активност L2 и L3 ( $< 0,001$ ) и активна БК като цяло ( $< 0,001$ ). Нивата на ФКП при L1 се различаваха значително от тези при L2 и L3 ( $< 0,001$ ). Гранична стойност на ФКП от 315  $\mu\text{g/g}$  разграничава пациентите с БК в ремисия от тези с активност с 94 % чувствителност, 98 % специфичност и AUC 0,989. ФКП показва значителна корелация с UCEIS ( $r = 0,869$ ,  $p < 0,001$ ), ендоскопския Мейо скор – EMS ( $r = 0,814$ ,  $p < 0,001$ ), клиничният индекс на Лихтигер ( $r = 0,836$ ,  $p < 0,001$ ) и CDAI ( $r = 0,63$ ,  $p = 0,001$ )

**Научни публикации и прояви:**

- Наков Р, Герова В. Проследяване на чревното възпаление при пациенти с възпалителни чревни заболявания посредством изследване на фекален калпротектин. *Българска хепатогastroентерология*. 2016;17(2):51-5.
- Nakov R, Nakov V, Penchev P, et al. Correlation between Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity, Lichtiger Index and fecal calprotectin in ulcerative colitis patients. *Falk Symposium 205: New Treatment targets in Gut and Liver Diseases*, Lucerne, Switzerland, 21-22.10.2016
- Топузанска Н, Танкова Л, Герова В, и др. Карцином на сигмата при пациент с първичен склерозиращ холангит и дългогодишен улцерозен колит. *Втори национален конгрес за млади гастроентеролози, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“, София, 25-26.03.2016*

*Оценки по скалата на СМН:*

*ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;  
*ВИСОКА* - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
*ВИСОКА* - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 14-Д/2015 Биохимични маркери и образни методи за ранна диагностика на сърдечни-съдови усложнения при пациенти със захарен диабет тип 2**

**Докторант:** Александра Николаева Маркова

**Научен ръководител:** Проф. Михаил Боянов, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести, Клиника по ендокринология, УМБАЛ "Александровска" ЕАД

**РЕЗУЛТАТИ:** Целта на проучването бе да се оцени сърдечно-съдовият риск (ССР) при пациентите със захарен диабет тип 2 (ЗД2) и връзката му с биохимични и образни маркери за ранна атеросклероза. Участваха 171 пациенти със ЗД2- 103 жени и 68 мъже (средна възраст  $60,7 \pm 9.6$  години). Рискът за фатални и нефатални сърдечно-съдови заболявания (ССЗ) и инсулт се изчисли с UKPDS Risk engine 2.0 и ADVANCE Risk engine по възраст, давност на диабета, възраст при диагнозата, тютюнопушене, обиколка на талията, систолно и диастолно артериално налягане, ACR, наличие на предсърдно мъждене, ретинопатия и артериална хипертония, HbA1c, тотален, HDL-холестерол и non-HDL-холестерол. Серумните нива на N-терминален pro B-тип натриуретичен пептид (NT-proBNP) и плацентарен растежен фактор (PIGF) се изследваха с електрохемилюминисцентен метод, а асиметричен диметиларгинин (ADMA) - с ензимен имуноанализ. Чрез двуразмерна ултрасонография се измери дебелината на интима медия на общата сънна артерия. Ехокардиографски се оцени размера на миокардните структури, показателите за диастолна дисфункция- E/A и E/E'. Изчисленият среден риск за ССЗ с модела ADVANCE е 3.05% (1.48; 5.12). За нефатални ССЗ по модела UKPDS е 16.8% (11.1; 25.6), за фатални ССЗ е 11.1% (6.6; 17.9), за инсулт е 8.2% (4.4; 13.8), и за фатален инсулт- 1.2% (0.2; 2.1). Установи се корелация на NT-proBNP, IMT и E/E' с предсказания от ADVANCE риск за ССЗ (съответно ( $r=0.527$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.841$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.777$ ,  $p=0.001$ ); с изчисления с UKPDS риск за ССЗ ( $r=0.183$ ,  $p=0.021$ ;  $r=0.679$ ,  $p=0.004$ ;  $r=0.626$ ,  $p=0.013$ ); за фатални ССЗ ( $r=0.264$ ,  $p=0.001$ ;  $r=0.814$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.773$ ,  $p=0.001$ ); инсулт ( $r=0.497$ ;  $p<0.001$ ;  $r=0.581$ ,  $p=0.018$ ;  $r=0.612$ ,  $p=0.015$ ); фатален инсулт ( $r=0.515$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.571$ ,  $p=0.026$ ;  $r=0.683$ ,  $p=0.007$ ). Няма зависимост с нивата на ADMA и PIGF. Рискът от фатални и нефатални ССЗ и инсулт корелира с NT-proBNP, IMT, E/E', но не и с ADMA и PIGF.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Маркова А. Ролята на асиметричния диметиларгинин, NT-proBNP, ендотелин-1 и плацентралния растежен фактор като маркери за субклинична атеросклероза при пациенти със захарен диабет тип 2, Ендокринни заболявания 2017;2.
- Кундурджиев А, Маркова А. Ултразвукови методи за скрининг на сърдечно-съдови заболявания при захарен диабет тип 2, сп. Acta Medica Bulgaria 2017.
- Дончева А, Бакалов Д, Цакова А, и др. "Серумни нива на NT-proBNP и асиметричен диметиларгинин при тип 2 диабетници- корелация с изчисления сърдечно-съдов риск, Национален конгрес по ендокринология, Пловдив, 8-11 октомври 2015 г.
- *Оценки по скалата на СМН:*
- *ДОБРА* - за извършената научноизследователска дейност;



- **ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;
- **ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.

### **Договор 18-Д/2015 Трансплантация на ex vivo размножени човешки лимбални стволови клетки с преносител амниотична мембрана**

**Докторант:** Розалия Христова Христова

**Научен ръководител:** Доц. д-р Иван Танев, дмн

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по офталмология, УМБАЛ „Александровска“

**РЕЗУЛТАТИ:** С настоящото проучване за първи път се въвежда трансплантацията на лимбални стволови клетки като метод за лечение в България. В проучването бяха включени 25 лимбални проби. Проведена бе минимално инвазивна лимбална биопсия на 9 пациенти. Като контроли бяха подбрани 16 материала, получени от корнеосклерални бутони след трансплантация на роговица от индивиди без данни за съществуващи заболявания на очната повърхност. Сравниха се два различни протокола за ex vivo размножаване на лимбални епителни стволови клетки. Първият протокол се базира на класически хранителни среди (DMEM/HAMF12), различни растежни фактори (Epidermal Growth Factor - EGF) и телешки серум. Открихме, че този метод е ефективен само при част от пробите (50%). Вторият проучен метод за клетъчни култури включва употребата на иновативни хранителни среди (CnT-Frame culture medium, CELLnTEC) без добавяне на ксенобиотични продукти и разработени в съответствие с Практиката за добро производство. Наблюдава се ефективно размножаване на клетките и формиране на епителни слоеве при всички пациенти. Вероятно това се дължи на подобрения качествен състав на хранителните среди с редица растежни фактори, които не се включват в досега съобщаваните протоколи. За първи път е приложена трансплантация на стволови клетки при невротрофичен кератит и очна форма на розацея за възстановяване на очната повърхност. Критерии за успех са подобряване на зрителната острота, стабилна епителизация на очната повърхност, опрозряване на засегнатите зони, редукция на неоваскуларизацията. При всички пациенти те бяха напълно или частично изпълнени, в зависимост тежестта на първоначалното състояние. Установи се, че при частична унилатерална инсуфициенция биопсия може да се проведе на засегнатото око, без това да оказва влияние върху размножаването на клетките ex vivo. Прилагането на ex vivo размножени стволови клетки след предшестваща трансплантация на амниотична мембрана не е свързано с по-нисък успех от интервенцията. Въведен бе иновативен протокол за клетъчни култури от лимбални биопсии, отговарящ на всички съвременни изисквания. Установена бе ефективността на трансплантацията на ex vivo размножени лимбални стволови клетки при различни заболявания на очната повърхност.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Христова Р, Танев И. Лимбална стволочлетъчна инсуфициенция – същност и лечение. Ophthalmreviews 2016
- Христова Р, Здравков Я, Христова М, и др. Трансплантация на ex vivo размножени лимбални стволови клетки при невротрофична кератопатия – клиничен случай. Ophthalmreviews 2016
- Hristova R, Atanassov A, Behaegel J, et al. The best corneal substitute is...., COST Summer School, Varna, 30.05-03.06.2016

*Оценки по скалата на СМН:*

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

***ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

***ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

**Договор 21-Д/2015 Изработване на комплексни критерии за диференциална диагноза на макрорегенераторния нодул и ранния хепатоцелуларен карцином**

**Докторант:** д-р Калоян Павлинов Павлов

**Научен ръководител:** Доц. д-р Йордан Генев, дм

**Базова организация:** МУ-София, МФ, КЦГЕ, УМБАЛ “Царица Йоанна - ИСУЛ”

**РЕЗУЛТАТИ:** Перкутанните аблативни процедури под ехографски контрол представляват съществена част от нашия арсенал в лечението/палиацията на първичните чернодробни тумори вече 2 десетилетия. В този период се наблюдаваше и константен прогрес в индикациите, приложението и резултатите от аблативната терапия. Представяме нашия 18-годишен опит в перкутанната етанолова аблация (PEI), радиофреквентната (RF) и микровълнова (MW) аблация на първичните чернодробни неоплазми. Точният туморен субтип (HCC, CC или HCC/CC) е от голяма значение относно диагноза, лечение и прогноза. В периода 1997 г. – 2015 г. регистрирахме 327 пациенти (80,4% мъже; 19,6% жени) на възраст 26-84 г. (средно 64,2) с първични чернодробни неоплазми (89,4% хепатоцелуларен карцином; 9,9% холангиокарцином; 0,7% смесен тип HCC/CC). Диагнозата е образна (конвенционална и контрастно-усилена ехография, компютър-томографско изследване с контраст) и хистологична/имуно-хистохимична. Всички пациенти са с цироза (Child A 59,7%; B 35,4%; C 4,9%); 81,6% за инфектирани с HBV (53,3%), HCV (32,4%); ко-инфектираните са 8,1%. HCC е стадиян по BCLC: A (21,7%); B (38,5%); C (32,2%); D (7,7%); При 69,4% се касае за единична лезия, при 52,6% туморният размер надхвърля 5 см. С перкутанна аблация се лекуваха 67,8% от пациентите: RFA (40,1%), MWA (6,4%), shot-PEI (17,2%) и комбиниран аблативен метод (3,9%). Туморната тъкан на 30 пациенти се подложи на имунохистохимично изследване с Glypican-3, Arginase-1, pCEA. Пациентите са проследявани 1-72 месеца (средно 11,9) с контрастно-усилена ехография/компютърна томография, при някои от тях се извърши биопсия. Пълна аблация бе постигната в 57,5%. Локална туморна прогресия се откри при 26,4% след 1-72 (средно 12,2) в периода на проследяване; нови лезии при 23,8% след 1-52 месеца (средно 10,1). Средната преживяемост на 12, 24, 36 месеца е съответно 81%, 79%, 79%. Нашият опит сочи, че MWA увеличава ефекта от локалната аблация при неоплазми с конфликтна локализация. Глипикан-3 позитивни са над 70% от пациентите с eHCC и 27% от пациентите с HGDN; позитивни за HSP70 са 55% от пациентите с eHCC и до 15% от диспластичните нодули. Предстои дефиниране на диагностичната и прогностична стойност на изследваният пакет имунохистохимични маркери.

*Оценки по скалата на СМН:*

***ДОБРА** - за извършената научноизследователска дейност;*

***ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;*

***ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

## МЕДИКО-СОЦИАЛНА ОБЛАСТ

### **Договор 5-Д/2015** Разработване на модел за управленските функции на здравните грижи в болничната структура

**Докторант:** Камелия Костадинова Богданова

**Научен ръководител:** Проф. Галина Чанева, дм

**Базова организация:** МУ-София, ФОЗ, Катедра «Здравни грижи»

**РЕЗУЛТАТИ:** Професионалистите по здравни грижи, които заемат ръководни длъжности в болничните структури са на възраст от 35 до 50 години, като най-голям е относителният дял на ръководителите по здравни грижи на възраст между 42 и 47 години – 27,50 %, както и на възраст между 36 и 41 години – 25,83 %. Професионалният стаж на старшите медицински сестри /акушерки, лаборанти и рехабилитатори/ като ръководители е от 1 до 36 години, като най-голям е относителният дял на ръководителите по здравни грижи с професионален стаж между 6 и 12 години – 35,00 %. Близко половината от анкетираните ръководители по здравни грижи не са обучавани и не притежават необходимата професионална квалификация за управление на здравните грижи. По отношение на ежедневната организация около 1/3 от тях изготвят списък с приоритетните задачи за деня и по този начин организират дейността на персонала. Ръководителите по здравни грижи, които непрекъснато се обучават и прилагат управленски методи и средства са само 38,33%, като има и значителна част от заемащите ръководни длъжности, които осъществяват управленските си функции единствено и само на основата на практическия опит, който са придобили (35,83%). Ето защо е важно да се насочи следдипломното обучение на ръководителите по здравни грижи към усвояване на знания и компетенции свързани с прилагането на научно доказани управленски инструменти. При организирането и управлението на здравните грижи, ръководния персонал преди всичко разчита на наблюдение и визитации (68,33%) и ежедневен контрол (72,05%), докато в практиката са въведени протоколи и технически фишове само при 57,02% от анкетираните, а организация за индивидуално планиране на грижите за пациентите – 40,00%. Анкетираните пациенти от изследваните лечебни заведения посочват, че само 40,00% са удовлетворени от създадената организация по приемането им за съответното болнично лечение. Освен това, пациентите които са напълно удовлетворени от извършваните от персонала манипулации и процедури са само 34,80%. Тези резултати определено показват съществуването на проблеми в организацията и качество на здравните, които се отразяват на удовлетвореността на пациентите.

Ръководителите по здравни грижи имат нагласа и желание да бъде разработен модел на управленските им функции със съответен софтуерен продукт, допълващ болничната информационна система, като по този начин ще се подпомогне сложния процес на управление на здравните грижи в болничните структури и ще се гарантира повишаване качеството на грижите за пациентите.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Богданова К, Г Чанева, М Стойчева. Управленски методи и средства при организацията на здравните грижи. Сестринско дело 2016;2:29-32
- Богданова К, Г Чанева, М Стойчева, П. Кантарева. Удовлетвореност на пациентите от качеството на здравните грижи в лечебното заведение. 37ма Научнотехнологична сесия 2016 г.

*Оценки по скалата на СМН:*

**ВИСОКА** - за извършената научноизследователска дейност;

***ВИСОКА** - за приноса за оформяне на дисертационния труд;  
**ВИСОКА** - за приноса върху процеса на подготовката на докторанта.*

## КОНКУРС

### СТИМУЛИРАНЕ НА НАУЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ В ОБЛАСТИ С ПОСТИГНАТИ ВИСОКИ ПОСТИЖЕНИЯ 2014-2015

#### Договор 1-С/2014 Дизайн, синтез и антихолинестерозна активност на нови производни на галантамина – втори етап

Водещ изследовател: проф. Ирини Атанас Дойчинова-Цекова, дхн

Членове на изследователския екип:

- Гл. ас. Марияна Атанасова
- Доц. Иван Димитров
- Гл. ас. Георги Ставраков
- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова
- Никола Йорданов, докторант

**Базова организация:** МУ – София, Фармацевтичен факултет

**РЕЗУЛТАТИ:** Направен е дизайн на девет нови производни на галантамина (GAL), структурни аналози на три от най-активните съединения, получени при първия етап на проекта. Съединенията са докнати в ензима ацетилхолинестераза (AChE) и енергията на получените комплекси е оценена при условията, оптимизирани в първия етап. Въз основа на получените резултати от докинга са формулирани две работни хипотези, за проверката на които са избрани пет съединения за синтез. Избраните съединения са синтезирани, охарактеризирани и тествани за анти-холинестерозна активност. Като контрола е използван GAL. Всичките пет новосинтезирани производни имат активност между 20 и 139 пъти по-висока от тази на GAL. Получените резултати потвърждават работните хипотези. Удължаването на въглеродородната верига между двете ядра – GAL и ароматно – повишава афинитета. Фениловият пръстен е биоизостеричен на индоловия заместител. Въз основа на анализа на връзката структура – афинитет на синтезирани от нас производни, е направен дизайн на две нови серии производни на GAL за следващия етап на проекта. В едната серия е включен обемен алифатен фрагмент (камфан), а в другата – набор от малки ароматни фрагменти (алкилфенили). И двата фрагмента да свързани с ядрото на GAL чрез алкиламиден линкър с различна дължина. Страничните фрагменти имат за цел да инхибират свързването на A $\beta$  пептид в периферния анионен център (PAS) на AChE.

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### Договор 2-С/2014 Нови маркери за съдов риск при пациенти с предиабет

Водещ изследовател: Проф. Здравко Асенов Каменов, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Антоанета Гатева, дм
- Явор Асьов, докторант
- Гл. ас. Аделина Цакова

**Базова организация:** МУ – София, Медицински факултет, Катедра вътрешни болести, Клиника по ендокринология и болести на обмяната

**РЕЗУЛТАТИ:** В проучването бяха включени 80 пациенти на средна възраст  $50,4 \pm 10,6$  години, разделени в две групи - група 1 (контролна група) със затлъстяване без гликемични нарушения ( $n=41$ ) и група 2 с предиабет ( $n=39$ ), сходни по възраст, антропометрични показатели, както и по отношение на класическите сърдечно-съдови рискови фактори, въпреки малко по-високата честота на метаболитен синдром при пациентите с предиабет. Установихме сходни стойности на маркерите за микроваскуларни и макроваскуларни усложнения в двете групи. Нямаше значими разлики в показателите на калциево-фосфорната обмяна между двете групи, независимо от тенденцията към по-ниски стойности на 25(ОН)Д при пациентите с предиабет в сравнение с контролите. Установи се обаче изключително висока честота на витамин Д дефицит и в двете групи пациенти. Наблюдавахме по-високи нива на MCP-1, копептин, калистатин, TNIPX, пероксиредоксин, sICAM и sVCAM при пациентите с предиабет в сравнение с контролите, макар статистическа значимост да се установи само за калистатин и пероксиредоксин. MCP-1 показва значима корелция с ИТМ и НОМА индекса ( $r=0,239; 0,226; p<0,05$ ). TNIPX също показва корелация с НОМА индекса ( $r=0,230; p<0,05$ ). Установихаме значимо по-високи нива на сиалова киселина при пациентите с инсулинова резистентност, както и на калистатин при пациенти с метаболитен синдром. Не установихме корелация между изследваните от нас маркери и показателите за макро- и микроваскуларен риск.

**Научни публикации и прояви:**

- Gateva A, Assyov Y, Velikova T, et al. Increased peroxiredoxin 4 levels in patients with prediabetes compared to normal glucose tolerance subjects. Clin Endocrinol 2016;85:551-5.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 3-С/2014 Молекулярно-генетична диагностика при скелетни дисплазии и краниостенози**

**Водещ изследовател:** Доц. Албена Първанова Тодорова, дб

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Тихомир Тодоров, дб, ГМДЛ “Геника“ ООД
- Ас. Андрей Киров, дб
- Михаела Младенова

**Базова организация:** МУ- София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Бяха въведени и оптимизирани методи за диагностика на гени, свързани със скелетни дисплазии и кранио-фациални скелетни дисплазии. Разработеният молекулярно-генетичен подход беше приложен за изследване на 17 пациента. Беше оптимизиран протокол за амплификация и секвениране на прицелните гени, както и array-CGH. На базата на предварително проведените клинични изследвания тези 17 пациента бяха разпределени в 2 групи: пациенти със скелетна дисплазия и пациенти с кранио-фациална скелетна дисплазия. Настоящата научна разработка беше фокусирана върху изясняване на молекулните дефекти в гените *FGFR3*, *FGFR2*, *TWIST1* и *TCF12* и

изследване на копийни варианти в генома. За мутации в *FGFR3* гена са изследвани 16 пациента. Бяха открити точкови мутации при 9 пациента (9/16=57%): 7 с ахондроплазия (44%) и 2-ма с хипохондроплазия (12%). За мутации в *FGFR2* гена са изследвани 4 пациента и беше открита 1 патологична мутация при пациент с диагноза Аpert синдром. Array-CGH анализът беше проведен при 4 пациента и бяха открити находки при двама от тях (50%). Необходими са допълнителни генетични изследвания за изясняване връзката на откритите копийни вариации с клиничната симптоматика и проследяване на тези генетични изменения при родителите на засегнатите деца. При 10 от 17 пациента (58,8%) беше изяснена на молекулно ниво поставената клинични диагнози, като бяха открити известни мутации в световната литература. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 4-С/2014 Пилотен биомониторинг на нивата на бисфенол А в урина при студенти по дентална медицина и зъботехника, преподаватели и медицински персонал, участващ в процеса на обучение**

**Водещ изследовател:** Проф. д-р Ангелина Илиева Киселова-Янева, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Богдан Петрунов, дмн – БАН, НЦЗПБ – София
- Доц. Георги Николов, дм – НЦЗПБ – София
- Ас Мая Ляпина, дм
- Доц. Мария Денчева, дм
- Доц. Ася Кръстева-Панова, дм
- Гл. ас. Мариана Цекова-Янева, дм
- Стелла Петрова, студент

**Базова организация:** МУ – София, ФДМ, Катедра "Образна и орална диагностика"

**РЕЗУЛТАТИ:** Проведен е пилотен биомониторинг на нивата на бисфенол А (ВРА) в урина в условията на обучението по дентална медицина. Извършено е епикутанно тестване за оценка на честотата на контактна сенсibiliзация към бисфенол А и други основни алергени в денталната практика, както и алергологично тестване за оценка на алергичната предиспозиция и сенсibiliзацията към атопични алергени. Резултатите от проведения биомониторинг на нивата на ВРА в урината потвърждават повсеместната експозиция, но не се установиха стойности, по-високи от ориентировъчните здравно-базираните такива. Сигнификантно по-високи нива и среден ранг на ВРА в урина се установиха в групата на денталните пациенти, в сравнение с тази на студенти по дентална медицина, без достоверни различия по отношение на половата характеристика. Основавайки се на получените резултати, не считаме експозицията на дентални материали съдържащи производни на ВРА по време на практическото обучение по дентална медицина като значима. Установихме относително висока честота на сенсibiliзация към ВРА и гумени алергени сред студентите по дентална медицина. От гумените алергени, карба микс се очерта като сенсibiliзатор от първостепенна важност както за студентите по дентална медицина, така и за денталните пациенти. Вторият по важност сенсibiliзатор за студентите по дентална медицина бе бензоил пероксидът. Положителни реакции към бисфенол А и толуолсулфонамид формалдехидна смола установихме само в групата на студентите по дентална медицина. От алергените, присъстващи в както в материали за употреба в денталната практика, така и в продукти от битовата химия и козметиката, основни сенсibiliзатори както за студентите по дентална медицина, така и за денталните

пациенти бяха колофон и полисорбат 80. Аромати микс са третия по значимост алерген за студентите по дентална медицина. Установихме относително висока честота на сенсibiliзация и към сложноцветни микс, като положителни реакции бяха установени само при студентите по дентална медицина. В групата на студентите по дентална медицина установихме най-висока честота на сенсibiliзация към глутаралдехид, както и висока честота на едновременна сенсibiliзация към диазолидинил урея и глутаралдехид. Можем да приемем ролята на експозицията на диазолидинил урея, кватерниум-15, имидазолидинил урея и глутаралдехид в процеса на практическото обучение по дентална медицина за изявата на контактна сенсibiliзация. Експозицията на формалдехид е повсеместна и е трудно разграничи ролята на околната среда и на професионална експозиция. Потвърдиха се предишните ни наблюдения относно високата честота на едновременна сенсibiliзация към формалдехид и глутаралдехид. Нямаме основание да приемем ролята на алергичната предиспозиция и сенсibiliзацията към атопични алергени за изявата на контактна сенсibiliзация към изследваните от нас алергени от денталната практика. Научните резултати от проучването може да послужат за теоретично обосноваване и практическо прилагане на адекватни профилактични мерки както при професионална, така и при непрофесионална експозиция на бисфенол-базирани материали и на продукти, съдържащи проучваните от нас агенти. Това ще осигури по-добра работна, медицинска и социално-икономическа прогноза и състояние на обективния здравен статус в денталната практика.

#### Научни публикации и прояви:

- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of contact sensitization to formaldehyde-releasers, formaldehyde and glutaraldehyde in dental students. SANAMED, 2016;11(1):21-27.
- Lyapina M, Krasteva A, Dencheva M, et al. Pilot study of contact sensitization to rubber allergens and bisphenol A in dental students. Int J Occup Med Environ Health, 2017; 30(3):397-405.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Biomonitoring of urinary levels of bisphenol A in dental students. 26th Annual Assembly of IMAB. Varna, Bulgaria. 12 – 15 May 2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 5-С/2014** Диагностика на панкреасна екзокринна и ендокринна недостатъчност

Водещ изследовател: Проф.Д-р Борислав Георгиев Владимиров, дм

#### Членове на изследователския екип:

- Силви Митова-Симинкович
- Мила Ковачева-Славова, докторант

**Базова организация:** МУ – София, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна - ИСУЛ”

**РЕЗУЛТАТИ:** За маркерите за протеново-енергиинна малнутриция Преалбумин и ретинол-свързващ протеин(РСП) бяха наблюдавани статистически значими разлики между различните подгрупи по Кембридж,  $p < 0.05$ . Преалбумина и РСП заедно с хемоглобина и албумина демонстрираха различия при тежестта на хроничния панкреатит оценена чрез M-ANNHEIM severity index score( $p < 0.05$ ). В условията на остро възпаление двата маркера корелират негативно с СРП и могат да се използват като ранни предиктори на системния възпалителен отговор. При пациентите с

панкреасен карцином и резекции поради туморни заболявания малнутрицията е многофакторна и получените ниски нива не могат да се интерпретират само във връзка с ПЕН. Витамин А, Д и Е недостатъчност се наблюдава при 5,13; 93,6 и 70% от пациентите респективно. Освен това 38.5% от лицата имат витамин Д дефицит (<25 nmol/L). Средните нива на вит Д, А и Е бяха  $38.9 \pm 25.7$  nmol/L,  $520 \pm 306$  μg/L и  $4.36 \pm 3.93$  mg/L. Витамин Д статуса се влошава с тежестта на морфологичните промени и при ПЕН, независимо от сезона или етиологичната причина,  $p < 0,01$ . Витамин Е недостатъчността не зависи от ПЕН ( $p > 0,05$ ). Въпреки, че се наблюдават разлики в средните стойности на вит А и Е при морфологичните подгрупи, те не са значими. Изчислението на съотношението ВитЕ / общи липиди позволява диференциране на тежката недостатъчност на вит Е с нива под 0.8 mg/L, които се наблюдават при 40 пациента (56.34%). ВитА нивата корелират силно с РСП ( $R=0.716$ ;  $R^2=0.513$ ) и преалбумина, ( $R=0.696$ ,  $R^2=0.484$ ) и с общ холестерол ( $R=0.630$ ,  $R^2=0.397$ ) и триглицериди ( $R=0.548$ ,  $R^2=0.301$ ),  $p < 0.001$ . Захарния диабет тип 3с се установява при 23% от пациентите (63.64% при лицата със 3Д и панкреатит, 17% при остри и хронично рецидивиращи и 5% в подгрупата с хр. панкреатит без диабет) и при други 58% с ХП без 3Д се установява нарушена гликемия на гладно (кр.захар на гладно 5.6-6,9 mmol/L), които са с увеличен риск за развитие на диабет. Ние установихме влошаване на показателите за глюкозна хомеостаза при ПЕН. Серумния С-пептид показва че е добър маркер от серумния инсулин за изключване на преддиабетно състояние при панкреасни заболявания понеже само той демонстрира различия при КТ/ МРХПГ подгрупите.

#### Научни публикации и прояви:

- Siminkovitch S, Vladimirov B, Kovacheva-Slavova M, et al. Vitamin D deficiency in chronic pancreatitis, Int J Med Sci Clin Invent. 2016;3(6):1914-20.
- Kovacheva-Slavova M, S Mitova-Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Diabetes mellitus type 3c screening by patients with chronic pancreatitis Preliminary data, 47 Annual Meeting of the European Pancreatic Club-24-26 Jun 2015 Toledo Spain
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of Vitamin D, A, E Status in Patients with Pancreatic Disorders; 46 Annual Meeting of the American Pancreatic Association; Nov 4-7, 2015 San Diego CA
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Assessment of Pancreatic Exocrine Function and Fat-soluble Vitamins during Episode of Acute Pancreatitis ; Falk Symposium 200 Therapeutic strategies of the Digestive Tract-2015 and Beyond, Oct 16-17, 2015 Freiburg, Germany
- M Kovacheva-Slavova, S Siminkovitch, B Vladimirov, J et al. Evaluation of Prealbumin and Retinol Binding Protein as Severity Markers during Episode of Acute Pancreatitis ; Falk Symposium 200 Therapeutic strategies of the Digestive Tract-2015 and Beyond, Oct 16-17, 2015 Freiburg, Germany
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of vitamin D status in patients with chronic pancreatitis, recurrent pancreatitis and after pancreatic surgery; 23 United European Gastroenterology Week ; Oct 24-28 2015 Barcelona, Spain
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of prealbumin and retinol binding protein as screening tools for malnutrition in patients with chronic pancreatitis, recurrent pancreatitis and after pancreatic surgery – preliminary results; 23 United European Gastroenterology Week; October 24-28 2015 Barcelona Spain
- Vladimirov B, Y Valeriewa, P Gecov, et al. Chronic pancreatitis Diagnosis and clinical assessment National Conference of Gastroenterology 2015 Burgas 04-06. 2015



Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 6-С/2014 Изработване на комплексни критерии за диференциална диагноза на хепатоцелуларния и холангиоцелуларния карцином**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Йордан Георгиев Генов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Борислав Владимиров, дм
- Гл. ас. Румяна Митова
- Калоян Павлов, докторант

**Базова организация:** МУ – София, Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ “Царица Йоанна – ИСУЛ” ЕАД, Клиника по гастроентерология

**РЕЗУЛТАТИ:** Перкутанните аблативни процедури под ехографски контрол представляват съществена част от нашия арсенал в лечението/палиацията на първичните чернодробни тумори вече 2 десетилетия. В този период се наблюдаваше и константен прогрес в индикациите, приложението и резултатите от аблативната терапия. Представяме нашия 18-годишен опит в перкутанната етанолова аблация (PEI), радиофреквентната (RF) и микровълнова (MW) аблация на първичните чернодробни неоплазми. Точният туморен субтип (HCC, CC или HCC/CC) е от голяма значение относно диагноза, лечение и прогноза. В периода 1997 г. – 2015 г. регистрирахме 327 пациенти (80,4% мъже; 19,6% жени) на възраст 26-84 г. (средно 64,2) с първични чернодробни неоплазми (89,4% хепатоцелуларен карцином; 9,9% холангиокарцином; 0,7% смесен тип HCC/CC). Диагнозата е образна (конвенционална и контрастно-усилена ехография, компютър-томографско изследване с контраст) и хистологична/имунохистохимична. Всички пациенти са с цироза (Child A 59,7%; B 35,4%; C 4,9%); 81,6% за инфектирани с HBV (53,3%), HCV (32,4%); ко-инфектираните са 8,1%. HCC е стадиран по BCLC: A (21,7%); B (38,5%); C (32,2%); D (7,7%); При 69,4% се касае за единична лезия, при 52,6% туморният размер надхвърля 5 см. С перкутанна аблация се лекуваха 67,8% от пациентите: RFA (40,1%), MWA (6,4%), shot-PEI (17,2%) и комбиниран аблативен метод (3,9%). Туморната тъкан на 30 пациенти се подложи на имунохистогимично изследване с Glypican-3, Arginase-1, pCEA. Пациентите са проследявани 1-72 месеца (средно 11,9) с контрастно-усилена ехография/компютърна томография, при някои от тях се извърши биопсия. Пълна аблация бе постигната в 57,5%. Локална туморна прогресия се откри при 26,4% след 1-72 (средно 12,2) в периода на проследяване; нови лезии при 23,8% след 1-52 месеца (средно 10,1). Средната преживяемост на 12, 24, 36 месеца е съответно 81%, 79%, 79%. Нашият опит сочи, че МВА увеличава ефекта от локалната аблация при неоплазми с конфликтна локализация. Глипикан-3 позитивни са над 70% от пациентите с HCC и 7% от пациентите с iCC; позитивни за pCEA са 85% от пациентите с холангиокарцином и до 10% от хепатоцелуларните неоплазми. Предстои и дефиниране на диагностичната и прогностична стойност на изследваният пакет имунохистохимични маркери. Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 1-С/2015 Серумни нива на хепсидин, цинк (Zn), селен (Se), мед (Cu), магнезий (Mg), и връзката им с анемията и оксидативния стрес при болни с хронични бъбречни заболявания (ХБЗ) в терминален стадий, на диализно лечение**

**Водещ изследовател:** Проф. Диана Христова Йонова-Иванчева, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Камен Цачев, дмн
- Проф. Евгений Възелов, дм
- Ас. Ина Георгиева
- Гл. ас. Виктор Манолов, дм
- Доц. Бисера Атанасова, дх
- Ас. Иван Трендафилов
- Ас. Велимир Папазов

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по диализа;

**РЕЗУЛТАТИ:** В хода на проекта бяха използвани различни методологични подходи за диагностика на заболяването ХБЗ с хронична диализа, както и оценка на желязния статус и наличието на оксидативен стрес при 70 пациенти. Включените пациенти с ХБЗ, на диализа са на средна възраст както следва: мъже  $47.1 \pm 3.6$  г., и жени  $42.8 \pm 2.9$  г. Установихме статистически значимо повишено ниво на серумен хепсидин при пациенти с таласемия ( $248.0 \mu\text{g/l}$ ) спрямо контролната група,  $P < 0.001$ . Плазменото ниво на GPx показва статистически значимо намаление при пациенти с ХБЗ ( $7.8 \text{ U/gHb}$ ) спрямо включените клинично здрави индивиди, което потвърди наличието на оксидативен стрес,  $P < 0.001$ . Плазмените нива на селен при пациенти на с ХБЗ, на диализа също бяха значително понижени спрямо контролната група ( $422.6 \text{ nmol/l}$ ),  $P < 0.001$ . Количественото определяне на желязо при пациенти с ХБЗ, на диализа ( $12.2 \mu\text{mol/l}$ ) показва статистически понижени нива, поради съпровождащата анемия при хронично заболяване с увреждане на бъбреците с намалени нива на еритропоетин,  $P < 0.001$ . Феритинът в серум при пациенти с ХБЗ, на диализа ( $536.3 \text{ ng/ml}$ ) показва значително увеличение спрямо контролната група,  $P < 0.005$ . Концентрацията на серумни мед и цинк при пациенти с ХБЗ, на диализа ( $21.9 \mu\text{mol/l}$  и  $10.1 \mu\text{mol/l}$ , респ.) бяха съответно завишени (за мед) и понижени (за цинк) спрямо включената контрола, което показва участие на микроелементите в развитието на оксидативни стрес,  $P < 0.01$ . Установихме значителна отрицателна корелация между серумен креатинин и плазмен селен при пациентите с ХБЗ, на диализа ( $r = -0.731$ ;  $P < 0.005$ ). Корелацията между серумен хепсидин и трансферин при пациенти с ХБЗ, на диализа ( $r = -0.699$ ;  $P < 0.01$ ) показва отрицателна зависимост. Изследваният серумен хепсидин корелираше значително отрицателно с нивата на GPx, Se и Zn при ХБЗ, пациенти на диализа ( $r = -0.811$ ;  $r = -0.659$ ;  $r = -0.679$ ;  $P < 0.005$ ). Корелацията между серумен хепсидин и магнезий при случаите с ХБЗ, на диализа ( $r = -0.599$ ;  $P < 0.005$ ) показва значителна отрицателна степен. Серумният хепсидин при ХБЗ, на диализа ( $r = 0.754$ ;  $P < 0.001$ ) корелираше положително с нивата на феритина. Установихме статистически значимо повишение на серумните нива на хепсидин при пациенти с ХБЗ, на диализа. Получените серумни нива на хепсидин се дължат на естеството на заболяването, в резултат на възпалителни стимули, водещи до увеличена синтеза на пептида от черния дроб. Плазмените нива на антиоксидантите GPx и Se бяха значително понижени при ХБЗ, пациенти на диализа, свързано с оксидативния стрес при тези случаи. Допълнително участие в процесите на увреждане на клетки и тъкани вземат Zn, Cu и Mg, които показаха отклонения от референтните стойности при ХБЗ, пациенти на диализа.

**Научни публикации и прояви:**

- Manolov V, Yonova D, Vazelov E, et al. Heparin and hemodialysis patients in oxidative stress. 24<sup>th</sup> Balcan Clinical laboratory Federation Meeting. 5-8.10.2016, Tirana, Albania
- Manolov V, Yonova D, Velizarova M, et al. Evaluation of oxidative stress in dialysis patients. 10<sup>th</sup> National Clinical laboratory Conference. 29.09-01.10.2016, „Golden sands”, Bulgaria
- Georgieva I, Manolov V, Atanasova B, et al. Plasma levels of zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu) and magnesium (Mg) in patients on HDT and supplementation of their deficiency. National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D. Oxidative stress (OS) in patients with chronic kidney disease (CKD). National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Trendafilov I, et al. Inflammation, serum hepcidin levels and iron supplementation in patients with chronic kidney diseases (CKD) on chronic hemodialysis (CHD). National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Papazov V, et al. Oxidative stress in hemodialysis patients (HDP) with or without secondary hyperparathyroidism. XLIII<sup>rd</sup> Annual Congress of the European Society for Artificial Organs (ESAO). 14-17.09.2016, Warsaw, Poland
- Yonova D, Georgieva I, Vazelov E, et al. Serum levels of selenium (Se) in patients on hemodialysis (HD) and peritoneal dialysis (PD). XLIII<sup>rd</sup> Annual Congress of the European Society for Artificial Organs (ESAO). 14-17.09.2016, Warsaw, Poland
- Yonova D. Inflammation, hepcidin levels and iron supplementation in patients with chronic kidney diseases on hemodialysis. 17<sup>th</sup> International Conference on Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis & Antioxidants. 13-15.06.2016, Paris, France
- Yonova D. Oxidative stress (OS) in patients with chronic renal failure (CRF). 5<sup>th</sup> Congress of the Macedonian Society of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial organs (MSNDTAO) and 6<sup>th</sup> Southeastern European Pediatric Nephrology working group (SEPNEWG) meeting and Third IPNA teaching course. 09-12.06.2016, Skopje, Macedonia
- Georgieva I, Manolov V, Atanasova B, et al. Preliminary results from measurement of plasma levels of zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu) and magnesium (Mg) in patients on chronic dialysis treatment (CDT). VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Trendafilov I, et al. Plasma selenium (pSe) in patients with CKD on hemodialysis (HD) without chronic liver diseases (CLD) and with chronic hepatitis or cirrhosis. VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Manolov V, Atanasova B, Yonova D, et al. New diagnostic tools in anemia in chronic kidney diseases (CKD) on CDT. VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Manolov V, Yonova D, Bogov B, et al. Heparin, selenium and superoxide dismutase in oxidative stress and in dialysis patients. *J Urol Nephrol* 2017 2(1):000116
- Manolov V, Hadjidekova S, Petrova J, et al. The role of iron homeostasis in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Neurodegener Dis* 2017;3:011.
- Manolov V, Yonova D, Vazelov E, et al. Oxidative stress in chronic dialysis patients. *Med Rev* 2017;53(1):13-8.

- Manolov V, Yonova D, Velizarova M, et al. Evaluation of oxidative stress in hemodialysis patients. 10<sup>th</sup> National Clinical Laboratory Conference. 29.09-01.10.2016, Golden Sands, Bulgaria
- Manolov V, Yonova D, Vazellov E, et al. Hecpidin and hemodialysis patients in oxidative stress. 24<sup>th</sup> BCLF Congress. 5-7.10.2016, Tirana, Albania
- Manolov V, Petrova J, Bogov B, et al. Evaluation of hepcidin and atherosclerosis in dialysis patients. *Accepted for publication in Clinical Laboratory GmbH*
- Yonova D, Trendafilov I, Georgieva I, et al. Status and relations of some plasma trace elements (TE) in hemodialysis (HD) patients. *Accepted for publication in Hippokratia Journal*

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 2-С/2015 Генотип-фенотипни корелации при неврофиброматоза в България**

**Водещ изследовател:** Доц. Албена Първанова Тодорова-Георгиева, дбн

**Членове на изследователския екип:**

- Акад. проф. Ваньо Митев, дм, дбн
- Тихомир Тодоров, дб, ГМДЛ Геника ООД
- Иглика Йорданова, дб
- Мария Глушкова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Неврофиброматозите (NF) са група хетерогенни автосомно доминантни генетични заболявания, при които се наблюдава развитие на тумори засягащи централната нервна система, в комбинация с абнормална кожна пигментация. С работата по настоящата научна разработка колективът успешно въведе и оптимизира предварително подбрани молекулярно-генетични техники за диагностика на *NF1* и *NF2* гените, включващи секвенционен анализ за търсене на точкови мутации и MLPA анализ за детекция на големи делеции/дупликации, при подбрана група български пациенти с предполагаема клинична диагноза неврофиброматоза. Прицелната група от 27 пациента беше клинично добре охарактеризирана. Проведените молекулярно-генетични изследвания показаха наличието на 16 мутации в *NF1* гена, три от които нови за световната литература: една мутация в сплайс-място, малка делеция на пет бази и дупликация на една база. При пациент насочен с диагноза сегментна NF1 беше открита соматична делеция на екзони 1-12 в материал от свежа биопсия от неврофибром. В *NF2* гена бяха открити две нонсенс мутации добре известни в литературата. По-голяма част от откритите мутации при Български пациенти са описани в световната литературата и са свързани с типичната клинична картина за неврофиброматоза и сегментна NF1. С изясняване на мутационния спектър на анализирани гени при български пациенти ще се допринесе за обогатяване на мутационната база данни в световен мащаб. От изследваните NF пациенти 67% бяха генетично верифицирани. При случаите с предполагаема диагноза NF1, 70% бяха генетично верифицирани, което потвърждава и данните за висока честота на NF1 в световен мащаб (1:3000 новородени). Генотип-фенотипните корелации при NF пациенти са трудни за интерпретиране, поради изключително комплексния фенотип на пациентите с NF1, представляващ комбинация от много различни клинични характеристики, възрастова зависимост на заболяването и огромна генетична

хетерогенност по отношение на патогенните мутации. Необходимо е генотипът да бъде внимателно охарактеризиран, за да се потвърди или отхвърли поставената клиничната диагноза. Поради това, провеждането на молекулярно-генетичен анализ и последващо генетично консултиране са от изключителна важност.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 3-С/2015 Адипоцитокени и сърдечно-съдов риск при пациенти с нарушения във въглехидратната обмяна**

**Водещ изследовател:** Проф. Здравко Асенов Каменов, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Антоанета Гатева, дм
- Ас. Явор Асьов, дм
- Гл. ас. Аделина Цакова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по вътрешни болести

**РЕЗУЛТАТИ:** Адипоцитите са източник на редица циркулиращи в кръвта хормони (адипокини). Освен класическите лептин, адипонектин и резистин, напоследък са идентифицирани някои нови адипокини, освобождавани от мастната тъкан, които могат да имат отношение към инсулиновата резистентност и повишения сърдечно-съдов риск при пациенти с въглехидратни нарушения. Установихме, че серумният адипонектин е статистически значимо по-висок при лицата с нормогликемия в сравнение с тези с предиабет и корелира негативно с ИТМ, обиколката на талията, имунореактивния инсулин и НОМА-IR индекса. В тази връзка, той има предиктивна стойност за разграничаване на лицата с инсулинова резистентност. Серумният лептин корелира позитивно с ИТМ, процентът мастна маса, обиколката на талията и с маркера за ендотелна дисфункция LhRNI, оценен с апарат ENDOPAT. Той има добра дискриминативна стойност за разграничаване на лицата с метаболитен синдром. Серумният оментин корелира позитивно със систолното налягане и с общия холестерол и липидните фракции. След корекция за интерфериращи фактори, той не може да бъде използван за разграничаване на лицата с дислипидемия. Серумният хемерин има добра дискриминативна стойност за разграничаване на лицата с дислипидемия в изследваната популация. Серумните нива на изследваните адипоцитокени не корелират с повечето показатели за микро и макросъдови увреди, изследвани в настоящата студия. Същевременно, между затлъстели пациенти с предиабет и такива с нормален въглехидратен толеранс не се наблюдават значими разлики в показателите за микро и макроваскуларни усложнения, въпреки малко по-високата честота при пациентите с предиабет.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 4-С/2015 Връзка между сенсibiliзацията към инхалаторни и хранителни алергени, разпространението и вида на алергичните заболявания и факторите на околната среда**

**Водещ изследовател:** Проф. Васил Димитров Димитров, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Мария Стаевска-Коташева, дм
- Ас. Елена Петкова

- Ас. Денислава Недева
- Ас. Анна Димитрова, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Клиничен център по алергология

**РЕЗУЛТАТИ:** При 252 доброволни участници (средна възраст 42г) от 8 различни по географски и селищен вид населени места в България беше изследвана връзката между сенсibiliзацията и проявите на алергично заболяване (ринит, астма, контактен дерматит, уртикария и ангиоедем), и факторите на средата. Групирано бяха в 2 групи: градски-промишлен и селскостопански вид населено място. Не се установи значима разлика в разпределението на симптомите на ринит според вида на населеното място ( $p=0.639$ ) и възрастта на изследваните лица ( $p=0.993$ ). Липсва разлика при симптомите кашлица ( $p=0.419$ ) и „свирене в гърдите“. Установена беше значима разлика спрямо възрастта при симптомите „свирене в гърдите“ ( $p=0.029$ ) и кашлица ( $p=0.014$ ). Това бе наблюдавано и за честота на уртикария според вида населено място ( $p=0.034$ ), за разлика от ангиоедема, при който не се установява такава значимост ( $p=0.403$ ). Липсва сигнификантна разлика при положителните кожно-алергични проби (КАП) към инхалаторни алергени и населеното място ( $p=0.355$ ), както и възрастта на участниците ( $p=0.086$ ). Аналогичен е примерът за реакциите към медикаменти и населеното място ( $p=0.321$ ) и възрастта ( $p=0.365$ ). Установи се сигнификантна разлика в групите според населеното място и съобщените реакции към анестетици ( $p=0.023$ ), както и при реакциите от инсекти и вида населено място ( $p<0.001$ ). Липсва значима разлика за реакциите към храни ( $p=0.245$ ) и фамилната анамнеза за алергии ( $p=0.452$ ) и населеното място. От проведените КАП с инхалаторни алергени се установи, че в изследваните райони най-честа е сенсibiliзацията към полени на дървета, треви и плевели (сезонни) и микрокърлежи на домашния прах, епидермални образувания от животински произход и плесени (целогодишни). От проведените КАП с хранителни алергени се установи, че най-честите алергени, предизвикващи сенсibiliзация при изследваната група са фъстък, сусам, соя, краве мляко, яйчен белтък. От проведените епикутанни КАП с Европейска стандартна серия се установи, че най-честа е сенсibiliзацията към никел, парафенилендиамин, кобалт, калиев дихромат, перувиански балсам и колофон. От проведените изследвания може да се обсъди, че нарастването на заболяемостта сред алергичните болести се наблюдава с еднаква честота и разпространение, както в градски-промишлен, така и в селскостопански тип околна среда.

**Научни публикации и прояви:**

- Петкова Е, Валериева А, Недева Д, и др. Връзка между сенсibiliзацията към инхалаторни и хранителни алергени, разпространението и вида на алергичните заболявания и факторите на околната среда. Алергии, хиперсензитивност, астма 2016;13(1):24-8.

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 5-С/2015 Влияние на отдалеченото исхемично прекондициониране върху бъбречната функция при пациенти след сърдечни операции**

**Водещ изследовател:** Проф. Генчо Кръстев Начев, дмн

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Георги Царянки, дм
- Антоанета Димитрова-Карамфилова, дм
- Проф. Камен Цачев, дмн
- Ас. Жулиета Христова-Димитрова, дм
- Д-р Вера Манолова

- Д-р Неда Бакалова
- Д-р Наталия Христова

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по сърдечно-съдова хирургия, УМБАЛ „Света Екатерина“

**РЕЗУЛТАТИ:** Острата бъбречна увреда, ОБУ се наблюдава нерядко при пациенти след сърдечни операции, като до момента не е установен метод или средство намаляващи изявата и степента на това усложнение. Според някои автори отдалеченото исхемично прекондициониране, ОИП, може да намали честотата и/или степента на ОБУ при тези пациенти. Цел на проучването: да се изследва влиянието на ОИП върху появата и тежестта на изразеност на ОБУ при пациенти след сърдечни операции. Метод: 176 планови високорискови кардиохирургични пациенти са рандомизирани в две групи. При 87 от тях, третирана група, е провеждано ОИП чрез три последователни от по 5мин цикъла с пауза от по 5 мин инфлации на маншет за измерване на артериално налагане поставен на една от мишниците. При 89 пациенти, контролна група, КГ е извършен същия цикъл на инфлации, но с величина 20ммHg. Пациентите са оперирани в условията на многокомпонентна анестезия включваща севофлуран и пропофол. Основен изследван параметър е настъпването на ОБУ в първите 72 следоперативни часа, оценено по системата RIFLE, както и необходимостта от бъбречно заместителна терапия, БЗТ. Допълнителни параметри са продължителност на престоя на пациентите в реанимация, продължителност на механичната вентилация и болнична смъртност. Изследвани са нива на креатинин периоперативно и маркерите за ОБУ: NGAL в серум и KIM-1 в урина. Установихме междугрупова разлика в нивата на KIM-1 0,525ng/ml и NGAL 329.8ng/ml в ОИП групата спрямо 0.572ng/ml и 318.8ng/ml в КГ,  $p < 0.001$  следоперативно. Не установихме разлика в нивото на креатинина в същия етап: 114,3 $\mu$ mol/l спрямо 117,2  $\mu$ mol/l,  $p = 0,77$ . Сбора от степените ОБУ по скалата RIFLE не се различава статистически в двете групи на 24, 48 и 72ч. БЗТ, започната до края на 3-то денонощие в двете групи е сравнима: 11 пациенти в ОИП група и 10 пациенти в КГ,  $p = 0,76$ . Величината на NGAL е добър предиктор за начало на БЗТ до 72-ия час: AUC в ОИП група 0,79 и AUC в КГ група 0,78. Не се установи междугрупова разлика относно продължителността на механичната вентилация в следоперативния период, престоя в интензивното отделение и 30 дневната следоперативна смъртност. При това едноцентрово, проспективно проучване при високорискови кардиохирургични пациенти, приложението на ОИП не променя изявата и степента на ОБУ до 72-ия сл.оп.час, оценена по RIFLE скалата, а промените в молекулните маркери не са еднопосочни. Абсолютната стойност на NGAL може да се използва като предиктор за необходимост от БЗТ до 72-ия сл.оп. час. Ефекта на ОИП за намаляване необходимостта от БЗТ при тези пациенти изисква по-нататъшни изследвания.

#### **Научни публикации и прояви:**

- Царянки Г, Димитрова-Карамфилова А, Христова-Димитрова Ж, и др. Влияние на отдалеченото исхемично прекондициониране върху бъбречната функция при пациенти след сърдечни операции. Анестезиология и интензивно лечение 2016;4
- Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

#### **Договор 6-С/2015 Нови, термодинамични методи за регистрация и анализ на промените в състоянието на плазмения протеом и на цереброспиналната течност при ракови и автоимунни заболявания**

**Водещ изследовател:** професор Борис Гоцев Тенчов, дф, дбн

**Членове на изследователския екип:**

- гл.ас. Борислава Мирчева, дф
- ас. Лили Атанасова
- Д-р Емануил Найденов
- Доц. Доброслав Кюркчиев, дмн
- Доц. Регина Комса-Пенкова, дб, МУ-Плевен
- Лейла Назим, студент
- Чанка Андреева, студент
- Блага Витанова, студент

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинска физика и биофизика

**РЕЗУЛТАТИ:** Посредством нов, основан на ДСК, подход са охарактеризирани промените в денатурационните профили на кръвна плазма и на ликвор, предизвикани от мозъчни тумори (мултиформен глиобластом и високостепенен глиом), както и от автоимунното заболяване множествена склероза (МС). Анализът на ДСК данните доведе до следните съществени заключения: ДСК има несъмнен потенциал като диагностичен метод с големи възможности за установяване и диференциране между по-леки и по-тежки МС форми, както и за оценка на ефекта от прилаганите терапии. По-тежките форми на МС водят до съществени промени в денатурационните профили на плазма от МС пациенти в сравнение с профилите на плазма от здрави индивиди. Тези разлики свидетелстват за промени в протеомния състав на плазмата, състоящи се в чувствително намаление на относителния дял на албуминовата фракция и увеличение на относителния дял на глобулиновите фракции. Обратно на възприетата парадигма, плазмаферезата на кръв от МС пациенти не води до намаление на глобулиновата фракция, а има точно обратния ефект. Тя води до относително увеличение на глобулините за сметка на намалената албуминова фракция. Този ефект се наблюдава не само при болни от МС, но и при здрави индивиди и очевидно представлява общовалидна характеристика на индуцираните от плазмаферезата промени в плазмения протеом. Той показва, че причините за благоприятния ефект на плазмаферезата не са свързани с намаление на глобулиновата фракция, а трябва да се търсят другаде. Окислението на албумина води до намаление на неговия денатурационен преход без промяна на позицията му по температура. Този резултат показва, че намалението на албуминовия пик, наблюдавано при тежки форми на МС, може да се дължи на оксидативен стрес. Денатурационните профили на ликвори от пациенти с мозъчни тумори се разпределят в няколко групи със съществено различни по форма термограми. Засега не са установени корелации на тези групи със специфични туморни характеристики, описани в епикризите.

**Научни публикации и прояви:**

- Sezanova B, Antonova B, Naydenov E, et al. "Changes in the state of the plasma proteome and cerebrospinal fluid in glioblastoma multiforme" p.99, 12-th National Medical Physics and Biomedical Engineering Conference with international participation, 3-5 Nov 2016, Sofia, Bulgaria

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 7-С/2015 Анализ на панел от гени, асоциирани с предразположение за развитието на фамилен рак на гърдата и яйчниците, чрез секвениране от ново поколение**

**Водещ изследовател:** Акад. проф. д-р Ваньо Иванов Митев, дм, дбн

**Членове на изследователския екип:**



- Доц. Радка Кънева, дб
- Гл. ас. Атанаска Миткова, дб
- Даниела Дачева, докторант
- Румяна Додова, дб
- Иван Попов, дб
- Рени Цвеова, дб
- Кунка Каменарова, дб
- Гергана Станчева, дб
- Силва Гирагосян, докторант

**Базова организация:** МУ-София, МФ, Катедра по медицинака химия и биохимия

**РЕЗУЛТАТИ:** Изчислено е, че между 5 и 10% от рака на гърдата и между 15 и 20% от рака на яйчника са наследствени. При голяма част от наследствения рак на гърдата и яйчника се установяват мутации в *BRCA1/2* гените. Напредъкът при секвенирането от ново поколение, посредством масивно паралелно секвениране, направи възможно ефективно да се изследват пациенти с панел от гени, свързани с HBOC. В настоящото изследване бяха включени 48 високо-рискови български пациента с HBOC, подбрани по критериите на BCLC и NCCN за генетичен скрининг. Десет от пациентите бяха носители на *BRCA1/2* мутации, подбрани с цел валидиране на технологията. Мутационният скрининг беше извършен с NGS панел от 94 гена (TruSight Cancer Panel, Illumina) на платформа MiSeq (Illumina). Всички открити патогенни варианти бяха потвърдени с директно секвениране. При проведения анализ бяха открити 15 патогенни варианта (14 FS и 1 M) при 18 от 48 пациентки. Всички известни патогенни варианти, изследвани с цел валидиране на технологията, бяха потвърдени с голяма точност и високо покритие. Други патогенни варианти бяха открити в 21.05% (8/38): 5 патогенни FS мутации и три „missense” варианта в AIP, WT1 и BUB1B, респективно. При проведения *in silico* анализ бяха установени 11 вероятно патогенни варианти (3 в *BRCA1/2* и 8 в други тумор-асоциирани гени). Четири от пациентите бяха носители с два патогенни варианта в два различни гена. Анализът на генния панел TruSight Cancer на секвенатор от ново поколение MiSeq (Illumina) може да бъде използван като надежден метод, с висока специфичност и чувствителност, за определяне на генетичната предразположеност при български пациенти с фамилен рак на гърдата и яйчниците.

**Научни публикации и прояви:**

- Mitkova A, R Dodova, D Pencheva, et al. “Mutation screening of Bulgarian hereditary breast and ovarian cancer patients with multi-gene cancer panel” 24<sup>th</sup> Biennial Congress of the European Association for Cancer Research, Vol 61 Spplement 1, Jul 2016
- Dodova R. Study of genes associated with a predisposition for the development of familial breast and ovarian cancer by next generation sequencing Symposium "Acad. Chudomir Nachev," 2016, Sofia Bulgaria

Научният отчет е приет с **ДОБРА** оценка по скалата на СМН.

**Договор 8-С/2015 Дизайн, синтез и антихолинестеразна активност на нови производни на галантамина – трети етап**

**Водещ изследовател:** Проф. Ирени Атанас Дойчинова, дх, дхн

**Членове на изследователския екип:**

- Гл. ас. Георги Ставраков

- Гл. ас. Димитрина Желева-Димитрова
- Никола Йорданов, докторант

**Базова организация:** МУ-София, Фармацевтичен факултет

**РЕЗУЛТАТИ:** Направен е дизайн на 36 нови производни на галантамина (GAL), разделени в две серии. В съединенията от серия А е включен обемен алифатен фрагмент (камфан) към алкиламидни вериги с различна дължина при азотния атом, а в серия В – малък ароматен фрагмент (фенил) към същите вериги. Съединенията са докнати в ензима ацетилхолинестераза (AChE) и енергията на получените комплекси е оценена при условията, оптимизирани в първите два етапа на проекта. Въз основа на получените резултати от докинга са избрани за синтез 17 съединения: 6 съединения от серия А и 11 съединения от серия В. Избраните съединения са синтезирани, охарактеризирани и тествани за антихолинестеразна активност. Като контрола е използван GAL. Всичките 17 новосинтезирани производни имат активност между 11 и 1338 пъти, по-висока от този на GAL. Съединенията от серия А имат по-ниска активност в сравнение с активността на съединенията от серия В. И при двете серии терминалните фрагменти се позиционират в периферния анионен домейн (PAS) и възпрепятстват свързването на Аβ пептид. Двете най-активни съединения 5d и 7d и са насочени към предклинични изпитвания. Предвиждат се изследвания за остра токсичност, *in vivo* активност върху AChE, влияние върху поведението и паметта на опитни животни.

**Научни публикации и прояви:**

- Stavrakov G, Philipova I, Zheleva D, et al. Docking-based design of galantamine derivatives with dual-site binding to acetylcholinesterase. *Mol Inf* 2016;35:278-85.
- Stavrakov G, Philipova I, Zheleva-Dimitrova D, et al. Docking-based design and synthesis of galantamine-camphane hybrids as inhibitors of acetylcholinesterase. *Chem Biol Drug Des.* 2017;1-10.
- Doytchinova I, Stavrakov G, Philipova I, et al. Galantamine derivatives as dual-site binding acetylcholinesterase inhibitors. Sixth Congress of Pharmacy, Sandanski, Oct 13-16, 2016.

Научният отчет е приет с **ОТЛИЧНА** оценка по скалата на СМН.

### **Договор 9-С /2015 Проучване ролята на някои етиологични фактори за възникването на идиопатична уртикария и ангионевротичен едем**

**Водещ изследовател:** Доц. д-р Мария Стоянова Денчева, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Проф. Ангелина Киселова-Янева, дмн
- Проф. Васил Димитров, дмн
- Д-р Мая Ляпина, дм
- Д-р Димитър Йовчев, дм
- Стелла Христова, студент
- Д-р Елена Петкова
- Д-р Денислава Недева
- Д-р Анна Димитрова
- Д-р Николай Русеков

**Базова организация:** МУ-София, ФДМ, Катедра по Образна и орална диагностика

**РЕЗУЛТАТИ:** Съвременното денталното лечение е свързано с използването на различни по химичен състав дентални материали. Тяхното влияние е разнопосочно и

нерядко се свързва с негативни последствия като поява на лигавични лезии, синдром на парещата уста и дори уртикария и ангиоедем. **Цел:** Да се проучи алергизацията потенциал на някои дентални материали, техни съставки и латекс алергена както и ролята им в проявата на идиопатичен ангиоедем и уртикария. Проучване се базира върху три групи пациенти- с уртикария (n=39), с ангиоедем (n=11) и здрави контроли (n=60). Използвани са методите на комплексната огнищна диагностика, алергологични тестове и някои параклинични изследвания. Пациентите с идиопатична уртикария и ангиоедем са високо сенсibiliзирани към денталните материали, имат влошено орално здраве, потвърдено от стойностите на DMFT индекса и са носители на активни полета на смущение в лицево-челюстната област в много по-голяма степен в сравнение с контролите. В двете работни групи се установяват занижени нива на витамин Д, завишени стойности на ТАТ и МАТ, а в една пета от пациентите с уртикария се откриват антигени на *H. Pylori*. Не открихме доказателства за влиянието на латекса и хранителните алергени като причина за изява на идиопатична уртикария и ангиоедем. Електролитният профил на пациентите с идиопатична форма на уртикария и ангиоедем е непроменен и в рамките на нормата, както и С1, С3 и С4 естеразен инхибитор. Микробиологичната находка в двете изследвани групи не показва превес на конкретен бактериален причинител. Установихме, че шансът за развитие на идиопатична уртикария и/или ангионевротичен оток е почти пет пъти по-голям при пациенти с огнищна инфекция в лицево-челюстната област и пациенти със сенсibiliзация към дентални материали, и еднократно завишен при стойност на DMFT над 18.

#### Научни публикации и прояви:

- Dencheva M, M Lyapina, A Kisselova, et al. [Study the role of some etiological factors for the occurrence of idiopathic urticaria and angioedema] Sbornik nauchni trudove. Jubilee scientific session “45 years Faculty of dental medicine Plovdiv” 2015,16-31
- Dencheva M, E Petkova, M Lyapina. [Dental treatment- a reason for chronic urticaria and angioedema.] Евразийский Союз Ученых, 2016;4(25):104-7.
- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. Disturbance fields in maxilla-facial area as a reason for idiopathic urticaria and angioedema. IJDR, 2017;07(01):11336-42.
- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. The role of sensitization to dental materials for the manifestation of idiopathic urticaria and angioedema. Medinform, 2017;1:575-90.
- Dencheva M. Dental materials a possible reason for idiopathic urticaria and angioedema. European congress of laser dentistry. 30 Mar – 01 Apr 2017, Plovdiv, Bulgaria
- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. DMFT index and some biochemical indicators in patients with idiopathic urticaria and angioedema. 22<sup>nd</sup> BaSS Congress, 4-6 May, 2017, Thessaloniki, Greece

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

## КОНКУРС „Изграждане на инфраструктура за научни изследвания в МУ-София -2015“

**Договор 1-И/2015 Изграждане на информационна среда за електронно събиране на данни при провеждане на епидемиологични проучвания и организиране на регистри за обществено значими заболявания чрез присъединяване на МУ-София към консорциума REDCap**

**Водещ изследовател:** Проф. Георги Христов Христов, дм

**Членове на изследователския екип:**

- Доц. Антония Янакиева, дм
- Проф. Невена Цачева-Христова, дмн
- Доц. Милена Янчева-Стойчева, дм
- Гл. ас. Тодор Кундурджиев, дм
- Ас. Александрина Воденичарова
- Ас. Светлин Георгиев
- Ас. Стефан Великов
- Д-р Радослав Младенов, V МБАЛ София
- Д-р Петар Чавдаровски

**Базова организация:** МУ-София, ФОЗ, Катедра по оценка на здравните технологии.

**РЕЗУЛТАТИ:** В изградената мрежа на медицински университет е интегрирана WEB базирана платформа за електронно събиране на данни REDCap, която е достъпна от адрес: [www.redcap.mu-sofia.bg](http://www.redcap.mu-sofia.bg). Направена е базова настройка на системата, като са установени определени параметри. За правилното функциониране и организиране на дейностите е определен екип за административна поддръжка включващ техническо лице от страна на Медицински университет и техническо лице от страна на катедра; ‘Оценка на здравните технологии’. Определен е регламент и процедура, по която да става присъединяването на нови участници към разработената система, като са подготвени съответните документи в съответствие с лицензното споразумение с автора на продукта. В системата са прехвърлени налични регистри от катедра „Трудова медицина“. Със съдействието на членове на екипа е съставен и въведен регистър за „Доброкачествена простатна хиперплазия“. Организиран са срещи в лечебни заведения в страната, за информиране на медицинските специалисти и директорите на болниците за разработването на информационната среда за електронно събиране на данни при провеждане на епидемиологични проучвания и възможностите за организиране на регистри за обществено значими заболявания и включване на конкретни специалисти в събирането и обработването на данни. Постигнатите резултати са устойчиви от гледна точка на факта, че софтуерът е постоянен актив, който може да бъде използван многократно и неограничено. Наличните сървъри в МУ-София имат достатъчно място за изграждането на стотици регистри и по този начин може да бъде осигурена възможността за дългосрочно използване на имплементирания софтуер. Въвеждането на системата REDCap позволява на МУ-София да предостави информационна среда за създаване на регистри в различни медицински специалности и направления. Успоредно с това улеснява тяхното управление и достъпа на потребителите до базата данни. Разработването на информационната среда за електронно събиране на данни при провеждане на епидемиологични проучвания и организиране на регистри за обществено значими заболявания ще даде възможност на

катедра „Оценка на здравните технологии“ при Факултет по обществено здраве да задълбочи научната и практическа работа на нейните членове.

**Научни публикации и прояви:**

- Velikov S, Yanakieva A, Georgiev S, et al. EDC method for collecting medical practice data. Medical magazine. 2016;27:36-41.
- Velikov S, Yanakieva A, Georgiev S, et al. Implementing of REDCap platform for capturing everyday medical data. Medical magazine. 2016;28:38-41.
- Velikov S, Vodenicharova A, Popov N. 2016, New trends of training in information technology in medical college of Sofia. J Edu Instruct Stud World. 2016;6, S11(8):48-53.
- Velikov S, Vodenicharova A, Popov N. New trends of training in information technology in medical college of Sofia, 7th International Congress on New Trends in Education, Antalya, Turkey, 13-15 May 2016

Научният отчет е приет с **ВИСОКА** оценка по скалата на СМН.

**SCIENTIFIC PROJECTS 2014 – 2015**

**WITH FINANCIAL SUPPORT OF**

**MEDICAL UNIVERSITY – SOFIA**

**GRANT 2014****MEDICO-BIOLOGICAL AREA****Contract 2/2014 Simultaneously determination of nonsteroidal antiinflammatory and antiacidic drugs by means of high pressure liquid chromatography**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Boyka Georgieva Tsvetkova, PhD

**Research team:**

- Prof. Danka Obreshkova, PhD
- Assoc. Prof. Lily Peikova, PhD
- Ivelina Asenova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Chemistry

**RESULTS:** In this study analytical tests for identification, purity and assay for fixed drug mixtures from Diclofenac Sodium and Famotidine and Ibuprofen and Famotidine were developed based on obtained results from analysis. The methods were optimized using validation procedures according the requirements of European Pharmacopoeia and ICH criteria. Tests includes High Pressure Liquid Chromatography with specific columns - RP, ODS analytical columns 250 x 4.6 mm as well as 125 x 4.6 mm. The methods were distinguished from others with excellent reproducibility, accuracy, high sensitivity and selectivity. HPLC methods elaborated were very useful and applicable for routine analytical practice as well as for quality control of new registered generic products. LC determination provides possibilities to compliance to the contemporary requirements to the control and the knowledge which enforces solutions like preparing of drug profiles for widely applied fixed-dosage combinations contained anti-inflammatory and antiacidic drugs.

**Scientific publications and presentations:**

- Peikova L, Georgieva M, Tsvetkova B. RP-HPLC method for simultaneous determination of ibuprofen and famotidine in pharmaceutical dosage form. *Pharmacia*, 2014;61(2):3-6.
- Tsvetkova B, Peikova L, Kostova B, et al. HPLC assay of model formulations containing diclofenac sodium and famotidine. *J Chem Pharm Res.* 2015;7(4):589-94.

**Contract 3/2014 Effect of methyl jasmonate on production of citotoxic lignans in *In vitro* cultures of *Linum linearifolium***

**Leading scientist:** Prof. Iliana Ilieva Ionkova, Dr. Sci, Ph. D

**Research team:**

- Jancho Zarev, PhD student
- Christo Vasilev, PhD student
- Pavlionka Popova
- Deivid Ikononov, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** Methyl jasmonate (MeJA) treatment increases the levels of plant secondary metabolites, including ariltetraline lignans, which are considered to be the main active compounds in *Linum linearifolium*. This study was concentrated on the production of ariltetralin lignans in suspensions cultures of *Linum linearifolium*, by exposing them to different concentrations (50-15 $\mu$ M) of methyl jasmonate (MJ) during the culture period. The lignans podophyllotoxin (PTOX) and 6-methoxypodophyllotoxin (MPTOX) are the main constituents in *Linum linearifolium*. Lignan content increased by elicitation of MJ, however, the fresh weight, dry weight and growth ratio was strongly inhibited by increasing MJ concentrations. The highest total lignans yield was obtained with 150  $\mu$ M MJ treatment, but maximal growth was achieved with 100 $\mu$ M MJ. These results suggest that 100 $\mu$ M MJ elicitation is beneficial for lignan accumulation in the suspension cultures of *Linum linearifolium*.

**Scientific publications and presentations:**

- Ionkova I, P Popova, J Zarev, H Vasilev. Effect of methyl jasmonate on production of ariltetralin lignans in suspenson cultures of *Linum linearifolium*, Natural Product Communications, 2015.

**Contract 5/2014 Prevalence of sexually transmitted bacterial infections *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* and *Gardnerella vaginalis* in spontaneous abortion**

**Leading scientist:** Prof. Aleksey Yordanov Alekseev, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD
- Teodora Stoycheva, PhD

**Organization unit:** MU–Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Gonorrhoeae, ureaplasma and gardnerella are common sexually transmitted bacterial infections with high risk of spontaneous abortion. The purpose of this research is to follow the prevalence of these infections in Bulgarian population. For this purpose we examined endometrial tissue received from 100 patients divided into two groups – control group of 40 patients with desired interrupted pregnancy and target group of 60 patients having spontaneous abortion by undetected reasons. We have found *Ureaplasma parvum* in one of the miscarriages (1.7%) and *Gardnerella vaginalis* in five of the miscarriages (8.0%) and in eleven of control group patients (27.5%). *Neisseria gonorrhoeae* and *Ureaplasma urealyticum* infections were not detected. The results of this study show high frequency (10%) of some of the sexually transmitted bacterial infections in spontaneous abortion, but does not evidence the role of these infections in spontaneous abortion. Thus, a detailed analysis is needed by comparing the results obtained in this study with another control group of patients with successfully completed pregnancy, because of the high probability of genital infections in our control group of patients with desired interrupted pregnancy. Establishing relation between miscarriage and sexually transmitted disease rate is essential for spontaneous abortion prevention applying adequate treatment.



**Contract 6/2014 BRAF and NRAS mutations frequency and HPV infection in patients with colorectal cancer****Leading scientist:** Assoc. Prof. Albena Parvanova Todorova-Georgieva, PhD**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, DM, DSc
- Tihomir Todorov, PhD
- Andrey Kirov, PhD
- Tanya Kadiyska PhD
- Savina Tincheva, PhD student
- Miglena Koprinarova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** The colorectal cancer (CRC) is one of the most common life-threatening oncological diseases. Mutations in *MEK-ERK* signaling pathway are associated with poor disease outcome. The most frequently mutated gene is *KRAS*, although other genes from the same pathway may be also affected. Our study is focused on *NRAS* and *BRAF* genes. In addition, HPV infection is associated with a high risk for cancer development. During the present study a working protocol for analysis of the “hot spot” mutations in the *BRAF/NRAS* genes was successfully developed and validated on 30 CRC patients. The frequency of the “hot spot” mutations c.1799T>A p.(Val600Glu) in the *BRAF* genes – 3,33% and c.181C>A p.(Gln61Lys) in the *NRAS* gene – 6,67% was detected. The mutation frequency of both genes (10%) is the same as the already published. In our study we successfully tested all the samples for the presence of 12 high-risk HPV types. Ten percent of the samples were positive for HPV. We did not detect HPV infection simultaneously in *NRAS* and *BRAF* mutated samples as well as *NRAS/BRAF* mutations in HPV positive samples. This supports the hypothesis that both of these independent events could be associated with a high risk for CRC development and progress.

**Contract 7/2014 Determination of the antioxidant properties of new designed salicylaldehyde benzoyl derived hydrazones. Investigation of the structure-activity relationship****Leading scientist:** Assoc. prof. Vera Angelova Hadjimitova, PhD**Research team:**

- Prof. Trayko Traykov, PhD
- Assist. Prof. Boriana Nikolova-Mladenova, PhD
- Nadia Hristova-Avakumova, PhD student
- Viktorya Georgieva, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of medical physics and biophysics

**RESULTS:** We performed a comparative evaluation of the antioxidant properties of new designed 3-methoxy and 5-bromine derivatives of the active chelator salicylaldehyde benzoylhydrazone using biological relevant model systems with different mechanism of ROS generation. We established that the incorporation of methoxy group in the molecular structure of the basic compound SBH increases derivatives' radical scavenging properties against  $O_2^{\bullet-}$  and their effectiveness in the  $H_2O_2$ -HRP model system. On the contrary in the case of bromine bearing derivatives we didn't observe significant alterations of the investigated properties in the mentioned model systems. In the case of Fe-induced lipid peroxidation all the studied compounds exhibited excellent antioxidant effect and we didn't observe

significant variation of the obtained data due to performed structural modifications. Lack of significant effect of the performed structural changes was also observed in the results for the velocity constant of interaction with the HO• in the deoxyribose model system. SBH and the bromine derivatives didn't demonstrate any antioxidant effect against the stable DPPH radical. The incorporation of methoxy group has led to small but statistically significant increase (6-11%) of the studied in the systems properties. In the xanthine-xanthine oxidase system for O<sub>2</sub><sup>-•</sup> generation the studied compounds yield an increase chemiluminescent response. The performed structural alterations have led to differences in the concentration dependence of the chemiluminescent response. Taken together the analysis of the chemiluminescent light curves and absence of correlation between the O<sub>2</sub><sup>-•</sup> scavenging properties and the revealed effect in the enzyme model system suggest that the studied compounds influence the activity of this biologically important enzyme. The comparative evaluation of the obtained results indicates that the 3-methoxy derivatives appear to be more promising candidates in the development of biologically active hydrazone compounds influencing oxidative stress processes.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristova-Avakumova N, Nikolova-Mladenova B, Hadjimitova V. Evaluation of the in vitro antioxidant effect of novel 3-methoxysalicylaldehyde derived hydrazones. Bulgarian chemical communications 2015;47(4):1053-8.

**Contract 8/2014 Purinergic transmission in the retina: a contribution of the ionotropic receptor P2X7 to the electroretinographic (ERG) response characteristics**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Petia Nikolova Kuppenova-Sherbanova, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Liliya Vitanova, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Elka Popova
- Aneliya Kuzeva, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept Physiology

**RESULTS:** To clarify the contribution of the receptor P2X7 to retinal responses, we studied the effects of a selective P2X7 blockade with A438079 on the dark-adapted frog ERG ON- (b-wave) and OFF-response (d-wave) in a wide range of white and chromatic ( $\lambda > 670$  nm) stimuli allowing for assessment of rod- and cone-mediated responses. The effects of A438079 showed ON/OFF asymmetry. The d-wave amplitude was decreased by 40-50%. Its absolute and relative sensitivity was reduced. The effect developed slowly and was not fully reversible. The effect on the b-wave was less pronounced (20-25% amplitude change). It developed faster and was reversible. The amplitude of the pure rod- or cone-mediated responses was diminished while that of the mixed responses in the mesopic intensity range was increased, resulting in an increase of the relative sensitivity. For both rod- and cone-mediated ON- and OFF-responses the effect of A438079 was more pronounced in the low-intensity range. An application of 1mM of the purinergic agonist BzATP produced a considerable diminution of the ERG responses to mesopic stimuli. A conclusion might be drawn that P2X7 receptor mediates facilitating influences on the pure rod- or cone-driven responses to low-intensity stimuli. It may also be involved in rod-cone interaction mechanisms.

**Scientific publications and presentations:**

- Kuppenova P, Popova E, Vitanova L. Effects of selective blockade of the purinergic receptor P2X7 on the electroretinographic (ERG) responses. Anniversary Scientific

Conference “Science for Health” Plovdiv, 20 – 22 May 2015. Folia medica. 2015; 57(Suppl 1): 74.

- Kупенова P, Popova E, Vitanova L. Participation of the purinergic P2X7 receptor in modulation of the intensity-response function of the electroretinographic (ERG) responses in the dark adapted frog retina. XI National Congress of the Bulgarian Society of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 Oct. 2015. Abstract: Folia medica. 2015; 57(Suppl 3)

**Contract 9/2014 Study of patients with suspected or diagnosed MEN and evaluation of the relationship between the observed phenotype and variations in the MEN1 and MEN2 genes**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Dimitar Dobrinov Tcharaktchiev, MD

**Research team:**

- Atanaska Elenkova, MD
- Prof. Sabina Zacharieva, MD, PhD, DSc
- Daniela Dacheva, PhD student
- Ivan Popov, PhD
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD, MMC
- Acad. Prof. Vanio Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, MD, University Hospital of Endocrinology and Gerontology “Acad. Ivan Pentchev”

**RESULTS:** The full coding sequence of the *MEN1* gene was determined by Sanger sequencing in ten patients suspected for or diagnosed with Multiple Endocrine Neoplasia (MEN) type 1. 24 genetic variants were found, of which three were previously described pathogenic mutations. Those variants include two frameshifts: a deletion (c.247\_250delCTGT, p.Ser84Serfs\*32) and an insertion (c.1493dupG, p.Pro497Profs\*37); and one SNV in the splice region of exon 3 (c.669+3T>C, p.Val183\_Arg218del), that causes alternative splicing and an in frame deletion in the protein sequence. Structural models were built with homology modelling using the modified protein sequences for all sequence-changing variants (all pathogenic and one benign missense variant - c.1636A>G, p.Ala541Thr). The resulting models had low quality and did not cover the full sequence of the menin protein, and were thus not used in further analyses. A statistical analysis of the genetic and clinical data from the study was done in combination with published data from other studies. The results from the analysis confirm the previous conclusions that the phenotype of MEN type 1 patients does not depend on the position of genetic changes in the *MEN1* gene. A hypothesis about the mechanism underlying the clinical presentations of the syndrome is formulated based on the results.

**Contract 10/2014 Testing the sensitivity of *Helicobacter pylori* and *Clostridium difficile* to linezolid and certain classic antibiotics for therapy and study the expression of genes in vivo virulence of *H. pylori***

**Leading scientist:** Prof. Lyudmila Boyanova Georgieva, MD, PhD, DMSci

**Research team:**

- Assit. Prof. Galina Gergova, MD

- Assit. Prof. Daniel Yordanov, MD
- Assoc. Prof. Romyana Markovska-Davidkova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** Antibiotic resistance rates of 53 *H. pylori* strains were: amoxicillin 1.9%, metronidazole 37.7%, clarithromycin 17.0%, tetracycline 1.9%, levofloxacin 24.5% and linezolid (>4 mg/L) 39.6%. Linezolid was less active compared with clarithromycin and levofloxacin and linezolid resistance was linked to that to metronidazole and to  $\geq 1$  antibiotics. However, linezolid activity against some strains with double/multidrug resistance may render the agent appropriate to treat some associated *H. pylori* infections following susceptibility testing of the strains and if clinical trials confirm this suggestion. Antibiotic susceptibility of 63 clostridial strains, including 25 *Clostridium difficile* strains was evaluated. There was no metronidazole and vancomycin resistance by CLSI breakpoints. However, by EUCAST breakpoints, resistance rates were metronidazole 4.8%, vancomycin 6.3% and linezolid 11.1% of the strains, including non-toxigenic and toxigenic *C. difficile*. Many differences were found between resistance rates by EUCAST and CLSI breakpoints. Linezolid activity against the clostridia was good, implying its benefit in mixed infections, involving clostridia or for prophylaxis of *C. difficile* infections. We performed and optimized the method of the expression of *homB* and *homA* genes in 30 *H. pylori* isolates. All isolates showed the presence of expression of the *homB* and *homA* genes, i.e. production of the corresponding protein.

**Scientific publications and presentations:**

- Boyanova L, Evstatiev I, Gergova G, et al. Linezolid susceptibility in *Helicobacter pylori*, including strains with multidrug resistance. Int J Antimicrob Agents. 2015 Dec;46(6):703-6.
- Boyanova L, Davidkov L, Gergova G, et al. Susceptibility to linezolid in *Helicobacter pylori* strains, including those with multidrug resistance. (Report). 13th National Congress of Bulgarian association of microbiologists, National Palace of Culture in Sofia. 16-18 April 2015: 17.

**Contract 11/2014 Comparative molecular biological investigations of the bacteriocin production among clinically significant and non-pathogenic *Enterococcus* spp. strains isolated respectively from human clinical samples and dairy food products**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Tanya Vasileva Strateva, MD, PhD – Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology.

**Research team:**

- Corr. Member Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Svetoslav Dimov, Sofia University “St. Kliment Ohridski”
- Daniela Atanasova, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology

**RESULTS:** The aim of this study was to evaluate the incidence and expression of bacteriocin genetic determinants among 478 *Enterococcus* spp. isolates from clinical samples (n=450) and traditional Bulgarian artisanal cheeses (n=26). Structural genes coding for enterocin A (*entA*), enterocin P (*entP*), enterocin B (*entB*), enterocin AS-48 (*as-48*) and enterolysin A (*entlA*) were detected by polymerase chain reaction (PCR), while reverse transcription PCR was performed to establish the gene expression. In order to assess different thresholds of similarity coefficients for reliable clustering, we subjected to RAPD-PCR UPGMA analyses two collections of clinical and dairy isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus*

*faecium* originating from various geographical regions in Bulgaria. For creating subsets of different strains on a relatively independent basis, the presence of some bacteriocin genes was used for the selection. A well-diffusion assay procedure was used for detection of bacteriocin activity of selected strains. One hundred and eighty-one isolates (38.0%) were potentially bacteriocinogenic (PCR-positive). The genes typical of *Enterococcus faecium* (*entA*, *entB* and *entP*) were found in 82.8%, 7.1% and 12.8% of the *E. faecium* isolates, respectively. Focusing on *Enterococcus faecalis* isolates, the frequency of *entIa* and *as-48* was 18.1% and 0.6%, respectively. The prevalence of *entB* among dairy *E. faecium* isolates was significantly higher than that in clinical ones (26.7% / 4.8%,  $p < 0.02$ ). Bacteriocin genes were found to be expressed at transcriptional level in 85.1% of the bacteriocinogenic *Enterococcus* spp. isolates: a single gene in 131 (72.3%), two genes in 21 (11.6%) and three genes in 2 isolates (1.1%). Clustering should be performed with similarity coefficients above 95% in order to separate the clinical and food enterococcal strains, and according to their different geographical origins also. Our results indicate that the largely accepted similarity coefficient of 70% for clonal relatedness should be reconsidered and the threshold should be raised up. Some *E. faecium* isolates demonstrated antagonistic activity (weak to strong) against the following indicator strains – *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 19434, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 and *Lactococcus garvieae* ATCC 43921. In conclusion, this is the first Bulgarian molecular genetic investigation of potentially bacteriocinogenic clinically significant and nonpathogenic dairy *Enterococcus* spp. isolates, elucidating the spread of the bacteriocin genetic determinants in the two enterococcal populations and their phylogenetic relatedness.

#### Scientific publications and presentations:

- Strateva T, Dimov S, Atanasova D, et al. Molecular genetic study of potentially bacteriocinogenic clinical and dairy *Enterococcus* spp. isolates from Bulgaria. Ann Microbiol. 2016; 66(1):381-7.
- Strateva T, Dimov SG, Atanasova D, et al. Incidence and expression of bacteriocin-encoding genes in *Enterococcus* spp. isolates from clinical specimens and traditional Bulgarian artisanal cheeses. Compt Rend Acad Bulg Sci. 2015; 68 (7): 925-34.
- Dimov SG, Strateva T, Petkova V, et al. Phylogenetic relatedness clustering thresholds of potentially bacteriocinogenic clinical and dairy *Enterococcus* spp. strains with respect to their geographical origins in Bulgaria. J Microbiol Biotech Food Sci. 2015/16; 5 (3): 286-289.
- Strateva T, Atanasova D, Savov E, et al. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates collected in Bulgaria. Braz J Infect Dis. 2016; 20(2):127-33.
- Strateva T, Atanasova D, Savov E, et al. Prevalence of virulence genes among clinical isolates of *Enterococcus* spp. from Bulgaria. 25<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015; P22: Paper Poster Session “Gram-positive bacterial pathogenesis and virulence”, Poster No P0402, Sunday, 26 April 2015

#### **Contract 12/2014 Chemometric approach in analysis of plant subsatnce *Arnicae flos***

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Reneta Slavova Gevrenova, PhD

#### **Research team:**

- Assist. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assist. Prof. Vessela Balabanova, PhD

- Prof. Iринi Doichinova, PhD
- Nikolay Denkov, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry and Dept. of Pharmacognosy and Botany; 2 Dunav str., 1000 Sofia

**RESULTS:** The study objective was to apply a new chemometric-based approach in analyzing the quality of the plant substance *Arnicae flos* (*Arnica montana*) from 9 different origins. Arnica extracts were prepared by ultrasound extraction with 80% methanol and dichloromethane for analysis of phenolic compounds and sesquiterpene lactones, respectively. A validated high-performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for simultaneous determination of phenolic acids, flavonoid glycosides and aglycones using linear gradient elution and UV detection at 280, 310, 360 nm. Sesquiterpene lactones were determined by modified pharmacopeia method. The highest total amount of phenolic acids was found in the sample from Botanical Garden at Joensuu University, Finland (2.36 mg/g dw). Chlorogenic acid was the dominant phenolic acid. The highest content of flavonols was found in the Finnish and German samples. The Drugstore *Arnica* displayed different HPLC profile with the highest content of quercetin ( $1.18 \pm 0.21$ ) and presence of luteolin ( $0.30 \pm 0.001$ ). Data were analyzed by hierarchical clustering and principal component analysis (PCA). Three well-defined clusters were distinguished. The first cluster consists of the accessions, cultivated in Germany and Finland, the second included the Bulgarians and Polish samples. The third cluster consists of only one sample-from a pharmacy drug store.

**Scientific publications and presentations:**

- Zheleva-Dimitrova D, Balabanova V, Gevrenova R et al. Chemometric approach in analysis of *Arnicae flos*. Pharm Mag. 2015;11(44,Suppl 4):s538-s544.
- Balabanova V, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R. L'Arnica, de la culture au laboratoire phytochimique. 2<sup>nd</sup> Joint Scientific Session. 21-22 Sep, 2015. Paris, France

**Contract 13/2014 Investigation of the effects of HPLC-characterized *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract, administered alone and in hepatotoxicity models *in vitro/in vivo* in rat**

**Leading scientist:** Prof. Nikolay Danchev, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Assit. Prof. Romyana Simeonova, PhD
- Assit. Prof. Irina Lazarova
- Assit. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assoc. Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** The high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of *Asphodeline lutea* dry root extract (ALE) revealed that caffeic acid and 2-acetyl-1,8-dimethoxy-3-methylnaphthalene are the dominant compounds, while chrysophanol is the principal anthraquinone. LD<sub>50</sub> (p.o.) is 1847 mg/kg in male mice. The effect of ALE administered alone and against tetrachloromethane (CCl<sub>4</sub>)-induced liver injury *in vitro/in vivo* was investigated. At concentrations ranging from 10 to 200 µg/ml of ALE, significant cytotoxic effects on the parameters, characterized the functional and metabolic status of hepatocytes, were found. However, against CCl<sub>4</sub> liver damage, ALE exerted hepatoprotective effect at the highest concentration. *In vitro* results were confirmed by the *in vivo* study, where ALE

showed some toxicity, discerned by increased ALT, ALP activities and MDA quantity, decreased GSH levels without affecting the activity of the antioxidant enzymes. The antioxidant and hepatoprotective potential of ALE was also observed *in vivo* against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in Wistar rats. ALE pre-treatment normalizes all the examined parameters perturbed by CCl<sub>4</sub> administration. The effect was significantly lower than those of positive control silymarin. A bidirectional potential (antioxidant and pro-oxidant) of the extract that might be explained with naphthalene and anthraquinone transformation in cytochrom P450-dependent oxidation was discussed.

**Scientific publications and presentations:**

- Lazarova I, Simeonova R, Vitcheva V, et al. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract in experimental models *in vitro/in vivo*. Biomed Pharmacother. 2016 Oct;83:70-8.
- Lazarova I, Simeonova R, Vitcheva V, et al. Hepatotoxicity or hepatoprotection? Bidirectional potential of Bulgarian *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. root extract. 2<sup>nd</sup> International Conference on Natural Products Utilization From Plants to Pharmacy Shelf 14-17 Oct 2015 Plovdiv, Bulgaria.

**Contract 14/2014 Phytochemical and pharmacological study of *Astragalus monspessulanus* L. (Fabaceae)**

**Leading scientist:** Prof. Iliana Nikolaeva Krasteva, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Virginia Tzankova, PhD
- Assit. Prof. Petranka Zdraveva, PhD
- Assit. Prof. Romyana Simeonova, PhD
- Assit. Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Viktor Milenov Bratkov – PhD student
- Alexander Mihailov Shkondrov – PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy and Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** A new flavonol tetraglycoside quercetin-3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl]-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, two new flavonol alkaloids N-(8-methylquercetin-3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl])-3-hydroxy-piperin-2-one and N-(8-methylkaempferol-3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl])-3-hydroxy-piperin-2-one and seven known flavonoids alangiflavoside, alcesefoliside, mauritianin, quercetin-3- $\beta$ -robinobioside, cosmosine, apigenin-4'-O-glucoside, trifolin and rutin were isolated from aerial parts of *Astragalus monspessulanus*. Their structures were elucidated by 1D and 2D NMR experiments and HRESIMS. Four compounds relating to saponins were isolated too. The hepatoprotective and antioxidant activity of n-butanolic extract (AM) was tested *in vitro* and on *in vivo* model of tetrachloromethane-induced bioactivation. It was found that when combining with CCl<sub>4</sub> the AM showed concentration and dose-dependent, statistically significant hepatoprotective and antioxidant effect, comparable to silymarin. A histological survey of the livers confirmed the hepatoprotective effect. A purified saponin fraction (PSM) was examined *in vitro* for cytotoxic, cytoprotective and antioxidant activity. When administered alone PSM displayed a statistically significant cytotoxic effect on HepG2 cell line. It was found that pre-treatment with PSM partially distinguishes the tert-butylhydroperoxide-induced liver damage in dose-

dependent manner on a model of oxidative stress on isolated rat hepatocytes. The observed effect was more pronounced in the highest concentration level. Preserved cell vitality, decreased activity of LDH, decreased MDA production and restoration of GSH levels were observed. The resulting hepatoprotective effect was comparable to silymarin.

**Scientific publications and presentations:**

- Kondeva-Burdina M, Bratkov V, Simeonova R, et al. Protective effects of saponin mixture isolated from *Astragalus monspessulanus* subsp. *monspessulanus* on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in isolated rat hepatocytes. AJPS. 2015;6(6):799-803.
- Simeonova R, Bratkov V, Kondeva-Burdina M, et al. Experimental liver protection of *n*-butanolic extract of *Astragalus monspessulanus* L. on carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) model of toxicity in rat. Redox Report. 2015;20(4):145-153.

**Contract 15/2014 Synthesis and pharmacological activity of new Ga (III) metal complexes with biologically active aroylhydrazones, derivatives of salicylaldehyde benzoylhydrazone**

**Leading scientist:** Prof. Darvin Slavchev Ivanov, PhD

**Research team:**

- Assit. Prof. Borianna Nikolova-Mladenova, PhD
- Prof. Georgi Momekov, PhD
- Elina Petrova, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry

**RESULTS:** 18 new compounds have been synthesized - 6 new bromo-derivatives of salicylaldehyde benzoylhydrazone and 12 new Ga (III) complexes with biologically active ligands 3-methoxy salicylaldehyde benzoylhydrazone (3mSBH), 3-methoxysalicylaldehyde-4-hydroxybenzoyl-hydrazone (3mShBH), 3-methoxysalicylaldehyde isonicotinoylhydrazone (3mSIH), 4-methoxy-salicylaldehyde benzoylhydrazone (4mSBH), 4-methoxysalicylaldehyde-4-hydroxybenzoyl-hydrazone (4mShBH), 4-methoxysalicylaldehyde isonicotinoylhydrazone (4mSIH), 5-bromo-salicylaldehyde benzoylhydrazone (5BrSBH), 5-bromosalicylaldehyde-4-hydroxybenzoylhydrazone (5BrShBH) and 5-bromosalicylaldehyde isonicotinoylhydrazone (5BrSIH). The compounds were characterized by elemental analysis, IR spectroscopy and <sup>1</sup>H-NMR. The structures and the chemical bonds of the obtained complexes were interpreted on the basis of a comparison of their spectral data with those of the free ligands. Some of the new compounds were studied with the Density functional theory (DFT) in order to optimize their geometry and calculate quantum-chemical properties. Structural parameters of the ligands and Ga (III) complexes were determined by the method B3LYP / 6-31 + G (d, p). The most likely structures of the complexes were presented. Based on the results obtained it was demonstrated that 3-methoxy-, 4-methoxy- and 5-bromoderivative hydrazones act as tridentate ligands in complexes with Ga (III) metal ions. The new hydrazones were tested by "Lipinski rule of 5" to evaluate their pharmacokinetic behavior and drug likeness. The free ligands and Ga (III) complexes were screened for cytotoxic activity on the range of human tumor cell lines using the MTT assay. Ga(III) complexes of 3-methoxy-hydrazones are the most active compounds with a strong cytotoxic activity on all cell lines tested. The determined IC<sub>50</sub> values are lower than these of the ligands alone and the reference cytostatic agents Cisplatin and Melphalan.

**Scientific publications and presentations:**



- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Design, drug-likeness and cytotoxicity of some bromo-salicylaldehyde aroylhydrazones. J Med Biol Sci. 2015;1:16-20.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis, geometry optimization and cytotoxic activity of new bromo-salicylaldehyde hydrazones, Book of Abstracts, ICOS20 - 20th Int Conference on Organic Synthesis, 29 June-4 July 2014, Budapest, Hungary
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis and cytotoxic activity of new gallium(III) complexes of 3-methoxy-salicylaldehyde benzoylhydrazones, ChemMedChem 2014, Book of Abstracts, EFMC-ISMC 2014, XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry, 7-11 September 2014, Lisbon, Portugal
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Synthesis, geometry optimization and cytotoxic activity of 4-methoxysalicylaldehyde-4-hydroxybenzoylhydrazone, Book of Abstracts, EFMC-YMCS 2014, 1st EFMC Young Medicinal Chemist Symposium, 12 September 2014, Lisbon, Portugal
- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Design, drug-likeness and cytotoxicity of some bromo-salicylaldehyde aroylhydrazones, Conference proceedings, ICBMB 2015, International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, 22-23 April 2015 Paris, France
- Nikolova-Mladenova B, Bakalova A, Momekov G, et al. Synthesis and characterization of new Gallium(III) complexes with 5-bromosalicylaldehyde benzoylhydrazones, Book of Abstracts, XXV International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry - Advancing Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry, May 31 – June 5, 2015, Smolenice, Slovakia

**Contract Nr. 17/2014. Effect of growth factors (BMP4 AND FGF8) ON synthesis of collagen and mineralization of mesenchymal stem cells from deciduous tooth pulp in vitro**

**Leading scientist:** Prof. Maya Rasheva Rashkova DDS, PhD, DSc

**Research team:**

- Assit. Prof. Nikolay Ishkitiev DDS, PhD, PhD
- Assit. Prof. Antonia Isaeva PhD
- Assit. Prof. Galina Zhegova DDS, PhD
- Assit. Prof. Nadya Mitova DDS

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Pediatric Dentistry, 1 Georgi

**RESULTS:** Deciduous tooth pulp stem cells were isolated from routinely extracted deciduous teeth. (Informed consent was taken from parents of the patients). The methods applied and improved by us lead to developing a routine laboratory procedures for isolation of primary cultures from dental tissues. The cells were characterized for expression of stem-cell markers (Nestin, Vimentin, CD146, CD44, CD49f) and markers associated with dental tissues (ALP, COL1A2, COL3A2 и DSPP). Incubation with 10 ng/mL BMP4 и 10 ng/mL FGF8 for 10 or 21 days led to differentiation of cell cultures – increased expression of ALP, COL1a2 and DSPP, secretion of collagen and formation of Ca<sup>2+</sup> aggregates. With our work we proved existence of stem cell reserve in the pulp, which can be stimulated for highly specialized function of dentinogenesis. Our research proved the hypothesis that BMP4 and FGF8 induce processes characteristic for primary or reparative dentinogenesis, i.e. activation of alkaline

phosphatase and mineralization, and production of collagen in stem cell cultures from deciduous tooth pulp.

**Scientific publications and presentations:**

- Ishkitiev N, Mitev V, Rashkova M et al. Phenotypic characterization of deciduous teeth pulp stem cell populations. Dental Medicine Problems. (under review)
- Ishkitiev N, Mitev V, Yaegaki K. Differentiation Potential of Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells; 20<sup>th</sup> Congress of Balkan Stomatological Society (BASS), Bucharest, Romania, April 23-26,2015, c.111.

**Contract 20/2014 Effects of the endocannabinoid and the nitric oxide-ergic systems on pain perception and acute inflammatory pain during stress-induced analgesia in rats**

**Leading scientist:** Prof. Adriana Ivanova Bocheva, MD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Roman Tashev, MD, PhD
- Assit. Prof. Hristina Nocheva, MD, PhD
- Assit. Prof. Ivelina Himcheva, MU-Pleven
- Assit. Prof. Radka Tafradjiska, MD, PhD
- Assoc. Prof. engineer Dancho Danalev, PhD, CTMU
- Assit. Prof. Stanislava Vladimirova, CTMU
- Assit. Prof. Mimoza Tzvetkova, MD
- Victoria Ilieva, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pathophysiology, 1 George Sofiiski

**RESULTS:** The project we proposed aimed at investigation of the effects of the endocannabinoid and nitric oxide systems on pain perception in stress-induced analgesia in rats, and investigation of the anti-inflammatory and anti-analgesic effects of two newly-synthesized peptides with pyrrole heterocycle incorporated. Evaluation of pain perception after 1 h of cold stress showed potentiation of analgesia after administering of both the CB1 agonist anandamide and the NO donor SIN-1, while antagonizing CB1 receptors with the antagonist AM251 suppresses the effects of L-arginine. The results obtained confirmed our hypothesis for the potentiation of stress-induced analgesia after simultaneous activation of both CB1 receptors (with anandamide) and administering of the NO donor. Thus, the endocannabinoid and the nitric oxide systems both participate in cold stress-induced analgesia. Both the newly synthesized peptides with pyrrole heterocycle incorporated in the Tyr-MIF-1's molecule showed analgesic activity, which was stronger for the SD2 peptide. The analgesic activity of both peptides was suppressed after administering the antagonist of opioid receptors naloxone. The last one showed that the opioidergic neurotransmitter system takes part in the analgesic effects of the peptides. Both the peptides also showed an anti-inflammatory effect weaker than the referent substance indomethacin.

**Scientific publications and presentations:**

- Danalev D, Vladimirova S, Borisov B et al. Synthesis and Analgesic Activity of New Analogues of Tyr-MIF-1 Including Pyrrole Moiety. Int J Pept Res Ther. 2016;22(2):243-8.
- Danalev D, Vladimirova S, Georgieva D, et al. Design and synthesis of new hybrid molecules comprising peptide moiety with potential analgesic activity. 33rd European Peptide Symposium, 31 August – 5 September 2014, Sofia, Bulgaria.

- Tzvetkova M, Yaneva D, Bijev A et al. Anti-inflammatory effects of some newly synthesized pyrrole derivatives in rats. 33<sup>rd</sup> European Peptide Symposium, 31 August-5 September, 2014, Sofia, Bulgaria.
- Tzvetkova M, Nocheva H, Bocheva A. Analgesic effects of newly synthesized Tyr-MIF-1 mimetics. IX Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences with International Participation, Plovdiv, 2015. *Folia medica* 2015;57(Suppl. 3):35.
- Nocheva H, Tzvetkova M, Danalev D et al. Potential analgesic effects of newly synthesized Tyr-MIF-1 mimetics. Anniversary Scientific Conference 20 years Trakia University. 19.05.2015, Stara Zagora.

**Contract 21/2014 Isolation and identification of flavonoids of the aerial parts of *Chenopodium bonus-henricus* L. Study of the effects of methanol extract of the aerial parts of *C. bonus-henricus* L. and isolated substances in models of induced hepatotoxicity in rats.**

**Leading scientist:** Prof. Stefan Nikolov, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Paraskev Nedialkov, PhD
- Assist Prof. Zlatina Kokanova-Nedialkova, PhD
- Assoc. Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Assist Prof. Romyana Simeonova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** Nine flavonoids namely respectively patuletin-O-3-[ $\beta$ -apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside (Chbhmf-01), patuletin-3-O-gentiobioside (Chbhmf-02), 6-methoxykaempferol-O-3-[ $\beta$ -apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside (Chbhmf-03), spinacetin-3-O-[ $\beta$ -apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside (Chbhmf-04), 6-methoxykaempferol-3-O-gentiobioside (Chbhmf-05), spinacetin-3-O-gentiobioside (Chbhmf-06), patuletin-3-O-(5<sup>'''</sup>-O-E-feruloyl)- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside (Chbhmf-07), spinacetin-3-O-(5<sup>'''</sup>-O-E-feruloyl)- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside (Chbhmf-08) and 6-methoxykaempferol-3-O-(5<sup>'''</sup>-O-E-feruloyl)- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 2)[ $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside (Chbhmf-09) were isolated from the aerial parts of *C. bonus-henricus* L. The structures of the compounds were determined by means of spectroscopic methods (1D, 2D NMR, UV, IR, HRMS-ESI). Chbhmf-07, Chbhmf-08 and Chbhmf-09 are new compounds. In isolated rat hepatocytes, in combination with carbon tetrachloride, flavonoids, isolated from the roots of *Chenopodium bonus-henricus* L., were shown to be an effective cytoprotectors and antioxidants. The effects were similar to those of the flavonoid silybin – a classical hepatoprotector and antioxidant. The results of this study also show that the MeOH extract of the aerial parts exerts hepatoprotective and antioxidant activities comparable to those of silymarin in vitro/in vivo model of CCl<sub>4</sub>-induced liver damage.

**Contract 22/2014 Toxicity evaluation of a new polyzwitterionic copolymer nanoparticles loaded with metoprolol on spontaneously hypertensive drugs (SHR)**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Virginia Tzankova, MPharm, PhD, ERT

**Research team:**

- Prof. Nikolay Danchev, MD, PhD
- Assoc. prof. Magdalena Kondeva-Burdina, MPharm, PhD
- Assist. prof. Rumiana Simeonova, MPharm, PhD
- Prof. Dimitar Rachev, MPharmSci, PhD
- Assoc. prof. Bistra Kostova, MPharm, PhD
- Assist. prof. Borislav Tzankov, MPharm, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacology, pharmacotherapy and toxicology

**RESULTS:** The main goal of the present study was to assess the effects of polyzwitterionic copolymer nanoparticles loaded with metoprolol on blood pressure values, as well as on some biochemical parameters in the liver and blood serum in male and female spontaneously hypertensive rats (SHR) and compare the obtained results with the effects of free metoprolol. The comparative in vitro study showed lower cytotoxicity and pro-oxidant activity of metoprolol, when loaded on polyzwitterionic copolymer nanoparticles, in respect to free metoprolol, as measured by MTT-test and LDH-leakage. Metoprolol loaded nanoparticles (p(VA-co-DMAPS) significantly decreased ( $p < 0,05$ ) systolic and diastolic blood pressure in both genders SHR, compared to controls and to groups treated with pure nanoparticles. Free p(VA-co-DMAPS) did not affect systolic and diastolic blood pressure in SHR. This study provides data about the possible protection mechanisms against drug-induced cytotoxicity by incorporating the problematic drugs in the suitable drug-delivery vehicles with a view to improving their safety profile.

**Scientific publications and presentations:**

- Todorova G, Kondeva – Burdina M, Simeonova R, V. Tzankova. Effects of polymeric nanoparticles, loaded with metoprolol on male and female SHR, Student's scientific session, Sofia - 27 November 2014, pp. 28.
- Simeonova R, Kondeva-Burdina M, Tzankova V et al. Effects of new polyzwitterionic copolymer nanoparticles loaded with metoprolol on spontaneously hypertensive rats (SHR). First Romanian National Congress of Toxicology 16-18 Oct 2015, Bucharest, Romania.

**Contract 26/2014 Investigation of rs5400 polymorphism in the Glucose Transporter Type 2 gene (GLUT2) and the *Streptococcus mutans* titre in relation to the hereditary factor in the etiopathogenesis of dental caries**

**Leadingscientist:** Assoc. prof. Ekaterina Stoyanova Boteva

**Researchteam:**

- Dobrina Karayasheva, MD
- Tanya Kadiyska, PhD
- Maria Glushkova

**Organizationunit:** MU – Sofia, Faculty of Dental medicine, Department of Conservative dentistry

**RESULTS:** All 108 volunteers were successfully detected about *Streptococcus mutans* titer. In  $DMFT \leq 5$  and  $DMFT \geq 5$  groups were found that *Streptococcus mutans* titer with range from  $10^4$  to  $10^6$  is the most frequent and it is 19,4% and 24,6% from extract. All 108 volunteers were successfully genotyped for the GLUT2 Thr110Ile polymorphism. Based on the genotype data, individuals were further grouped into carriers or non-carriers of the minor Ile allele. There are no differences in age and gender distribution between the groups. A high level of significance of the allele and genotype frequencies between the subjects in this study was not

found. For the statistical analysis the participants were divided according to their DMFT scores. Significant differences at level  $p < 0,05$  for the allele and genotype frequencies were not found between the three groups of CF, LCE and HCE ( $p < 0,5$ ). The comparison of subject's BMI shows that the Ile allele carriers had slightly higher BMI (23,4 vs 22,3) and were more frequently snacking between meals (74% vs 63,5%). In addition, Ile allele carriers preferred more frequently food with high glycemc index.

**Scientific publications and presentations:**

- Karayasheva D, Boteva E, Kadiyska T, et al. The role of genes related to nutrition and carbohydrate metabolism for the development of dental caries. *Problems of Dental Medicine*, vol. 41, 2015/2, pp, 53-59.
- Karayasheva D, Glushkova M, Mitev V, et al. Association study for the role of GLUT2 gene in caries susceptibility, dietary habits and BMI; *New interdisciplinary Approaches in Oral and General Rehabilitation*, pp 139; 20<sup>th</sup> Congress of the Balkan Stomatological Society (BaSS), Apr 23-26 2015, Bucharest, Romania
- Karayasheva D, Glushkova M, Kadiyska T, et al. Association study of the role of GLUT 2 receptor in dental caries susceptibility, dietary habits and body mass index BMI. *IJSR*. 2016;5(3):83-6.

**Contract 27/2014 Genomic association studies as a modern approach for clarification of genetic basis of hypertension: replicative study of positive signals for association in Bulgarian population**

**Leading scientist:** Prof. Kiril Lyubenov Naydenov, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanio Mitev, MD., PhD, DSc
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Rumyana Tarnovska-Kadreva, MD, DSc
- Reni Tzveova, PhD student
- Georgi Dimitrov, PhD student
- Assist. Prof. Teodora Yaneva-Sirakova, MD, PhD
- Assist. Prof. Silviya Vandeva-Kalvacheva MD, PhD
- Assist. Prof. Olga Beltcheva, PhD

**Organization unit:** MU–Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** The purpose of this study was to investigate allelic and genotypic frequencies of three polymorphic variants: a polymorphism near to *GUCY1A3-GUCY1B3* locus (rs13139571), a genetic variant, located in the *CYP17A1-NT5C3* locus (rs11191548), polymorphism in *PLEKH7* gene (rs381815) and two nucleotide polymorphisms within *SH2B3* gene (rs3184504 and rs653178) in both groups of patients with arterial hypertension and population controls. During the analysis the high allelic frequencies of these variants in a sample of healthy subjects with Bulgarian origin were detected. No deviation from Hardy-Wienberg equilibrium was observed for all studied variants. Allelic and genotypic frequencies of the analyzed markers corresponded to these reported for Europeans. With respect to the polymorphic variant rs11191548 near to *CYP17A1-NT5C3* locus borderline significance with the risk of developing hypertension was observed. The frequency of T allele is higher in the group of hypertensives compared to population controls (90.12% vs 85.42% OR 1.55 (CI 0.99-2.46)). Other polymorphic variants showed no association with the risk of hypertension. It was found positive association between rs381815 in *PLEKHA7* gene and systolic and

diastolic blood pressure ( $p = 0.03$  and  $p = 0.02$ , respectively) in women. In the overall group association between rs13139571 in *GUCY1A3-GUCY1B3* locus and reduced levels of systolic blood pressure was observed ( $\beta = -8.12$ ,  $p = 0.03$ ). After multiple regression analysis three statistical epistatic interactions between the studied polymorphic variants were identified in terms of the diastolic blood pressure in men (*GUCY1A3-GUCY1B3* rs13139571 and *SH2B3* rs3184504 OR 12.61,  $p = 0.01$ ), urea levels in the general group (*SH2B3* rs3184504 and *SH2B3* rs653178  $\beta = 38.63$ ,  $p = 0.0016$ ) and K levels in women (*SH2B3* rs3184504 and *SH2B3* rs653178  $\beta = -0.20$ ,  $p = 0.02$ ).

**Scientific publications and presentations:**

- Tzveova R, Yaneva T, Dimitrov G, et al. The role of genome-wide association studies for understanding the genetic basis of arterial hypertension – part 2. Cardiovascular diseases, 03/2014, XLIV, p. 30-8.

**Contract 28/2014 Study of the participation of AT2 receptors by the angiotensin receptor agonist Novokinin in the mechanism of metabolic and behavioral disorders in DN experimental model of diabetes mellitus in rats**

**Leading scientist:** Prof. Alexander Georgiev Stoynev, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assist. Prof. Kiril Petrov, MD
- Assist. Prof. Daniela Pechlivanova, PhD
- Romyana Mitreva

**Organization unit:** Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, MU – Sofia

**RESULTS:** Chronic treatment of healthy male Wistar rats with the selective peptide AT2 receptor agonist novokinin (0.6  $\mu\text{g}$  / day / 14 days, intracerebroventricular (i.c.v.) induced a significant increase of the intake of food and water, accompanied by increased diuresis in the first 4 -8 days after the start of infusion. In parallel, we reported reduced weight gain and anxiolytic behavior at the end of the study period. Novokinin did not change the motor activity and exploratory behavior in healthy controls. The induction of type 1 diabetes mellitus (DM1) (streptozotocin 65 mg / kg, ip) on the background of chronic treatment with novokinin potentiate diabetes-induced polyuria and polydipsia, but decreased food intake during the first days after the start of DM1 and significantly increase the rate of mortality in diabetic rats (37%). Diabetic rats treated with AT2 agonist demonstrated behavioral changes - reduced horizontal and vertical motor activity and increased anxiety behavior. These data suggest the participation of brain angiotensin AT2 receptors in the pathogenesis of DM1. The chronic treatment with selective AT2 receptor agonist novokinin may aggravate the initial phase of the development of diabetes mellitus type 1 and subsequent complications.

**Scientific publications and presentations:**

- Petrov K, Pechlivanova D, Mitreva R, et al. Some gender-defined differences in the development of experimental model of diabetes mellitus type 1 in Wistar and spontaneously hypertensive rats. XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 October, 2015 r.
- Pechlivanova D, Mitreva R, Nenčovska Z, et al. Effects of a selective AT2 receptor agonist Novokinin on diabetes mellitus-induced changes in metabolism and nociception XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 October, 2015 r.

- Kadinov B, Pechlivanova D, Belcheva K, et al. Effects of endogenous carbon monoxide on the contractile activity of segments from diabetic rat's *a. ophthalmica*. XI National Congress of Physiological Sciences, Plovdiv, 9-11 October, 2015 г.

**Contract 29/2014 Influence of the genetic background on the qualitative and quantitative characteristics of meiotic spinsle in *in vivo* and *in vitro* matured mouse oocytes**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Stefka Metodieva Delimitreva, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Maya Markova, PhD
- Assoc. Prof. Ralitsa Zhivkova, PhD
- Assit. Prof. Venera Nikolova
- Assit. Prof. Irina Chakarova
- Assoc. Prof. Rumen Dimitrov

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Biology

**RESULTS:** Mouse oocytes (946) were obtained by ovarian hyperstimulation and *in vitro* maturation (IVM) of inbred mice BALB/c (615) and C75/Black (157) and outbred mice ICR (174 oocytes). The following parameters of oocytes were evaluated: tubulin fiber organization in MI and MII meiotic spindles; spindle length; pole width; actin cap diameter; degree of chromosome condensation in metaphase I and II; chromosome alignment at the meiotic spindle equator. The best quality of oocytes obtained after hormonally stimulated ovulation was observed in ICR. However, with regard to oocytes obtained by *in vitro* maturation, both inbred strains - BALB/c and C57/Black, produced better results. Hence, the genetic background influenced the quality of ovulated oocytes, and outbred background conferred advantage. In *in vitro* conditions, however, the results were not consistent with the concept of higher heterozygosity being advantageous. This can be explained by the fact that the basic protocol for IVM of oocytes in mice has been developed specifically for inbred strains most often used in research, such as BALB/c and C57/Black. Teams who work to obtain maximum quality of IVM oocytes with different genetic background must change accordingly the IVM protocol.

**Scientific publications and presentations:**

- Hadzhinesheva V, Nikolova V, Chakarova I, et al. In vitro maturing mouse oocytes treated by okadaic acid – effect on cytoskeletal structures and chromosome spread. *Acta Morphologica et Anthropologica*. 2015;21:47-50.
- Nikolova V, Chakarova I, Markova M, et al. Changes in localization of lamin B during meiotic maturatin of mouse oocytes. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. 2015;68(9):1113-8.
- Chakarova I, Nikolova V, Zhivkova R, et al. Phenotype variations of tubulin, actin and chromatin structures in metaphase oocytes from two mouse strains. VI Morphological days. Sofia. 06-08 June 2014.
- Chakarova I, Zhivkova R, Hadzhinesheva V, et al. Correlation of phenotype variants of spindles, chromosomes and actin caps in metaphase oocytes from two inbred strains. XI National conference of medical biology. Plovdiv. 15-17 May 2015. (183-184).

- Chakarova I, Nikolova V, Zhivkova R, et al. Influence of genetic background on oocyte meiotic spindle, actin cap and chromosomes in inbred mice. 14<sup>th</sup> International Symposium for Immunology of Reproduction. 22-24 May 2015. (47)
- Markova M, Nikolova V, Chakarova I, et al. Mouse oocyte meiotic spindle associates with lamins and nucleoporin 160. XXII National Congress of the Bulgarian Anatomical Society. Plovdiv. 05-07 June 2015. (32)

### **Contract 32/2014 Lanthanide complexes with biologically active ligands-synthesis, characterization and pharmacological activity**

**Leading scientist:** Prof. Irena Petkova Kostova, PhD, DSc

**Research team:**

- Stefan Balkanski, PhD student
- Assist. Prof. Maria Traykova, PhD
- Assist. Prof. Julian Voinikov, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry

**RESULTS:** The Ln(III) complex of orotic acid (HOA) and 5-aminoorotic acid (HAOA) were synthesized by reaction of the respective inorganic salts and the ligands. The structures of the complexes were determined by means of elemental analysis, UV, NMR, FTIR and FTRaman spectroscopies. Significant differences in the vibrational spectra of the complexes were observed as compared to the spectra of the free ligands. The marker bands of characteristic functional groups were identified, in order to use them as data bank for further application in trace analysis of rare-earth complexes. Detailed vibrational analysis of HOA, HAOA and Ln(III)-OA and Ln(III)-AOA systems revealed that the binding mode in the complexes was bidentate through the carboxylic oxygen atoms. NMR and UV spectra of the ligands and the complexes confirmed the complex formation. Comparative evaluation of the antioxidant effects of the ligands, the Ln(III) nitrates and the newly synthesized Ln(III) complexes was performed. The effect of the investigated compounds on the free radicals formation in presence of the model system Xanthine/Xanthine oxidase (X/XO) was investigated using MTT method. Their antioxidant capacity was investigated in vitro, using both DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> methods. The antioxidant activity of the Ln(III) complexes was related with their electron donor properties.

**Scientific publications and presentations:**

- Traykova M, Saso L, Kostova I. Involvement of Lanthanides in the Free Radicals Homeostasis. *Curr Top Med Chem.* 2014;14(22):2508-19.
- Kostova I. Spectrophysical investigations on Lanthanide(III) complexes of biologically active ligands. 5th International Conference on Perspectives of Vibrational Spectroscopy (ICOPVS 2014), Trivandrum, India, July 8-12, 2014; IL16, pp. 15-16.
- Kostova I. Theoretical and spectroscopic investigations on lanthanide(III) complexes with antioxidant activity. Spectroscopy and Spectral Analysis Conference (SSA2015), Shanghai, China; Jan. 31st –Feb. 2nd, 2015, pp. 12-13.



**Contract 34/2014 Development of mesoporous silica nanoparticles coated with bioadhesive polymers****Leading scientist:** Assoc. Prof. Krassimira Pavlova Yoncheva, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Borislav Tzankov, PhD
- Prof. Nikolai Lambov, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics

**RESULTS:** Mesoporous silica nanoparticles are characterized with a mechanical and chemical stability, biocompatibility, large pore volume and high capacity for drug loading. These properties make them attractive carriers for drug delivery. However, the fast initial release of the drug is the typical problem of these nanoparticles. In this view, the aim of the present study was to develop coated mesoporous silica nanoparticles, capable to reduce the initial burst release. Budesonide loaded silica nanoparticles were post-coated with chitosan alone or with combination of chitosan and sodium alginate. The coated nanoparticles possessed different charge that was considered indication for the efficient coating. Chitosan-coated particles were positively charged, whereas chitosan-alginate coated nanoparticles possessed negative charge. The initial burst release of budesonide was reduced with more than 30% from both types of the coated particles. Further, the study explored the possibility to formulate drug loaded silica mesoporous particles into a solid dosage form, such as tablet form. Tablets with optimal technological and biopharmaceutical properties were obtained by direct compression method. The in vitro release profiles revealed that the formulation of mesoporous silica nanoparticles in tablets additionally could slow down the initial burst effect.

**Scientific publications and presentations:**

- Tzankov B, Yoncheva K, Popova M, et al. Present approaches for the development of mesoporous silica nanoparticles as drug delivery systems. II National Conference “Days of Pharmaceutical Technology”, Ed. By M. Kassarova, N. Lambov and V. Andreev, TEA Design, Sofia 2015, 118-127.
- Yoncheva K, Tzankov B, Popova M, et al. Evaluation of stability of mesoporous silica nanoparticles and their further formulation in tablet form. J Disp Sci Technol. 2016;37:113-8.
- Yoncheva K, Tzankov B, Popova M, et al. Coating of drug loaded mesoporous silica nanoparticles with bioadhesive polymers. 10<sup>th</sup> Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Portoroz, 18-20 September 2014, P87.

**Contract 35/2014 Molecular genetic studies on virulence of Bulgarian clinical isolates *Streptococcus pyogenes*****Leading scientist:** Assoc. Prof. Raina Tzvetanova Gergova, MD, PhD**Research team:**

- Corr. Member, Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, Dsc
- Ivo Sirakov, VMD, PhD
- Adile Muhtarova, Medical Laboratory “Lora”

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dep. of Medical microbiology

**RESULTS:** *Streptococcus pyogenes* (Group A streptococcus - GAS) is a leading causative agent of various infections with dangerous post-streptococcal suppurative and nonsuppurative complications. **Objectives** of this study was to determine the presence of genes encoding

important virulence factors in Bulgarian clinical GAS isolates and to analyze the results in terms of geographical distribution and areas of inflammation. Clinical GAS strains (n=126) were screened for the presence of eighteen virulence genes using multiplex PCR. All of the tested strains were shown to carry *sdaB*, *speB*, *sypCEP*; more than 80%, *mac* and *smeZ*; followed by *sdc*, *speJ* and *speG*. The data was analyzed with regard to reports on GAS toxin genes in different countries. An attempt was made to seek association between the detected virulence genes and the areas of inflammation, and in respect to invasive and noninvasive isolates. At the first time in Bulgaria had developed a quick and inexpensive molecular-genetic method, by which 126 GAS strains were tested for the presence of 18 virulence factors. It was found that over one third of Bulgarian GAS, especially invasive ones, showed a high pathogenic potential. This method can also be used for epidemiological typing of GAS.

**Scientific publications and presentations:**

- Gergova R, Muhtarova A, Mitov I. Virulence potential of Bulgarian *Streptococcus pyogenes* clinical isolates, C R Acad Bulg Sci, 2015;68(8):1061-70.
- Gergova R, Muhtarova A, Mitov I. Toxic potential of a leading pathogenic agent - *Streptococcus pyogenes*. Poster, 13 National Congress of Microbiology and Infections, BAM, Sofia, Bulgaria, 16-18 april, 2015, pp. 72

**Contract Nr. 36/2014 Epidemiology typing, mechanisms of resistance among carbapenemase and/or extended spectrum beta-lactamase(ESBLs)- producing clinically-significant and from fecal carriage members of family *Enterobacteriaceae* in three university hospitals in Sofia, Pleven and Varna**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Rumyana Donkova Markovska-Davidkova, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Rumyana Markovska-Davidkova, PhD
- Dobrinka Ivanova, MD, PhD, II Multiprofile hospital for active treatment- Sofia
- Assoc. Prof. Temenuga Stoeva, MD, PhD, MU-Varna
- Prof. Marya Sredkova, MD, PhD, MU-Pleven
- Valentina Popova, MD, MU-Pleven
- Daniela Dacheva, PhD student
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Coresp. member. Prof. Ivan Mitov, PhD, DSc
- Acad. Prof. Vanyo Mitev, PhD
- Rositza Dimova, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** For the period 01.01.2014 – 01.09.2014 were investigated 267 isolates from family *Enterobacteriaceae*, resistant to cephalosporines third generation. Ninety six isolates were from fecal carriage – mainly *E. coli* – 66 isolates and 20 *K. pneumoniae*. ESBL production was 19%. One hundred and sixty seven clinical isolates - mainly *E. coli* – 60, *K. pneumoniae* – 67 and *Enterobacter spp* – 28 from urine, blood, wound secretions and other. The isolates retained their high susceptibility only in regard of piperacilin/tazobactam и amikacin. Among 16% of clinical isolates were detected resistance to carbapenems. Isolates produced KPC-2 and CTX-M-15 enzymes and belonged to ST 15 clone *K pneumoniae*. Distribution of the ESBL types showed prevalence of CTX-M enzymes - above 98% with prevalence of CTX-M-15, among clinical isolates – 80%, among fecal carriage - 49%. Epidemiology typing of the strains *K pneumoniae* showed persistence of one main clone ST15 *K. pneumoniae* – in 49%. We detected among all participating hospitals and it is associated

with production of CTX-M-15 or CTX-M-15 and KPC-2 enzymes. The *K pneumoniae* strains from fecal carriage belong to this clone in 40 %. Seventy two percent from all *E. coli* изолати belonged to CC 131 and associated mainly with production of CTX-M-15 enzymes.

**Scientific publications and presentations:**

- Markovska R, Stoeva T, Schneider I, et al. Clonal dissemination of multilocus sequence type ST15 KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Bulgaria. *APMIS*. 2015 Oct;123(10):887-94

**Contract 37/2014 Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* isolates in children with acute otitis media after introduction of routine immunization with pneumococcal conjugate vaccine.**

**Leading scientist:** Prof. Lena Petrova Setchanova, MD, PhD.

**Research team:**

- Alexandra Alexandrova
- Assist. Prof. Igliska Stancheva, MD

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** The 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV10) was first introduced in Bulgarian Immunization Program since April 2010. The aims were to identify the etiological structure of acute otitis media (AOM) in children, resistance of isolated otopathogens to antibiotics and pneumococcal serotypes two to five years after introduction of PCV10 in our immunization schedule. Middle ear fluid (MEF) was obtained from 207 children with severe AOM. The specimens were collected after spontaneous membrane rupture or by tympanocentesis from March 2012 to May 2015. Nasopharyngeal specimens were obtained from 49 children with uncomplicated AOM episode in 2015. Among 117 culture positive MEF samples (56.5%), the most frequently isolated AOM pathogens were: *S. pyogenes* (28.2%), *S. pneumoniae* (21.4%), *S. aureus* (21.4%), and *H. influenzae* (12.0%). All *H. influenzae* isolates (n=14) were non-typable (NTHi). Among *S. pneumoniae* isolates (n=25) the following serotypes were determined: 19F (32%), 3 (24%), 19A (20%), 9V (8%), 6A, 18B, 18C, and 22 (4% each). Vaccine serotypes included in PCV10 were 44%. All serotypes 19F and 19A pneumococcal isolates were multi-drug resistant. Nonsusceptibility rate to oral penicillin was 68% among all *S. pneumoniae* strains. Both, macrolide-resistance and multi-drug resistance was 52% among pneumococcal isolates. From 39 nasopharyngeal samples otopathogenic bacteria were isolated of which the most common were *S. pneumoniae* (69.2%), *H. influenzae* (20.5%) and *M. catarrhalis* (18.0%). The resistance rates of *S. pneumoniae* to antibiotics were less common among nasopharyngeal isolates in comparison with those found in MEF samples. Marked reduction of PCV10 vaccine serotypes to 18.5% was found in the nasopharynx of children with AOM, 84% of who were vaccinated. There was proportional increase of non-PCV10 serotypes. The proportion of non-vaccine types has increased markedly five years after PCV10 implementation. Despite introduction of the pneumococcal conjugate vaccine multidrug-resistant vaccine serotypes 19F and less 19A have been the only ones successfully spreading serotypes among vaccinated children in post-vaccine period.

**Scientific publications and presentations:**

- Setchanova L, Stancheva I, Alexandrova A, et al. Dynamic changes in bacteriology of suppurative acute otitis media in children two to four years after routine introduction of the pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics*. 2015; LV(3)
- Setchanova L, Alexandrova A, Dacheva D, et al. Dominance of multidrug-resistant Denmark<sup>14</sup>-32 (ST230) clone among *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A isolates

causing pneumococcal disease in Bulgaria from 1992 to 2013. *Microb Drug Resist.* 2015;21(1):35-42.

- Setchanova L, Stancheva I, Alexandrova A, et al. Bacterial etiology and *Streptococcus pneumoniae* serotypes in children with severe acute otitis media after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine. 13th National Congress of Clinical Microbiology and Infections of BAM. Sofia, April 16-18, 2015.

### **Contract 38/2014 Serotonergic neurotransmission in retina of lower vertebrates**

**Leading scientist:** Prof. Dr. Liliya Alexandrova Vitanova, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Petia Kuppenova, PhD
- Desislava Zhekova, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Physiology, 1 George Sofiisky str.,

**RESULTS:** Serotonin (5- hydroxytryptamine) is proved to exist in the central nervous system (CNS) and in the retina as well, which is known to be part of CNS. Serotonin exerts its effect by seven large groups of serotonin receptors SR1-7. While the functions of brain serotonin system are relatively well studied, the data about retinal serotonin and its receptors are too contradictory, despite the numerous studies. That is why the aim of the present work was to comparatively study the distribution of serotonin and serotonin receptors SR1-SR7 in the retinas of frog and freshwater turtle. The indirect immunofluorescence was used. Ten different antibodies, directed to the enzyme tryptophanhydroxylase and to the serotonin receptors SR1A, SR2A, SR3A, SR4, SR5A, SR6 and SR7 were applied. All antibodies caused well expressed staining in frog and turtle retinas. The tryptophanhydroxylase immunoreactivity was localized in the amacrine cells and in a subgroup of bipolar cells. In addition: some horizontal cells and the glial Muller cells in turtle retina were stained as well. All receptors studied were also very well expressed. Some of them – e.g. SR1A and SR4, showed typical synaptic localization in both plexiform layers of frog and turtle retinas, while others were localized extrasynaptically or in the retinal glia. The results obtained show that serotonin is widely involved as neuro- and gliotransmitter, as well as neuro- and gliomodulator, in the retinal functions of lower vertebrates.

### **Contract 40/2014 Epigenetic alterations in genes, connected to stress and oncogenesis, in patients with type 2 diabetes**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivanka Istalianova Dimova, PhD

**Research team:**

- Corr. member Prof. Draga Toncheva, MD, DSc
- Prof. Dimitrinka Dimitrova-Dikanarova, MD, PhD
- Assist. Prof. Sena Karachanak-Yankova, PhD
- Zora Hamude, PhD student
- Desislava Nesheva, PhD student
- Assist. Prof. Miglena Koprinarova, PhD, BAS

- Assist. Prof. Radka Hadjiolova-Tafradjiska, MD, PhD
- Assist. Prof. Pavlina Gateva, MD, PhD
- Assist. Prof. Svilen Maslyankov, MD, PhD
- Assist. Prof. Nikolai Stoynev, MD, PhD
- Borislava Filyova, student
- Mihail Mihailov, student
- Assist. Prof. Zafer Sabit
- Lubomir Balabanski
- Assoc. Prof. Tzvetanka Markova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical genetics

**RESULTS:** Type 2 diabetes (DM2) is chronic metabolic disease resulting from complex interplay between genetic and environmental factors. Epigenetics interferes in this regard and it is a new promising field of investigation. We aimed to study the epigenetic alterations in DM2. First, we have determined expression levels of MBD2 – a protein, tightly connected to promoter methylation and gene silencing. Then, we have analysed DNA methylation status of 22 genes, connected to stress and toxicity, in four DNA pools of: healthy controls; initial DM2 patients; patients with DM2 for less and patients with DM2 for more than five years. The expression and methylation analyses were performed by Real-Time PCR and restriction with methylation-sensitive and methylation-dependent enzymes. Our results revealed that MBD2 has increased expression in DM2 (10.4 times on average). From methylation analysis, 4 genes showed increasing methylated fraction with the course of DM2: BRCA1 (0% in healthy controls; 5.9% in initial DM2; 0.5% in DM2 for < 5 years and 47.8% in DM2 for > 5 years), CCND1 (0%, 13.6%, 14.7% and 34.1%), SCARA3 (3.5%, 8.1%, 20.2% and 23.3%) and Prdx2 (7.3%, 22.3%, 22.4% and 32%). We suggest that epigenetic alterations in tumor-suppressors and oxidative stress' protectors occur during DM2.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimov D, Hadjiolova R, Kanev K, et al. Cardiac and renal nitrosative-oxidative stress after acute poisoning by a nerve agent Tabun. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2015 Jul 3;50(8):824-9.
- Karachanak-Yankova S, Nesheva D, Dimova R, et al. Epigenetic alterations in genes, connected to stress and toxicity, in the course of type 2 diabetes. *Eur J Human Genet* 2015 June; Vol. 23 (Suppl. 1): 322-323.
- Karachanak-Yankova S, Dimova R, Nikolova D, et al. Epigenetic alterations in patients with type 2 diabetes mellitus. *BJMG* 2015; 18 (2): 15-24.

**Contract 41/2014 Replication study in independent cohort of heroin addicted and controls, following a pilot exome SNP scan of heroin addiction**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanio Mitev, MD, PhD, DSc
- Prof. Ivo Kremensky, MD, PhD
- Assist Prof. Olga Beltcheva, PhD
- Ivan Popov, PhD
- Gyulnas Dzhebir, MSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center

**RESULTS:** A pilot study of 190 Roma heroin dependent and 95 controls, analysed with Human Core Exome Bead Chip, Illumina identified several markers, showing significant association ( $p < 10^{-7}$ ). The current study is replication with three SNP polymorphisms in enlarged sample, involving 362 heroin dependent and 95 controls of Roma ethnicity, 1992 heroin dependent and 912 controls of Bulgarian ethnicity. The investigated polymorphisms were rs6935004, rs9493329 and rs9641392. Genotyping was performed by TaqMan SNPs assays. The statistical analysis was done with Plink v.1.07 (1,2) software. The allele association for markers rs9493329 and rs9641392 was confirmed in the Roma sample. No association was found for the Bulgarian heroin addicted. The analysis revealed significant interpopulation differences between Roma and Bulgarian population controls. Marker rs9641392 is located in the area of *MAGI2* gene, coding a structural protein participating in the assembly, development and maintenance of the synapses as well as the receptor endocytosis. Marker rs9493329 is in the area of *STX7* gene, coding a protein belonging to the SNARE group of trans-membrane molecules involved in the vesicular transport. The results from the replication study add support to the hypothesis, linking the predisposition to heroin dependence with synaptic plasticity and changes in the release of neurotransmitters in the synapse.

**Scientific publications and presentations:**

- Beltcheva O, Dzhebir G, Popov I, et al. Association study provides evidence for population specific susceptibility genes for heroin addiction in Bulgaria. 6th Croatian congress of human genetics with international participation, Split, November 5-7, 2015.

**Contract 42/2014 Validation of a protocol for next-generation sequencing with Ion Torrent PGM sequencer for detection of mutation in the BRCA1 and BRCA2 genes**

**Leading scientist:** Acad. Prof. Vanio Ivanov Mitev, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Chief Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Romyana Dodova, PhD
- Daniela Dacheva - PhD student
- Ivan Popov, PhD

**Organization unit:** MU–Sofia, Faculty of Medicine, Dept of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Pathogenic mutations in *BRCA1/2* tumor suppressor genes increase the lifetime risk for breast and ovarian cancer. The aim of the present study was to evaluate the sensitivity and specificity of the Ion Torrent PGM™ platform for diagnostic mutation screening of *BRCA1/2* genes. In the current study we included a cohort of 16 Bulgarian high-risk breast cancer patients to validate a next-generation sequencing approach for diagnostic mutation screening of the *BRCA1/2* genes using the Ion Torrent Personal Genome Machine® (PGM™) platform. We have also optimized the workflow by comparing two different library preparation methods. We have validated a quick and accurate diagnostic test, with an overall specificity of 95.9% and sensitivity of up to 100 %, which can be the first method of choice, followed by confirmation of the identified variants by Sanger sequencing. Our results prove that the Ion AmpliSeq™ *BRCA1/2* Community Panel used with the PGM™ platform, and coupled with our variant selection pipeline, is able to detect all sequence variants discovered by Sanger sequencing. The application of the new test will have great impact in the clinical

practice to identify the mutation carriers and guide the better personalized treatment of patients with hereditary breast and ovarian cancer.

**Scientific publications and presentations:**

- Dacheva D, Dodova R, Popov I et al. Validation of an NGS Approach for Diagnostic BRCA1/BRCA2 Mutation Testing. Mol Diagn Ther. 2015;19:119-30.

**Contract 43/2014 Effect of vitamin D on the glucose metabolism, lipid exchange and oxidative stress of streptozotocin-induced diabetic rats during pregnancy**

**Leading scientist:** Georgeta Stoyanova Bocheva, MD, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Georgi Bogdanov, MD, PhD
- Assist. Prof. Maria Valcheva-Traykova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pharmacology and Toxicology.

**RESULTS:** Our results demonstrated the complexity of the elements of the oxidant-antioxidant status in animal model of neonatally-induced diabetes and pregnancy. Normal pregnancy was associated with increased oxidative stress. Pre-gestational diabetes type 1 resulted in even higher oxidative stress level accompanied with poor antioxidant control. In this study, the highest free radicals accumulation was found in the serum of the pregnant diabetic animals. It may be proposed that the OS level in the blood serum is strongly affected by the efficacy of the antioxidant defense related with hydrogen donation. Our investigation suggested that the activity of the hydrogen donor type antioxidants correlated with the accumulation of free radicals in the blood serum in animal model of pre-gestational Streptozotocin-induced diabetes and pregnancy. Vitamin D supplementation during pregnancy had beneficial effects on oxidative status in diabetic rats. Generally, diabetes mellitus resulted in increased accumulation of free radicals and xanthine oxidase activity, but in different extent in both models of diabetes (type-1 and type-2). More free radicals were formed and accumulated in the blood serum of the insulin deficient diabetic rat model compared to the insulin resistance model ( $p < 0.05$ ).

**Scientific publications and presentations:**

- Valcheva-Traykova M, Bogdanov G, Bocheva G. Effect of pregnancy and neonatally induced diabetes type 1 on the oxidative stress in rat's blood serum. Compt Rend Acad Bulg Sci. 2016; 69(11): 1503-10.
- Valcheva-Traykova M, Bocheva G. UV-VIS technique for comparison of Oxidative Stress markers in diabetes types 1 versus type 2. Third National Congress of Physical science – Sofia, 29.09. – 02.10.2016.
- Bocheva G, Valcheva-Traykova M. Effect of Vitamin D treatment on the free radicals formation in pregnant diabetic rats. Third National Congress of Physical science – Sofia, 29.09. – 02.10.2016.

**Contract 44/2014 Epiligament and its role in the healing processes of the knee collateral ligaments in an experimental rat model**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Boycho Vasilev Landzhov, MD, PhD

**Research team:**

- Georgi Petrov Georgiev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Lina Malinova, MD, PhD
- Assist. Prof. Svetoslav Slavchev, MD
- Assist. Prof. Yuliyana Kartelov, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of anatomy, histology and embryology

**RESULTS:** Our investigations revealed the presence of many fibroblasts, fibrocytes, adipocytes, neuro-vascular bundles, and numerous multidirectional collagen fibres within the epiligament and significant differences between the ligament and its covering tissue. At the eight day post-injury well presented immunostaining for collagen type I and weak immunopositive reaction for collagen type V was detected throughout the epiligament scar. On the sixteenth day after injury immunopositive reaction in the epiligament for type I and more intensive reaction for collagen V were observed. Thirty days after injury the epiligament was similar to normal, but not fully restored. On the sixtieth day after injury the epiligament tissue was similar to normal.

**Scientific publications and presentations:**

- Georgiev G, Landzhov B, Dimitrova I et al. Light microscopic and immunohistochemical study of the medial collateral ligament epiligament in rat knee. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2015;68(1): 95-100.
- Georgiev G, Landzhov B, Dimitrova I et al. Immunohistochemical study during early healing of the medial collateral ligament epiligament in rat knee model. *Compt Rend Acad Bulg Sci.* 2015;68(5):655-660.
- Landzhov B, Georgiev G, Dimitrova I et al. Experimental model for grade III injuries of knee medial collateral ligament epiligament tissue in rat knee model. Immunohistochemical study for type I and V collagens. XII National congress of the Bulgarian Anatomical society Plovdiv, June 5-7, 2015. *Folia Medica* 2015;57(Suppl 2):31.

**Contract 45/2014 Pharmacology studies on mechanisms of action of Topiramate on metabolism of rats with experimental epilepsy and obesity**

**Leading scientist:** prof. Nadka Ivanova Boyadjieva, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Teodora Handjieva-Darlenska
- Galina Dobrevska
- Assist. Prof. Radoslav Klisurov
- Rositsa Metodieva

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Department of pharmacology and toxicology

**RESULTS:** Pharmacological investigations on the effect of topiramate on metabolism of young male rats were performed. Experimental obesity of rats was developed by fat rich diet. Animals (controls and obesity rats) were treated with topiramate for a period of 30 days. Then, the animals were anaesthetized and the following parameters were detected: glucose and lipids in blood; insulin and leptin blood concentrations, body weight and behaviour of rats. Results: Topiramate decreased body weight, blood insulin and leptin concentrations in obese rats. Topiramate normalized the elevated lipid levels in obese rats. Taken together, the results demonstrated the metabolic effects of topiramate in animals with experimental obesity.



Our results suggested that topiramate may influence the central mechanisms of regulation of metabolism.

**Scientific publications and presentations:**

- Handjieva-Darlenska T, R Klisurov, N Boyadjieva. New data for topiramate. *Neurology and Psichiatriy* 2015;4691):43-56.
- Handjieva-Darlenska T, R Klisurov, N Boyadjieva. Pharmacological studies of Topiramate on appetite and metabolism. 22 European Congres on Obesity, 6-9 May, 2015, Praga.

**Contract 52/2014 Gene screening in patients with epilepsy and mental retardation**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivan Olegovich Litvinenko, MD, PhD

**Research team:**

- Dimitar Stamatov, PhD
- Assoc. Prof. Radka Kuneva, PhD
- Valentina Pejcheva, PhD
- Kunka Kamenarova, PhD

**Organization unit:** Medical University – Sofia, Faculty of medicine, Department of Pediatrics; Specialized Hospital for active treatment of children diseases - Sofia, Department of neurology

**RESULTS:** Nine patients were included in the study – 6 girls and 3 boys under the age of 18 years. They all have Epilepsy and different grade of mental retardation. The participants were chosen on the base of some preliminary criteria. IQ tests were used for defining the intellectual ability of patients. Direct sequantion of SCN1A gene for looking for small molecular defects – point mutations, small deletions/insertion of SCN1A for detecting larger deletions/duplications including one or more exons. In patients without mutations on direct sequantion array Comparative Genomic Hybridization- aCGH was performed. In all 9 patients were found mutations described in literature to be involved in diseases with epilepsy and mental retardation in some grade.

**Conclusion:** In conclusion the found pathogenetic aberrations with the aCGH explain in part the complex phenotype characteristic for syndromic epilepsies in combination with mental retardation. Finding of exact region of the genome involved with disease will lay the foundation of identifying of new genes and it will be great help to doctors in prophylactic of genetic diseases

**Contract 53/2014 Molecular-genetic analysis for carriers of mutation at the BRCA1 and BRCA2 genes in patients with ovarian carcinoma**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Roumen Georgiev Dimitrov, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Vanio Mitev MD, PhD
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Rumyana Dodova, PhD
- Daniela Dacheva, PhD sudent
- Assist. Prof. Sashka Rajcheva, MD, PhD

- Assist. Prof. Karela Majnhard, MD, PhD
- Prof. Ivo Kremenski, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetrics and Gynecology

**RESULTS:** Between 10% and 15% of cases of ovarian cancer are due to hereditary predisposition of a mutation in one of the BRCA genes. Very often this type of cancer is typical for members of families with HBOC syndrome (Hereditary Breast Ovarian Cancer - hereditary breast and ovarian). In the present study were incorporated 59 patients with HBOC syndrome who were screened for mutations c.181T> G, c.5263\_5264insC, c.5851\_5854delAGTT, c.9098\_9099insA and c.9908delA. Mutational analysis was carried out by direct sequencing of exons 5 and 20 of BRCA1 and exon 11 (region N), 23 and 27 (region A) of the BRCA2. In performed molecular genetic analysis were identified mutations c.181T> G (C61G), c.5263\_5264insC (5382insC) and c.5946delT (6174delT). The highest frequency at 23.73% (14/59) was established on c.5263\_5264insC mutation in exon 20 of the BRCA1 gene. Of the patients with a HBOC, 13.6% (8/59) developed ovarian cancer, 8.46% (5/59) developed breast cancer and 1.69% (1/59) were a cancer of the fallopian tubes. Mutations c.181T> G in BRCA1 and BRCA2 in 5946delT been established in patients developed bilateral breast cancer and subsequently developed and ovarian cancer. This project is the next step to determine the proportion of pathogenic mutations in the BRCA genes in patients with hereditary breast and ovarian cancer in the Bulgarian population

### **Contract 55/2014 Investigation the role of HPV in pathogenesis of oesophageal carcinoma in Bulgarian patients**

**Leading scientist:** Assoc Prof. Oleg Georgiev Cholakov, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Alexander Tcherveniakov, MD, PhD
- Assist Prof. Gabriela Manova, MD, PhD
- Chief Assist. Nia Sarbianova, MD
- Assist Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD
- Chief Assist. Atanaska Mitkova, PhD
- Assist. Prof. Todor Djendov, MD
- Gergana Stancheva, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty Medicine, Dept. of Urgent Medicine

**RESULTS:** Oesophageal carcinomas (EC) are characterized by a high mortality rate. Human papillomavirus (HPV) as a risk factor for esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) has previously been studied, but importance of HPV status in ESCC for prognosis is less clear. Furthermore it has not been previously studied in Bulgarian patients with EC. A total of 20 specimens with oesophageal carcinomas were tested by digene HPV Genotyping RH Test kit and PCR reactions with GP5+/GP6+ and MY09/MY11 primers. We could not find anyone with HPV infection from the investigated samples, most likely due to the small size of the study group. However analysis of clinicopathological parameters revealed a correlation between the histology diagnosis SCC and BMI ( $\rho=-.602$ ,  $p=0.005$ ), presence of near lymph nodes ( $\rho=-.722$ ,  $p=0.002$ ) and more distant metastasis ( $\rho=-.457$ ,  $p=0.043$ ), tumour localization ( $\rho=-.707$ ,  $p<0.001$ ) and presence of familial history of cancer ( $\rho=-.480$ ,  $p=0.032$ ). The presence of family history with malignant disease showed a positive correlation with the appearance of lymph nodes metastasis ( $\rho=0.612$ ,  $p=0.012$ ), whereas an

ionization radiation showed an association with more distant metastasis process ( $\rho = 0.610$ ,  $p = 0.006$ ).

### **Contract 56/2014 Expression analysis of miRNAs let-7a, miR-21 and miR-205 in Bulgarian patients with non-small cell lung cancer**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Yanina Georgieva Slavova – Marinova, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Dr. Dimitar Kostadinov, MD, PhD
- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Assist. Prof. Dr. Dora Marinova, MD, PhD
- Gergana Stancheva, MSc
- Darina Kachakova, MSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pathomorphology, Specialized Hospital for Active Treatment of Pulmonary Diseases „Saint Sofia“

**RESULTS:** Micro RNAs (miRNAs) are the most actively studied molecules in cancer, since their altered expression has been confirmed in a number of pathophysiological mechanisms. A large number of miRNAs with altered expression in lung tumors were reported and have been explored as biomarkers for tumour diagnosis, prognosis and prediction of response to treatment. In the present study we analysed the expression of miR-21 in tumour and normal tissue samples of 26 Bulgarian patients with non-small cell lung carcinomas (NSCLC). RNA was isolated and converted to cDNA using miRNeasy Mini kit and miScript RT II kit (Qiagen). Quantitative real-time PCR was carried out on ABIPrism 7900HT (Applied Biosystems) apparatus with miScript Sybr Green PCR kit/miScript Primer Assays (Qiagen). Relative changes of miR-21 expression levels were calculated by  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method using RNU6B as reference control. We found an increased expression of miR-21 in NSCLC of Bulgarian patients which is in agreement with other studies. Moreover, the expression levels of miR-21 were able to distinguish adenocarcinomas from squamous cell carcinomas with high reliability (83.3% sensitivity and 71.4% specificity). No correlations of the miRNA with clinicopathological characteristics were observed. In conclusion miR-21 has a potential of diagnostic biomarker for NSCLC in clinical practice.

**Scientific publications and presentations:**

- Kachakova D, Mitkova A, Stancheva G, et al. Expression analysis of miR-21 in Bulgarian patients with non-small cell lung cancer. 6th Croatian Congress of Human Genetics with International Participation. Split, Croatia. November 5-7, 2015.

### **Contract 57/2014 Analysis of the consequences of structural aberrations affecting the LPP, CFHR1 and CFHR3 genes on nucleotide level**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Anelia Hristova Boueva, MD, PhD

**Research team:**

- Assist. prof. Olga Beltcheva, PhD
- Assist. prof. Galia Zlatanova-Rashkova, MD
- Valentin Penchev, MSc. PhD student
- Daniela dacheva, MSc, PhD student

- Assoc. prof. Radka Kaneva, PhD
- Acad. prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, SBAL Childhood diseases “Prof. Ivan Mitev”, Paediatric Nephrology and Dialysis Clinic

**RESULTS:** The aim of the current project was to confirm chromosomal aberrations identified in patients with congenital anomalies of kidney and urinary tract. We applied a modified version of chromosome walk and long-range PCR to study two families with deletions in 1q31.3 (*CFHR1* and *CFHR3* genes) and 3q28 (*LPP* gene) respectively. We confirmed the 1q31.3 deletion and determined that it starts 5' from *CFHR3* and ends in the 3' end of *CFHR1*. The neighbouring *CFH*, which codes for the complement factor H, remains unaffected. The localisation of the deletion is similar to that described by others, which allows us to conclude that the family has a genetic variant, relatively common in Caucasians, associated with an increased risk of atypical haemolytic uremic syndrome. This result does not allow us to exclude the observed mutation as an additional factor contributing to the pathological phenotype described in the patients. The approach we chose to analyse the 3q28 deletion did not yield results, because the defect was heterozygous. In order to better evaluate the role of this genetic defect in the aetiology of the disease in this case we would need to study the effect of the aberration on RNA level.

**Scientific publications and presentations:**

- Beltcheva O. Penchev V. Genetics of nephrological disorders in children. Annual symposium “acad. Chudomir Nachev”, Sofia, 25 October, 2014, p 16.
- Penchev V, Boueva A, Zlatanova G, et al. Different types of mutations are responsible for expression of CAKUT phenotype in Bulgarian population, ESHG Conference, Glasgow, UK, 12-16 June, 2015, pp. 388-389

### **Contract 58/2014 Mutation screening of Bulgarian patients affected by retinal degeneration**

**Leading scientist:** Prof. Sylvia Zdravkova Cherninkova, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Ivailo Tournev, MD, PhD, DSc
- Kunka Kamenarova, PhD
- Daniela Dacheva, PhD student
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurology, University Hospital

**RESULTS:** Twenty patients with retinal dystrophies, a group of inherited diseases highly heterogeneous, were examined for detection of mutations and evaluation of mutation frequency in Bulgarian population. The purpose of the study was to find out the causative mutations in 9 patients with autosomal-dominant Retinitis pigmentosa (adRP), 3 patients with autosomal-recessive RP, 1 patient with X-linked RP (XIRP), 2 patients with autosomal-dominant cone-rod dystrophy (CORD), 1 patient with autosomal-recessive CORD, 2 patients with syndromic RP (Usher syndrome), and 2 patients with macular degeneration. Candidate genes for screening were selected based on frequency, inherited model and phenotype. Sanger sequencing of *RHO* and *PRPF31*, and mutation hotspot regions of *PRPH2*, *IMPDH1*, *TOPORS* and *RPGR-ORF15*, followed by segregation analysis, was applied for determining the implication of found mutations in the pathology. A pathogenic variant, c.C800T in *RHO*,

was found to segregate with disease in one adRP pedigree, representing a mutation rate of 8.3% (1/12). Other mutation in *RPGR*, c.ORF15+652\_653delAG, was detected in four families with XIRP, three of which were initially diagnosed by adRP. Overall, applying Sanger sequencing 5 families were characterized rendering a mutation detection rate of 25% (5/20). Of them, 20% (4/20) displayed mutation in X-linked gene (*RPGR*).

**Scientific publications and presentations:**

- Cherninkova S, Kamenarova K, Mitev V, et al. Clinical findings in members of a Gypsy family with retinitis pigmentosa caused by c.2405\_2406delAG mutation in *RPGR*. 15th EURETINA Congress - Nice 2015. Nice, France. 17-20 September. POS-6582.

**Contract 61/2014 Role of the polymorphisms in the CD3Z gene for the etiology and pathogenesis of dermatomyositis in Bulgaria**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Lubomir Asenov Dourmishev, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Zornitsa Kamenarska, PhD
- Maria Hristova, MD, PhD
- Gyulnas Dzhebir

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Dermatology and Venereology

**RESULTS:** This was a case-control study aiming to investigate the association of two polymorphisms in the *CD3Z* gene (837C>G, rs1052230 и 844A>T, rs1052231) with the etiology of adult dermatomyositis in Bulgarian patients. The cohort consisted of 36 patients with adult dermatomyositis, 52 controls with system lupus erythematosus and 95 healthy unrelated controls who matched the patients on terms of age, gender and ethnicity. The polymorphisms were determined by real-time PCR (TaqMan) analysis. None of the two polymorphisms appeared associated with the diseases. We have found the -837GG genotype and the G allele associated with hematological disease (p=0.004, OR 13, 95% CL 1.5-109.5; p=0.004, OR 10.9, 95%CI 1.4-86.7). The -844AA genotype and the A allele appeared associated with the hematological disease as well (p=0.0004, OR 20.6, 95% CI 2.4-174.4; p=0.0007, OR 14.6, 95%CI 1.9-115). The -843AA genotype and the A allele were found associated with ANA (p=0.02, OR 4.9, 95% CL 1.3-17.9; p=0.048, OR 2.8, 95%CI 1-8). An association was found between the -844A allele and immunological disease (p=0.048; OR 2.8, 95% CI 1-7.9) and between the -837G allele and arthritis (p=0.04; OR 3.1, 95%CI 1-9.4). The AG haplotype was found associated with hematological disease (p=0.003), ANA (p=0.05) and immunological disease (p=0.05). An increased frequency of the genotypes GC (p=0.036, OR 8.9, 95%CI 0.94-78.7) and AT (p=0.034, OR 5.9, 95%CI 1.1-32.9) and the alleles C (p=0.047, OR 6.8, 95%CI 0.8-57.8) and T (p=0.05, OR 4.4, 95%CI 0.9-21.7) was found among the DM patients with photosensitivity.

**Scientific publications and presentations:**

- Kamenarska Z, Hristova M, Dourmishev L. Role of the TCR $\zeta$  chain of the TCR for the development of the systemic lupus erythematosus. Med Magazine 2014, 4, 98-9.

**Contract 66/2014 Utility of serum biomarkers for assessment of severity and effect of antibiotic therapy in hospitalized children with community-acquired pneumonia****Leading scientist:** Assoc. prof. Milena Georgieva Velizarova, MD, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Iren Tzotcheva, MD, PhD
- Prof. Penka Perenovska, MD, PhD, DSc
- Assist. Adelina Tzacova, MD
- Liljana Rajcheva, MD
- Snejana Parina, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Genetics

**RESULTS:** 50 children, mean age 9 years and 1 month are included. Whole blood picture and serum hsCRP, PCT and sTREM-1 are tested on admission and 5 days after the beginning of the venous antibiotic therapy. Positive correlation between hsCRP and PCT ( $r=0.81$ ,  $p=0.000$ ), leukocytosis and neutrophilia ( $r=0.44$ ,  $p=0.002$ ) was found. The levels of hsCRP were significantly elevated in children with severe clinical picture, infiltrative pneumonia and pleurisy. PCT on admission was significantly higher in children with fever, lasting more than 72 hours after the beginning of the venous antibiotic therapy. Serum hsCRP and PCT levels were significantly lower in patients who have undergone antibiotic therapy before the hospitalization; hsCRP 122mg/l vs. 33mg/l,  $p=0.004$  and PCT 8ng/ml vs. 0.2ng/ml,  $p=0.001$ . CRP and PCT contribute to the assessment pneumonia severity, but for sTREM-1 we didn't find significant correlations.

**Scientific publications and presentations:**

- Tzotcheva I. Serum biomarkers in pneumonia. MEDICAL Magazine, 2015, 17:8-10.
- Tzotcheva I, Isaev V, Parina S. et al. Utility of serum biomarkers for assessment of severity in hospitalized children with community-acquired pneumonia. Med Rev. 2015;51(5):27-32.
- Tzotcheva I, Velizarova M, Tzacova A et al. Assessment of PCT, hsCRP and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells (sTREM-1) in hospitalized children with community-acquired pneumonia. IX-th National conference with international participation. Botobez. 10-12.09.2015
- Tzotcheva I, Isaev V, Parina S. et al. Utility of serum biomarkers for assessment of severity in hospitalized children with community-acquired pneumonia. Presentation. XIII Congress of pediatrics. Nessebar. 28-31.05.2015

**MEDICO-CLINICAL AREA****Contract 1/2014 iNO treatment of extremely low birth weight infants with pulmonary failure****Leading scientist:** Prof. Boriana Petrova Slancheva, MD, PhD

**Research team:**

- Assit. Prof. Petya Radulova, MD
- Assit. Prof. Lilia Vakrilova, MD, PhD
- Assit. Prof. Tania Pramatarova, MD, PhD
- Assit. Prof. Nina Yarakova
- Assit. Prof. Stanislava Hitrova-Nikolova, MD, PhD
- Assit. Prof. Zdravka Drenkova, MD
- Assoc. Prof. Neli Jekova, MD, PhD
- Assit. Prof. Aneta Popivanova, MD
- Gergana Vasileva, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetrics and gynecology, University Hospital “Maichin dom”, Clinic of Neonatology, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Inhaled nitric oxide is a pulmonary vasodilator. The drug has been used since 1992 and from 1999 is the drug of choice for treatment of Persistent pulmonary hypertension in newborns /PPHN/. At this moment its usage in premature infants is quite uncertain. In 2006 Ballard et al. published in New England Journal of Medicine that prolonged inhaled nitric oxide (iNO) from birth in preterm neonates with BPD improves endogenous surfactant function as well as lung growth, angiogenesis, and alveologenesi. As a result there is a reduction in the frequency of the “new” form of BPD in neonates under 28 weeks of gestation and birth weight under 1000 gr. Delivery of inhaled nitric oxide is a new method of prevention of chronic lung disease. According to a large number of randomized trials iNO in premature neonates reduces pulmonary morbidity and leads to a reduction of the mortality in this population of patients. This new therapy does not have serious side effects. iNO was used in ten newborns in the NICU. We delivered the drug, according to an official protocol, which was established in advance. During the treatment the general condition of the newborns was monitored and recorded. We report the following results, after completing the project: - The delivery of iNO is easy and do not interfere with other therapeutic procedures. - This new therapy does not have serious side effects. - We report the following positive results: reduction of the severity and frequency of BPD; reduction of the duration of the hospital stay; reduction of the cost of hospital stay; reduction of the pulmonary morbidity and lethality during the neonatal and postneonatal period. - Based on the scientific project we established two protocols for treatment with iNO. The first protocol is for treatment of ELBW infants with iNO for prevention of BPD. The second protocol is for treatment of PPHN with iNO. The protocols enable the standardization of the new therapy. iNO is used for the first time in Bulgaria in newborns without cardiac diseases. iNO is used for the first time in Bulgaria in ELBW infants for treatment and prevention of BPD. For the first time in Bulgaria is proven the positive effect of iNO in neonates with PPHN.

**Scientific publications and presentations:**

- Radulova P, Slancheva B, Marinov R. Treatment of extremely premature newborn infant with iNO. Clinical case. J Obstetrics and Gynecology. 2015;54(9):52-7.
- Radulova P, Vakrilova L, Slancheva B. Brochopulmonary dysplasia-what do we know today? J Obstetrics and Gynecology. 2015;54(9):37-43.
- Radulova P, Slancheva B, Vakrilova L et al. iNO treatment of extremely low birth weight infant with bronchopulmonary dysplasia. Current problems in neonatology-pulmonary pathology. Varna-Golden sands. 2-4.10.2015.
- Radulova P, Slancheva B, Vakrilova L et al. iNO treatment of extremely low birth weight infant with bronchopulmonary dysplasia. XII World Congress of Perinatal Medicine. Madrid-Spain. November 3-6<sup>th</sup>, 2015.

**Contract 4/2014 NGAL, IL-18, and KIM-1 in urine for early assessment of the risk of developing acute kidney injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass****Leading scientist:** Prof. Kamen Nikolaev Tzatchev, MD, PhD, DSc

- Assist. Prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD
- Antoaneta Dimitrova-Karamfilova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, University Hospital “Alexandrovska”**RESULTS:** NGAL, KIM-1, and IL-18 in urine are sensitive quantitative markers for early diagnosis of acute kidney injury (AKI). The purpose of this study was to demonstrate the role of uNGAL, uKIM-1, and uIL-18 for early assessment of renal function. Measurement of structural markers during the first hours after ECC in patients undergoing CPB allows detection of AKI much earlier than measurement of serum Creatinine (48 hours following surgery). Early diagnosis and risk stratification of developing AKI are critical for adequate therapy. Results were presented as ratios to creatinine in urine allowing better comparability and reliability for variations of instant samples were compensated. Results of the ROC analysis of uNGAL/uCreat, uKIM-1/uCreat, and uIL-18/uCreat 2 – 6 hours post-ECC demonstrated highest area under the receiver operator characteristic curve for uKIM-1/uCreat-0.85 (95% CI 0.75 – 0.95,  $p < 0.01$ ). uIL-18/uCreat achieved similar results- AUC 0.83 (95% CI 0.72 – 0.94,  $p < 0.01$ ). The diagnostic performance of uNGAL/uCreat showed AUC 0.78 (95% CI 0.71 – 0.85,  $p < 0.01$ ). Using a combination of structural and functional markers demonstrated the highest predictive value for the risk of developing AKI compensating the shortcomings of independent measurements of single markers.**Scientific publications and presentations:**

- Hristova J, Dimitrova A, Tsaryanski G, et al. Early urinary biomarkers for assessment of the risk of developing acute kidney injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass.- abstract submitted for a presentation at IX National Conference of Clinical Laboratory Sep 10-12. 2015, Borovets
- Hristova J, Dimitrova A, Tsaryanski G et al. NGAL, IL-18, and KIM-1 in urine for early assessment of acute kidney injury in patients undergoing cardiopulmonary bypass. Merit Res. J. Med. Med. Sci. 2015;3(6):228-32.

**Contract 16/2014 Presence of gene polymorphism of main cytokines: interleukin 6 (IL-6) - allele-174 and -597, tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) (TNF- $\alpha$ ) - allele - 308, and lymphotoxin-  $\alpha$  (LT- $\alpha$ ) in relationwith the chronic periodontitis****Leading scientist:** Prof. Christina Lazarova Popova, MD, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Velitchka Dosseva-Panova
- Maja Kicheva, PhD, Progen, LTD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Periodontology; 1 George Sofiiski Str., 1431 Sofia**RESULTS:** Periodontitis is a chronic inflammatory disruption of the periodontal supportive tissues. There are the numerous evidences for his bacterial etiology. Though the occurrence of periodontal bacteria is considered to be the main cause of periodontitis, certain characteristics of the individual immune response may also have influence on the disease development and progression, and on the treatment outcomes. There are some reports that attempt to identify genetic factors associated with periodontitis including polymorphisms of interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) genes [1,2,3,4]. We



were interested from the distribution of several genotypes of the cytokines: interleukin-6 - (G-174C) and (G-597A), lymphotoxin-  $\alpha$  (A+252G), and tumor necrosis factor-alpha (G-308A) in patients with chronic periodontitis. The study included 30 patients with moderate or severe chronic periodontitis, and 10 persons with healthy periodontium. The average age of study participants was  $43,08 \pm 14,29$  years. Following the conventional periodontal examination clinical parameters – hygiene index, BoP (gingival bleeding index – bleeding on probing), PD (probing depth), CAL (clinical attachment loss) were recorded for the diagnosis. The subjects with periodontitis were divided into two groups of different disease severity based on CAL. Total genomic DNA was extracted from the buccal epithelial cells. TNF-A (G-308A), IL-6 (G-174C), IL-6 (G-597A) and LT-A (A+252G) genes polymorphisms were analyzed by Polymerase chain reaction (PCR). PCR amplified products were directly digested with respective restriction enzymes (10U for Hin1II and 20U for BseGI and NcoI). The size of both, the amplified DNA fragments (ND controls), and bands cleaved with restriction enzymes, was determined electrophoretically using 3% agarose gel (Thermo Scientific) stained with ethidium bromide (Sigma Aldrich) and Thermo Scientific GeneRuler Low Range DNA Ladder.

The clinical parameters were analyzed among the selected patients (Table 3). Significant correlation between HI and PD, CAL and bone loss was observed. Similar results with a significant importance between PD and CAL, PD and Bone loss, and also between CAL and Bone loss was determined in this study. The results obtained in this study showed that the periodontitis severity may be predicted base on LT-A (A252G) genotype. The total accuracy of conducted predictive model based on logistic regression was 70%. Following model has showed that the severe periodontitis have more frequently LT-A (A252G) AG genotype, whereas AA genotype was related with the moderate periodontitis. In the present study was found an increased presence of IL-6 (G-174C) G/G genotype and we may conclude that G homozygous subjects (GG) were significantly more affected by periodontal disease than individuals who carry the C allele that was a great distribution in healthy individuals. Regarding gene polymorphism of IL-6 -597 our results showed a prevalence of IL-6 (G-597A) GA genotype in healthy group and in moderate periodontitis group and thence may be related with the protective factors associated with lower susceptibility to chronic periodontitis. As regards to TNF-A (G-308A) gene polymorphism in the present study G homozygous subjects were significantly more affected by periodontal disease than individuals who carry the A allele. the assessment IL-6 (G-597A) and IL-6 (G-174C), and TNF- $\alpha$  (G-308A) revealed that genotype GG was moderate associated with chronic periodontitis in Bulgarian individuals. As a result of these findings we may suppose that the G allele may play an important role in the development and progression of periodontal disease in this population. The frequency of LT-A (A252G) was significantly greater in severe periodontitis patients in this study. However our investigation was limited on the number of subjects included. For that reason we may present our results only as a tendency or prevalence in determined genotypes of investigated genes without an important significance. At present, the results obtained in this study suggest that further studies are needed on gene polymorphisms of the major cytokines that are known to be involved in the protective–destructive immune response in periodontal diseases for definite conclusion.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Dosseva-Panova V, Mlachkova A, Popova C. Gene polymorphisms in periodontitis. *Biotechnol & Biotechnol Eq.* 2015;29(5):834-9.
- Dosseva-Panova V, A Mlachkova, C Popova, et al. Evaluation of interleukin-6, Lymphotoxin-alpha and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in chronic periodontitis. 25-th Jubilee Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria (IMAB)14 - 17 May 2015, Varna, Bulgaria, Poster

- Dosseva-Panova V, Mlachkova A, Popova C, et al. Evaluation of interleukin-6, Lymphotoxin- $\alpha$  and TNF- $\alpha$  gene polymorphisms in chronic periodontitis. JIMAB 2015;21(3):868-75.

**Contract 18/2014 Role of bacterial translocation, sCD14 secretion and subsequent systemic inflammatory reaction for the course and therapeutic response in patients with chronic hepatitis B and C**

**Leading scientist:** Prof. Rossen Kirilov Nikolov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Lyudmila Vladimirova, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Aneta Ivanova, MD, PhD
- Lyudmila Kancheva, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, UMBAL “Sv. Ivan Rilski” Ltd., Clinic of Gastroenterology

**RESULTS:** We observed a correlation in cirrhotic patients between systemic inflammatory activity (presented by hsCRP) and the levels of liver transaminases and GGT, irrespective of the viremia. The immune activation (measured by sCD14) correlates significantly with transaminase levels and hsCRP, also irrespective of the viremia. Systemic inflammatory activity and immune activation in the general group did not correlate with insulin resistance. In treatment naïve patients the immune activation and systemic inflammatory activity are in correlation with liver inflammatory activity, irrespective of the insulin resistance and viremia. Among the patients with null viremia on antiviral therapy these correlations were not observed. In the group of cirrhotic patients we observed a significant correlation between systemic immune activation (measured by sCD14) and transaminase and BMI levels. We did not find a statistically significant correlation between sCD14 or hsCRP with the severity of liver fibrosis or cirrhosis and the presence of steatosis. We did not observe a correlation between their levels and systemic insulin resistance as well.

**Contract 19/2014 Investigation of the cytokine profile in HIV-infected patients with established deficiency of vitamin D**

**Leading scientist:** Proff. Tatyana Petrova Penkova – Tcherveniyakova, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Maria Nikolova, MD, PhD, DSc
- Assist. Prof. Nina Yancheva, MD, PhD student
- Ivaylo Elenkov, MD, PhD
- Marina Alexandrova, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine. Department for treatment of AIDS, Specialized Hospital for Infectious and Parasitic Diseases “Proff. Ivan Kirov”

**RESULTS:** The aim of this study was to assess connection between 25(OH) D (vitamin D) status and plasma levels of some major cytokines (IL-2,-4,-6,-10, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ) in Bulgarian HIV-infected patients. The study includes 60 HIV – positive patients, who are being monitored and treated with antiretroviral therapy in the Department for acquired immune deficiency. From the tested patients 81,6 % (n=49) were with 25 (OH)D values lower than the normal, only 18,4 % (n=11) of the patients had normal 25(OH)D values. On the next stage of the survey we defined the cytokine profile (concentration of the cytokines IFN $\gamma$ ,

TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 in the plasma). In order to determine the cytokine profile the patients were divided into two subgroups. In one of the subgroups (30 people), determining the cytokine profile does not have an additional stimulation of blood samples. In another subgroup (30 people), determining the cytokine profile was done after 18-hour long stimulation of the blood samples with phytohaemagglutinin. Our results suggests that increasing 25(OH)D deficiency worsens the damaging of the cellular immune response. The lower levels of 25(OH)D are associated with increased levels of IL-6, decreased levels of IL-10, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ . There's active immune inflammation when there are reduced 25 (OH)D serum levels and it leads to stimulated secretion of the regulatory cytokines and suppression of the Th1 antiviral response. The phase of advanced 25(OH)D deficit is characterized by parallel depletion of the regulatory and effector capabilities of CD4 lymphocytes. The recovery of the CD4 lymphocyte pool is difficult because of the lower than average 25(OH)D serum levels, regardless of the conducted antiretroviral therapy.

**Scientific publications and presentations:**

- Yancheva N. Complications of antiretroviral therapy in HIV- infected patients- Vitamin D deficiency. PhD thesis. Sofia, 2015.
- Alexandrova M, Yancheva N, Angelova O, et al. Induced cytokine profiles in Vitamin D deficient HIV infected individuals. Thirteen National Congress of Clinical Microbiology and Infections of Bulgarian Association of Microbiologist. Sofia, April 16-18, 2015. 48.
- Angelova O, Alexandrova M, Yancheva N, et al. Vitamin D insufficiency affects IL-10 mediated regulation of cellular immunity. Third Belgrade EFIS Symposium of Immunoregulation. Immunity, Infection, Autoimmunity and Aging. Belgrade, May 24-27, 2015.89.
- Yancheva N, Tcherveniyakova T, Elenkov I, et al. Deficiency of Vitamin D in HIV infected patients and its effect on some of the immunological and biochemical parameters. X – th National Meeting of Infectious Diseases, Tryavna, October, 8-10, 2015.

**Contract 24/2014 Prediction and visualization of the treatment changes of facial profile in patients skeletal class II treated with functional appliances**

**Leading scientist:** Prof. Laura Stefanova Andreeva-Gurgurieva DDS, MDS, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Yana Popova
- Assist. Prof. Vladimir Bogdanov
- Assist. Prof. Martin Mariyanov

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Orthodontics

**RESULTS:** Correction of occlusal relationship of the patient class II in this study is related to skeletal and soft tissue changes, reviewed in the following sequence: Saggital skeletal changes: We observed permanent normalization in skeletal relationship and ANB angle decrease in value in both patients groups. We have increasing SNB angle values and minor SNA angle changes. The improvement was due to increased medially directed growth of lower jaw and insignificant saggital changes in upper jaw, confirmed by considerably greater linear growth of the mandible relative to the maxilla. Vertical skeletal changes: Treatment changes of the angle used to assess the vertical growth are insignificant in most patients. Treatment with removable functional appliances doesn't have a big influence on vertical skeletal pattern. Dentoalveolar changes: Results show decreased SN/I angle values, which means that the appliances are indicated in treatment of protrusive upper incisors. On the other

hand, lower incisors were protruded and MP/i angle increased during treatment, which means that those appliances are indicated in cases with retrusive lower incisors. Soft tissue changes: There is an increase in the angular value for facial convexity. Soft tissue profile becomes more balanced after functional treatment.

**Scientific publications and presentations:**

- Popova Y. Soft and hard tissue changes during treatment with removable functional appliance of class II, 21<sup>th</sup> BASS 2016, 12-15 May, p.258-pp225
- Popova Y. VTO of soft and hard tissue changes during class II treatment with removable functional appliance. 3<sup>th</sup> MOS 2016, 12-15 May, p.116-117-op05

**Contract 25/2014 Influence of vitamin D3 related genetic polymorphisms on the development and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Alexey Slavkov Savov, PhD

**Research team:**

- Prof. Zlatimir Kolarov, DSc
- Prof. Rasho Rashkov, DSc
- Silvia Andonova-Baklova
- Dobromir Tanev, PhD student
- Ass. Prof. Ralitsa Robeva, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Department of obstetrics and gynaecology, UHOG „Maihin dom”

**RESULTS:** Vitamin D3 receptor (VDR) is a ligand-dependent transcription factor involved in the regulation of calcium homeostasis. Recent data have shown the modulating effects of the vitamin D3 – VDR complex on the immune response. Despite multiple studies the role of VDR polymorphisms for the autoimmune diseases is still not clarified. Therefore, the present study aimed to investigate the influence of VDR FokI (rs2228570) and BsmI A/G (rs1544410) as well as other SNP gene polymorphisms related to vitamin D metabolism such as CYP2R1 G/A (rs10741657) and CYP27B1 C/A (rs10877012) on the onset and clinical manifestation of systemic lupus erythematosus (SLE) in women. A total of 106 patients with lupus and 114 healthy women were genotyped for the aforementioned polymorphisms through PCR RFLP method. The results showed that VDR BsmI and FokI were not associated with the development of the autoimmune disease. Both polymorphisms were related to mild skin symptoms of lupus but not to severe organ damages. CYP2R1 G/A (rs10741657) and CYP27B1 C/A (rs10877012) were not important risk factors for the SLE onset, but CYP2R1 rs10741657 polymorphism was associated with the presence of discoid rash and immunological disturbances in the investigated female SLE patients. In conclusion, the investigated vitamin D3 related genetic polymorphisms are not risk factors for the development of systemic lupus, but the VDR BsmI, VDR FokI and CYP2R1 rs10741657 polymorphisms could modulate the SLE clinical manifestation.

**Scientific publications and presentations:**

- Tanev D, Andonova S, Robeva R, et al. VDR BsmI polymorphism in women with systemic lupus erythematosus. Rheumatology, 2015;2.

**Contract 39/2014 Investigation of the spectrum of microorganisms associated with bacterial vaginosis and vulva-vaginal candidiasis in pregnant and their role in complications in childbirth and fetus**

**Leading scientist:** Corr. Member Prof. Ivan Gergov Mitov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Vessela Raykova, PhD
- Assit. Prof. Radoslav Baykushev

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** Improper diagnostic procedure of BV and VVC during pregnancy leads to complications in woman and fetus. Development of algorithm for microbiology diagnostic procedure of BV and VVC. Vaginal secretions of 115 pregnant women with complaints were studied. Gram and PAP stains were prepared. Swabs were cultured on media for isolation of bacteria and fungi. Identification with API Candida and API 20CAUX was used. PCR was performed to demonstrate different fungi and anaerobes. Of all the 115 materials in 57 (49.6%) infection was established by microscopy and cultivation. 48 showed microscopic and culture data for aerobic infection. 9 swabs were with anaerobic infection detected only through a microscope. The cultivation showed 64 isolates - 26 (40.6%) Gram positive, 5 (7.8%) Gram negative and 33 (51.5%) fungi. VVC was proven microscopically and by culture in 33 (28.6%) pregnant women. Using biochemical identification and assimilation tests *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei* were detected as follows: in 29 (87,9 %) samples, in 3. (9%) swabs and in 1 (3%) specimen. All positive for infection materials were subjected to PCR. The conventional tests and PCR gave identical results. Accurate microbiological diagnosis is a guarantee of correct therapy and prevention of undesired complications in pregnant and would give birth to a healthy child.

**Scientific publications and presentations:**

- Baykushev R, Raykova V, Mitov I, et. all Application of the conventional and molecular methods in the diagnostic algorithm of vulvovaginal candidiasis Med Rev 2015;3:39-43.

**Contract 46/2014 Methodology of obtaining and conserving tumor tissue samples for establishment of tissue biobank of carcinomas of colon, stomach and thyroid gland**

**Leading scientist:** Prof. George Todorov Todorov, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof Kostadin Angelov, MD
- Mariela Vasileva, MD, PhD student
- Konstantin Grozdev, MD, PhD student
- Mohamed Hyat, MD, PhD student
- Assit. Prof. George Velev, MD, PhD
- Assit. Prof. Anton Koichev, MD, PhD
- Assit. Prof. Nikolai Goranov, MD, PhD student
- Assit. Prof. Nikolai Katev, MD, PhD
- Assit. Prof. Kamen Pirinski, MD
- Assit. Prof. Vencel, Mladenovski, MD
- Assit. Prof. Sleveiko Minev, MD
- Assit. Prof. Veselin Ilinov, MD

- Assit. Prof. Svetoslav Toshev, MD, PhD
- Assit. Prof. Manol Sokolov, MD, PhD
- Assit. Prof. Svilen Masliankov, MD, PhD student
- Vasil Pavlov, MD, PhD
- Assit. Prof. Ilija Fidoshev, MD, PhD student
- Assit. Prof. Petar Gribnev, M.D
- Acad. Prof. Vanio Mitev, PhD, DSc
- Assoc. Prof Radka Kyneva PhD
- Assit. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Daniela Dacheva, PhD student
- Rumiana Dodova, PhD
- Prof. Svetlana Hristova, MD, PhD
- Assit. Prof. Aleksandrina Vlahova, MD
- Assit. Prof. Tihomir Dikov, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty medicine, Dept. of surgery

**RESULTS:** The presented biobank consist of tissue and blood samples from 50 patients – 35 women and 15 men, diagnosed and treated from June 2014 to December 2015 in the Clinic of surgery “Aleksandar Stanishev”, Aleksandrovska University Hospital. We investigated the histological type, localization of the process, the family history and some of the well-known risk factors. The 6 patients admitted in to the hospital with diagnosis of thyroid cancer were between 39 and 64 years old. In 5 of them the tumor was localized in the left lobe. Only one patient had a family history of thyroid cancer. In 4 of the patients fine needle aspiration biopsy was performed preoperatively. The results suspects present of cancer in one of the patients. In 1 patient the primary tumor could not be defined. The created biobank is the basis for the future development in the field of cancer research.

**Scientific publications and presentations:**

- Vasileva M, Angelov K, Dacheva D, et al. Annual report of the Medical University of Sofia cancer biobank. Scripta Scientifica Medica 2015;47(1):58-9.

### **Contract 48/2014 Pilot investigation of photosensitizing action of ingredients of dental materials among dental patients and dentists, suspected of suffering from chronic photochemical dermatitis**

**Leading scientist:** Prof. Angelina Kisselova-Yaneva, DDS, PhD, DSc

**Research team:**

- Acad. Prof. Bogdan Petrunov, MD, PhD, DSc, BAS
- Assoc. Prof. Georgi Nikolov, MD, PhD, NCIPD
- Assoc. Prof. Maria Dencheva-Garova, DDS, PhD
- Assit. Maya Lyapina, MD
- Assoc. Prof. Assya Krasteva-Panova, DDS, PhD
- Mariana Tzekova-Yaneva, DDS, PhD
- Assoc. Prof. Mariela Yaneva-Deliverska, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Oral and Image Diagnostic

**RESULTS:** In the present pilot study we aimed and, for first time in Bulgaria, conducted an assessment of the occurrence and the incidence of contact photosensitization to selected chemical agents with photosensitizing capacity as ingredients of the dental composites, to

selected UV filters, to some non-steroidal anti-inflammatory agents, and to antiseptic agents among dental professionals and dental patients. No reactions of photosensitization to Methylhydroquinone and Camphorquinone were observed. No significantly increased incidence of photosensitization to the tested UV-filters among dental professionals was revealed as well. A slight photosensitizing action of BIS-GMA could be assumed, but since similar findings were not described in the available literature we consider that further investigations are needed to confirm such statement. Highest were the rates of contact sensitization to Triclosan, especially among men and dental patients, but no reactions of photosensitization were established. Our results indicate risk of sensitization to Triclosan in consumers, but not in occupational exposure. We could consider Ibuprofen as the second of importance allergen for all the groups defined by us, but no photosensitizing action was found. According to our results, Benzydamine hydrochloride is the only of the substances tested by us, exerting photosensitizing action, and dental professionals and women could be outlined as groups at risk. Basing on the results achieve, the present pilot investigation failed to demonstrate photosensitizing action of the tested by us substanses in dental practice. However, we consider categorically that to validate of the reliability of the findings above are needed additional studies, involving significantly higher number participants. The scientific results of the study can serve as a theoretical base for practical application of adequate preventive measures in both occupational and environmental exposure to photosensitizing agents. All this would provide a better occupational, medical and socio - economical prognosis and objective health status in dental practice.

**Scientific publications and presentations:**

- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Biological compatibility of dental materials – photosensitizing action. Dental magazine, 2015;2:46-9.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of photoallergic reactions to non-steroidal anti-inflammatory agents, chemicals used in dental composites and antiseptic agents among dental professionals. MedInform, 2015;2:165-74.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of photoallergic reactions to UV filters among dental professionals. Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences, 2015;4(2):1-8.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Photosensitization to ingredients of dental materials among dental professionals and students of dentistry. 25<sup>th</sup> Jubilee Annual Assembly of IMAB, Varna, Bulgaria. 14-17 May, 2015

**Contract 50/2014 Physical analgesia in patients with neurological, neurosurgical, rheumatologic, orthopedic and traumatic conditions (introduction of modern methods and comparative evaluation of the efficacy of application of TENS, LASER, FES with bio-feedback and Deep Oscillation in different types of pain - neuropathic, nociceptive, central, myofascial, ligamentar, post-operative)**

**Leading scientist:** prof. Dr. Ivet Koleva – Yoshinova, PhD, DSc

**Research team:**

- Diana Liudieva, MD
- Assen Hadjjanev, MD
- Assist. prof. Antoaneta Bayraktarova
- Assist. prof. Nikolay Krastev
- Assoc. prof. Dimo Krastev, PhD

**Organization unit:** MU–Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Rehabilitation and Ergotherapy

**RESULTS:** A total of 706 patients with pain due to diseases and conditions of the nervous and locomotory system were investigated. All patients effectuated a complex physical-therapeutic and rehabilitation programme; with a final effect reduction of pain complaints and amelioration of clinical patterns of patients. We explain: physical analgesia, pre-formed and natural physical modalities for analgesia, mechanisms of physical analgesia, algorithms for physical analgesia in patients with diseases of the locomotory and nervous system.

**Научни публикации и прояви:**

- Koleva I, Yoshinov R, Marinov M, et al. Efficacy of hydro-, balneo- and peloidotherapy in the pain management and quality of life of patients with socially-important diseases and conditions of the locomotory and nervous system: Bulgarian experience. *Balnea*, 2015 (10), Serie de Monografias; pp.273-4.
- Koleva I, Krastev N, Yoshinov R. Impact of balneotherapy and peloidotherapy in neurorehabilitation algorithm of patients with low back pain and lumbo-sacral radiculopathy – a comparative study. *Balnea*, Serie de Monografias; 2015;10:87-8.
- Koleva I. Impact of physical modalities in prevention and rehabilitation of diabetic polyneuropathy and neuropathic diabetic foot. International Conference on Targeting Diabetes and Novel Therapeutics, 14 - 16 Sep 2015 USA, Las Vegas.

**Contract 51/2014 Expression analysis of microribonucleic acids in peripheral blood and evaluating their diagnostic and prognostic value in patients with systemic lupus erythematosus**

**Leading scientist:** Assos. Prof. Dr. Simeon Valentinov Monov, MD, PhD

**Research team:**

- Assit. Prof. Russka Shumnalieva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Darina Kachakova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, UMHAT “St. Ivan Rilski”, Clinic of rheumatology

**RESULTS:** The levels of expression of miR-146a in peripheral blood were higher in 62,5 % of the SLE patients compared to healthy controls. miR-155 showed higher expression levels in peripheral blood of 50 % of the patients. ROC curve analysis showed that the expression levels of miR-146a (AUC-0.711, p=0.002) in PB better discriminate SLE patients from HCs with 82,5 % sensitivity and 56,2 % specificity in comparison to miR-155 (AUC-0.691, p = 0,005, 77,5 % sensitivity and 50,0 % specificity). Diagnostic accuracy did not improve much when combination of the studied miRNAs was used in multimarker ROC curve analysis (AUC-0.716, p = 0,002, 82,5 % sensitivity and 56,2 % specificity). miR-146a and miR-155 showed statistically significant correlation with diagnosis ( $r_s$  0.363 and 0.330, respectively) and age ( $r_s$  0.239 and 0.366, respectively). miR-155 showed also correlation with the presence of secondary Raynaud syndrome with Spearman correlation coefficient 0.250.

**Scientific publications and presentations:**

- Shumnalieva R, Kachakova D, Monov S, et al. miRNAs expression in Systemic lupus erythematosus, 36<sup>th</sup> European Workshop for Rheumatology Research, York, UK 25-27 Feb 2016 *Ann Rheum Dis* 2016;75(Suppl 1):8. Epigenetics, A8.05.



**Contract 54/2014 Investigation of the role of the peptide hormone hepcidine in the differential diagnosis of iron deficiency anemia and anemia of chronic disease in pregnancy****Leading scientist:** Prof. Asen Ivanov Nikolov, MD, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Vesela Karamisheva, MD
- Diana Jordanova, MD, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetrics and gynecology**RESULTS:** It is a prospective research, performed at the University hospital “Maichin dom”, Sofia, for the period of ten months (from August 2014 to June 2015). One hundred and seventy seven pregnancies are included. The samples are collected at the same daily time, because of literature data for round a clock hesitation in values of hepcidine. The investigated patients are divided in two groups: 81 pregnant women without anemia, divided in two subgroups of 40 patients in the second and 41 patients in the third trimester and 96 pregnant women, divided in two subgroups of 48 patients according to signs of iron deficiency and active inflammation. A “sandwich” ELISA method is used for determination of values of hepcidine. The color of reaction mixture is read photometric by 450 nm Anthos Zenyth 3100 Multimode Detector. Values of hepcidine in healthy pregnant women are average  $20,5 \pm 6,2 \mu\text{g/l}$ . In the group with anemia, 29 patients are with iron deficiency anemia ( hepcidine is  $1,9 \pm 0,5 \mu\text{g/l}$  ), 19 are with anemia of chronic disease ( hepcidine is  $108,2 \pm 5,3 \mu\text{g/l}$  ), and the most of this anemic group- 48, are with iron deficiency anemia and anemia of chronic disease together ( hepcidine is  $85,4 \pm 4,2 \mu\text{g/l}$  ). The concentration of hepcidine is the lowest in the group with iron deficiency anemia and the highest in the group with anemia of chronic disease. Values of hepcidine are intermediate in the group with both iron deficiency anemia and anemia of chronic disease.**Scientific publications and presentations:**

- Jordanova D, Nikolov A, Marinov B. Heparin- a new diagnostic marker in anemia in pregnancy. Obst Gyn. 2015;54(Suppl):22-5.

**Contract 59/2014 Rhinovirus- induced wheezing and antiviral immune response in children with family history of asthma.****Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivanka Galeva, MD, PhD**Research team:**

- Sirma Dimitrova, MD, PhD
- Milena Ivanova-Krastanova, MD
- Snejana Kandilarova, MD, PhD
- Prof. Elisaveta Naumova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics**RESULTS:** Human rhinovirus (HRV) is not only a major pathogen responsible for the common cold, but is it is considered to have a major role in the development of asthma exacerbation, asthma attacks, and even airway remodeling in asthmatics. The aim of the study was to assess the risk of relapse in children with rhinovirus-induced wheezing. In this prospective study, we assessed risk factors for recurrent wheezing in 126 children 3 to 36 mo aged hospitalised for acute episode of bronchial obstruction. HRV-RNA (all types) was assessed in the nasal washes by the method of Real Time PCR detection. Parents were interviewed 12 and 24 months after hospitalisation to check whether their infants experienced recurrent wheezing. HRV were detected in 14,3% of children. In follow-up after one year new

attacks had 14 (87.5%) of the children with a rhinovirus infection, compared to 52 (74%) of the HRV (-) group. After 2 years the distribution was as follows: with persistent wheezing - 12 (75%) of the HRV (+) children against 38 (53%) HRV (-). Children hospitalized with rhinovirus have 2.7 times higher risk (95% CI 0,47-15,1) of persistent wheezing after 2-th year and expression of asthma. Our data strengthen the role of rhinovirus-associated wheeze as an important risk factor for recurrent wheezing and asthma in children.

**Scientific publications and presentations:**

- Mileva S, M Yankova, I Galeva, et al. Rhinovirus infections and recurrent wheezing in early childhood. Medical magazine 2015;18
- Galeva I, S Mileva, M Yankova, et al. Human rhinovirus infection in young children hospitalized with acute wheeze in Bulgaria. European Society for Pediatric Infectious Diseases, 33Annual Meeting, Leipzig, Germany, 12-16 May 2015, Abstract № 092.
- Galeva I, S Mileva, M Yankova, et al. Human rhinovirus infection in young children hospitalized with acute wheeze in Bulgaria. European Academy of Paediatrics, Congress and MasterCourse, 17-20 September, 2015, Oslo, Norway

**Contract 60/2014 Serum and urine biological markers in early kidney injury-pathological perspective**

**Leading scientist:** Prof. Boris Iliev Bogov, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Kamen Cacev, MD, PhD
- Vladislava Todorova, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, University Hospital “Alexandrovska”, Clinic of Nephrology

**RESULTS:** Acute kidney injury (AKI) is a serious clinical complication affecting large heterogeneous population of patients and is associated with high mortality. The incidence of AKI varies 5% in in-patients to 30-50% in intensive care units. The aim of our study was to evaluate the diagnostic and prognostic value of several serum and urine biomarkers in patients with AKI of different origin. We investigated the levels of serum creatinine and Cystatin C (CysC), Neutrophil-associated lipocalin (NGAL), Interleukin-18 (IL-18), Kidney injury molecule -1, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG) in 80 subjects: healthy volunteers, patients with acute worsening of renal function (AKI) and with deterioration of pre-existing chronic renal failure (acute over chronic kidney disease CKD). The levels of NGAL, KIM- 1, NAG, CysC, IL- 18 were significantly higher in AKI compared to healthy volunteers. The levels of NAG, CysC and IL- 18 were higher in acute over CKD compared to healthy volunteers. The levels of NGAL, KIM - 1 were significantly higher in AKI, and NAG was lower compared to acute over CKD. The levels of serum creatinine showed high correlation with CysC and IL 18, and moderate but statistically significant correlation with KIM1 and NAG. Among the biomarkers tested, we observed significant correlation between CysC on one hand and IL- 18 and NAG, on the other hand, and moderate correlation between CysC and KIM-1. Our results showed that the investigated biomarkers have diagnostic value in patients with AKI and acute CKD. NGAL, KIM- 1 and NAG can distinguish acute from acute over CKD.

**Scientific publications and presentations:**

- Milenova V. Urine biological markers for acute kidney injury. MedicArt 2015;9(3):61-4.
- Milenova V. Serum biological markers for acute kidney injury. MedicArt 2015;9(4):42-4.

- Milenova V, Bogov B, Hristova J, et al. Serum and urine biological markers in early/acute kidney injury. VIIth congress of nephrology, Hisar, 20-22.11.2015.

### **Contract 62/2014 Noninvasive and invasive methods for diagnosis of prediabetic neuropathy**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Julia Jordanova Petrova, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Zdravko Kamenov, MD, PhD
- Asoc. Prof. Radina Ivanova, MD, PhD
- Silviya Nacheva, MD, PhD student
- Giuseppe Lauria, MD, Fondazione Istituto Neurologico “Carlo Besta”

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurology

**RESULTS:** Prediabetes including impaired glucose tolerance /IGT/ and impaired fasting glucose /IFG/ represents a stage of in the evolution of diabetes type 2 and a risk factor for developing diabetes. According to recent studies the incidence of neuropathic injury in patients with prediabetes may increase up to 23.9%, and in type 2 diabetes is 45%-60%. Prediabetes mostly leads to injury of the small nerve fibers- unmyelinated C nerve fibers and thinly myelinated type A- $\delta$  nerve fibers. There is not a “golden standart” diagnose small fiber neuropathy. Diagnosis of small fiber neuropathy is based on abnormal findings from punch skin biopsy. Rutine electroneurography investigates the intactness of large-myelinated nerve fibers, although there are neurophysiological methods for evaluation of small unmyelinated nerve fibers. Evaluation of the sudomotor function in prediabetes and diabetes group demonstrated high sensitivity. This data determines its value as a scrining tool for determination of neurological complications in prediabetes and diabetes. Vibration perception threshold changes in higher rate in diabetes, contrary to prediabetes group where it changes insignificantly. Neurophysiological correlations between SNAP and SSR in prediabetes and diabetes group determined lower amplitudes and higher latencies compared to the healthy control subjects as well as between each group.

**Scientific publications and presentations:**

- Nacheva S, J Petrova, Z Kamenov. Prediabetes and prediabetic neuropathy - etiology and pathogenetic mechanisms. Med. Pregled. 2015;51(3):5-12.
- Nacheva S, I Petrova, Z Kamenov, et al. Evaluation of arterial stiffness in impaired glucose tolerance as an early marker of diabetes mellitus. First Congress of the European Academy of Neurology. Berlin, Germany. June 20-23, 2015

### **Contract 63/2014 Androgen receptor polymorphism and serum levels of leptin and adiponectin in men with metabolic syndrome with or without hypogonadism**

**Leading scientist:** Prof. Zdravko Asenov Kamenov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Petya Angelovap PhD student
- Silvia Andonova-Buklova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, University Hospital “Alexandrovska”, Clinic of Endocrinology

**RESULTS:** The role of (CAG)<sub>n</sub> androgen receptor polymorphism for serum testosterone levels has already been established. The aim of this study was to evaluate the significance of (CAG)<sub>n</sub> polymorphism in Bulgarian population of men with metabolic syndrome and to determine its role for the development of hypogonadism as well as its relation with the levels of adiponectin and leptin. 78 men with metabolic syndrome that were patients of the clinic of endocrinology in the University Hospital “Alexandrovska”, Sofia were analyzed. Routine clinical and laboratory analyses and genetic analysis of the androgen receptor gene were done. Our patients with MS had a prevalence of hypogonadism of 30%. CAG repeat length was  $21.6 \pm 2.75$  (from 12 to 29). Correlations of (CAG)<sub>n</sub> polymorphism with serum testosterone level or adiponectin or leptin were not found in our group of patients. Relation between (CAG)<sub>n</sub> polymorphism and hypogonadism in metabolic syndrome or the level of adiponectin or leptin were not found. Our study confirms the hypothesis that the role of (CAG)<sub>n</sub> polymorphism could be seen predominantly in states with full androgenisation - serum testosterone levels in the reference range. The metabolic syndrome impairs the natural physiological компенсаторъ reaction of gonadal axis in cases of androgen receptor polymorphisms.

### **Contract 64/2014 Coinfections in women of reproductive age with a sexually transmitted bacterial agents**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Georgi Petkov Pehlivanov, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Vesela Raykova, MD, PhD
- Gergana Manolova-Georgieva, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Skin and Venereal Diseases, University Hospital “Alexandrovska”, Clinic of Skin and Venereal Diseases

**RESULTS:** *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis* and *M. genitalium* are sexually transmissible pathogens which may cause infections with subsequent serious complications. The aim of this study was to determine their prevalence in symptomatic and asymptomatic persons. Polymerase chain reaction (PCR) and standard methods were used for testing 76 specimens obtained from symptomatic and asymptomatic sexually active women. The registered prevalence with the PCR technique was 1.32% for *N. gonorrhoeae*, 5.26% for *C. trachomatis*, 40.79% for *U. urealyticum*, 9.2% for *M. hominis* and 1.32% for *M. genitalium*. Co-infection was found in 6 specimens – combination of *U. urealyticum* and *M. hominis* in 4 swabs; and *C. trachomatis* and *U. urealyticum* in 2 swabs. The standard methods demonstrated lower sensitivity in finding the pathogens in comparison with the PCR. It is necessary to test each sexually active woman at least once pre year for *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis* and *M. genitalium* because the percentage of asymptomatic infections is relatively high and if led untreated serious consequences for the health of the woman can appear. In this study high percentage of established infection with *U. urealyticum* was detected. Nevertheless the data obtained for the prevalence of the tested microorganisms is similar to other researchers results. In order to prescribe adequate treatment and to avoid complications when STIs are tested detection of the genera is required.

**Scientific publications and presentations:**

- Raykova V, Ouzounova I, Mitov I. The first for Bulgaria simultaneous study of the prevalence of fastidious sexually transmitted microorganisms *Neisseria gonorrhoeae*,

Chlamydia trachomatis and genital mycoplasmas. 34th Congress of the Société Internationale d'Urologie, 12-15.10.2014.

- Manolova G, Uzunova V, Miteva L, et al. Infection with C. trachomatis and other bacterial agents as the cause of infertility in women of fertile age. 9 National scientific and practical conference "Varna Spring Dermatological Days". Varna 16-19 April 2015.

### **Contract 65/2014 Bronchial asthma genotype-phenotype association in childhood**

**Leading scientist:** Prof. Penka Ilieva Perenovska, MD, PhD

**Research team:**

- Assit. Prof. Guergana Stoyanova, MD, PhD
- Dimitrinka Miteva, MD
- Snezhina Lazova, MD, PhD student
- Assoc. Prof. Alexey Savov, PhD
- Silvia Andonova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Dept. of Paediatrics

**RESULTS:** ADAM33 was the first gene for asthma susceptibility discovered by positional cloning in 2002 and is associated with airway remodelling. Genetic association studies have demonstrated that multiple SNP variants in ADAM33 are connected with lower lung function results in prospective cohort study in adults. A cross-sectional pilot study comparing the polymorphisms of asthmatic patients from Bulgaria over a period of 1 year according to the asthma severity. 71 asthmatic children and 29 healthy children of 5 to 17 years old were assessed for allelic association of ADAM33 T1 (rs2280091), T2 (rs2280090), V4 (rs2787094) and S2 (rs 528557) SNPs to asthma. Genotyping was done by real timePCR. For all asthmatic patients detailed asthma history, treatment regimen, bronchodilator response, eosinophil count in nasal smear, asthma control level and ACQ were performed. Minor alleles of T1, T2 and V4 were strongly associated with childhood asthma compared to healthy controls ( $p < 0.05$ ). V4 is associated with eosinophilic inflammation, while T2 is connected with neutrophil one, poor asthma control and phenotype of severe asthma. This is the first pilot ADAM33 gene polymorphisms study in Bulgarian children with bronchial asthma with promising results that should be reproduced and supported by future research.

**Scientific publications and presentations:**

- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. Phenotypes of bronchial asthma in childhood. Nauka pulmologia. 2016; 1.
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the asthma phenotypes in children, 4<sup>th</sup> meeting of three respiratory societies: Slovenia, Croatia and Hungary. Bled, Slovenia. 22-23 May 2015. pp. 27
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. Some ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the risk of childhood asthma in a Bulgarian population, Annual congress of European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Barcelona, Spain. 6-10 June 2015.
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. ADAM33 polymorphisms in children with bronchial asthma, 1<sup>6th</sup> National conference of general practitioners and pediatricians with international participation, Pravetz, Bulgaria, 9-11 October 2015. pp. 34

- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. ADAM33 in Bulgarian children with asthma. 4-th pediatric asthma and allergy meeting of EAACI. Berlin, Germany. 15-17 October 2015.
- Petrova G, Miteva D, Lazova S, et al. Some ADAM33 single nucleotide polymorphisms and the risk of childhood asthma in a Bulgarian population. *Allergy* 2015;70 (Supl 101):337.

### **Contract 67/2014 Anemia in rheumatoid arthritis and serum hepcidin levels - new tools in therapy**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Savina Petrova Hadjidekova, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Kamen Tzatchev, MD, PhD
- Assist.Prof. Victor Manolov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Milena Veliarova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Veneta Paskaleva-Peycheva, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical genetics

**RESULTS:**

During this project we used different methodological approaches for the diagnosis of rheumatoid arthritis disease and assessment of iron disorders in 40 patients - 10 men, 30 women with an average age of 51.5 (23-66). We found significant differences in serum levels of serum hepcidin compared with the control group (range in RA patients 0.09 - 99.6 µg/l; in the control group 3.05 - 37.75 µg/l). Serum hepcidin was statistically significant increased in patients with anemia of chronic inflammation in rheumatoid arthritis;  $P < 0.001$ . It was significantly reduced in patients with rheumatoid arthritis and iron deficiency anemia, and the combination of iron-deficiency anemia / anemia of chronic disease;  $P < 0.001$ . Patients with rheumatoid arthritis included in the study were divided into four groups by using the following conditions: we classified the patients with rheumatoid arthritis and iron deficiency anemia in the absence of active inflammation (as measured by level of CRP  $< 10$  mg/L) and at least one of the following conditions: 1) the percentage saturation of transferrin  $< 20\%$  and the level of ferritin  $< 30$  ng/mL; 2) Index of sTfR  $> 1$  mg/ng. We classified the patients with rheumatoid arthritis and anemia of chronic disease in the presence of active inflammation (as measured by level of CRP  $> 10$  mg/L) and at least one of the following conditions: 1) the percentage saturation of transferrin  $< 20\%$  and ferritin  $> 100$  ng/mL ; 2) Index of sTfR  $< 1$  mg/ng and ferritin  $> 30$  ng / mL. We classified the patients with rheumatoid arthritis, and a combination of iron deficiency anemia and anemia of chronic disease in the presence of active inflammation (as measured by level of CRP  $> 10$  mg/L) and at least one of the following conditions: 1) the percentage saturation of transferrin  $< 20\%$  and ferritin levels  $< 100$  ng/mL; 2) Index of sTfR  $< 1$  mg/ng. Control group - patients with rheumatoid arthritis without anemia. We found the following levels of serum hepcidin: in patients with RA and IDA -  $0.61 \pm 0.4$  µg/l; in patients with RA and ACD -  $87.97 \pm 10.7$  µg/l; in RA patients, and the combination of IDA/ACD -  $1.73 \pm 0.4$  µg/l; in RA patients without anemia (control group) -  $14.57 \pm 8.0$  µg/l. We found correlation between serum ferritin and hepcidin,  $r = 0.457$ ;  $P < 0.001$ . The correlation between serum hepcidin and hemoglobin content in reticulocytes showed  $r = -0.033$ ;  $P < 0.5$ . Received correlation between serum hepcidin and transferrin saturation percentage of  $r = -0.168$ ;  $P < 0.5$ . The correlation between serum CRP and hepcidin showed  $r = 0.702$ ;  $P < 0.1$ . On the basis of serum levels of hepcidin, ferritin, soluble transferrin receptors and calculated percent saturation of transferrin we defined following indices. In patients with rheumatoid arthritis we observed correlation depending upon the

index of the soluble transferrin receptors to ferritin for differentiation of iron deficiency anemia from anemia of chronic disease 1.64 mg/ng to 0.82 mg/ng;  $r = 0.388$ ,  $P < 0.01$ . Patients with rheumatoid arthritis showed correlation dependence index of hepcidin to ferritin, which is used in the differentiation of iron deficiency anemia from anemia of chronic disease 0.17  $\mu\text{g}/\text{ng}$  to 1.07  $\mu\text{g}/\text{ng}$ ;  $r = 0.353$ ,  $P < 0.01$ . Index percentage of transferrin saturation to hepcidin in patients with rheumatoid arthritis showed a correlation depending upon differentiation of anemia of chronic disease by a combination of iron deficiency anemia/ACD 0.18%/ $\mu\text{g}$  to 8.89%/ $\mu\text{g}$ ;  $r = 0.396$ ,  $P < 0.001$ . Based on our results we suggest algorithm for therapeutic behavior in anemic syndrome in rheumatoid arthritis. Patients with inflammation and level of hepcidin  $< 3.05 \mu\text{g}/\text{L}$  will have iron deficiency, while levels of hepcidin  $> 37.75 \mu\text{g}/\text{L}$  are diagnostic for anemia of chronic disease. Patients with hepcidin levels between 3.05 and 37.75  $\mu\text{g}/\text{L}$  are characterized further with the help of hemoglobin content in reticulocytes, as levels  $< 30 \text{ pg}$  are indicative of concurrent iron deficiency. For iron deficiency anemia, serum hepcidin level  $< 1.2 \mu\text{g}/\text{L}$  is very specific. The use of these parameters and indexes helps to assess the need for iron supplementation, and shows that patients with a combination of iron deficiency anemia and anemia of chronic disease may be subjected to treatment with drugs such as iron-containing drugs are not suitable for correction of anemia in patients with RA and ACD.

#### Scientific publications and presentations:

- Manolov V, Velizarova M, Dishlianova B, et al. Anemia in rheumatoid arthritis and serum hepcidin – new diagnostic approaches in therapy choice. VIII<sup>th</sup> National Conference for Clinical Laboratory; 11–13.09.2014, “Golden Sands” resort, Bulgaria
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Hepcidin analysis in patients with rheumatoid arthritis. EuroMedLab 22–24 June 2015, Paris, France
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Hepcidin in diagnostics of anemia in rheumatoid arthritis. Med Rev 2014;6:39-42.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. New tools in diagnostics of anemia in rheumatoid arthritis. Rheumat vol. XXII, 2/2014:24-27.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. New tools in diagnosis of anemia in rheumatoid arthritis. IJDR 2014;4(12):2743-5.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Serum hepcidin levels and its relevance in therapy of anemia in rheumatoid arthritis patients. JMEST 2014;1(5):164-6.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Correlation between DAS28 and serum hepcidin levels in patients with anemia and rheumatoid arthritis. IJSR 2015;4(1): 859-61.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Bogov B, et al. Iron deficiency anemia and anemia in chronic diseases – new diagnostic tools. Med Rev 2015;1:31-5.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Bogov B, et al. Serum hepcidin quantification in differentiation of anemia. IJDR 2015;5(1):2918-20.
- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Hepcidin and anemia in rheumatoid arthritis – is there a clinical application? Bulg Med vol. 4 №4/2014, 12-16.

- Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, Velizarova M, et al. Role of hepcidin in diagnostics of anemia in rheumatoid arthritis. MD 2(86), г. XII, April 2015, 87-89.
- Manolov V, Hadjidekova S, Velizarova M, et al. Anemia in rheumatoid arthritis. BMJ IX, 2015(1), 17-21.
- Manolov V, Atanasova B, Velizarova M, et al. The right therapeutic choice for anemia in different diseases using serum hepcidin levels. Global Biotechnology Congress 22-25.07 2015, Boston, USA
- Petrova J, Manolov V, Hadjidekova S, et al. Is There a Link Between Changes in Levels of Hepcidin and Stroke? Clin Lab. 2015;61:1935-9.
- Petrova J, Manolov V, Vasilev V, et al. Ischemic stroke, inflammation, iron overload – connection to a hepcidin. IJS 2016;11(1):16-7.
- Jeliaskov P, Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, et al. Differentiation and therapy approaches in anemia related to rheumatoid arthritis. XV ICMS 12-15.05.2016, Sofia, Bulgaria

## MEDICO-SOCIAL AREA

### **Contract 23/2014 Design and characterization of chronopharmaceutical dosage form with acetylsalicylic acid**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Milen Ventsislavov Dimitrov, PhD, MPharm, MPH-HMP

**Research team:**

- Prof. Valentina Petkova, PhD, MPharm, MPH
- Assoc. Prof. Vladimir. Baranovki, DSc, BAS
- Assist. Prof. Christina Voycheva
- Assist. Prof. Marta Slavkova
- Assist. Prof. Stanislava Yordanova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Technology and Biopharmacy

**RESULTS:** A drug form with acetylsalicylic acid (ASA) was developed and biopharmaceutical characterized according to the principles of chronopharmacy. The received data are summarized and optimal chronopharmaceutical formulations are proposed. The most favorable in terms of chronopharmacy was outlined the model formulations A7 and A8 which swell significantly, have relatively slow initial release (at 2 hour 9-12%) and achieve quantifiable release at 9-10th hour (84-88%). A formulation A7 in which the initial release is delayed seems to be the optimal for the moment, making it ideal for the purposes of chronopharmacy. Such tablets taken in the evening will release a minimal amount of ASA for the first few hours of release (9%) and will contribute to minor local irritation. The release of the ASA will reach its peak after 7-9 hours (early morning of the day) which is in accordance with the time in which an average statistical incidence of cardiac events is highest, and the need to prevent is the greatest. The results obtained make it possible to optimize the marketed medicinal products for the treatment and prophylaxis of cardio-vascular diseases. The survey



results will help the pharmacists working at pharmacies for care of patients with cardiovascular disease and the formation of good practices for consultation prior dispensing of medicines for the treatment of cardiovascular diseases.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimitrov M, T Popova, V Petkova, et al. Chronopharmacy as powerful instrument for optimization of antiplatelet therapy with acetylsalicylic acid, WJPPS, 2015;4(6):1-23.
- Petkova V, M Dimitrov. Application of acetylsalicylic acid among patients with cardio-vascular disease, EJBPS, 2015;3(2):527-32.

**Contract 30/2014 Researching the incidence of micro and macrovascular complications in diabetes type 1 and type 2 and costs of their treatment**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Alexandra Tzvetanova Savova, PhD

**Research team:**

- Assoc. prof. Assena Stoimenova, M.Pharm, PhD
- Assoc. prof. Manoela Manova, M.Pharm, PhD
- Assoc. prof. Miglena Kirilova-Doneva, M.Economics, PhD
- Assist. Prof. Maria Dimitrova, M.Pharm, PhD
- Assist. Prof. Stanislava Yordanova, M.Pharm, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of pharmacy, Department of Organization and Economy of Pharmacy

**RESULTS:** The objective of this study was to evaluate the incidence of micro- and macrovascular complications in type 1 diabetes and type 2 and costs of their treatment observed in a cohort of 433 patients. The results of this study indicate that diabetes is a disease associated with high costs, when develop complications of the disease. In Bulgaria costs of complications are higher, especially in patients who need to be hospitalized. Combined retrospective and prospective observational study showed that in Bulgaria the treatment of type 2 diabetes is associated with higher costs compared with diabetes type 1 when needed hospitalization. The cost of treatment of macrovascular complications are higher than those for the microvascular complications, possibly because of significantly greater incidence of hypertension. The difference in the cost of hospitalization between type 1 diabetes and type 2 may be due to different patient characteristics, but should be systematically monitored to be analyzed in the long term. Micro- and macrovascular complications lead to an increase in the direct medical costs and affect the overall costs of treating diabetes.

**Contract 31/2014 Study on interaction between marketing authorization holders and pharmacists**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Assena Stoimenova, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Maria Kamusheva, PhD
- Todor Naydenov, PhD, Bulgarian Pharmaceutical Union

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of pharmacy, Department of organization and economics of pharmacy.

**RESULTS:** The main objective of the research was to investigate the interaction between pharmaceutical manufacturers and pharmacists, as a factor in the creation, development and

benefit from innovations in the formulation. We found that pharmacists recognize the representatives of the pharmaceutical industry as an essential source of information for them concerning medicinal products, and that conferences are a major source of information for pharmacists from all cities, regardless of size. Yet not optimal use of web-based approaches as information sources about novelties is in place. There is a clear trend to focus mainly on commercial elements of pharmacy practice - promotions and comparisons with competing medicines. Considerably less emphasis is put on clinical data and safety data of medicines. According to pharmacists, main advantage of orodispersible forms is a rapid onset of action and improved taste, and every third respondent pharmacist highlighted as an advantage that they are suitable for people with oesophageal problems. Our study showed a high level of approval of orodispersible forms of pharmacists, as 61.7% of respondents would recommend dispersible form as the first choice.

**Scientific publications and presentations:**

- Naydenov T, Stoimenova A, Kamusheva M, et al. Pharmacist attitude towards the pharmacy industry representatives in Bulgaria, WJPPS, 2014;3(12):1443-57.
- Naydenov T, A Stoimenova, M Kassarova. Innovative drug delivery systems in the new strategies of pharmaceutical companies and healthcare systems, Innovative drug delivery systems, TEA Design, Sofia 2015.

**Contract 33/2014 Investigation of the risks after implantation of hernia meshes**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Miglena Georgieva Kirilova-Doneva, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Manoela Manova, PhD
- Assist. Prof. Maria Dimitrova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Social Pharmacy and Pharmacoconomics

**RESULTS:** The investigation presents application of hernia meshes in Bulgaria and factors that influence their choice based on the opinion of 89 surgeons selected from seven towns of the country. The main results of the study show that in use are predominantly meshes with weight 35 – 130 g/m<sup>2</sup>, monofilament, produced by polypropylene. The polypropylene hernia meshes are applied from 75% of surgeons, 25 % of them work with both polypropylene and polyester meshes, while 11% of specialists transplant resorbable or polypropylene meshes. As average 50.5% used heavy meshes and 27% work with heavy and light meshes. The most used brand of meshes are Surgimesh, VyproII, and TiO<sub>2</sub>-mesh. The factors that influence the choice of meshes are technical characteristics followed by the price and previous experience. The most important technical characteristics of the implanted meshes are the type of a polymer followed by production method, pore size and weight. The study showed that 63 % of responders assessed the importance of technical characteristics, while 16% mentioned a surgical technique as important predisposition for successful outcome of hernia. The main conclusion is that as average the cheap meshes are preferred which leads to deterioration of postoperative results because of their worse technical characteristics. The obtain results will be used in modeling of the cost of implantation.

**Scientific publications and presentations:**

- Kirilova-Doneva M, Gerassimov N, et al. Investigation of the risks after implantation of hernia meshes, Proc. of XIV Congress of Surgery, Ed. D.Damianov, Publ.House DL-M, 2014;2:654-9.
- Doneva M, Gerassimov N, et al. Investigation of the risks after implantation of hernia meshes, XIV Congress of Surgery, Sofia, 23-26.10 2014

- Kirilova-Doneva, M, D Pashkouleva, V Kavardzhikov. Comparative study of the long-term alterations of elasticity of some hernia meshes and human abdominal fascia, 41st ESAO Annual Congress, Rome (Italy), September 17-20,2014, pp.631

**Contract 47/2014 Create synergies build a information sharing environment for information related occupational health and work environment factors.**

**Leading scientist:** Prof. Nevena Kostova Tzacheva-Hristova, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Karolina Lyubomirova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Rouja Nikolova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Yanka Prodanova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Milena Iantcheva-Stoycheva, PhD
- Assist. Prof. Sofia Georgieva, PhD
- Assist. Prof. Todor Kundurdziev, PhD
- Assist. Prof. Milena Tabanska-Petkova, MD
- Assist. Prof. Iva Miteva, PhD
- Lidia Hristova, MD, PhD student
- Rosica Mladenova, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Public Health, Dept. of Occupational health

**RESULTS:** Developed realization about relational database integrated electronic health record for OHS will enable uniform input, storage and processing of data related to occupational health and working environment factors. Will have developed uniform standards for the entry and processing of the information available in the OHS, as in the studied registers. We offer: Free distribution of the software in all OHS and RHI. As RHI will be nests where they will receive the data sets. The resulting data can be used by RHI, MH and FPH about aggregation and analysis. MU Sofia, Faculty of Public Health, Department of Occupational Medicine will train collaborators in OHS for the installation of the integrated electronic health record and training of students in Occupational Medicine. FPH, MU Sofia, Department of Occupational Medicine has the ability, based on completed projects to process data collected under that scheme algorithm and providing completed analysis of Ministry of Health, State Health Department control and Management policy of health promotion and disease prevention with a view prevention of occupational diseases and accidents, expectation for occupational health and reproduction of the labor force.

**Scientific publications and presentations:**

- Kundurdziev T, M Stoycheva. Electronic health record for Occupational Medicine – realization in a relational database, Health Policy and Management, 2015;14(2):34-41.
- Kundurdziev T, M Stoycheva, C Lyubomirova, et al. Relational database for analyzes and prognoses in studying occupational health . Health Policy and Management, 2015;14(3):48-52.
- Iantcheva-Stoycheva M, N Tzacheva. Bulgarian Workforce Health / by Eurostat questionnaire, 2012, XX World Congress on Safety and Health at Work 2014, Global Forum for Prevention, Frankfurt, Germany, 24-27 August 2014, P09.28
- Tzacheva-Hristova N, C Lyubomirova, et al. Occupational medicine and public health – establishment and priorities of the first department “Occupational medicine”, XX World Congress on Safety and Health at Work 2014, Global Forum for Prevention, Frankfurt, Germany, 24-27 August 2014, P10.14

- Tzacheva N, Lyubomirova K, Iantcheva M. National Register of Occupational Diseases (2000-2008) as a modern base for the academic education of experts and health and safety inspectors on Occupational Medicine in the Republic of Bulgaria. 31st International Congress on Occupational Health, 31 May- Jun 5, 2015, Seoul, South Korea, PT008

**Contract 49/2014 Research on modern preventive approaches on exacerbations of "Chronic Obstructive Pulmonary Disease**

**Leading scientist:** Prof. Vihren Nikolaev Petkov, MD, PhD.

**Research team:**

- Prof. Vihren Petkov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Penka Georgieva, MD, PhD
- Prof. Ralitsa Zlatanova-Velikova, MD, PhD
- Prof. Krasimir Vizew, MD, PhD
- Assoc. Prof. Maya Vizeva, PhD
- Elka Vasileva-Ganova
- Anita Markovska, student
- Georgi Dimitrov, student
- Hristo Georgiev, student
- Anna Petrova, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Medical College Sofia, 3 Jordanka Filaretova Str., Sofia, Bulgaria

**RESULTS:** This project is intended for exploring the various preventive approaches against exacerbations of COPD by applying effective health care and using the power of antioxidant nutrients. As a result of the project the following conclusions can be noted: An in-depth analysis of scientific information concerning the participation of nutritional approaches in the prevention of exacerbations in COPD is made; A scheme of treatment with antioxidant vitamins in patients with varying burden of disease COPD is developed and implemented; An analytical method for the determination of antioxidant vitamins in blood serum is developed and implemented; The clinical symptoms and physiological indicators of COPD patients are evaluated and having demonstrated statistically significant changes as a result of treatment with antioxidant vitamins; The quality of life in patients with COPD is examined; After 6 months of adoption of antioxidant vitamins are found:

reduction of exacerbations; increased levels in serum with the highest difference of vitamin A in milder disease group. Considering the role of vitamin A as a preventive antioxidant and as an integration factor of the connective and mucosal tissues, as well as vitamin E, as a powerful breaker of oxidation chain, we can recommend the enrichment of the diets with vitamins A and E, to achieve effective antioxidant protection.

**Scientific publications and presentations:**

- Petkov V, Nikolova P, Vizeva M, et al. Recent evidence on COPD epidemiology, Health and Science, Infodent-BG, 2015;3(019):12-7.
- Nikolova P, Petrova A, Petkov V, et al. Application de vitamins antioxydants pour la prevention des exacerbations de la broncho-pneomopathie chronique obstructive, Archives de l'Union Medicale Balkanique, Celsius Pub. House, 2015;50(1):A42-A43.
- Nikolova P, Petrova A, Petkov V, et al. Application de vitamins antioxydants pour la prevention des exacerbations de la broncho-pneomopathie chronique obstructive, La

XX-eme Sessions des Journees Medicales Balkaniques, Paris, France, Sep 21-22, 2015.

- Zlatanova-Velikova R, Velikov S, et al. Начин на живот при пациенти с хронична обструктивна белодробна болест, VII<sup>th</sup> National Conference on Preventive Medicine, Veliko Tarnovo, Bulgaria, Nov 11-13, 2015.
- Nikolova P, Petkov V, Vizeva M, et al. Undernutrition in COPD Patients, 14<sup>teen</sup> International Symposium "Acad. Tasho Tashev " Nutrition and Obesity, Albena, Bulgaria, Sep 4-6, 2015.

## GRANT 2015

### MEDICO-BIOLOGICAL AREA

#### **Contract 1/2015 Investigation of the association between polymorphic variants in diabet-related genes and the coronary artery disease risk in Bulgarians**

**Leading scientist:** Prof. Kiril Lyubenov Naydenov, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Romyana Tarnovska-Kadreva, MD, PhD
- Prof. Sabina Zaharieva, MD, PhD, DSc
- Ivan Popov, PhD
- Reni Tzveova, PhD
- Georgi Dimitrov, PhD student
- Assist. Prof. Teodora Yaneva-Sirakova, MD, PhD
- Assist. Prof. Silviya Vandeva-Kalvacheva MD, PhD
- Assist. Prof. Olga Beltcheva, PhD
- Assist. Prof. Galya Atanasova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry,

**RESULTS:** Coronary artery disease (CAD) and myocardial infarction (MI) are the most common cardiovascular complications and major causes of morbidity and mortality worldwide. Adiponectin has anti-atherogenic and anti-inflammatory properties, such as decreased plasma adiponectin levels are observed in patients with diabetes, metabolic syndrome and coronary disease. However, the relation of polymorphic variants in adiponectin locus with atherogenesis is very controversial. Therefore, the aim of this study was to investigate the potential association of three common polymorphic variants in *ADIPOQ* gene (rs2241766, rs1501299 and rs266729) with CAD and MI in Bulgarian patients. The current analysis included 261 patients with angiographically documented CAD (153 with myocardial infarction and 108 without myocardial infarction) and 496 population - based controls. All participants were genotyped for the selected variants in *ADIPOQ* gene. Genomic DNA was extracted from venous blood samples. The studied polymorphisms were genotyped by TaqMan SNP Genotyping Assay. The genotype and allele frequencies were compared between cases and controls using  $\chi^2$  test. The distribution frequencies of the healthy control's and patient's groups confirmed to the Hardy-Weinberg genetic balance rule ( $p > 0.05$ ). There was no statistical significant different in distribution in allele and genotype frequencies between cases and controls in this study. In addition, we were not able to detect any relationship of these genetic variants with the levels of total cholesterol, triglycerides, low density lipoprotein and high density lipoprotein, or the values of systolic and diastolic blood pressure. In our study we found no difference in the frequencies of genotypes and alleles of rs2241766, rs1501299 and rs266729 in *ADIPOQ* gene between cases and controls in

Bulgarian population. Further investigations with a large number of cases and controls will need to evaluate a possible association between these variants and CAD/MI in Bulgarians.

**Scientific publications and presentations:**

- Tzveova R, Naydenova G, Yaneva T, et al. Association study of polymorphic variants in ADIPOQ gene in Bulgarian patients with coronary artery disease. 11th Balkan Congress of Human Genetics. Belgrade, Serbia. 17-20 Sep 2015

**Contract 2/2015 Participation of histamine in retinal sensitivity control: electroretinographic study**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Elka Borislavova Yordanova-Popova, MD, PhD

**Research team:**

- Petia Kупенова-Sherbanova, MD, PhD
- Aneliya Kuzeva, student
- Sheip Panev, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of physiology

**RESULTS:** In this study we investigated the effect of histamine on the intensity – response function of the b-wave (ON response) and d-wave (OFF response) of dark adapted frog electroretinogram (ERG). We obtained that 5  $\mu$ M histamine enhanced the amplitude of both the ON and OFF responses over the entire intensity range studied in comparison with corresponding values obtained in the control experiments. The enhancing effect of histamine was more pronounced upon the OFF than ON response amplitude in the lower intensity range, where the responses were mediated by rods. The reverse was true for the higher intensity range, where the responses were cone-dominated. The b-wave V – log I function had a steeper slope and narrower dynamic range during histamine treatment. Histamine did not alter significantly the relative sensitivity of the ON response, but it significantly increased the relative sensitivity of the OFF response. The selective H<sub>1</sub> receptor agonist TFMH (5  $\mu$ M) enhanced the amplitude of both the b- and d-waves obtained using constant stimulus intensity. Its effect upon the OFF response was expressed in the same degree as that of histamine, while its effect upon the ON response was less pronounced. Our results demonstrate that histamine has a significant role in visual information processing through the retinal ON and OFF channels and that a part of its action is mediated by H<sub>1</sub> receptors.

**Scientific publications and presentations:**

- Popova E, Kупенова P. Effects of histamine on the on and off responses of dark adapted frog electroretinogram. *Comp Rend l'Acad Bulg Sci.* 2016;69(6):755-60.
- Popova E, Kупенова P. Effects of histamine on the intensity-response function of the electroretinographic b- and d-waves in dark adapted frog eyes. *Int J Ophthalm Vis Sci.* 2016;1(1):1-7.
- Popova E, Kупенова P. Effects of histamine and the selective H<sub>1</sub> receptor agonist TFMH on the on and off responses of frog electroretinogram. Scientific meeting, organized by Sofia branch of the Bulgarian Society of Physiological Sciences, Sofia, 19 Feb, 2016.

**Contract 3/2015 Optimisation and validation of molecular genetic approach for diagnostics of some types of cofactor dependent epileptic encephalopathies in Bulgarian children**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Albena Parvanova Todorova – Georgieva, DSc

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Prof. Ivaylo Tournev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Melanya Radionova, MD, PhD
- Sashka Zhelyazkova-Glaveeva, MD, PhD
- Assist. Prof. Bilyana Georgieva, PhD
- Iglia Yordanova, PhD
- Andrey Kirov, PhD
- Tihomir Todorov, PhD

**Organization unit:** MU-Sofia, Medical Faculty, Department of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** The aim of the present study is to optimize and validate a molecular genetic approach for diagnostics of some types of cofactor dependent epileptic encephalopathies in children: pyridoxine dependent epilepsy and pyridoxal 5-phosphate dependent epilepsy. Molecular genetic analysis of the *ALDH7A1* gene (sequencing analysis) was performed in ten patients, with clinical diagnosis of PDE. Mutations were detected in 3 patients (about 33%) – a dizygotic twin pair and a nonrelated boy, all of them presenting with classical form of PDE. Direct sequencing of the *ALDH7A1* gene revealed one novel (c.297delG, p.Trp99\*) and two already reported (c.328C>T, p.Arg110\*; c.584A>G, p.Asn195Ser) mutations. Here we report the first genetically proven cases of PDE in Bulgaria. All seven patients without pathological changes in the *ALDH7A1* gene were subjected to sequencing of the *PNPO* gene – the most reasonable subsequent step considering the close clinical presentation of the two diseases - pyridoxine dependent epilepsy and pyridoxal 5-phosphate dependent epilepsy. The performed molecular genetic testing of the *PNPO* gene did not reveal any mutations, supposing the need to revise the clinical diagnosis. This finding is of crucial importance for establishing accurate therapy of the patients and adequate prophylaxis in the affected families.

**Scientific publications and presentations:**

- Tincheva S, Todorov T, Todorova A, et al. First cases of pyridoxine-dependent epilepsy in Bulgaria: novel mutation in the *ALDH7A1* gene. *Neurol Sci.* 2015;36(12):2209-12.
- Tincheva S, Todorov T, Todorova A, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy in Bulgarian dizygotic twins: a novel mutation in the *ALDH7A1* gene. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23 (suppl. 1) PS09.107. Glasgow, Scotland, United Kingdom, June 6 - 9, 2015.
- Tincheva S, Yordanova I, Todorov T, et al. First steps in molecular diagnostics of cofactor epileptic encephalopathies in Bulgaria. 11<sup>th</sup> Balkan Congress of Human Genetics, September 17-20, 2015, Belgrade, Serbia, p.82-83.

**Contract 4/2015 Study of the effects of the selective melatonergic agent agomelatine in experimental models of melatonin deficiency and temporal lobe epilepsy in rats**

**Leading scientist:** Prof. Nikolai Elenkov Lazarov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Jana Tchekalarova, PhD, BAS



- Assist. Prof. Angel Dandov, MD, PhD student
- Assist. Prof. Dimitrinka Atanasova, PhD, BAS
- Assist. Prof. Zlatina Nenchovska, PhD student, BAS
- Andrey Ivanov, student
- Sabina Mitova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Histology and Embryology

**RESULTS:** The aim of the present study was to determine whether the antidepressant drug agomelatine, a MT1/MT2 melatonergic receptor agonist/5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist is able to prevent some of the behavioral, biochemical and cellular abnormalities induced by pinealectomy and kainate (KA)-induced epilepsy. Our results showed that agomelatine corrected a depressive-like behavior, alleviated the enhanced KCl-evoked 5-HT release in the hippocampus, recovered the suppressed negative feedback inhibition of HPA axis and exerted a neuroprotection in pinealectomized rats. Our findings suggest that pinealectomy can model melancholic depression disorder while the antidepressant action of agomelatine is associated with a correction of 5-HT release in the hippocampus, dysregulated HPA system and neuroprotection in limbic structures. In the present study, for the first time, the effect of chronic agomelatine injection on kainate (KA)-induced epileptogenesis and behavioral changes have been studied. Agomelatine significantly decreased the latency for onset of the first spontaneous motor seizure compared to KA-veh group and increased seizure frequency during the second week of treatment. The KA-induced hyperlocomotion in the OF and low anxiety in the EPM was additionally exacerbated by Ago treatment. However, anhedonia developed after SE in the KA-veh group during the light period was attenuated by Ago. The beneficial effect of agomelatine on depressive-like behavior in epileptic rats was confirmed in the FST. Agomelatine was unable to attenuate KA-induced damage in spatial memory in radial arm maze test. However, this agent exerted a neuroprotection specifically in the CA1 area of the hippocampus. In conclusion, long-term treatment with the selective MT1/MT2 melatonergic receptor agonist/5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist showed an antidepressant effect in a model of pinealectomy and epilepsy accompanied by a neuroprotection in the CA1 area of the hippocampus. Future studies are required to ascertain the exact mechanism underlying beneficial effect of this drug.

**Scientific publications and presentations:**

- Tchekalarova J, Nenchovska Z, Atanasova D, et al. Consequences of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. *Behav. Brain Res.* 2016, 302: 11–28.
- Nenchovska Z, Atanasova D, Atanasova M, et al. Consequences of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. Scientific Meeting of the Bulgarian Society of Physiological Sciences – Sofia branch. Sofia, 19 February 2016
- Goranova P, Tchekalarova J, Nenchovska Z, et al. Effects of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. XV<sup>th</sup> International Congress of Medical Sciences, Sofia, Bulgaria, 12-15 May, 2016, *IJMS, Suppl. 1*, 2017
- Ivanov A, Tchekalarova J, Atanasova D, et al. Effects of chronic treatment with agomelatine on epileptogenesis and behavior in the kainite model of temporal lobe epilepsy. XV<sup>th</sup> International Congress of Medical Sciences, Sofia, Bulgaria, 12-15 May, 2016, *IJMS, Suppl. 1*, 2017

**Contract 5/2015 Investigation of expression profile of BPIFA1(PLUNC) gene in patients with chronic rhinosinuitis and chronic otitis media****Leading scientist:** Prof. Diana Petrova Popova, MD, PhD, DSc**Research team:**

- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Dr. Yuliyana Hadjiev
- Darina Kachakova, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of ENT Diseases, University Hospital "Tsaritsa Yoanna-ISUL", Bialo More 8 Str., 1527 Sofia**RESULTS:** Samples from ninety patients that have undergone surgery at the ENT Clinic of the University Hospital "Tsaritsa Yoanna - ISUL" have been gathered up to this point. Thirty-three of the patients have chronic rhinosinuitis, thirty-one – chronic otitis media, fourteen – bilateral sensorineural hearing loss, twelve – broken nose and deviation of the nasal septum. RNA was isolated out of all tissue samples. Only RNA samples with 6 ng/μl concentration were used to conduct counter transcription to synthesize cDNA from tissue samples of 33 patients with CRS and 8 controls with deviated septum, 12 patients with chronic otitis media (COM) and 10 controls with non-syndrome hearing loss. An expressional analysis of the results was done and that was the first proof of the presence of BPIFA1 in the mucosa of the middle ear as it is with chronic otitis media. A comparison between the BPIFA1 expression in patients suffering from chronic rhinosinuitis and chronic otitis media was done for the first time and that provided the proof that there is statistically significant raised expression in patients with CRS in comparison to the patients with COM.**Scientific publications and presentations:**

- Hadjiev Y, Todorov S. PLUNC proteins: A New Side of the Pathogenesis of Chronic Rhinosinuitis. Spring Science Conference: "Contemporary methods in ENT treatment". Plovdiv, Bulgaria. 27-29 March 2015, page 14.
- Hadjiev Y, Todorov S, Konov D, et al. PLUNC proteins: A New Side of the Pathogenesis of Chronic Rhinosinuitis. International Bulletin of Otorhinolaryngology.2015-11(1):5-9.

**Contract 6/2015 Comparative immunohistochemical examination of changes in the epiligament after injury of rat knee joint collateral ligaments****Leading scientist:** Prof. Boycho Vasilev Landzhov, MD, PhD**Research team:**

- Dr. Georgi Georgiev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Lina Malinova, MD, PhD
- Iva Dimitrova, MD
- Assist. Prof. Svetoslav Slavchev, MD
- Assist. Prof. Iliana Brainova-Michich, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Anatomy, Histology and Embryology**RESULTS:** The ligament repair requires presence of collagen type III. Fibronectin, which is extracellular matrix glycoprotein, plays an essential role in cell adhesion, growth, migration, and differentiation, and it is important during tissue repair. The aim of this study was to determine the presence of type III collagen and fibronectin in the epiligament scar after injury of the medial collateral knee ligament in rats. Thirty eight -month old male Wistar rats were used in this study. After anesthesia in some of them the medial collateral ligament of the knee

joint was surgically transected with scalpel and was allowed to heal spontaneously. Six of the animals served as intact controls. At the eight day post-injury well presented immunostaining for fibronectin and weak immunopositive reaction for collagen type III was detected throughout the epiligament scar. On the sixteenth day after injury immunopositive reaction in the epiligament for type III collagen and fibronectin was observed. Thirty days after injury the epiligament was similar to normal, but not fully restored. Immunostaining for type III collagen and fibronectin was detected. On the sixtieth day after injury the epiligament tissue was similar to normal. All results were compared to unoperated controls. In conclusion, this study presents the immunohistochemical distribution of collagen type III and fibronectin in the EL tissue till the second month of ligament healing.

**Scientific publications and presentations:**

- Landzhov B, Georgiev G, Brainova I. The Epiligament-the main donor of cells and vessels during healing of the collateral ligaments of the knee. *Anat Physiol.* 2015;S4:006.
- Georgiev GP, Landzhov B, Dimitrova I, et al. Expression of fibronectin during early healing of the medial collateral ligament epiligament in rat knee model. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences* 2016;69(5):639-44.
- Tsenov S, Georgiev G, Iliev A, et al. Histological study of the epiligament of the medial collateral ligament after injury in rats' knee. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia. 12-15 May 2016.
- Dimitrov D, Landzhov B, Iliev A, et al. Transmission electron microscopy of the epiligament of the medial collateral ligament after injury in rat knee. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia. 12-15 May 2016.
- Brainova-Michich I, Dimitrova I, Georgiev G, et al. Expression of collagen type III and fibronectin in grade III injuries of knee medial collateral ligament epiligament in rat. XV International Congress of Medical Sciences. Sofia. 12-15 May 2016.

**Contract 7/2015 Clinical, microbiological and genetic studies on one of the most significant respiratory causes of respiratory infections in children *STREPTOCOCCUS PYOGENES***

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Raina Tzvetanova Gergova, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, DSc C
- Prof. Dr. Petko Minchev, MD P
- Prof. Penka Perenovska, MD P
- Assoc. Prof. Gergana Stoyanova, MD, PhD A
- Nikolay Ulevinov, MD N
- Dile Muhtarova, PhD student A
- Svetlana Zhoteva-Atanasova S

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology

**RESULTS:** Group A *Streptococcus* (GAS) or *Streptococcus pyogenes* causes infections ranging from self-limiting to life-threatening ones. The creation of new variants polymerase chain reaction (PCR) and comparison with evaluation their results with data acquired from the known methods - microbial culture and rapid immunochromatographic (RICT) for GAS detection is a step in the direction of rapid and correct diagnosis of this etiological agent and minimizing of post-streptococcal complications. Samples from 147 patients with tonsillopharyngitis, scarlet fever and peritonsillar abscess were tested at the same time by a cultural technique, RICT, multiplex and real-time (RT) PCR with primers for genes *speB* and *SpyCEP*. GAS was found in 83.67% of the tested patients by all techniques. PCR positive samples and culture negative for GAS were 6.26%. The RICT showed 8.16% false negative and 1.36% false positive results. Both of the PCRs with the used primers demonstrated 100% specificity. The conventional cultural method is highly sensitive, but requires a lot of time. RICT is easy and cheap, but with lower sensitivity than the other methods used. PCR techniques are fast and not expensive, RT-PCR is the faster one.

**Scientific publications and presentations:**

- Muhtarova A, Gergova R, Gergov S, et al. Contemporary methods for direct detection of *Streptococcus pyogenes* in patient samples. Health and Science 2017;1(025):44-8.
- Gergova R, Muhtarova A, Petrova G, et al. Comparison of cultural, immunological and new PCR techniques for detection of *Streptococcus pyogenes*. Compt Rend Acad Bulg Sci, 2017.
- Gergova R, Muhtarova A, Petrova G, et al. Comparison of three laboratory methods for detecting *Streptococcus pyogenes* in clinical specimens. 14 National Congress on Clinical Microbiology and BAM Infections. Sofia, 12-14 May 2016.
- Gergova R, Petrova G, Muhtarova A, et al. Rapid diagnosis of *Streptococcus pyogenes* by RT PCR in samples of patients with tonsillopharyngitis, scarlet fever and peritonasal abscess. XVI-th National Conference for GPs and Pediatricians with International Participation, Sunny Beach, May 19-21, 2017.

**Contract 10/2015 Introducing modern techniques for group B streptococcus screening in pregnant women at 35-37 weeks of gestation**

**Leading scientist:** Prof. Aleksey Yordanov Alekseev, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, DSc
- Assoc. Prof. Albena Todorova, PhD
- Teodora Stoycheva, PhD, GMDL „Genica”

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Group B *Streptococcus* (GBS) is an important cause of neonatal morbidity and mortality resulting from infection. GBS prevalence and neonatal risks need intrapartum screening and antibiotic prophylaxis of all GBS positive women. Development of sufficiently rapid, specific and sensitive detection method, such as polymerase chain reaction (PCR), for GBS infection in pregnant women remains useful in order to adequately identify pregnant women at risk of transferring GBS to their neonate. This research of rectovaginal GBS colonization of pregnant women between the 35th and 37th week of gestation, comparing PCR assay with standard microbiology, aims to introduce PCR assay as more rapid and effective method instead of routine microbiology. One hundred and fifty rectovaginal samples

of pregnant women between the 35th and 37th week of gestation were examined for *Streptococcus agalactiae* infection using PCR and standard microbiology. PCR analysis of the samples has found *S. agalactiae* infection in ten (10%) of all 150 rectovaginal samples, whereas, all rectovaginal samples were negative for *S. agalactiae* in microbiology. This confirms the necessity of using a more sensitive method for prenatal screening, such as PCR. Comparative analysis of PCR test and standard microbiology of rectovaginal GBS colonization in pregnant women between the 35th and 37th week of gestation can serve as a recommendation for introducing PCR technique as more rapid and effective method for prenatal screening instead of routine microbiology used for detecting *S. agalactiae* colonization, hence reducing the risk of neonatal GBS infections and related disease complications.

**Contract 11/2015 Clonal origin of *E. coli* and *K. Pneumoniae* isolates producing carbapenamase- and/or extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) and determining the localization of the genes encoding those enzymes**

**Leading scientist:** Rumyana Donkova Markovska-Davidkova, MD, PhD

**Research team:**

- Daniela Dacheva, PhD student
- Assoc Prof. Radka Kaneva, PhD
- Prof. Emma Keuleyan, MD, PhD, Medical Institute of Ministry of the internal affairs
- Corr member Prof. Ivan Mitov, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Grosdanka Lazarova, MD, PhD, Thracian University
- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department of medical microbiology

**RESULTS:** Distribution of ESBL types have shown the prevalence of CTX-M enzymes - (97%). From CTX-M enzymes prevailed CTX-M-15 – 66%. Determination of antimicrobial susceptibility has shown high resistance levels, they have conserved susceptibility only in respect of imipenem, piperacilin/tazobactam and amikacin. Twenty isolates *K pneumoniae* and one *E. coli* have been proven to produce carbapenamases. The main carbapenamase was KPC-2 detected in two hospitals. For the first time in Bulgaria has been detected isolate *E. coli* producing KPC-2 enzymes. Together with carbapenamase these isolates produced also CTX-M-15 enzymes, except strain *E. coli*. In one hospital were identified NDM-1 producers. MLST typing revealed presence of one main MLST type – ST15 *K. pneumoniae*. It has associated with production of CTX-M-15 or KPC-2 enzymes. **Seventy** eight percent from all *E. coli* isolates belonged to CC 131 and were associated mainly with production of CTX-M-15 enzymes. One strain from this clone produced KPC-2 enzyme.

**Scientific publications and presentations:**

- Markovska R, T Stoeva, L Boyanova, et al. Isolation of *Escherichia coli* ST131 producing KPC-2 in Bulgaria. Infect Dis (Lond) 2017;49(5):429-31.

**Contract 12/2015 Design, synthesis and application in medicine and biology of new fluorogenic substrate and specific inhibitors of aminopeptidase A**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivaylo Ivanov, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev MD, PhD, DSc

- Assoc. Prof. Valentin Lozanov, PhD
- Head Assit. Prof. Silviya Ruseva, PhD
- Assist. Prof. Aneliya Vasileva
- Assist. Prof. Vesela Lozanova
- Doroteya Aleksandrova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** A new specific fluorescent substrate  $\alpha$ -L-glutamyl-N-(2-acridonyl) amide is proposed, that has some advantages over the synthetic substrates used in the practice: a) No need of background correction, because the hydrolysis products of the substrate are not fluorescent at used conditions; b) The method is highly sensitive. This substrate can be used to determine the activity of APA in biological samples. The fluorogenic substrate 4-( $\alpha$ -L-glutamylhydrazido)-N-hexyl-1,8-naphthalimide was used to develop precise histochemical and cytochemical methods for visualization and localization of the enzymatic activity of APA in tissue sections of laboratory animals and cell cultures. It is the first fluorogenic substrate used for visualization of APA enzymatic activity. The images are clear and stable. The product has fluorescence in the red region of the visible spectrum where no autofluorescence is expected. Our results support the putative diagnostic value of APA for breast cancer and are in favor of implementing a model carcinoma Ehrlich in research of human breast cancer. The activity of APA in homogenates of two tumor cell lines of human breast cancer and non-tumorigenic cell line of epithelial cells of the mammary gland in the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  suggest that in tumor lines this activity is lower compared to non-tumorigenic cell line. The effect of  $\text{Sr}^{2+}$  and  $\text{Ba}^{2+}$  on enzyme activity is different for the two types of cell lines. As far as we know, the research of this type is not available in the scientific literature. The determination of APA activity in the presence of various ions of alkaline earth metals has the potential to be used to differentiate the normal from the cancerous cells of this type. We have found that  $\alpha$ -L-glutamyl-N-hydroxyamide is an effective mixed inhibitor (competitive/noncompetitive) to APA. So far in the scientific literature an enzyme inhibitor of this type to APA has not been described.

**Scientific publications and presentations:**

- Petrova V, Pavlova V, Iliev I, et al. Study on aminopeptidase A activity in normal mouse mammary gland and in murine in vivo model of Ehrlich carcinoma solid form, Second National Conference for Young Scientists "Biological Sciences for a better future", Plovdiv, 30-31 Oct 2015

**Contract 13/2015 Preclinical screening of newly synthesized coumarin and 2H-substituted hydrazide-hydrazones for a potential anti-seizure activity and assessment of their neurotoxicity**

**Leading scientist** Prof. Slavina Kirilova Surcheva, MD, PhD

**Research team:**

- Pavlina Gateva, MD, PhD
- Violina Stoyanova, PhD
- Assoc. prof. Yana Tchekalarova, PhD, BAS
- Assoc. prof. Nikolay Vassilev, PhD, BAS
- Radka Tafradjiiska-Hadjiolova, MD, PhD
- Julian Voynikov, PhD
- Valentin Karabeliov, student

- Diliara Marinova, student, SU “St Kliment Ohridski

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine

**RESULTS:** We have synthesized 6 new coumarin and 2H-chromene substituted hydrazide-hydrazones and we have tested them for anti-seizure activity applying the test for maximal electroshock (MES test) and the test with subcutaneous injection of pentylenetetrazole (scPTZ) in mice. We determined dosages for at least 50% “protection” of animals, i.e. abolition of seizures after pre-treatment with different dosages with the newly synthesized substances injected intraperitoneally. For 3 of the substances, showing protective anti-seizure effect we also revealed increased seizure latency in different concentrations. None of the tested substances did not demonstrated minimal neurotoxicity with rotarod test. This encourage us to broaden the pharmacological evaluations of those substances and to expand the series of tested substances with new coumarin and 2H-chromene substituted hydrazide-hydrazones searching new promising candidate-antiepileptic drugs with a favorable safety profile.

**Scientific publications and presentations:**

- Angelova V, Andreeva-Gateva P, Vassilev N, et al. Anticonvulsant Activity of Newly Synthesized 2H–chromene Based Hydrazones in ICR Mice. Source of the Document Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences 2016;69 (4):513-20.
- Angelova V, Karabeliov V, Andreeva-Gateva P, et al. Recent Developments of Hydrazide/Hydrazone Derivatives and Their Analogs as Anticonvulsant Agents in Animal Models. Drug Dev Res 2016;77 (7), 379-392.
- Angelova V, Gateva P, Surcheva S, et al. Anticonvulsant activity of some novel derivatives bearing coumarin and chromene moiety. XI-th Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences with international participation. Plovdiv, 9-11 October, 2015
- Karabeliov V, Angelova V, Andreeva-Gateva P, et al. Anticonvulsant Activity of Newly Synthesized benzoylhydrazones with 2H–chromene and coumarin moieties in ICR mice. European Chemistry Congress, Rome, Italy, June 16-18
- Gateva P, Angelova V, Vassilev N, et al. Newly synthesized coumarin and 2H chromene substituted hydrazide-hydrazones with promising antiseizure activity and lack of a minimal neurotoxicity. Sandanski, 13-16 Oct 2016

### **Contract 14/2015 Role of the cannabinoid and the nitric oxide systems on nociception and behavioral responses after stress in rats**

**Leading scientist:** Prof. Adriana Ivanova Bocheva, MD

**Research team:**

- Prof. Stiliana Belcheva, MD, Sofia University;
- Assoc. Prof. Roman Tashev, MD, PhD
- Assit. Prof. Hristina Nocheva, MD, PhD
- Assit. Prof. Radka Tafradjiska, MD, PhD
- Assit. Prof. Mimoza Tzvetkova, MD
- Dimitar Kochev, MD, PhD student
- Liudmila Yankova, BAS

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pathophysiology

**RESULTS:** The results obtained concord with our expectations about the interactions between the cannabinoids and the nitric oxide system. Administration of the CB1-receptors agonist alone decreased the pain threshold of experimental animals. The interaction between

CB1-receptor agonists (anandamide) alone or in combination with nitric oxide system potentiators (L-arg or the combination of L-NAME+SIN1) increases SIA. CB1-receptors antagonist AM251, alone or in combination with L-arg or the combination of L-NAME+SIN1 slowed down the appearance of the analgesic effect of the nitric oxide system. Di consequence, the administration of CB1-receptors agonist or antagonist along with substances that potentiate the nitric oxide system (precursor or donor of NO) modulates its antinociceptive effects in respect to SIA. Administration of (L-NAME) decreased pain threshold after both stresses. In conclusion, we may state that agonists, as well as antagonists of CB1-receptors influence the nitric oxide system effects after SIA. After immobilization or hot stress the results obtained showed that stimulation of CB1-receptors improves the stress condition while CB1-receptors inhibition worsens it. Both immobilization and hot stress change anandamide and AM251 effects. Administration of L-arg, SIN-1, and L-NAME alone or in combination with anandamide after both stresses stimulates exploratory behavior, motor activity and improves learning and memory processes, but can't compensate memory deficiency caused by both stresses. Combination between AM251 and L-arg or SIN-1 stimulates exploratory behavior, motor activity and improves learning and memory compared to rats after stress. The combination of AM251+L-NAME strongly decreases exploratory behavior, motor activity and impairs learning and memory, worsening both stresses. Generally speaking, the results about the effects of CB1-receptor ligands (anandamide and AM251), and activators and inhibitors of nitric oxide system, administered after stress, are original and in concordance with CB1-receptors participation in stress, as well as their part in changes in brain reactivity. Presuming that the endocannabinoid system takes part in stress, we assume that CB1-ligands could be used in clinical practice for treating of post-stress-conditions. Data also show that the endocannabinoid and nitric oxide system interact with each other.

**Contract 15/2015 Study of the participation of angiotensin AT2 receptors, using an angiotensin AT2-receptor agonist, in the mechanism of behavioral changes induced by experimental diabetes in spontaneously hypertensive rats (SHR)**

**Leading scientist:** Prof. Dr. Alexander Gueorguiev Stoynev, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assist. Prof. Kiril Petrov, MD
- Assoc. Prof. Daniela Pechlivanova, PhD, BAS
- Romyana Mitreva, BAS

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Pathophysiology

**RESULTS:** The experimental model of diabetes mellitus (DM), Type 2 is characterized by less severe metabolic changes in comparison with type 1 diabetes in both normotensive and spontaneously hypertensive rats (SHR). The observed 24-hour changes in urine output and water intake were more pronounced in SHRs in comparison with normotensive Wistar rats. DM2 caused a significant reduction in locomotor activity in Wistars and SHRs. ICV infusion of AT2 receptor agonist novokinin enhanced DM2-induced polyuria and polydipsia and reduced the food intake in normotensive Wistar rats, but did not alter these parameters in SHRs. AT2 agonist reduced exploratory behavior in normotensive rats and potentiated the anxiety behavior in normotensive rats with DM2. The experimental DM2 induced an increase in the total superoxide dismutase activity in the hippocampus, in parallel with decreased level of O<sub>2</sub>- in Wistar rats. Our data show significant differences in the effects of AT2 receptor activation in normotensive as compared with spontaneously hypertensive rats. The AT2-receptor agonist novokinin aggravated DM2-induced metabolic changes and decreased



exploratory behavior in normotensive rats, and enhanced the anxiety behavior and reduced pain sensitivity in SHR, thus suggesting a participation of angiotensin AT2 receptors in the mechanism of behavioral changes induced by experimental DM2 in spontaneously hypertensive rats.

**Scientific publications and presentations:**

- Pechlivanova D, E Krumova, N Kostadinova, et al. Diabetes mellitus type 2-induced changes in metabolism, behavior and oxidative stress in both normotensive and spontaneously hypertensive rats. Scientific Meeting of Bulgarian Society of Physiological Sciences-Sofia Branch, Abstracts, p. 13, Sofia, 25 November 2016.

**Contract 16/2015 Study of Balbiani body cytoplasmic components in oocytes from mouse primordial follicles**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ralitsa Stefanova Zhivkova, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Stefka Delimitreva, PhD
- Assoc. Prof. Maya Markova, PhD
- Assist. Prof. Valentina Hadzhinesheva
- Assist. Prof. Venera Nikolova
- Assist. Prof. Irina Chakarova
- Assoc. Prof. Milena Mourdjeva-Andonova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Biology

**RESULTS:** The scientific work of the present project included the following important steps: Preparation of paraffin-embedded ovarian sections from newborn mice; Adaptation of research protocols and antibody concentration adjustment to these sections; Immunohistochemical detection of ooplasmic components corresponding to Balbiani body: pericentriolar material (PCM), mitochondria, Golgi complex and actin. A germ cell marker was applied to prove the primordial origin of analyzed cells. The positive immunohistochemical reaction for Germ cell marker in the ooplasm proved it. Specific localization of PCM was adjacent to the nuclear envelope and registered in association with heterochromatin regions of the oocyte nucleus. The combination of PCM with the mitochondrial marker revealed an association of mitochondrial clusters with the PCM at perinuclear region and at the bridges between follicles. The fluorescent reaction for Golgi complex showed its peripheral location as well as a diffuse Golgi material was associated to the heterochromatin spots of the nucleus and the intercytoplasmic bridges between the forming primordial follicles. The actin distribution was registered at the cell periphery but specific cluster associated with perinuclear position and Golgi material association was recognized as corresponding to Balbiani body. Results of the present study reveal the involvement of PCM and mitochondria in oocyte asymmetry in primordial mammalian follicles and prove the presence of actin and Golgi material in a cluster of organelles and proteins recognized as Balbiani body - a relic structure in mammalian oocytes.

**Scientific publications and presentations:**

- Hadzhinesheva V, Nikolova V, Chakarova I, et al. Mammalian Balbiani body as a sign of ancestral oocyte asymmetry. Acta Morphol et Antropol 2015;22:159-62.

**Contract 17/2015 Study of the role of CK2 protein kinases in the regulation of wnt signaling in human mesenchymal stem cells (MSC) isolated from granulation tissue dental alveoli****Leading scientist:** Assoc. Prof. Mariya Dimitrova Dragneva, PhD**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Assist. Prof. Antonia Isaeva
- Assist. Prof. Nikolay Ishkitiev
- Assist. Prof. Violeta Dimitrova
- Rozalia Tsikandelova

**Organization unit:** MU - Sofia, Department of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Wnt signaling plays a key role in maintaining the characteristics of stem cells, adult stem isolated from different tissues. Canonical Wnt / beta-catenin e highly conserved during evolution signaling pathway, which is of great significance for the biology of stem cells, namely potentsiala their samovazobnovyavane and differentiation. Signaling by Wnt3a conditioned fragile balance between differentiation and samovazobnovyavaneto stem cells growing circle of researchers favor the hypothesis that Wnt most likely function as a kind of anti-apoptotic stimulating survival of stem cells signal regeneratsiyata tissue. The activation of the canonical pathway Wnt leads to stabilization and translocation of the cytoplasmic  $\beta$ -catenin into the nucleus, where it interacts with the transcription factors of the family of TCF (T-cell factor) / LEF (lymphocyte enhancer factor) and activates the expression of target genes. In the absence of Wnt signal,  $\beta$ -catenin is composed in a multimeric complex consisting of Axin or Axin 2. Axin is an important component of the Wnt signaling, which interact with multiple substrates.

**Contract 18/2015 Study of osteoinductive intracellular signaling regulating osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells isolated from dental pulp****Leading scientist:** Acad. Prof. Vanyo Ivanov Mitev, MD, PhD, DSc**Research team:**

- Assist. Prof. Antonia Isaeva
- Assist. Prof. Nikolay Ishkitiev
- Assist. Prof. Violeta Dimitrova
- Rozalia Tsikandelova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medical, Department of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** In the present study we first show data obtained as a result of transfection with CK II $\alpha$  siRNA of autocrine proliferating cells with partially overlapping phenotype with respect to a surface-expressed receptor-cell stem marker, which clearly reveals the importance of the catalytic  $\alpha$  subunits of protein kinase CK2 the progress of signage calling for autocrine proliferation on the one hand and signaling for effecting the transition of this phenotype to BMP4-induced proosteogenen / proodontogenen phenotype on the other. Decreased expression of CK II $\alpha$  has possitive effect on the activity of PKC $\alpha$  and leads to its translocated into the nucleus in all three tested subpopulations, demonstrating that CK2 is a significant participant in the signaling responsible for various aspects of regulation PKC $\alpha$  and is also involved in the regulation of gene expression and localization of transcription factor Osx. The effects of decreased expression of CK II $\alpha$  on the expression of Osx are phenotypically more

specific, while the effect on its location is the same in all three subsets, showing that normal operation of CK2 is part of the universal control exercised on the localization of the transcription factor and Meanwhile part of phenotype-specific control of gene expression him. Pro osteogene signal BMR4 stimulates the activity of cytoplasmic localized PKC $\alpha$ , without affecting its expression and localization and stimulate gene expression of Osx, which has a central role in Osteogenic differentiation, which correlates with our hypothesis about a key part of PKC $\alpha$  in signal transduction calling for transition and most likely supporting the osteogenic phenotype. The effects of decreased expression of CK II $\alpha$  not change from pro osteogene signal BMR4, proving that the involvement of CK2 in the highest levels of signal-transduction networks that BMR4-induced effects are transduced from below standing against her involved in them.

### **Contract 20/2015 Application of Next Generation Sequencing for detection of somatic mutations in gliomas and tumors of the gastrointestinal tract in a select group of Bulgarian patients**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Albena Kirilova Yordanova, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Dr. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Daniela Dacheva, PhD student
- Gergana Stancheva, MD, PhD
- Kunka Kamenarova, MD, PhD
- Reni Tzveova, MD, PhD
- Romyana Dodova, MD, PhD
- Ivan Popov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical chemistry and Biochemistry,

**RESULTS:** Intra tumor heterogeneity of breast cancer is well-known but driver mutations and mutational processes in which they are involved in have not yet been comprehensively explored. It was made a comparison of results obtained from the nextgeneration sequencing analysis (NGS) of samples isolated from paraffin block (2427 variants) and from fresh frozen material (770 variants). Conditions for precise analysis were set for the materials from formalin fixedparaffin embedded tissue avoiding false positive and negative results. As a result, it was held nextgeneration sequencing analysis (NGS) of the GIST patients, which showed the presence of pathogenic mutations in all patients studied. Results from the NGS analysis in current research project show that pathogenic somatic mutations are found in all patient samples. The total number of annotated variants was 511 and includes all types of SNV and small insertions and deletions. A total of 30 known pathogenic mutations were found- 3 stop gained mutations, 15 small insertions/deletions, 2 inframe pathogenic deletions, 10 known pathogenic mutations, all spread in 44% of the genes. In addition 57 new likely pathogenic missense mutations were also found. From the pathogenic mutations 66.6% were found in APC, KIT, PDGFRA, PIK3CA and BRAF genes. In addition we found that some mutations appeared in more than 50% of samples like c.5228delC in ATM, c.1815delT in BRAF, c.891dupT in ERBB4, c.5871T>A in ATM and c.1598T>C in SMAD4. Statistical analysis results show that there is a patern of gaining more mutations with age. No significant

differences between the number of mutations and tumor differentiation or size was found. In our study 45% (5) of the patients were identified with mutation in the *KIT*, 80% of them were located in exon 11, remaining 20% (1 patient) in exon 9. PDGFRA were established presence of 3 different mutations in exon 12 and one in exon 18 (D842V), which leads to resistance to imatinib.

**Contract 21/2015 Molecular-genetical structure of multidrug-resistant invasive and respiratory *Streptococcus pneumoniae* isolates five years after routine implementation of a pneumococcal conjugated vaccine for Bulgarian infants**

**Leading scientist:** Prof. Lena Petrova Setchanova, MD, PhD

**Research team:**

- Alexandra Alexandrova, PhD
- Daniela Dacheva

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** The 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV10) has been included in Bulgarian Childhood Immunization Program since 2010. This study aimed to assess serotype distribution and antimicrobial resistance among 198 invasive and non-invasive *S. pneumoniae* that had been isolated in Bulgaria during 2011-2016 from patients with invasive (IPD) and non-invasive (NIPD) pneumococcal diseases. The most common invasive serotypes were 3 (10.1%), 19F (4.0%), and 7F (3.0%). A significant decrease in the proportion of invasive vaccine types (VTs) from 64.2% to 35.2% was found in comparison with pre-vaccine era. The most common serotypes among middle ear fluids were 3, 19A and 19F (5.6% each), and VTs fell down from 66.4% to 40.0% in post-PCV10 period. Among respiratory isolates, the most prevalent serotypes were some emergent serotypes as 15A/B/C (5.0%), 19A and 6C (4.0% each). A significant decrease of VTs among vaccinated children (16.3%) was found then in the group of unvaccinated children and adults (44.0%). Two non-VTs (19A and 6C) have showed significantly higher rates in vaccinated children than in unvaccinated patients ( $p < 0.05$ ). The rates of antibiotic nonsusceptible *S. pneumoniae* in Bulgaria remained high in post-PCV10 era. Among all kind of isolates, antimicrobial nonsusceptibility rates were: penicillin - 46.5%, trimethoprim-sulfamethoxazole - 45.4%, erythromycin - 43.9%, tetracycline - 37.4%, and multidrug-resistance (MDR) was 44 %. The most common MDR serotypes were 19F, 19A, 6A/C, 15A/B/C and 23A. Our results proved that PCV10 vaccination substantially reduced VTs pneumococcal IPD and NIPD. A shift in the distribution of *S. pneumoniae* serotypes mostly in vaccinated children but also in the whole population and strong serotype-specific antibiotic resistance was observed after vaccine implementation. Therefore, it is important to continue to monitor serotype changes and pneumococcal resistance among all age patients as well to aid in determining the long-term effectiveness of PCV10 interventions. The results based on molecular serotyping of 26 *S. pneumoniae* isolates from serogroup 6 have shown that serotype 6A was found in 46%, emergence of new serotype 6C - 35%, and vaccine type 6B - 19%. Clonal composition based on MLST genotyping of 57 multidrug-resistant *S. pneumoniae* isolates found that among serotype 19A and 19F the most prevalent genotype was CC320 (65.5%), which is a capsular switched variant of the Taiwan<sup>19F</sup>-14/ST236 global clone.

**Scientific publications and presentations:**

- Setchanova L, M Murdjeva, I Stancheva, et al. Serotype changes and antimicrobial nonsusceptibility rates of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates after implementation of 10-valent pneumococcal nontypeable *Haemophilus*

*influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria. *Braz J Infect Dis.* 2017;21(4):433-40.

- Alexandrova A, L Setchanova, I Mitov. Serotype distribution and antibiotic susceptibilities of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates after the routine implementation of pneumococcal nontypeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria. 9<sup>th</sup> Balkan Congress of Microbiology, 22-24 October, 2015, Thessaloniki, Greece. (*Microbiologia Balkanica* 2015). P36A.

### **Contract 24/2015 Elaboration of non-invasive method for evaluating implantation potential of human embryos based on miRNAs expression in culture medium**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Radka Petrova Kaneva, PhD

**Research team:**

- Res. fellow Todor Chaushev, PhD, Hospital “Nadejda”
- Ivaylo Rangelov, Hospital “Nadejda”
- Georgy Stamenov, MD, Hospital “Nadejda”
- Dimitar Parvanov, MD, Hospital “Nadejda”
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Darina Kachakova, PhD
- Daniela Pencheva, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry,

**RESULTS:** In the current study culture medium from 15 successfully implanted and 16 not implanted embryos were included. Due to expected low concentrations of extracted RNAs from culture medium preamplification was performed after the reverse transcription reaction for synthesis of cDNA in order to amplify the starting material and make it usable for the downstream analysis. Expression profiling of 372 miRNAs was performed by PCR array method in order to evaluate the possibility of using miRNAs as noninvasive biomarkers for predicting the embryotransfer outcome in assisted reproduction technologies. Twenty unreported so far miRNAs were detected in culture medium of embryos. Three of them miR-328, miR-3173-3p and miR-3909 showed elevated expression and one of them miR-720 showed decreased expression in successfully implanted compared to not successfully implanted embryos. Two miRNAs miR-182-3p and miR-548o-3p/ miR-548av-3p were detected only in culture medium of implanted embryos since miR-337-3p, miR-3941, miR-3675-3p specific only for culture medium of not implanted embryos. The estimated differentially expressed miRNAs are potential new biomarkers for accurate and noninvasive prediction of implantation potential. In order to confirm the results validation study should be performed.

**Scientific publications and presentations:**

- Rangelov I, Chaushev T, Parvanov D, et al. Exploring the feasibility of miRNA expression in culture media to predict implantation outcome. First national conference for reintroduction of conservation significance species. Youth scientific conference “Kliment days”. Sofia, Biology Faculty, 18-20 Nov, 2015.

**Contract 25/2015 Oxidative stress as a co-factor in epigenetic alterations during cervical carcinogenesis****Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivanka Istalianova Dimova, MD, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Miglena Koprinarova, PhD, BAS
- Assoc. Prof. Stefan Kovachev, MD, PhD, Military Academy Sofia
- Assoc. Prof. Albena Todorova, DSc
- Kremena Slavova, GMDL „Genika“
- Viktor Slavov, GMDL „Genika“
- Assist. Prof. Dragomira Nikolova, PhD
- Assist. Prof. Vera Damyanova, MD, PhD
- Assist. Prof. Sena Karachanak-Yankova, PhD
- Assoc. Prof. Savina Hadjidekova, MD, PhD
- Desislava Nesheva, PhD student
- Blaga Rukova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical genetics

**RESULTS:** Cervical cancer is tightly connected to HPV infection, but it is not yet elucidated why some of infected cases progress to cancer, but others not. Our aim was to study the role of DNA methylation in this process by analyzing HPV-infected cervical tissues from different PAP groups. We measured unmethylated and hypermethylated fraction in promoters of 22 genes, connected to cellular stress and toxicity by real-time PCR in three groups: (i) HPV positive PAP I/II cervical samples; (ii) HPV positive PAP III/IV cervical samples; (iii) healthy blood donors. Overall, there was an increased average hypermethylated fraction (Fhm) for all investigated genes in cervical groups compared to controls. The highest Fhm was revealed for DNAJC15 gene promoter – 31% in HPV-positive PAP I/II group and 32% in HPV- positive PAP III/IV group compared to 0.6% in controls. It was followed by BRCA1 (30% vs 13% vs 0.8%), Tp53 (19.5% vs 19.2% vs 0.8%), Gpx3 (13% vs 16.4% vs 1.3%), Prdx2 (11.8% vs 11.6% vs 0.5%), CSTB (11.2% vs 12.6% vs 0.4%). The Fhm of the remaining genes varied between 5.2% and 9.1% in the first patients' group and between 5.5% and 18.7% in the second patients' group. Comparison between high grade and low grade lesions found an increase in Fhm of more than 1.5 times for the genes Rara (2.1 times), Gadd45G (1.7 times), SCARA3 (1.6 times) and Mlh1, Xpc and CDKN1a (all with an increase of 1.5 times). We suggest an association between HPV infection and hypermethylation (inactivation) of important tumor-suppressor genes and genes, connected to cellular stress. Dysplasia continues to progress along with further hypermethylation (inactivation) of the mismatch repair genes and genes connected to inflammation response and oxidative stress protection.

**Scientific publications and presentations:**

- Koprinarova M, S Kovachev, I Dimitrov, et al. Association of HPV infection and cervical dysplasia progression with DNA methylation of genes, connected to cellular stress and oncogenesis. European Human Genetics Conference 2016, May 21-24 2016, Barcelona, Spain, E-P17.03
- Yaneva L, I Dimova. Association of HPV infection and cervical dysplasia progression with DNA methylation of genes, connected to cellular stress and oncogenesis. Varna Medical Forum, volume 5, 2016, supplement 1, p.31-32.

**Contract 26/2015 Pharmacological effects of opioid agonists and antagonists on learning and memory, and behavior of rats with experimental diabetes****Leading scientist:** Prof. Nadka Ivanova Boyadjieva, PhD**Research team:**

- Assist. Pavel Dzurov
- Assist. Prof. Miroslava Varadinova
- Kalina Kamenova
- Rositsa Metodieva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department of pharmacology and toxicology**RESULTS:** The aim of this study is to investigate the effects of opioids (agonists and antagonists of delta receptors) on pain, memory and cognitive functions of male rats with streptozotocin-induced diabetes. Rats were injected with a single dose of streptozotocin (60 mg/kg). Diabetes was developed within 14 days. Opioids were applied for 21 days. Glucose in blood, body weight, parameters of shuttle-box test and tail-flick were determine before and after chronic applications of DADLE, DPDPE, naloxon and naltrindole. Antagonist of opioid receptors naloxon and naltrindole do not influence elevated glucose levels in male rats witx diabetes. DADLE decreased blood glucose after 21 days applications. DPDPE is a selective agonist to delta-opioid receptors and decreased blood glucose levels in diabetic rats. Both agonists of delta-opioid receptors affected the parameters of cognitive functions and improved learning and memory of diabetic rats. DADLE and DPDPE affect the parameters of pain and demonstrated analgesic activity. Naloxon and naltrindole have low activity on cognitive functions. Taken together, the results suggest the role of delta opioid receptors in modulation of pain and learning and memory in diabetes.**Scientific publications and presentations:**

- Kamenova K, Yaneva L, Jurov P, et al. Beta-endorphin levels in opioid agonist- and antagonist-treated diabetic rats. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.
- Kafozoff NE, Mahmoud I, Varadinova M, et al. Effects of opioid agonists and antagonists in experimental model of diabetes. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.
- Stefanova Z, Stefanova T, Varadinova M, et al. Role of opioid agonists and antagonists in active avoidance test os streptozotocin-induced diabetic rats. ICMS, Sofia, 12-15 May 2016.

**Contract 27/2015 New method for investigation and diagnosis of Alzheimer disease based on differential scanning calorimetry****Leading scientist:** Prof. Boris Gotsev Tenchov, PhD, DSc**Research team:**

- Assist. Prof. Silviya Abarova, PhD
- Assist. Prof. Lubomir Traikov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Lyubka Tancheva, PhD, BAS
- Nezi Nizamova, student
- Vanyo Vezirov, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine , University Hospital "Alexandrovska", Clinic of Cardiology, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia**RESULTS:** In this study we have developed a new approach based on differential scanning calorimetry (DSC) to characterize the changes in brain tissues at molecular and supramolecular level associated with drug-induced neurodegenerative disorders. We used an

experimental animal model of scopolamine-induced dementia of Alzheimer's disease (AD) type. The DSC measurements performed on supernatants of brain tissue homogenates revealed large differences between the denaturational profiles for healthy animals and for animals with scopolamine-induced dementia. The denaturational profiles of brain tissues from healthy animals display clearly expressed low-temperature exothermic transitions with peaks in the range 35-45°C, which precede in temperature the endothermic denaturational transitions and which are completely eliminated by the scopolamine treatment. The exothermic transitions were only observed in supernatants of brain tissue homogenates, and not in other samples from these animals, e.g., centrifugation sediments of brain tissue homogenates, liver homogenates, blood serum. In principle, such exothermic transitions are indicative of irreversible processes of protein aggregation (or fibrillization). The effects of preventive treatments with various substances (myrtenal, ellagic acid, lipoic acid, ascorbic acid) and their combinations expected to have protective effect and to hinder the development of AD were also tested. They were found to be clearly displayed in the thermograms and to result in partial or complete neutralization of the scopolamine effect. The thermodynamic parameters (temperature  $T_m$ , specific heat  $C_p$  and enthalpy  $\Delta H_{cal}$ ) of the exothermic and endothermic processes in the denaturational profiles were also determined and will be further used for analysis of the composition and behavior of the brain proteome. These measurements show that DSC is an appropriate method with great potential for detection and characterization of changes taking place at molecular level in affected by dementia brain tissues.

**Scientific publications and presentations:**

- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. A new approach for investigating drug-induced neurodegenerative disorders in mice based on DSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 127, 483-486 (2017)
- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. Low-temperature exothermic transitions in brain proteome of mice, effect of scopolamine *Thermochimica Acta* 650, 1-7 (2017)
- Abarova S, Tancheva L, Koynova R, et al. New method for study and diagnosis of neurodegenerative diseases based on differential scanning calorimetry – physiology. XI National Congress of Physiological Sciences. Plovdiv, Bulgaria. 9-11 October 2015. p. 31.
- Tenchov B, Abarova S, Koynova R, et al. A new method for investigating the Alzheimer disease and methods for its prevention based on differential scanning calorimetry (DSC). CEEC-TAC3. Ljubljana, Slovenia. 25-28 of August 2015. p. 283.
- Nizamova N, Vezirov V, Abarova S, et al. Possible prevention of ellagic acid and lipoic acid in animal model of Alzheimer's disease and developing new method of early diagnosing using differential scanning calorimetry. ICMS. Sofia, Bulgaria. 12-15 May 2016. p. 54
- Vezirov V, Tancheva L, Abarova S, et al. Early diagnosis of Alzheimer's disease with new method of differential scanning calorimetry. European Students Conference (ESC 2015). Berlin, Germany. 23-26 September 2015.

**Contract 28/2015 Production of ariltetralin lignans in *In vitro* cultures of endemic species *Linum ucrainicum Czern***

**Leading scientist:** Prof. Iliana Ilieva Ionkova, PhD, DSc

**Research team:**

- Jancho Zarev, PhD student
- Christo Vasilev, PhD student
- Pavlinka Popova



**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** The aryltetralin lignan podophyllotoxin is used as precursor for semi synthetic derivatives like Etoposide or Teniposide that are used in the treatment of cancer. However, continued supply of podophyllotoxin is not compatible with the conservation of the wild Podophyllum plants. Therefore the identification of other sources of this rare natural lignan is required. Screening for rapid growth and high lignan yield showed that *Linum* species belonging to the Syllinum section are promising for exploitation in vitro. We have established several callus and suspension cultures from single sterile seedlings from *Linum ukrainicum* Czern. (Linaceae), endemic species in the Balkan area and checked for the occurrence of lignans. Two major ariltetralin lignans were isolated from the methanol extracts after enzymatic hydrolysis. Their structures were elucidated by UV/DAD and HPLC/MS as 6-methoxypodophyllotoxin (6-MPTOX) and podophyllotoxin (PTOX). The aryltetralin lignan 6-MPTOX is the main lignan in the extract from cell suspension culture of *L. ukrainicum* with about  $1,836 \pm 0,164$  mg/g dry weight. The contents of PTOX was  $0,300 \pm 0,029$  mg/g dry weight. This is the first report on the in vitro production of ariltetralin lignans by suspension cultures from *L. ukrainicum*.

**Scientific publications and presentations:**

- Ionkova I, P Sasheva, P Popova. Ariltetralin lignans from in vitro cultures of *Linum ukrainicum* Czern. and their cytotoxic activity, International congress on ECCE10+ECAB3+EPIC5, Nice, France, Oct 2015: S01-315.
- Paloukopoulou C, P Popova, H Vasilev, et al. Podophyllotoxin and related lignans: biotechnological production by in vitro plant cell cultures of *Linum ucrainicum*. Pharmacia 2016;63(1/20):14-6.

### **Contract 29/2015 Phytochemical and pharmacological study of *Astragalus monspessulanus* subsp. *illyricus***

**Leading scientist:** Prof. Ilina Nikolaeva Krasteva, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Virginia Tzankova, PhD
- Assist. Prof. Petranka Zdraveva, PhD
- Assoc. Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Assoc. Prof. Vessela Vitcheva, PhD
- Viktor Bratkov, PhD
- Assist. Prof. Alexander Shkondrov, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** Phytochemical investigation of the aerial parts of *Astragalus monspessulanus* L. ssp. *illyricus* (Bernh.) led to isolation of two rare flavonoids with unusual hydroxy methyl glutaric acid as a moiety quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- $\beta$ -D-galactopyranoside and kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- $\beta$ -D-galactopyranoside. Their structures were elucidated by acid hydrolysis, 1D and 2D NMR experiments and HRESIMS. In addition four flavonoids alcesefoliside, mauritianin, trifolin and hyperoside were identified by HPLC analysis. Comparison between the quantity of total flavonoid content in two subspecies of *A. monspessulanus* – *A. monspessulanus* subsp. *monspessulanus* and *A. monspessulanus* subsp. *illyricus* was performed using modified Pharmacopoeial method. Differences in the total flavonoid content as well as in the ratio of the different type flavonoid glycosides, corresponding to a certain aglycone were found in the investigated plants. The results will contribute to clarify the chemotaxonomic status of the subspecies. In the model of *t*-BuOOH-

induced oxidative stress on isolated rat hepatocytes flavonoids had statistically significant cytoprotective activity, similar to that of silymarin. The most prominent effects were determined for flavonoid quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- $\beta$ -D-galactopyranoside.

**Scientific publications and presentations:**

- Krasteva I, Bratkov V, Bucar F, et al. Flavoalkaloids and flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. J Nat Prod. 2015;78(11):2565-71.
- Bratkov V. Phytochemical investigation of *Astragalus monspessulanus* L. (Fabaceae). PhD thesis. Sofia, 2015.

**Contract 31//2015 Prospective antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activities of *Portulaca oleracea* L. (purslane) extracts and bioactive compounds in *in vitro* models**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Reneta Slavova Gevrenova, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assist. Prof. Vessela Balabanova-Bozushka, PhD
- Assist. Prof. Irina Lazarova, PhD
- Assoc. Prof. Valentin Lozanov, PhD
- Assoc. Prof. Silvia Ruseva, PhD
- Nikolay Denkov, student
- Sara Muhafel student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** *Portulaca oleracea* L. (purslane) is an edible plant with cosmopolitan distribution, traditionally consumed in the diet of green leafy vegetables. In the extraction procedure optimization, stirring at 80°C gave the highest percentage yield of 16%, while the maximum polyphenols ( $3.45\% \pm 0.83$ ) and saponins ( $9.15\% \pm 0.17$ ) contents were achieved by Soxhlet extraction. Aerial parts of seven accessions from Bulgaria (4) and Greece (3) were analyzed for total polyphenols (up to 1%), flavonoids (0.3%) and polysaccharides (1.5%). Principa compound analysis (PCA) analysis showed well defined cluster of tree Bulgarian samples. LC-ESI/MS analysis revealed higher contents of ellagic and vanillic acid in Bulgarian accession up to 250.48 and 123.76 ng/mg dw, respectively, than in Greek one. In this study, we report the first metabolic profiling of three Bulgarian and one Greek purslane samples using a LC/MS – based non-targeted method and SIEVE 2.2 – platform. Different accumulations between studied accessions were observed, together with the main flavonoids 6-hydroxyluteolin 7-glucoside and erytictiol 7-glucuronide. 56 compounds from 41 metabolic pathways were found in metabolic data base KEGG. Equal radical scavenging activity with IC<sub>50</sub> values 2 mg/ml (DPPH) and 0.9 mg/ml (ABTS) was found for both Bulgarian and Greek samples. The angiotensin converting enzyme (ACE-1) – inhibitory activity of different purslane fractions was evaluated by high resolution accurate mass spectrometry (HRAMS) and LC/MS/MS of two substrates (Z-Phe-His-Leu-OH and Hip-His-Leu-OH). ACE– inhibitory activity of the aqueous fraction of purslane extract was evidenced without substrate specificity in concentration depending manner (40% at 2 mg/ml). All bioactive compounds had probably a function for the ACE-inhibitory activity. Although, its potential is lower than those of the known ACE inhibitor captopril, used as a positive control. In addition, the aqueous fraction revealed the highest DPPH (0.54 mg/ml) and ABTS (0.66 mg/ml) scavenging activity. Aqueous purslan extract could be used against oxidative stress.

**Scientific publications and presentations:**

- Gevrenova R, Zheleva-Dimitrova D, Balabanova V, et al. A phytochemical study and antioxidant potential of *Portulaca oleracea* L. (purslane) grown wild in Bulgaria and Greece. *Compt rend Acad Bulg Sci*. 2016;69(7):865-70.
- Zheleva-Dimitrova D, Rousseva S, Balabanova V, et al., Purslane d'origine Balkanique: dérivées phénoliques et pouvoir antioxydant. 2nd Joint Scientific Session. Paris, France. 21-22 September, 2015. Book of abstracts p.46 - oral presentation.
- Balabanova V, Zheleva-Dimitrova D, Lazarova I, et al., A comparative study of *Portulaca oleracea* L. (purslane) grown wild in Bulgaria and Greece. 9th Conference on Medical and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Plovdiv, Bulgaria. 26-29 May 2016. Book of Abstracts—poster 88.

**Contract 32/2015 Antibacterial, radical-scavenging and acetylcholinesterase inhibitory potential of used in traditional Sudanese medicine plant species *Solanum carense* and *Geigeria alata*.****Leading scientist:** Prof. Georgi Tzvetanov Momekov, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Assoc. Prof. Reneta Gevrenova, PhD
- Assist. Prof. Vessela Balabanova-Bozushka, PhD
- Corr. Member Hristo Naydenski, DSc, BAS
- Assist. Prof. Maya Zaharieva, PhD, BAS
- Nikolay Denkov, student
- Sara Muhafel, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** Phenolic profiles of the methanol-aqueous extracts of Sudanese plants *Solanum carense* and *G. alata* were obtained by LC/MS. Main phenolic compounds were isolated by low-bar liquid chromatography and their antioxidant and antimicrobial activity were evaluated using free radical DPPH and ABTS scavenging, ferric reducing power (FRAP) and broth microdilution method (BMD) on a panel of pathogenic bacteria and fungi. A newly discovered *N*<sup>c</sup>-feruloyl lysine (1) together with 16 known hydroxycinnamic acid amides (HCAAs) were identified in the roots of *S. carense*. The structure of 1 was established on the basis of 1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) and 2D (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC) NMR analysis, together with UV-Vis, HR-ESI-MS and ESI-MS<sup>2</sup> fragmentation analyses. *N*<sup>c</sup>-feruloyl lysine demonstrated stronger DPPH (IC<sub>50</sub> 85.83 µg/mL), ABTS (IC<sub>50</sub> 255.54 µg/mL) and FRAP (0.44±0.02 mM TE/mg dw) activity as compared with the root extract. *N*<sup>c</sup>-feruloyl lysine exhibited significantly higher antimicrobial activity against both *Streptococcus aureus* strains NBIMCC 3359 (MIC/MBC 112.5 µg/ml) and penicillin resistant ATCC 6538 P (MIC 112.5 µg/ml) than the total *S. carense* extract (MIC 1.25 and 2.5 mg/ml, respectively). The extract showed antimicrobial activity towards *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes* and *Candida albicans* (MIC 1.25 mg/ml). *N*<sup>c</sup>-feruloyl lysine had function for the observed protection against oxidative stress and antimicrobial activity. For the first time protocatechuic, caffeic, p-coumaroylquinic, caffeoylsinapoylquinic, caffeoylferuloylquinic, three feruloylquinic, six caffeoylquinic acids, and caffeic acid hexoside were analyzed in *G. alata* roots and leaves by LC/MS. HPLC-UV determination revealed the highest content of 3,5-dicaffeoylquinic acid (25.96±2.08 mg/g dry weight) in roots, while 4,5-dicaffeoylquinic acid was the main

compound in leaves ( $8.99 \pm 0.56$  mg/g dw). 3,5-dicaffeoylquinic acid demonstrated stronger radical scavenging activity and reducing power compared to the crude extracts and pure chlorogenic acid. 3,4,5-tricaffeoylquinic acid revealed higher antibacterial potential against the penicillin sensitive and resistant *S. aureus* strains, as well as towards MRSA.

#### Scientific publications and presentations:

- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Zaharieva M, et al. HPLC UV and LC MS Analyses of Acylquinic Acids in *Geigeria alata* DC Oliv Hiern and their Contribution to Antioxidant and Antimicrobial Capacity. *Biochem Anal.* 2017 May 1;28(3):176-184.
- Voynikov Y, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, et al. Hydroxycinnamic acid amide profile of *Solanum schimperianum* Hochst by HR-UPLC-MS. *Int J Mass Spectrometr* 2016;408:42-50.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Zaharieva M, et al. *Geigeria alata* (DC.) – a new source of bioactive compounds. 2nd International Conference on Natural Products Utilization (From Plants to Pharmacy Shlef), Plovdiv, Bulgaria, 14-17.10.2015
- Voynikov Y, Lozanov V, Zheleva-Dimitrova D, et al. Determination of antioxidants from *Solanum carense* stem bark and root by LC-HRAM. 2nd International Conference on Natural Products Utilization (From Plants to Pharmacy Shlef), Plovdiv, Bulgaria, 14-17.10.2015.
- Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, Yagi S, et al. The potential of Sudanese plants as a new source of antioxidants. 9<sup>th</sup> Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. 26-29 May 2016 Plovdiv, Bulgaria

#### **Contract 33/2015 In Vitro And In Vivo Toxicity Evaluation Of Cationic PDMAEMA-PCL-PDMAEMA Micelles**

**Leading scientist:** Assoc. prof. Virginia Tzankova, PhD, ERT

#### **Research team:**

- Assoc. prof. Krassimira Yoncheva, PhD
- Prof. Nikolay Danchev, MD, PhD
- Assoc. prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Assist. prof. Borislav Tzankov, PhD
- Cvetelina Gorinova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of pharmacology, pharmacotherapy and toxicology

**RESULTS:** The use of nanoscale biomaterials as drug delivery systems has been exponentially growing in the recent years. Various functional biocompatible drug nanocarriers were designed in order to avoid some problems like low solubility, low bioavailability, and extended biotransformation etc. However, the possible hazard of nanoparticles on human health is still far from well established. Among the carriers, polymeric nanoparticles emerged as promising candidates that can deliver a variety of drug molecules in a controllable and sustainable manner. The main goal of the work was to evaluate *in vitro* and *in vivo* toxicity of empty and curcumin loaded cationic micelles, based on a PDMAEMA-PCL-DMAEMA. Two *in vitro* cell culture models were used, human hepatocellular carcinoma cells HEP G2 and freshly isolated rat hepatocytes as tools for assessing potential toxicity. HEP G2 cells have not shown changes in cell viability and membrane integrity; however the isolated hepatocytes were more sensitive to the polymer micelles. Acute and repeated 14 days treatment of male Wistar rats did not induce significant

toxicity reactions or pathological liver changes. These data provide useful information about the lack of toxicity of cationic micelles, based on triblock copolymer comprising short cationic blocks, that can help to better understanding of their safety and biocompatibility as potential drug delivery systems.

**Scientific publications and presentations:**

- Tzankova, V, Gorinova C, Kondeva-Burdina M, et al. In Vitro And In Vivo Toxicity Evaluation Of Cationic PDMAEMA-PCL-PDMAEMA Micelles As A Carrier Of Curcumin. *Food Chem Toxicol.* 2016 Nov;97:1-10.
- Gorinova C, Tzankova V, Kondeva-Burdina M, et al. Effects of curcumin loaded polymeric micelles on antioxidant defence system markers in male Wistar rats in vivo. International Workshop on Biochemistry, Physiology and Pharmacology of Oxidative Stress, Rome, 2-4 July, 2015.

**Contract 34/2015 Quantitative determination of fluoroquinolones and antibacterial nitroimidazole drugs in mixtures by means of high pressure liquid chromatography**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Vanya Nikolova Maslarska, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Boyka Tsvetkova, PhD
- Assoc. Prof. Lily Peikova, PhD
- Nelina Zareva, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry

**RESULTS:** In this study analytical tests for identification, purity and assay of the following model drug mixtures containing Metronidazole and Ciprofloxacin, Metronidazole and Ofloxacin, as well as Metronidazole, Tinidazole и Ciprofloxacin were developed based on the results obtained from the analyses. The methods were optimized using validation procedures according the requirements of European Pharmacopoeia 7.0 and ICH criteria. Tests include High Pressure Liquid Chromatography with specific columns (RP analytical column 250 x 4.6 mm) and are distinguished for their precision, accuracy, high sensitivity and selectivity. HPLC methods elaborated are very useful and applicable for routine analytical practice as well as for the quality control of new registered generic products. HPLC determination provides possibilities for compliance with the contemporary requirements to the control of quality and the knowledge which enforces solutions like preparing of drug profiles for the already widely applied fixed-dosage combinations containing fluoroquinolones and nitroimidazole antibacterial drugs.

**Scientific publications and presentations:**

- Maslarska V, Tsvetkova B, Peikova L, et al. HPLC Assay of Model Tablet Formulations Containing Metronidazole and Ciprofloxacin. *Int J Pharm and Pharm Sci.* 2016; 8(5): 306-10.
- Maslarska V, Bozhanov S, Tsvetkova B et al. RP-HPLC Method for Determination of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Dosage Forms. *Pharmacia.* 2016; 63(1): 3-8.
- Maslarska V, Tsvetkova B, Peikova L et al. RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Metronidazole and Ofloxacin in Synthetic Mixture. CBU International Conference “Innovations in Science and Education”. Prague, Mar 23–25, 2016

**Contract 35/2015 Design, synthesis and spectral characterization of new 3- and 5-substituted salicylaldehyde benzoylhydrazone derivatives with potential cytotoxic activity****Leading scientist:** Prof. Darvin Slavchev Ivanov, PhD**Research team:**

- Assist. Prof. Boryana Nikolova-Mladenova, PhD
- Prof. Georgi Momekov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Chemistry

**RESULTS:** 18 new compounds have been synthesized - 16 new 3,5-dichloro-, 3,5-dibromo- and 3,5-diiodo-derivatives of salicylaldehyde benzoylhydrazone and 2 new Co (II) complexes with the biologically active ligands 3-methoxysalicylaldehyde-4-hydroxybenzoylhydrazone and 3-methoxysalicylaldehyde isonicotinoylhydrazone. 3,5-dihalogenoderived hydrazones were synthesized by Schiff base condensation in ethanol of 3,5-dichlorosalicylaldehyde, 3,5-dibromosalicylaldehyde and 3,5-diiodosalicylaldehyde with eight acid hydrazides - benzhydrazide, 4-hydroxybenzhydrazide, 4-piridincarbohydrazide, 4-methylbenzhydrazide, 3-piridincarbohydrazide, 4-chlorobenzhydrazide, 2-chlorobenzhydrazide and 3-chlorobenzhydrazide. The compounds were characterized by elemental analysis, IR spectroscopy, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. The empirical formulas and the structure of the new hydrazones have been determined. The structures and the chemical bonds of the obtained Co (II) complexes were interpreted on the basis of a comparison of their spectral data with those of the free ligands. The most likely structures of the complexes were presented. Some of the new hydrazones were studied with the Density functional theory (DFT) in order to optimize their geometry and calculate quantum-chemical properties. Structural parameters of the hydrazones were determined by the method M062X/6-31+G (d,p). The calculated bond lengths and angles of the new hydrazones were compared with the experimental crystallographic data for SBH. Despite the small differences obtained, the optimized geometries of the new hydrazones are in good agreement with the experimental electron diffraction data. The values of the calculated angles reveal that the molecules are not planar. 3,5-dihalogenoderived hydrazones were tested by "Lipinski rule of 5" to evaluate their pharmacokinetic behavior and drug likeness. The new 3,5-dichloro-, 3,5-dibromo- and 3,5-diiodo-derivatives were screened for cytotoxic activity on a range of human tumor cell lines using the MTT assay. All of the tested compounds exhibited concentration-dependent cytotoxic effects after 72 h treatment which allowed the construction of sigmoidal dose response curves and the calculation of the corresponding IC<sub>50</sub> values. 3,5-dichlorosalicylaldehyde benzoylhydrazones exhibited the highest cytotoxic potential. The determined IC<sub>50</sub> values are lower than these of the reference cytostatic agents cisplatin and melphalan.

**Scientific publications and presentations:**

- Mitev G, Nikolova-Mladenova B, Ivanov D. Synthesis and characterization of 3,5-dichlorosalicylaldehyde benzoylhydrazone. Student scientific session, Faculty of Pharmacy, Sofia, Bulgaria, 21 November 2015
- Nikolova-Mladenova B, Ivanov D. Synthesis of new Co(II) complexes with 3-methoxysalicylaldehyde based hydrazones as a possible approach in the treatment of cobalt poisoning. *J Med Biol Sci*, 2016;3(1):57-62.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Design, molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3,5-dichlorosubstituted salicylaldehyde benzoylhydrazones, *J Med Biol Sci*, 2016;3(1):63-5.
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Design, evaluation of molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3- and 5-methoxy substituted

aroylhydrazones. Computational Advances in Structure-Based Drug Discovery 2015, Lausanne, Switzerland. September 22-25, 2015

- Nikolova-Mladenova B, Ivanov D. Synthesis of new Co(II) complexes with 3-methoxysalicylaldehyde based hydrazones as a possible approach in the treatment of cobalt poisoning. International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, Venice, Italy. April 27-29
- Nikolova-Mladenova B, Momekov G, Ivanov D. Design, molecular properties and in vitro cytotoxic activity of 3,5-dichlorosubstituted salicylaldehyde benzoylhydrazones, International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, Venice, Italy. April 27-29, 2016

### **Contract 39/2015 Toxicological characterization and study of the spectral behavior of pyrrole hydrazones with proven anti-microbial effect**

**Leading scientist:** Prof. Alexander Borisov Zlatkov, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Virginia Tzankova, PhD
- Assoc. Prof. Magdalena Kondeva-Burdina, PhD
- Assit. Prof. Maya Georgieva, PhD
- Mirena Kaimakanova, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical chemistry

**RESULTS:** In the current study two series of N-pyrrolylcarboxylic acid derivatives, containing a hydrazone moiety were synthesized. The structure of the compounds was elucidated by appropriate spectral methods. The spectral behavior of a representative molecule was studied. The corresponding toxicological effects of the tested compounds, divided into two series, were followed: N-pyrrolylcarboxylic acid hydrazones Series one, subdivided into two groups Group I – (11a, 11b, 11c, 11x, 11p, 11l, 11o, 11e) and Group II – (11, 11d, 11n, 11m, 11i, 11h, 11g); pyrrol-containing hydrazones Series two, subdivided into two groups Group I (12a, 12b, 12c, 12x, 12p, 12l, 12o, 12e) and Group II (12, 12d, 12n, 12m, 12i, 12h, 12g), with proven anti-tubercular activity on isolated rat hepatocytes. All tested compounds when applied separately show statistically significant cytotoxic effect on isolated rat hepatocytes, when compared to the control (non-treated hepatocytes). It was determined that four of the analysed compounds from the two series express lower cytotoxic effect on the isolated hepatocytes – 11, 11l, 12 и 12a. From the compounds included in Series one with lowest cytotoxic effect are 11 and 11l, which decrease the cellular viability by 18 % and 24 %; and the reduced glutathione level by 22 % and by 36 %. Additionally they increase the LDH release by 21 % and 28 %; and the MDA production by 15 % and 21 %, respectively against the control (non-treated hepatocytes). From the compounds included in Series two with lowest cytotoxic effect are 12 and 12a, which decrease the cellular viability by 14 % and 17 %; and the reduced glutathione level by 10 % and by 20 %, while they increase the LDH release by 8 % and 12 %; and the MDA production by 12 % and 31 %, respectively against the control (non-treated hepatocytes). In both series hydrazones, compounds included in Group II are less toxic than compounds from Group I. The difference in the effect is considered to be due to the difference in the chemical structure and variation of the substituents.

**Scientific publications and presentations:**

- Georgieva M, Kondeva-Burdina M, Tzankova V et al. Effects of newly synthesized N-pyrrolylcarboxylic acid hydrazones, with established anti-tubercular activity, on

isolated rat hepatocytes. 2<sup>nd</sup> International Congress of Greek Local Chapter of Controlled Release Society (CRS). Athens, Greece, 22-24.06.2016

- Georgieva M, Stanchev S, Mitkov J et al. Spectral analysis and structural elucidation of synthesized pyrrole hydrazone derivative with antitubercular activity through quantum chemical calculations. 2<sup>nd</sup> International Congress of Greek Local Chapter of Controlled Release Society (CRS). Athens, Greece, 22-24.06.2016

### **Contract 40/2015 Experimental study of the anti-inflammatory activity of total extract of *Gypsophila trichotoma* Wend**

**Leading scientist:** Prof. Nikolai Damyanov Danchev, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Iliana Krasteva, PhD
- Assist. Prof. Petranka Zdraveva, PhD
- Assist. Prof. Alexander Shkondrov, PhD student
- Assist. Prof. Lyubomir Marinov, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** Total and purified extracts from the aboveground part and root of cultivated and wild *Gypsophila trichotoma* Wend. were tested for anti-inflammatory activity in an experimental model of collagen-induced arthritis in rats and mice. Experimental arthritis was induced on 100 male rats and 100 male mice by injection of collagen type II (CII) and CFA, in the form of an emulsion. Each animal was injected with 50 µl of emulsion. The emulsion was injected intradermally to 1.5 cm distal from the base of the tail of the animals. Additional immunization was carried out on the 21st day of the initial immunization. The extracts were administered at a dose of 80 mg/kg orally for 30 days starting from the 21st day after the initial immunization. Inflammatory changes in the paws were evaluated on a scale from 0 to 4. There was no statistical difference between the cumulative performance between male rats and male mice. Comparative cumulative score of inflammatory changes indicates that there is no difference between the extracts obtained from the wild and cultivated plants, as well as between the aboveground part and the roots. Extracts do not exhibit anti-inflammatory activity during the treatment period (30 days) and in the observation period up to 60 day after commencing treatment. The results indicate that the extracts do not have an anti-inflammatory effect when administered after arthritis has been developed.

**Scientific publications and presentations:**

- Marinov L, Shkondrov A, Nikolova I, et al. The effect of gypsophila extract in collagen-induced arthritis in mice VI<sup>th</sup> Congress of Pharmacy with International Participation – October 13 – 16, 2016 Sandanski, Bulgaria

### **Contract 41/2015 Prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum annulatum* Moris – isolation, structure elucidation and cytotoxicity assessment on panel of tumor cell lines**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Paraskev Todorov Nedialkov, PhD

**Research team:**



- Prof. Georgi Momekov, PhD
- Assist. Prof. Zlatina Kokanova-Nedialkova, PhD
- Yana Ilieva, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** A phytochemical investigation of the hexane extract of the aerial parts of *Hypericum annulatum* Moris. led to the isolation of three new and one known prenylated acylphloroglucinol derivatives. The new compounds were identified as 1-{3-[(3E)-3,7-dimethyl-2-(3-methylbut-2-en-1-yl)octa-3,6-dien-1-yl]-2,4,6-trihydroxyphenyl}-2-methylpropan-1-one (Hann1), 1-{3-[(3E)-3,7-dimethyl-2-(3-methylbut-2-en-1-yl)octa-3,6-dien-1-yl]-2,4,6-trihydroxyphenyl}-2-methylbutan-1-one (Hann2) and 1-((4aS,9aS)-6,8-dihydroxy-3,3-dimethyl-4a-(4-methylpent-3-en-1-yl)-2,3,4,4a,9,9a-hexahydro-1H-xanthen-5-yl)-2-methylpropan-1-one (3) by means of spectral methods (MS, NMR, UV). These were named as hyperannulatin A, B and C, respectively. The known compound has been identified as hypercalyxone A (Hann4). The cytotoxicity of isolated compounds were established on a panel of tumor cell lines was determined using MTT based assays. The IC<sub>50</sub> of all compounds was within the range of 2.09 - 58.75 µM, but the most active were hyperannulatin A and B with IC<sub>50</sub> 2.4 - 5.87 µM and 2.09 - 8.84 µM, respectively. In addition, the ability to activate procaspase 6 transformation in caspase 9 for hyperannulatin A and B was studied as well.

**Scientific publications and presentations:**

- Nedialkov P, Ilieva Y, Momekov G. Prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum annulatum*. 63<sup>rd</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA2015), Budapest (Hungary), 23-27 Aug 2015, *Planta Medica* 2015; 81(16):1437-8

### **Contract 42/2015 Effects of growth factor PDGF (Platelet Derived Growth Factor) on collagen synthesis and osteo/odontogenic differentiation of human periodontal ligament cell cultures**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Pavel Kirilov Stanimirov DDS, PhD, DSc

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev PhD, DSc
- Assist. Prof. Zornitsa Mihaylova, DDS
- Krasimir Hristov, DDS
- Violeta Dimitrova
- Assist. Prof. Nikolay Ishkitiev DDS, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Oral and maxillofacial surgery

**RESULTS:** In the present study we managed to isolate mesenchymal cells from human periodontal ligament of routinely extracted third molars. All the patients have signed an informed consent. Firstly we characterized the cell culture. For this aim we used markers known to be expressed by mesenchymal stem cells - CD44, CD49f, CD105, CD117, CD146, CD271, STRO-1, Col1a2, Col3a1, BSP II, SPARC. We found positive expression in the investigated cell culture via flowcytometry and immunofluorescence analysis. We investigated the effects of the growth factor PDGF on the following cell culture properties: cell proliferation rate, stem cells and differentiation markers expression, collagen synthesis, mineralization. Results demonstrate that PDGF increases significantly cell proliferation in a concentration dependent manner with maximum effect at 50 ng/ml. Mesenchymal stem cell markers expression (CD146, CD105) and expression of SPARC (marker associated with

osteoblastic differentiation, maturation of collagen molecules, tumor development and growth) was also increased. PDGF at high concentrations decreases collagen synthesis and mineralization of human periodontal ligament cell culture.

**Scientific publications and presentations:**

- Mihaylova Z, V Mitev, P Stanimirov, et al. Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. Acta Odontol Scand. 2016;1:1-11.
- Mihaylova Z, P Stanimirov, N Ishkitiev, et al. Effect of PDGF-BB on Periodontal Ligament Stem Cell Cultures. IADR/APR General Session & Exhibition (June 22-25, 2016) Seoul, Republic of Korea.

**Contract 43/2015 Investigation of the effect of transport media and citric acid on the biological potential of stem cells from apical papilla**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Natalia Hristova Grancharova, DDS, PhD

**Research team:**

- Prof. Rossitza Kabaktchieva, DDS, PhD
- ssoc. Prof. Pavel Stanimirov, MD, DDS, PhD
- ssist. Prof. Nikolay Ishkitiev, DDS, PhD
- ssist. Krasimir Hristov, DDS
- ssist. Prof. Antoniya Isaeva, PhD
- Rosaliya Tsikandelova

A

A

A

A

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dentistry, Department of Pediatric Dentistry

**RESULTS:** Clinicians often encounter the challenge of adequately debriding immature root canals. In these procedures impeccable microbial control is crucial. In turn, preserving the vitality of mesenchymal stem cells is very important for the success of regenerative endodontics. Therefore, the preferred irrigation protocol has to provide ideal disinfection and it shouldn't alter the biological potential of stem cells. SOS Dentobox promotes greater survival of SCAP than phosphate-buffered saline. There is no statistically significant difference between root segments, irrigated with NaOCl/EDTA and NaOCl/CA. The citric acid has similar to EDTA effect on SCAP survival, when applied in regenerative endodontics.

**Contract 50/2015 Next-generation sequencing of target genes for retinal degeneration in bulgarian patients**

**Leading scientist:** Prof. Sylvia Zdravkova Cherninkova, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Ivailo Tournev, MD, PhD, DSc
- Kunka Kamenarova, PhD
- Daniela Dacheva, PhD student
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Reni Tzveova, PhD student
- Assoc. Prof. Krassimir Koev, MD
- Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurology

**RESULTS:** Retinitis pigmentosa (RP) is a clinically and genetically heterogeneous disorder with an incidence of 1 in 3,500, or a total of 1.8 million people affected worldwide. Our purpose was to search for mutation causing retinal degeneration in the Bulgarian Romani family. During the years, within the frames of last projects, an extensive clinical database of retinal degeneration patients has been established in the Molecular Medicine Center, and through detailed pedigree information and genealogical studies a large three-generation family with RP has been selected. The family displayed a dominant mode of inheritance with variable onset. Targeted parallel sequencing of 4,813 genes associated with known clinical phenotypes, including the commonly mutated currently known adRP genes, was performed in a clinically well-characterized individual of the adRP Gypsy pedigree. Prioritization of possibly pathogenic changes was performed, and after applying filtering criteria, we considered only 4 variants in different genes: 1 missense variant in *LCA5* (c.250C>T), 1 missense variant in *RIMS1* (c.3122T>C), 1 intronic variant in *TTC8* (c.115-5T>G), and 1 missense hemizygous variant in *OFD1* (c.1694T>C). The *TTC8*-c.115-5T>G was novel. There were no false positives after their confirmation by Sanger sequencing. Pathogenicity of all four changes was then checked by segregation analysis within the affected individuals. The potential effect of the variants was assessed using *in silico* bioinformatic tools. Segregation analysis and non-matching with mutation-associated possible phenotype excluded remaining sequencing variants and therefore all known adRP genes as causative of the disease in the present kindred. Thus, our results suggest that new adRP-locus exists in the human genome since no pathogenic changes were found in known adRP-genes.

### **Contract 56/2015 The role of signal pathway of T- and B-cell activation in the pathogenesis of Common variable immunodeficiency**

**Leading scientist:** Prof. Elissaveta Jordanova Naumova, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Anastassia Mihaylova, PhD
- Assit. Prof. Snezhina Kandilarova, MD, PhD
- Nevena Gesheva, MD
- Spaska Lesichkova, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of clinical laboratory and clinical immunology, University Hospital “Alexandrovska”

**RESULTS:** Common variable immunodeficiency (CVID) is a heterogeneous immunodeficiency syndrome with unclear mechanisms. It's assumed that the presence of certain T-and/or B cell deficiencies may develop an impaired antibody synthesis with or no autoimmune manifestations. The purpose of the current study is to investigate different lymphocyte intracellular signal pathways including JAK/STAT signaling cascade and mitogen-activated protein kinase (MARK) in patients with CVID. We have implemented a flowcytometry method for analysis of spontaneous and induced expression of the phosphorylated proteins -ERK1/2, p38MARK, Stat3, Stat5 and Stat6 in CD4+, CD8+ and CD19+ lymphocytes in 10 patients and 10 healthy controls. Our results in patients compared to healthy individuals showed the following statistically significant alteration in the signal transduction: increased spontaneous Erk activation of CD4+ T cells (GeoMFI-11.3±3.9 vs. 8.5±1.78, p=0.045); increased IL-2 induced STAT5 activation (GeoMFI-312.7±42.15 vs. 239.2±40.08, p=0.001) and increased STAT5 activation index in CD4+ cells (x=12.54 vs. 8.66, p=0.023) combined with a decreased spontaneous STAT5 activation (GeoMFI-16.2±3.26 vs.

23.0±7.23,p=0.028), but increased STAT5 IL-2 depending activation index in CD8+ T-cell subset (18.77±3.77 vs. 12.81±2.71,p=0.001); decreased induced STAT3 activation (GeoMFI-11.0±1.58 vs. 13.0±1.94,p=0.024) and STAT3 activation index in B lymphocytes (1.4±0.22 vs. 1.7±0.25, p=0.01); decreased induced STAT6 activation (GeoMFI-19.9±2.42 vs. 27.5±5.06,p<0.001) and STAT6 activation index (2.73±0.41 vs. 3.57±1.12,p=0.045) in CD8+ T cells. Our results could explain the alterations in Th1/Th2 cytokine balance as well as the observed impairments in the number, phenotype and function of helpers, cytotoxic and B-lymphocytes in CVID. We consider that the data received from this study are important for clarifying of certain mechanisms of the impaired cell signaling, cooperation and function in the pathogenesis of CVID. A similar research approach applied in a larger patient's group and combined with a genetic analysis could represent a major methodical, scientific and clinical interest in terms of development of new therapeutic approaches.

**Scientific publications and presentations:**

- Naumova E, Baleva M, Mihaylova A et al. Role of the JAK/STAT signal pathway disturbances in the development of primary immunodeficiencies. *Medicinski pregled* 2017;53(2):5-8.

**Contract 63/2015 Study of immune signatures in the antibody repertoire in patients with malignant and metastatic brain tumors**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Asen Ventsislavov Bussarsky, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Anastas Pashov, MD, PhD, BAS
- Assist.Prof. Dilyan Ferdinandov, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Neurosurgery

**RESULTS:** We present a pilot study based on immunosignatures related to known brain malignancies. Our aim is to find specific patterns of antibody production against tumor epitopes in the diagnostic work-up. Surgically treated patients in the Clinic of Neurosurgery at St. Ivan Rilski University Hospital, Sofia, Bulgaria, were included. All subjects had confirmed multiform glioblastoma. No patient had previous chemo- or radiotherapy as well as immunomodulating therapy of the current or another disease. Lesion biopsies were studied routinely. The assessment of immunosignatures was done with commercially available microarrays with 4526 peptides from 20 tumor-associated antigens and 209 known epitopes from the IEDB B-cell database. The probes were incubated and evaluated according to the manufacturer's protocol. Further post-hoc analysis was done. The study includes 6 patient added to a previously studied group with a total of 22 patients subdivided equally into three groups. Control subjects were selected randomly out of cases with degenerative spine disease. There were only patients with classical histopathological glioblastoma presentation in the second group. Among cases with secondary brain lesions we took out patients with lung carcinoma. All concluded experiments were technically acceptable. About hundred peptides showed significant IgM reactivities. Along with known protein abnormalities we found patterns that may correspond with specific tumor histopathology and patient heterogeneity. Glioblastoma was associated with a significantly narrower IgM repertoire, which is a novel aspect of the tumor immunosuppression. The proposed concept and diagnostic system may provide a fast, non-invasive and inexpensive tool for early and accurate diagnosis of almost any tumor affecting the nervous system. Unknown prognostic markers could be identified which gives new opportunities in the treatment of these malignancies.

**Scientific publications and presentations:**

- Pashov A. IgM immunosignatures in brain tumor patients detected with tumor antigen peptide arrays. The antibody repertoire as a biomarker. EEA Grants Conference, Sofia, 23.09.2015.
- Ferdinandov D, Kostov V, Hadjieva M, et al. A novel concept in the diagnostic work-up of malignant brain tumors - a pilot study based on immunosignatures. Congress of the European Association of Neurosurgical Societies, Madrid, 18-21.10.2015, Poster Presentation A-743-0016-00977.
- Kostov V, Ferdinandov D, Hadjieva M, et al. IgM immunosignature-based diagnosis of malignant brain tumors: a pilot study. International Congress of Medical Sciences, Sofia, 12-15.05.2016, p. 229
- Pashov A, Kostov V, Ferdinandov D, et al. Could IgM repertoire signatures be used as biomarkers in cancer? 10<sup>th</sup> World Congress on Vaccines, Immunisation and Immunotherapy, Bern, Switzerland, 01-02.06.2016.

### **Contract 66/2015 Genetic alterations in primary glioblastomas and their association with prognosis in Bulgarian patients**

**Leading scientist:** Prof. Nikolay Stefanov Gabrovsky, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. George Poptodorov, MD, PhD UMHATEM "N. I. Pirogov"
- Nikolay Velinov, MD, PhD, UMHATEM "N. I. Pirogov"
- Maria Laleva, MD, PhD, UMHATEM "N. I. Pirogov"
- Assoc. Prof. Margarita Kamenova, MD, PhD
- Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSI
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Gergana Stancheva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, MF, Molecular Medicine Center

**RESULTS:** In the recent years many comprehensive studies were focused on genomic characteristics of gliomas. This led to the discovery of a variety of genes that have not been associated with glial carcinogenesis before. Mutations in genes encoding isocitrate dehydrogenase isoforms 1 (IDH1) and 2 (IDH2) have been found in a large proportion of gliomas. IDH1/IDH2 genetic alterations occur early in tumour progression of brain neoplasias, but rarely in other solid tumours and are associated with better outcome. EGFR amplification, CDKN2A homozygous deletion and loss of 10q chromosome harbouring PTEN have been associated with poor prognosis. To determine the prevalence of alterations in EGFR, TP53, PTEN, CDKN2A genes and IDH1/2 mutations (examined by sequencing for mutations in exon 4 of IDH1/2 in previous project funded by MU-Sofia, contract No 8-D/2010) in Bulgarian patients and their impact on prognosis were examined 50 primary glioblastomas. Further alterations in EGFR, TP53, PTEN and CDKN2A genes were investigated by MLPA kit P105. IDH1 genetic alteration R132H was observed in 8 (16%) tumour samples. Mutations in IDH2 were not detected. As reported previously the IDH1 mutations were found in younger patients (median age 43 vs 60.5 in non-mutated cases;  $p=0.04$ ) and were associated with an increased overall survival (median survival 28.4 months vs 8.07 in non-mutated cases;  $p=0.002$ ). In 56% (28) of the patients EGFR amplification was observed whereas PTEN and CDKN2A deletions were identified in 56% (28), and 44% (22) of the patients, respectively. Patients with PTEN deletions revealed significant worse survival than patients without such aberrations (median survival 18.07 months vs 8.33 in non-mutated cases;  $p=0.05$ ). Those aberrations were investigated in the aspect of presence of IDH1/IDH2 mutations. The most of the

patients with IDH1/IDH2 mutations harbouring amplification of EGFR (43% vs %,  $p=0.017$ ), whereas PTEN deletions were significantly correlated with the group without IDH1/IDH2 mutations.

**Scientific publications and presentations:**

- Stancheva G, T Goranova, M Laleva, et al. Prognostic significance of TERT promoter mutations and association with other common genomic aberrations in Bulgarian glioblastoma patients. Accepted for poster presentation. The 24th Meeting of European Association for Cancer Research, 9-12 July 2016, Manchester, UK.

**Contract 76/2015 Immunohistochemical characteristics of brain metastases and their corresponding primary non-small cell lung cancer**

**Leading scientist:** Prof. Yanina Georgieva Slavova – Marinova, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Sevdalin Nachev, MD, PhD, DSc
- Prof. Dimitar Kostadinov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Vania Youroukova, MD, PhD
- Assist. Prof. Dora Marinova, MD, PhD
- Evgeni Mekov, MD, PhD
- Miroslav Mihailov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of pneumology, University hospital for lung diseases “St. Sofia”

**RESULTS:** In this study brain metastases and their corresponding primary lung cancers were examined by immunohistochemical expression of TTF-1, p63, Cytokeratin 7, Synaptophysin, Ki-67 and CD31. The proliferative activity, the number of intratumoral microvessels and cell clones with high metastatic potential were determined. In almost half of the cases the diagnosis was changed on the basis of the used immunohistochemical markers, indicating the importance of immunohistochemistry. Unlike adenocarcinomas (AC) (histological diagnosis confirmed in all cases), squamous cell carcinoma (SCC) diagnosis was confirmed in only 30% of the cases. When comparing the histological structure of the primary tumor and metastasis we have found a difference in half of the adenocarcinomas, the papillary component is metastasizing the most frequently. Regarding the studied markers, we have concluded that: TTF-1 is expressed in a greater number of cases of AC in the lung (95%), but with lower mean levels of expression (45.44 against 73.88), while the corresponding brain metastases expressed the marker less frequently (76%), but when it is presented it has significantly higher mean values of expression. P63 is expressed in a high percentage of tumor cells in all SCC, there is no difference in expression levels between the primary tumor and metastasis. Cytokeratin 7 is expressed in all AC, equally regardless of the site - primary or metastatic. It was found that the Ki-67 proliferative activity of cancer cells from the metastatic focus is higher than that of the primary site. By CD31 we establish vascular invasion in primary lung cancer. There were no significant differences between the primary tumor and metastasis. It was found that the 1-year survival rate after surgery for lung cancer has higher and longer mean survival compared to those after surgery for brain metastasis. Depending on the histological type of the tumor survival after surgery of the lung was significantly longer in the AC unlike SCLC. There is a tendency after surgery on the brain for decreased survival in terms of SCC compared with AC. Negative prognostic factors are found - histology for SCLC and  $Ki-67 > 18\%$ . Such factors were not found in terms of survival after surgery for brain metastasis. The application of diagnostic markers is determining how cancer cells change their immuno-phenotyping in metastasis. This study increase our understanding

of the role of angiogenesis, lead to better clarification concerning the process of metastasizing and helped for more complete understanding of the biology of these tumors.

## MEDICO-CLINICAL AREA

### **Contract 8/2015 Correlation between hepcidin levels and cardiovascular status in thalassemia**

**Leading scientist:** Prof. Kamen Nikolaev Tzatchev, MD, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Georgi Dimitrov, MD
- Assist. Prof. Victor Manolov, MD, PhD
- Assist. Prof. Teodora Yaneva-Sirakova, MD, PhD
- Prof. Rumiana Tarnovska-Kadreva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Milena Velizarova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Bisera Atanasova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical laboratory and clinical immunology,

**RESULTS:** During this project we used different methodological approaches for the diagnosis of thalassemia and assessment of iron disorders in the 68 patients included. We quantified serum hepcidin levels using ELISA method in all thalassemia patients, which showed pathological results, confirming iron metabolism disorders in thalassemia. Included patients were with average age, separated by gender: males  $28.9 \pm 3.1$  years, and females  $24.6 \pm 2.1$  years. We establish statistically significant decreased serum hepcidin concentration in thalassemia patients ( $1.3 \mu\text{g/l}$ ) compared to the control group,  $P < 0.001$ . Serum TSH levels were statistically increased in thalassemia patients ( $48.9 \mu\text{IU/ml}$ ) compared to healthy individuals, which confirmed hypothyroidism,  $P < 0.001$ . Quantification of serum iron in patients with thalassemia ( $57.3 \mu\text{mol/l}$ ) showed elevated levels, caused by iron overload from frequent blood-transfusions,  $P < 0.001$ . Ferritin in serum in thalassemia patients ( $901.3 \text{ ng/ml}$ ) showed considerably elevation compared to control group,  $P < 0.001$ . Concentrations of NT proBNP in patients with thalassemia ( $257.8 \text{ pg/ml}$ ) were increased in comparison to controls included, which confirms left ventricular failure,  $P < 0.001$ . We establish significant negative correlation between serum hepcidin and ferritin levels in thalassemia patients ( $r = -0.630$ ;  $P < 0.001$ ). Correlation between serum hepcidin and transferrin in patients with thalassemia ( $r = 0.507$ ;  $P < 0.01$ ) was positive. Quantified hepcidin correlated negatively to TSH levels in thalassemia ( $r = -0.722$ ;  $P < 0.001$ ). Correlation between serum hepcidin and NT proBNP in cases with thalassemia ( $r = -0.690$ ;  $P < 0.001$ ) showed a significant negative level. Serum hepcidin in thalassemia ( $r = -0.775$ ;  $P < 0.005$ ) correlates to soluble transferrin receptors. We establish negative correlation between hepcidin and serum iron levels in patients with thalassemia ( $r = -0.665$ ;  $P < 0.001$ ). Correlation between hepcidin and reticulocytes count ( $r = -0.683$ ;  $P < 0.001$ ) showed negative significance. We found a statistically significant reduction in serum levels of hepcidin in patients with thalassemia. The found serum hepcidin is due to the nature of iron overload in the organism, resulting from frequent blood transfusions in this disease. High levels of iron lead to suppression of hepcidin secretion. This leads to the condition for deposition of iron in cardiomyocytes, which, in turn, leads to the

development of cardiomyopathy, associated with increased serum levels of NT proBNP. Heparin levels determine redistribution of iron between macrophages and parenchymal cells and may thus have a bearing on the extent and rate of progression of organ damage and particularly cardiomyopathy. The concentration of hepcidin is important for individualization of transfusion therapy. Heparin levels determine the effectiveness of transfusion therapy. The stimulation of erythropoiesis in thalassemia leads to a proportional increase in sTfR. They are an effective marker for tracking the effects of transfusion therapy. But what is the effect of iron burden on sTfR and the importance of chelation therapy is not still well understood.

**Scientific publications and presentations:**

- Petrova J, Manolov V, Paskaleva-Peycheva V, et al. Does stroke messed up with a serum hepcidin levels in therapy of anemia in rheumatoid arthritis patients? MRJMMS May, 2016 Vol. 4(5) pp. 272-275.
- Petrova J, Manolov V, Dimitrov G, et al. Serum hepcidin levels and stroke in thalassemia patients. IJS 2016;11(4).
- Manolov V, Dimitrov G, Yaneva-Sirakova T, et al. Serum omentin-1 levels in cardiac diseases. 21<sup>st</sup> IFCC Congress– 21-25.06.2015, Paris, France
- Manolov V, Dimitrov G, Tarnovska-Kadreva R, et al. Role of hepcidin in beta-thalassemia patients. 10–12.09.2015, “Borovetz” resort, Bulgaria
- Manolov V, Dimitrov G, Tarnovska-Kadreva R, et al. Serum hepcidin levels in  $\beta$ -thalassemia patients. 23<sup>rd</sup> BCLF Congress – 7-9.10.2015, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina
- Dimitrov G, Manolov V, Petrova J, et al. Stroke and serum hepcidin in three patients with thalassemia. MEDLIFE 2015 – 10-11.12.2015, Hangzhou, China

**Contract 9/2015 Role of hepcidin in anemic syndrome in multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia patients**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Milena Georgieva Velizarova, MD, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Victor Manolov, MD, PhD
- Prof. Kamen Tzatchev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Evgeniy Hadjiev, MD, PhD
- Assist. Prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Bisera Atanasova, PhD
- Assist. Prof. Gergana Tzvetkova, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical laboratory and clinical immunology

**RESULTS:** During this project we used different methodological approaches for the diagnosis of multiple myeloma (MM) and chronic lymphocytic leukemia (CLL) and assessment of iron disorders in 54 patients at average age of  $44.9 \pm 3.6$  and  $51.2 \pm 2.9$  in the group with MM and CLL, respectively. We found statistically elevated serum hepcidin concentrations in patients with MM ( $101.4 \mu\text{g/l}$ ) and with CLL ( $89.6 \mu\text{g/l}$ ) compared to control group,  $p < 0.001$ . Serum inflammation markers, C-reactive protein and IL-6 were significantly increased in MM ( $3.6 \text{ pg/m}$ ) and CLL patients ( $3.9 \text{ pg/ml}$ ) compared to the controls,  $p < 0.001$ . Serum quantification of iron showed lower levels in patients with MM ( $7.4 \mu\text{mol/l}$ ) and CLL ( $10.3 \mu\text{mol/l}$ ) in comparison to controls,  $p < 0.001$ . Ferritin in serum in MM ( $125.5 \text{ ng/ml}$ ) and CLL patients ( $99.8 \text{ ng/ml}$ ) showed slight elevation compared to the controls,  $p < 0.5$ . Concentrations of  $\beta 2$ -microglobulin in serum in patients with MM ( $19.8$



mg/l) and CLL (11.6 mg/l) were increased in comparison to evaluated control group,  $P < 0.001$ . Serum ferritin in MM (125.5 ng/ml) and CLL patients (99.8 ng/ml) showed a slight elevation, compared to the controls,  $p < 0.5$ . Correlation between serum hepcidin and transferrin in MM ( $r = 0.736$ ;  $p < 0.001$ ) and CLL patients ( $r = 0.819$ ;  $p < 0.001$ ) were positive. Serum hepcidin correlates significantly to IL-6 levels in MM ( $r = 0.613$ ;  $p < 0.001$ ) and CLL ( $r = 0.784$ ;  $p < 0.001$ ) patients. Correlation between hepcidin and  $\beta_2$ -microglobulin in cases with MM ( $r = 0.465$ ;  $p < 0.001$ ) and CLL ( $r = 0.420$ ;  $p < 0.001$ ) showed positive significance. Serum hepcidin concentrations in MM ( $r = 0.698$ ;  $p < 0.001$ ) and CLL patients ( $r = 0.628$ ;  $p < 0.001$ ) correlates to soluble transferrin receptors levels. We found statistically significant increased serum hepcidin levels in patients with MM and CLL. Elevation of peptide is caused by the diseases' nature. Inflammation leads to increased hepcidin liver secretion. In recent years scientists are focused on application of new therapeutics, which acts on axis hepcidin-ferroportin: they might inhibit the pathways for hepcidin synthesis (BMP6-HJV-SMAD or IL-6-STAT3), or stimulate ferroportin export. Similar therapeutic strategies would lead to better management of the violations in the distribution of iron and subsequently evolving anemia of inflammation.

#### Scientific publications and presentations:

- Velizarova M, Manolov V, Hadjiev E, et al. Heparin and anemia in multiple myeloma. 10-12.09.2015, Borovetz resort, Bulgaria
- Velizarova M, Manolov V, Hadjiev E, et al. Role of hepcidin in multiple myeloma development. Med Rev, 2015;51(5):10-14.
- Manolov V, Hadjiev E, Tzvetkova G, et al. Serum hepcidin levels in multiple myeloma. Clin Lab 2017;63:1273-1277.

#### **Contract 22/2015 Molecular Genetic Diagnostic Methods in the Detection of Anaerob Bacteria supposed to play role in the etiopathogenesis of Bacterial Vaginosis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Vessela Vaskova Raykova, PhD

#### **Research team:**

- Assit. Prof. Radoslav Baykushev
- Prof. Ivan Mitov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical microbiology

**RESULTS:** A total of 234 women studied. No microscopic evidence of disease was found in 122 (52%) of them. The remaining 112 (48%) women had microscopic evidence of some vaginal problem. Of these in 65 (28%) women based on the smear examination anaerobic infection was suspected. These 65 samples were subjected to DNA extraction, and subsequent polymerase chain reaction was performed for detection of anaerobic bacteria that could be suspected as causative agents of BV. The results obtained were as follows: 63 of the patients demonstrated presence of *G. vaginalis* (96.9%), 27 (41.5%) - of *A. vaginae*, 18 (27.7%) - of *Megasphaera sp.* type 1, and 15 (23.1%) - of BVAB2. Only one of the tested bacterial types was detected in 25 (38%) smears. Coinfections were demonstrated in 40 (62%) tested swabs. Gram staining is a quick, cheap, and sensitive method for the detection of BV. It allows obtaining of information for "clue cells", lactobacilli, and other microflora, presence or absence of polymorphonuclear leukocytes. Disadvantage of the methodology is its inability of visual differentiation between the microorganisms involved in the etiopathogenesis of the condition. The method is subjective, and requires experience and competence of the observer. The PCR provides possibilities for the sensitive, highly specific, and rapid identification of

bacteria-markers of BV. Accurate detection of the involved in BV microorganisms provides possibilities for an adequate treatment of the affected women.

**Scientific publications and presentations:**

- Baykushev R, Raykova V, Mitov I. Microscopic and Molecular Genetic Methods in the Detection of Bacterial Vaginosis. Acta Microbiol Bulg 2015; 31(1):32-36.

**Contract 23/2015 Molecular diagnostic methods and levels of pro-inflammatory and other cytokines in the diagnostic algorithm of women with chronic recurrent vulvo-vaginal candidiasis**

**Leading scientist:** Corr. Member Prof. Ivan Gergov Mitov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Vessela Raykova, PhD
- Assit. Prof. Radoslav Baykushev

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Microbiology

**RESULTS:** Vulvovaginal candidiasis (VVC) is one of the conditions leading to discomfort and genital abnormalities in vaginal secretions. The most common etiological agent is *Candida albicans*. Increasingly, non-albicans strains play role in the pathogenesis of the disease. The relationship between the fungal infection and the production of cytokines stimulated by their impact has not been studied. Aim of the study was to determine the frequency of VVC among symptomatic women and the local levels of proinflammatory cytokines. A total of 80 women were included in the study. Of them only 30 were suspected of fungal infection based on patient's history and clinical data. Two vaginal swabs were tested from each person. Wet prep and Gram stain were performed. Swabs were cultured on blood agar, McConky agar, Saburo and Chrom agar. Of the 30 women VVC was proven in 21 (70%), in 6 (20%) coinfection was detected - VVC plus bacterial vaginosis and in 3 (10%) - VVC plus pathogenic bacteria. For identification of the fungi biochemical tests and assimilation tests were performed and *C. Albicans* was detected in 26 (86.7%) of the 30 samples, *C. Glabrata* - in 2 (6.7%), *C. krusei* - in 1 (3.3%) and *C. parapsilosis* – in 1 (3.3%). All these 30 samples were subjected to PCR for identification of *Candida* strains. The results were comparable to those of conventional microbiology. To determine the levels of Il-6, Il-8, Il- $\beta$  80 samples were studied. Of these, 20 were with VVC and the established levels of Il-6 and Il- $\beta$  were higher than in the control group of women with normal flora and the group of women with other conditions. Il-8 showed elevated parameters toward the controls but only when co-infection with other pathogens was detected. High is the frequency of VVC in the group tested. The diagnosis VVC requires obligatory microbiological confirmation. For the first time in Bulgaria research levels of cytokines Il6, Il1 $\beta$  and Il8 when VVC in present were studied. Further investigations are needed to establish their role in the VVC and the possibility to use them as markers for tis condition.

**Scientific publications and presentations:**

- Baykushev R, Raykova V, Mitov I. Prevalence of VVC in symptomatic women in reproductive age and detection of proinflammatory cytokines IL6, IL1 $\beta$  и IL8 in this condition. 14th National Congress of Clinical Microbiology and Infections, Sofia, 12-14.05.2016.

**Contract 44/2015 Local host response assessment in non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis****Leading scientist:** Prof. Christina Lazarova Popova, MD, PhD**Research team:**

- Assoc. Prof. Antoaneta Mlachkova
- Assist. Prof. Velitchka Dosseva-Panova
- Maja Kicheva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Periodontology

**RESULTS:** The aim of this study was to assess the effectiveness of non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis by IL-1 $\beta$  and IL-6 gingival gene expression. In this study was assessed the effectiveness of mechanical treatment of chronic periodontitis. The average age of the participants in the study was 47.9 years (12 women and 8 men); the severity of periodontitis was assessed including the prevalence of periodontal sites with different pocket depth (3-5 mm, 5-7mm and over 7 mm). From our results it becomes clear that statistically significant differences in clinical parameters before and after non-surgical periodontal therapy in the current study were found: HI (hygiene index), BOP (bleeding on probing), and PD - 5mm, PD 5 - 7mm, PD > 7mm. Presented on the charts data clearly show that the therapy (non-surgical) results in a reduction in the number (expressed as a percentage) of periodontal sites with pocket depth 3-5mm, 5-7mm and sites with pocket depth more than 7 mm. There was established a significant correlation between gene expression of interleukin-6 (expressed as Ct-value) and parameters: bleeding on probing (BOP) and periodontal pockets (PD) 5-7mm. Furthermore, the change in gene expression of interleukin-6 (expressed as dCt- IL6) was found to correlate with bleeding on probing, and also the change in gene expression of IL $\beta$  (expressed as dCt -IL $\beta$ ) correlates with the parameter - periodontal pockets with probing depth (PD) 5-7mm (p <0.05). Results of this study showed a significant correlation between gene expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 (p<0,05). Based on the study of relationships between important clinical parameters have made the following conclusions: In the present study we have established statistically significant differences in all studied clinical parameters (P <0.01), confirming effectiveness of nonsurgical therapy in chronic periodontitis. The gene expression of both investigated cytokines (IL-1 $\beta$  and IL-6) correlates with the distribution of periodontal inflammation, as well as with the periodontal pockets depth (P <0.05). Non-surgical therapy in chronic periodontitis results in reduction of main inflammatory factors in gingival tissue - IL-1 $\beta$  and IL- 6 (P <0.1).

**Scientific publications and presentations:**

- Mlachkova A, C Popova, V Dosseva-Panova, et al. Effect of periodontal therapy on the local expression of IL-1 $\beta$  and IL-6. 26-th Jubilee Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria (IMAB), 12-15 May 2016, Varna, Bulgaria
- Mlachkova A, C Popova, V Dosseva-Panova, et al. Effectiveness of non-surgical periodontal therapy by gingival expression of IL-1 $\beta$  and IL-6. J of IMAB; 22,(3):1257-60.

**Contract 45/2015 Retrograde endodontic treatment after apical resection (in vitro study)****Leading scientist:** Prof. Tsonko Todorov Uzunov, DMD, PhD**Research team:**

- Assoc. Prof. Elka Radeva, DMD, PhD
- Prof. Ing. Gencho Genchev, PhD

- Dr. Ivan Ivanov, DMD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

**RESULTS:** The objective of this project is to investigate the root surface and apical microleakage after resection of the root tip (with or without retrograde filling). This study was conducted on extracted human teeth - single rooted, with one canal, free of calcification. After shaping and filling of the root canals is made apical resection to 3 mm from the root tip. Radiographic control was used for assessment of hermetic root canal obturation. Microleakage in the apical part after resection method is observed using dye-penetration of 2% methylene blue. Evaluation of marginal adaptation of materials Total Fill BC Sealer, MTA Fillapex, Zinc phosphate cement, Biodentin and MTA used scanning electron microscopy method. Statistical methods are used to process the results obtained. Comparing microleakage of two sealers after apical resection of teeth without retrograde fillings – Total Fill BC Sealer and MTA Fillapex and two materials for retrograde filling – MTA and Biodentin using the method of penetration of dye – 2% methylene blue was established higher arithmetic mean value of Total Fill BC Sealer – 2,01 mm, compared to the groups with retrofilling: MTA – 0,68 mm and Biodentin – 0,51 mm and no statistically significant difference with the group filled with MTA Fillapex – 1,76 mm. In the study of marginal adaptation of apical root surface with SEM after apical resection and filling the root canals with Total Fill BC Sealer, MTA Fillapex, zinc phosphate cement (Adhesor) without retrograde filling and two materials for retrofilling after apical resection – Biodentin and MTA, the results are: the highest value is the arithmetic mean of Adhesor – 25.17  $\mu\text{m}$  and the lowest - MTA Fillapex – 3.17  $\mu\text{m}$ . In the groups with retrograde filling (MTA and Biodentin) was established a significant difference in the size of the gap between the material and dentin: at MTA – 1.72  $\mu\text{m}$  and 1.08  $\mu\text{m}$  at Biodentin. In resection of the root tip with laser and turbine and retrograde filling, in the group with apical resection with turbine showed a statistically significant difference in the size of the gap between the material and the dentin: MTA – 1.72  $\mu\text{m}$  and Biodentine – 1.08  $\mu\text{m}$ .

In the group with apical resection with Er: YAG laser there is no statistically significant difference between the size of the gap between the material and the dentin: MTA – 1.88  $\mu\text{m}$  and Biodentine – 1.32  $\mu\text{m}$ . In the four materials was observed micro-permeability of the dye to a different extent. In the groups after apical resection without retrograde filling was established a statistically significant difference in the size of the gap between the material and the dentin in all three types of materials. Therefore retrograde filling with Biodentin and MTA after apical resection is a prerequisite for a successful apical sealing.

**Scientific publications and presentations:**

- Ivanov I, Radeva E, Uzunov Ts. Endodontic surgical treatment: A literature review. Int J Sci Res Publ. 2015;5(10):1-5.
- Radeva E, Uzunov Ts, Ivanov I, Genchev G. Apical microleakage of four materials after root end resection (in vitro study). Acta Medica 2016;XLIII(2):61-7.
- Radeva E, Uzunov Ts, Ivanov I, et al. In vitro study of root-end marginal adaptation of five different sealers using scanning electron microscopy. 21<sup>st</sup> Congress of BaSS, Banja Luka, B&H, 12-15 May 2016, poster presentation
- Radeva E, Uzunov Ts, Ivanov I, et al. Apical microleakage of four materials after root end resection (in vitro study). 16th Congress of BDA, Burgas, Bulgaria, 9-11 June 2016, poster presentation

**Contract 46/2015 Use of ozone in dental caries treatment****Leading scientist:** Prof. Snezhanka Zaprinova Topalova-Pirinska, DMD, PhD**Research team:**

- Assoc. Prof. Janet Nikolova, DMD, PhD
- Assoc.Prof. Rossitza Vatcheva-Dobrevska, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

**RESULTS:** The aim of the survey is to determine the antibacterial action of the ozone on the cariogenic microorganisms in caries-active individuals and the ozone effect on closed “sandwich” restorations. The clinical investigation includes 16 patients with approximal caries lesions on the posterior teeth. Microbiological material from the lesion is taken twice before and after ozonic for 24 seconds. Additional ozonic has been performed 10 times, 6 seconds. Multibacterial microflora has been established with prevailing microorganisms from the group of the oral streptococci (90.90%): *Streptococcus anginosus* 40,90%, *Streptococcus mutans* 18,18%, *Streptococcus mitis* 22,73% *Candida albicans* 36,36%, *Enterococcus faecalis* 22,72% of the investigated lesions. The ozone application for 24 seconds decontaminates the dentin in deep cavities. The ozone is an efficient antibacterial agent for the dentin before cavity obturation. In vitro investigation has been done on the microleakage next to standardized approximal cavities. They were different in: 1) the consistency, the thickness of the layer and the application area of the resin-modified glass-ionomer cement (RMGIC) under nanocomposite restoration; 2) ozone application before restoration. The investigation under the mentioned conditions showed that the consistency of the RMGIC, the thickness and the application area had influence on the microleakage extent in composite restorations. The leakage is restricted in the cases when the RMGIC is applied as a liner in a thin layer. The microleakage is increased when applied in a thick layer from the same material. The application area of the RMGIC is of significant importance as well. Less microleakage is determined when the RMGIC is applied on the axial wall compared to the cases when it is applied on both walls axial and gingival. There is no difference in the microleakage next to cavities that have been ozoned 24 seconds before the obturation with liner of RMGIC on the axial wall and nanocomposite on one hand and the cavities restored in the same way but without ozonic on the other hand.

**Scientific publications and presentations:**

- Topalova-Pirinska S, Kirilova J. Ozone therapy in Dentistry. Part I: Properties, mechanism of action and applications of ozone in medicine. Dental Medicine. 2015; 97(2):171-175.
- Topalova-Pirinska S, Kirilova J. Ozone therapy in Dentistry . Part III. Treatment of dental and oral diseases. Dental Medicine. 2016;98(1)
- Kirilova J, Topalova-Pirinska S, Kirov D. Microleakage in class II nanocomposite restorations with different adhesive liners – in vitro investigation. 21<sup>st</sup> Congress of BaSS, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, 12-15<sup>th</sup> of May 2016, 125-126.

**Contract 47 /2015 Dental trauma in children - the creation of interactive software guide for diagnosis and treatment****Leading scientist:** Prof. Rossitza Ilieva Kabaktchieva, DDS, PhD**Research team:**

- Assoc. Prof. Natalia Gateva, DDS, PhD
- Radoi Todorov Dimitrov, student

- Iavor Koev DDS

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dentistry

**RESULTS:**

Created Software guide includes 15 nosological units according to classification of dental injuries to primary teeth and 14 nosological units according to classification of dental injuries to permanent teeth (Trauma of periodontal tissues and Injuries of hard tooth structures) and presents their aetiology, diagnostic criteria, principles of treatment, instructions for patient and follow up, presented in text, flowcharts, photographs and radiographs. A special part of the guide presents real clinical case, their treatment and follow-up, a total of 67 cases. Clinical cases are complemented by test questions for self-assessment.

**Conclusion:** The interactive guide is designed for self-study students, graduate students, teachers and dentists.

**Scientific publications and presentations:**

- Kabaktchieva R, Gateva N, Dimitrov R, et al. Avulsio and replantation of children's permanent teeth – selected parts of interactive software guide., 16<sup>th</sup> scientific congress of BgDA, Burgas, Bulgaria, June 9-11, 2016
- Kabaktchieva R, Gateva N, Gusiyska A, et al. Dental care for children after replantation of avulsed permanent incisors. Journal of IMAB 2016;22(4):1392-402.

**Contract 51/2015 Role of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of obstructive coronary artery disease and microvascular disease**

**Leading scientist:** Prof. Dobrin Avramov Svinarov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Dobrin Vasilev, MD, PhD
- Assist. Prof. Zoya Kuneva, MD
- Assit. Prof. Zheyneva Cherneva, MD, PhD
- Assist. Prof. Lilia Vladimirova, MD
- Assist. Prof. Lubomir Dosev, MD
- Assist. Prof. Ralica Pancheva, MD
- Assist. Prof. Adelina Cakova, MD
- Assoc. Prof. Valentin Lozanov

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Laboratory and Clinical pharmacology, University Hospital “Alexandrovska”,

**RESULTS:** The study included 90 consecutive patients (25 with obstructive coronary artery disease; 30 with microvascular disease and 35 healthy controls). Markers for inflammation (hs CRP, resistin) in plasma and oxidative stress (8-isoprostans) in urine were measured. Markers for oxidative stress (8-isoprostans) showed statically significant difference between patients with microvascular disease and obstructive coronary artery disease ( $p=0,028$ ); the same was the trend between the patients with obstructive coronary artery disease and healthy controls ( $p=0,041$ ); as well as between those with microvascular disease and healthy controls ( $p=0,001$ ). The highest values of 8-isoprostans were detected in patients with microvascular disease – 0,52 pg/mkmol/lCre. Markers for inflammation hsCRP ( $p=0,091$ ) and resistin ( $p=0,32$ ) were similar in patients with microvascular disease and obstructive coronary artery disease. Markers for inflammation (hs CRP, resistin) and oxidative stress (8-isoprostans) are responsible for the pathogenesis of both obstructive coronary artery disease and microvascular

disease. However, oxidative stress is possibly more important for microvascular disease (highest values of 8-isoprostans). They can be a part of panel of markers for the detection of microvascular disease. There is not a statistically significant difference between inflammatory markers (hsCRP, resistin) and oxidative stress markers (8-isoprostans) between the groups with and without subclinical left ventricular dysfunction in patients with obstructive coronary artery disease and microvascular disease. This shows that 8-isoprostans, hs CRP and resistin cannot be associated with subclinical left ventricular dysfunction in these patients.

**Scientific publications and presentations:**

- Cherneva Z, Cherneva R, Svinarov R, et al. Clinical evaluation of the markers for inflammation and oxidative stress. *Bulgarian cardiology* 2016,XXII(3):60-4.

**Contract 52/2015 Assessment of rate and magnitude of periprocedural myonecrosis after percutaneous coronary intervention, the possibility of prediction by intracoronary electrocardiogram and correlation with myocardial contrast echocardiography and myocardial deformation parameters**

**Leading scientist:** Prof. Rumyana Sabcheva Tarnovska-Kadreva, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Dobrin Vasilev, MD, PhD
- Assoc. Prof. Kiril Karamfiloff, MD, PhD
- Assist. Prof. Zoya Kuneva, MD
- Assist. Prof. Jeina Cherneva, MD, PhD
- Assist. Prof. Liliya Vladimirova, MD
- Assist. Prof. Ljubomir Dosev, MD
- Assist. Prof. Ralica Pancheva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department of internal diseases, UMHAT "Alexandrovska", Clinic of cardiology

**RESULTS:** Complex percutaneous coronary interventions (PCI) constitute current problem in medical practice. ST- segment elevation in intracoronary electrocardiogram (icECG) is sensitive marker for regional ischemia and residual STE for postprocedural myonecrosis. Assessment of perfusion in myocardial contrast echocardiography (MCE) correlates myonecrosis and microvascular damage. Global longitudinal systolic strain (GLS) is a sensitive marker for ischemia. 14 patients are included, mean age  $60 \pm 6,3$  y., 11 (78,5%) male. After placing of a coronary wire initial record of icECG in the target vessel and branches with diameter  $>1$  mm and final record in all the distal branches were registered. On 1 and 24 hour after PCI leftventricular volumes, ejection fraction (EF), segmental kinetics, diastolic function, GLS and MCI for CSI (contrast score index) and relative length of contrast defect (CDL%) were assessed. PCI of LAD was performed in 7 patients(50%), RCA in 6(42.8%), RCx in 3(21.4%), D1 in 1(7,1%),  $>1$  vessel in 2(14,3%) in 1-vessel in 7(50%), 2-vessel in 4(28.6%), 3-vessel disease in 3 pts(21.4%). In the end of PCI in 6 pts. (42.8%) significant ST-deviation was recorded, including 2 pts. (33.3%) with STE. In MCE 68 of 76(90%) segments were analyzed, mean value 5.4/patient. Echocardiographic data accordingly: EF  $48.5 \pm 15.6\%$ , CSI  $1,46 \pm 0,45$ ; CDL%  $12,2 \pm 4,9$ ; GLS %  $-18,6 \pm 2,4$  and EF  $49.2 \pm 17.4\%$ ; CSI  $1,52 \pm 0,54$ ; CDL%  $10,4 \pm 5,2$ ; GLS %  $-19,4 \pm 2,8$ . Pre-procedural high-sensitive troponin T (hsTnT) value was increased in 9 pts. (56,2%) ( $0,044 \pm 0,04$  ng/ml). Post-procedural hsTnT in 5 pts. (35,7%) was elevated  $>5$  x upper normal limit ( $0,014$  ng/ml), mean variation  $0,383 \pm 0,254$  ng/ml. In 9 pts. (56,3%) variance is  $0,054 \pm 0,09$  ng/ml. Number of included patients does not allow analysis with statistical significance. Current analysis revealed that integral approach,

involving data from MCE, icECG, GLS and biomarkers would lead to analysis of factors influential for periprocedural myonecrosis in complex PCI.

### **Contract 53/2015 Multiplex Real Time PCR in the laboratory practice of frequent sexually transmitted bacterial infections among women in reproductive age**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Georgi Petkov Pehlivanov, PhD

**Research team:**

- Prof. Lubka Stoyanova-Miteva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Vessela Raykova, PhD
- Gergana Manolova-Georgieva - PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Dermatology and venerology

**RESULTS:** The aim of this study was to investigate the reliability, accuracy and usefulness of two real-time multiplex PCR assays which detect in a single reaction in clinical samples *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium*; as well as *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma*; and to compare them with conventional methods performed in our lab. A total of 139 endocervical specimens from symptomatic patients were collected over a 12-month period. *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *M. hominis* and *Ureaplasma* were tested using conventional methods and multiplex real-time PCRs. The prevalence of the different microorganisms detected by multiplex real-time PCR assays were as follows *C. trachomatis* in 8 samples (5,76%), *N. gonorrhoeae* – in 2 (1,44%), *M. genitalium* – in 1 (0,72%), *M. hominis* – in 9 (6,47%) and *Ureaplasma* – in 56 (40,29%). Co-infections with 2 bacteria were found in 10 samples (7,2%) and in one 3 pathogens were detected. Multiplex real-time PCR showed outstanding results in comparison with the other diagnostic tools – conventional PCR methods for all the bacterial agents, cell culture for chlamydial infections, cultivation on modified Thayer Martin medium for gonococcal infections and commercially available Mycofast Evolution 2 test for *U. urealyticum* and *M. hominis* detection. Multiplex real-time PCRs is a good tool for reliable diagnosis of different STI. This PCR was found to be an equivalent or superior modality for screening *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *M. hominis* and *Ureaplasma* in comparison with the routine methods used in most Bulgarian labs. Its ease of use and rapid processing allows it to be incorporated into the day to day laboratory work. This will make diagnosing the infections easier for the clinicians.

### **Contract 54/2015 Th17 lymphocytes subpopulation and vitamin D in pediatric asthma**

**Leading scientist:** Prof. Penka Ilieva Perenovska, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Dobroslav Kyurkchiev, MD, PhD, DSc
- Assist. Prof. Gergana Stoyanova, MD, PhD
- Snezhina Lazova, MD, PhD student
- Assist. Prof. Tsvetelina Velikova, MD, PhD
- Assist. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Kalina Tumangelova-Yuzeir, PhD
- Petar Velikov, student



**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics, University Hospital “Alexandrovska”, Clinic of pediatrics

**RESULTS:** We enrolled 32 children at mean age  $10 \pm 3$  years (from 4 to 17) distributed in the following groups: with bronchial asthma ( $n = 20$ ), cystic fibrosis (CF) ( $n = 12$ ) and healthy children ( $n = 10$ ) for determination of Th17 lymphocytes in peripheral blood by flow cytometry (with combination of the 4 monoclonal antibodies: anti-CD3-FITC, anti-CD4-PerCP, anti-CD161-Alexa, anti-CCR6-PE) and concentration of IL-17A (pg / ml) in serum by ELISA. Patients with asthma had a significantly higher percentage of Th17 lymphocytes ( $10.40 \pm 1.16$ ) compared to the children with CF ( $7.64 \pm 0.87$ ) ( $p = 0.0035$  Man Whitney, ANOVA) and compared to the healthy children ( $7.25 \pm 0.45$ ) ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference between the percentage of Th17 lymphocytes in children with CF and healthy children ( $p < 0.05$ ), nor significant correlation between the levels of Th17 in peripheral blood and the corresponding concentration of IL-17 in serum ( $p > 0.05$ ). We did not find significant difference in serum concentrations of IL-17 in different groups of children ( $p > 0.05$ ). Separating the group with asthma according the control and clinical course of the disease we found significantly higher levels of Th17 in patients with poor control and frequent relapses requiring hospitalization compared with children with good control (no exacerbations during the last year) ( $p = 0.03$  ANOVA). When dividing the patients according to the control of the two subsets and the comparison between them and a group of children with CF, we found that patients with better control of asthma had values Th17 closer to children with CF ( $p = 0.98$ ) than children with poor control ( $p = 0.000$ ) (post hoc, Bonferroni correction). In conclusion, the number of Th17 cells is increased in patients with poorly controlled asthma and those patients could be candidates for future targeted therapy.

**Scientific publications and presentations:**

- Lazova S, Velikova T, Petrova G, et al. Immunological aspects of pediatric lung diseases. MedInfo. 2016;08:22-24.
- Lazova S, Velikova T, Petrova G, et al. Immunological face of pediatric asthma. Child and infectious diseases. 2016;VIII(1):8-15.
- Lazova S, Petrova G, Perenovska P, et al. Th17 lymphocytes in children with chronic pulmonary diseases. XVIIth conference for GP and pediatricians, Sunny beach, 21-23 May 2016, pp. 36

**Contract 55/2015 Role of promoter hypermethylation of CD3Z in the etiology and the pathogenesis of dermatomyositis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Lubomir Asenov Dourmishev, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Zornitsa Kamenarska, MD, PhD
- Maria Hristova, MD, PhD
- Gyulnas Dzhebir
- Ivan Popov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Dermatology and Venereology, University Hospital “Alexandrovska”

**RESULTS:** Decreased expression of the TCR  $\zeta$ -chain has been reported in several autoimmune and inflammatory diseases. Recent evidence suggests that this deficiency may be due to polymorphisms in the CD247 gene as well as to promoter hypermethylation. Altogether 28 patients with DM and 12 healthy controls of Bulgarian ethnicity were analyzed

for their promoter methylation status by methyl-specific PCR (MSP) of bisulfite converted DNA followed by direct sequencing. From the 11 CpG islands analyzed 5 were heteromethylated and 3 – homo (fully) methylated. Only one of all the 8<sup>th</sup> island showed difference in its methylation status. The rs840015 G/A polymorphism found within the 8<sup>th</sup> CpG island was associated with the methylation. The AA genotype led to 0% methylation and this may have a protective effect for the development of the disease.

**Scientific publications and presentations:**

- Dourmishev L, Hristova M, Kamenarska Z et al. Role of CD247 polymorphisms in dermatomyositis and systemic lupus erythematosus. 13th EADV Spring symposium, Athens, Greece, 19<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> May, 2016

**Contract 57/2015 Serum 25-hydroxyvitamin D levels in children with recurrent virus-induced wheezing**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivanka Ognyanova Galeva, MD, PhD

**Research team:**

- Sirma Dimitrova, MD, PhD
- Milena Ivanova, MD
- Snejana Kandilarova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics,

**RESULTS:** The aim of this study was to assess the association between serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) concentration and risk of early-onset and recurrence of wheezing during the first five years of life. This was a prospective study that included a total of 129 children, aged 2-36 months (14,4 mo; SD 8,08), recruited from the Clinic of Pediatrics Alexandrovska. Each of them had at least one episode of wheezing. Recurrent wheezing was defined as 3 episodes within 6 months (n=100), and one wheezing as only one episode of wheezing till 2 years of age (n=29). The children were followed up to 5 years age. Serum 25OHD concentrations were measured during the acute wheezing illness. Mean 25(OH)D concentrations were  $24,19 \pm 11,32$  ng/ml and  $27,14 \pm 9,78$  for the first and recurrent wheezing group respectively. No association was found between low serum 25(OH)D levels and severity of clinical manifestation, atopy, risk of recurrence of wheezing, as well as persistence of symptoms during the next 3 years. Vit D deficiency (serum 25(OH)D <20ng/ml) had 28 children (22%), insufficient (serum 25(OH)D 21-29 ng/ml) were 63 (49%), and normal values (serum 25(OH)D >30 ng/ml) were detected in 38 (29%) of the children. Twenty-seven percent of patients with persistent wheezing during the follow up had vitamin D levels in the deficient range (<20 ng/ml) and 20 % had vitamin D levels under < 20 ng/ml in the asymptomatic group. The percentage of insufficient vitamin D levels (21-29 ng/ml) were 48,6 and 50 for the two groups. Our data confirm the relationship between early age of wheezing and vit. D deficiency: age of first wheezing 8,75 mo for children with serum 25(OH)D <20ng/ml, 8,24mo with serum 25(OH)D 21-29 ng/ml, and 10,95mo for those with normal values (serum 25(OH)D >30 ng/ml), p=0,01. The present study demonstrates significant association between vitamin D status and age of first wheezing in infants, but not with persistence of symptoms.

**Scientific publications and presentations:**

- Mileva S, Yankova M, Galeva I. Vitamin D in childhood asthma. Medical Magazine 2015; 21:26-8.
- Mileva S, Yankova M, Galeva I, et al. Serum 25(OH)D levels in children with recurrent wheezing. 17<sup>th</sup> National Conference of Pediatricians and General Practitioners. Sunny beach, 21-23 May 2016. Poster 6

- Mileva S, Yankova M, Galeva I, et al. Serum 25(OH)D levels in Bulgarian children with wheezing. EAACI Congress 2016, Vienna, 11-16 June 2016. Abstract LB TPS 1

**Contract 58/2015 Clinical correlation on evaluation of hormones, function of autonomic nervous system and pain in patients with fibromyalgia**

**Leading scientist:** Prof. Dr. Rasho Kolev Rashkov, DSc

**Research team:**

- Valentina Reshkova, PhD
- Prof. Zdravko Kamenov, DSc
- Antoaneta Gateva, PhD
- Desislava Kalinova, PhD
- Adelina Tzakova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Department Internal Meidicne

**RESULTS:** We performed prospective clinical study in patients with fibromyalgia in the period between September 2015-July 2016. In the study we included 41 patients with FM with mean age  $46.1 \pm 10.5$  years, diagnosed by American Colledge of Reumatology criteria from 1990 and 2010. We found that 32.3% of the patients had thyroid dysfunction – 51.9% with autoimmune thyroiditis, 3.7% with Graves disease and 14.7% with thyroid nodules. Patients with autoimmune thyroiditis had lower levels of serum cortisol than those without ( $437.2 \pm 162.4$  vs.  $579.9 \pm 140.2$ ;  $p=0.043$ ). There was a significant difference in neuropathy disability score in patients with different thyroid status ( $4.4 \pm 1.6$  vs.  $3.1 \pm 1.2$ ;  $p=0.006$ ) -  $3.1 \pm 1.3$  in euthyroid patients;  $4.5 \pm 1.9$  in patients with drug compensated hypothyroidism;  $5.0 \pm 1.2$  in patients with decompensated hypothyroidism;  $p=0.031$ . During the study levothyroxine treatment was started in 19.4% of the women. There was no statistically significant link between estradiol, ACTH, cortisol and autonomic neuropathy in fibromyalgia and between hormonal status and pain threshold, MFIS, FIQ, anxiety and depression by HADS. There was a significant difference in general condition of fibromyalgia assessed by VAS between premenopausal and menopausal patients. Conclusions: Thyroid status assessment is important in patients with fibromyalgia. The difference in serum cortisol concentration in patients with and without autoimmune thyroiditis does not significantly affect the pain, clinical presentation and quality of life in patients with fibromyalgia. TSH concentration has a significant impact on autonomic nervous function in patients with fibromyalgia. Hormonal status shows partial effect about 30% on the combined index for mental health (MCS) in patients with fibromyalgia.

**Contract 59/2015 Optimizing the immunological diagnosis of the various forms of progressive systemic sclerosis by testing a wide range of autoantibodies**

**Leading scientist:** Assos. prof. Dobroslav Stanimirov Kyurkchiev, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Rasho Rashkov, MD, PhD, DSc
- Assist. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Assist. Prof. Desislava Kalinova, MD, PhD
- Assist. Prof. Valentina Reshkova, MD, PhD
- Assist. Prof. Tsvetelina Velikova, MD, PhD
- Kalina Tumangelova-Yuzeir, PhD

- Aleksandar Kopchev, MD, PhD student
- Ekaterina Kurteva, MD, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, University Hospital "St. Ivan Rilski"

**RESULTS:** We investigated 40 patients diagnosed according to the ACR criteria for progressive systemic sclerosis (PSS) at an average age of  $50 \pm 13$  (25-73) years, of which 36 (90%) were women and 4 (10%) - men. Sera of patients were tested by indirect immunofluorescence (IIF) on HEp-2 cells for the presence of antinuclear antibodies (ANA) and by immunoblot for the presence of scleroderma-specific antibodies (Abs) against Scl-70, CENP A, CENP B, RNAP-III (11kDa), RNAP -III (155 kDa), Fibrillarin (U3-RNP), NOR90, Th / To, PM / Scl-100, PM / Scl-75, Ku, PDGFR and Ro52. In 38 patients we observed positive results (titer  $\geq 1:80$ ) for the presence of ANA, while 30 of them had a specific fluorescent image at high titer of serum dilution (titer  $\geq 1: 640$ ). In 9 of the samples the image was typical for anti-CENP Abs and these Abs were positive in immunoblot whereas 8 of them were positive for both CENP-A and CENP-B Abs. 27.5% of samples showed typical, non-specific staining, and samples were positive for anti-Scl-70 Abs. The other Abs studied by immunoblot were by frequency as follows: 12.5% positive for anti-RNAP-III (11), 40% - anti-RNAP-III (155) , 12.5% - anti-U3RNP, 10% - for anti-NOR90, 22.5% - anti-Th / To, 2.5% - anti-PM / Scl-100 and 12.5% - anti-PM / Scl-75, 20% - anti-Ro52 antibody. In two patients anti-Ro52 were the only positive Abs in immunoblot. Anti-PDGFR Abs were negative in all of the patients. 6 patients who were tested for scleroderma-specific Abs were negative for the entire 13 Abs, and for the remaining 34 persons at least one of Abs was positive. 21 patients had 3 or more Abs simultaneously. Using IIF and deployment of a wide panel of scleroderma-associated antibodies in routine practice and creating an algorithm for the study of antibodies in patients with scleroderma would facilitate the diagnosis of the disease.

**Scientific publications and presentations:**

- Krasimirova E, Kalinova D, Velikova Ts, et al. New approaches for immunological testing of patients with Systemic sclerosis. VII Workshop "Experimental models and methods in biomedical research" held at the Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology – BAS, 16-18 May 2016

**Contract 60/2015 Reactivation of HBV in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and the role of parvovirus B19 in the pathogenesis of these diseases**

**Leading scientist:** Prof. Rumen Malinov Stoilov, MD, PhD

**Research team:**

- Assist. Prof. Mariana Goycheva, MD, PhD
- Assist. Prof. Nikolay Stoilov, MD
- Ivelina Gekova, MD
- Prof. Pavel Teoharov, MD, PhD, DSc, NCIPD
- Assist. Prof. Elitsa Golkocheva-Markova, PhD, NCIPD
- Assist. Prof. Stefka Ivanova, PhD, NCIPD
- Assoc. Prof. Zefira Mihneva, MD, PhD, NCIPD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, University Hospital "Sv. Iv. Rilski", Clinic of Rheumatology

**RESULTS:** The study included 70 patients: 33 (47%) were diagnosed with AS and 37 (53%) - with RA. The patients were treated with Sulfasalazine or TNF - inhibitor. Twelve patients were monitored in two to three serum samples at an interval of 1 to 6 months. In 4 (6%) of the patients the presence of HBsAg was demonstrated, respectively in 2 with AS and 2 with RA. Antibodies against HBc antigen were detected in 23 (33%) of the patients: 14 with AS and 9 with RA. Four (6%) patients were with proven chronic HBV (anti-HBc IgG and HBsAg positive) from who 2 were HBV DNA positive at a concentration respectively of 31 IU/ml and 300 IU/ml. Of 12 followed patients 6 are negative with respect to all HBV markers, 4 were positive for anti-HBc IgG, 1 was simultaneously positive for anti-HBc IgG and HBsAg, and 1 patient was with negative serological but HBV DNA positive. None of the patients has change in the HBV status. Forty serum samples: 15 with AS and 25 with RA were tested for the presence of B19-IgG and - IgM, as well as viral DNA B19. Positive for protecting B19-IgG antibodies were 20 (50%) of patients. Regarding the current B19 viral infection B19 IgM antibodies were detected in 3 (8%) patients: 1 being diagnosed with AS and 2 – with RA. Simultaneous detection of the IgG and IgM classes B19 antibodies was seen in 2 (5%) out of 40 patients. At 5 (13%) of the patients, 2 with diagnosis AS and 3 – with RA the presence of B19 viral DNA were established.

**Scientific publications and presentations:**

- Ivanova S, E Golkocheva-Markova, M Ivanova, et al. Serological parvovirus B19 screening of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. J BioSci Biotechnol 2015
- Golkocheva-Markova E, S Ivanova, M Ivanova, et al. Prevalence of hepatitis B markers among patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. J BioSci Biotechnol 2015
- Golkocheva-Markova E, M Ivanova, S Ivanova, et al. Preliminary screening for hepatitis B virus in treated patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and review on the literature. Proceedings of the Sixth Workshop on Experimental Models and Methods in Biomedical Research, May 12-14, 2015, Sofia, Bulgaria
- Golkocheva-Markova E, M Ivanova, S Ivanova, et al. Preliminary screening for hepatitis B virus in treated patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis and review on the literature. Proceedings of the Sixth Workshop on Experimental Models and Methods in Biomedical Research, May 12-14, 2015, Sofia, Bulgaria

**Contract 61/2015 New diagnostic and prognostic biomarkers in rheumatoid arthritis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Simeon Valentinov Monov, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Dobroslav Kjurkchiev, MD, PhD
- Assist. Prof. Russka Shumnalieva, MD, PhD
- Tsvetelina Velikova, MD, PhD
- Darina Kachakova, PhD
- Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Kalina Tumangelova-Yuzeir, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, UMHAT “St. Ivan Rilski”, Clinic of rheumatology

**RESULTS:** The mean serum concentration of calprotectin are higher in patients with RA compared to OA (344,25 ng/ml and 209,33 ng/ml,  $p=0.002$ ) and healthy controls (188.13 ng/ml,  $p=0.000$ ). In the RA group the local levels of calprotectin are higher than the systemic (584.25 vs 344.25,  $p = 0.000$ ) and there was a moderate correlation ( $r=0.595$ ,  $p=0.006$ ). The local levels of IL-17A in patients with RA are higher compared to the systemic and the ROC curve analysis shows an area under the curve (AUC) = 0.885 (95% CI [0.775 ÷ 0.995],  $p<0.001$ ). There is no statistically significant difference between the serum concentration of IL-17A in patients with RA compared to OA or healthy controls ( $p>0.05$ ). There is lower concentration in vitamin D levels in the serum of patients with OA compared to RA ( $p=0.001$ ). The levels of calprotectin show association with a disease duration more than 6 months; with the presence of RF type IgG and IgA; with the mild synovial hypertrophy ( $p=0.025$ ). Serum concentration of IL-17A in RA is higher in patients with mild disease activity, measured by DAS28 and SDAI. The use of corticosteroid leads to lowering the levels of calprotectin in the serum (382.86 and 254.00 ng/ml,  $p=0.027$ ) as well as in the synovial fluid (663.57 and 399.17 ng/ml,  $p=0.002$ ). The systemic and local concentration of calprotectin correlate with the scores for disease activity in RA, which makes calprotectin a promising and potentially more sensitive biomarker for disease activity. The local dysregulation in the levels of IL-17A compared to its systemic levels shows that IL-17A could be used as biomarker in RA patients follow-up even in the cases of subclinical disease activity.

**Scientific publications and presentations:**

- Shumnalieva R, T Velikova, D Kachakova, et al. Serum and synovial concentration of calprotectin in rheumatoid arthritis patients, EWRR 2017, Athens, 2-4 March, 2017
- Shumnalieva R, T Velikova, D Kachakova, et al.. Serum and synovial concentration of IL-17A in rheumatoid arthritis patients, EWRR 2017, Athens, 2-4 March, 2017
- Velikova T, R Shumnalieva, D Kachakova, et al. The systemic and local concentrations of calprotectin correlate with the clinical, immunological and instrumental features of disease activity in rheumatoid arthritis patients, National conference in rheumatology, 11–14 May 2017, Acheloi
- Shumnalieva R, T Velikova, D Kachakova, al. IL-17A – a promising biomarker for disease activity in the rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients, National conference in rheumatology, 11 – 14 May 2017, Acheloi, Bulgaria

**Contract 62/2015 Expression analysis of microribonucleic acids in serum and determination of their diagnostic and prognostic value in patients with progressive systemic sclerosis**

**Leading scientist:** Prof. Zlatimir Gospodinov Kolarov, MD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Simeon Monov, MD, PhD
- Assist. Prof. Russka Shumnalieva, MD, PhD
- Rositsa Dacheva, MD
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Darina Kachakova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, UMHAT “St. Ivan Rilski”, Clinic of rheumatology

**RESULTS:** The expression levels of miR-21 in serum are upregulated in 50.0% of the PSS patients when compared to healthy controls by using an endogenous control and in 52.94% by

using an exogenous control. The expression of miR-29 is downregulated in 44,12% of the patients. The ROC curve analysis shows area under the curve (AUC) for miR-21 in serum = 0.634, with sensitivity 64.7% and specificity 64.3% but with no statistical significance ( $p=0.147$ ). AUC for miR-29 is = 0.605 with sensitivity 64.3% and specificity 52.9% but with no statistical significance ( $p=0.257$ ). The diagnostic value of the combination of the studied miRNAs is significantly higher when conducting a multimarker ROC curve analysis - AUC = 0.714 (95% CI=0.569-0.860),  $p=0.021$ , with sensitivity - 79,4%, and specificity - 42.9%. The levels of miR-21 correlate with the clinical parameters of the patients as the presence of Raynaud syndrome, pulmonary involvement, blood cell count parameters, immunological parameters. There is a statistically significant correlation between the levels of miR-21 and the levels of hemoglobin (Spearman's correlation coefficient 0.448,  $p=0.008$ ), the presence of thrombocytosis or thrombocytopenia (Spearman's correlation coefficient 0.463,  $p=0.006$ ). The levels of miR-29 correlate with the serum levels of miR-21 (Spearman's correlation coefficient 0.517,  $p=0.00017$ ), as well as with the presence of anti-Scl-70 antibodies (Spearman's correlation coefficient 0.438,  $p=0.010$ ).

**Scientific publications and presentations:**

- Shumnalieva R, R Dacheva, S Monov, et al. Epigenetic modifications in progressive systemic sclerosis, MD; 2015; 2: 94-97.

**Contract 64/2015 Evaluating the role of the k-ras status in differential diagnosis of benign and malignant pancreatic cystic lesions**

**Leading scientist:** Prof. Borislav Georgiev Vladimirov, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Jordan Genov, MD, PhD
- Rumiana Mitova, MD
- Yana Vladimirova, MD
- Ivan Ivanov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, University Hospital "Tzaritza Joanna – ISUL", Clinical Centre of Gastroenterology

**RESULTS:** Molecular analysis of k-ras mutation in pancreatic cystic fluid is a promising tool for early diagnosis of malignant and potentially malignant mucinous cysts and defining adequate treatment. Ten patients with pancreatic cystic tumors (mean age  $56.8\pm 12.8$ y; 3 male) are enrolled in our study. Cysts are defined as unilocular (50%) and oligo/multilocular, located in the pancreas head in 40%, pancreas body – 50% and tail (10%), with mean size of  $32.5\pm 13.75$  mm. High amylase levels are measured in 20% of the aspirates (max 1264), while high CEA levels are detected in 3 patients (CEA >100 ng/ml). Cysts are differentiated as follows: serous cyst adenoma (SCA) – 3 female patients; intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) – 2 patients; mucinous cystic neoplasm (MCN) – 3 patients; other non-neoplastic cysts – 2 patients. K-ras mutation is detected in 20% of the aspirates - k-ras p.G12V and k-ras p.G12D (both cases are MCNs with CEA >100). No mutation is detected in the last MCN case, where CEA is low. Four patients are sent for surgery: one MD-IPMN, one SCA, and two MCNs with mutations detected. Histological evaluation of the cysts shows high grade dysplasia in the case with k-ras p.G12V mutation. The rest of the patients show no cysts growth in follow up visits so far. Mucinous cystic pancreatic tumors with high CEA levels

often correlate with k-ras mutation and malignant potential of the lesions. Evaluation of the k-ras status in these cases might be a useful tool in decision making and patients management.

**Contract 65/2015 Semiquantitative examination of exocrine function and morphological assessment of chronic pancreatitis by secretin-enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography**

**Leading scientist:** Prof. Grigoriy Nedelkov PhD

**Research team:**

- Plamen Getsov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Diagnostic imaging

**RESULTS:**

The conducted study allowed to develop a protocol for secretin stimulated magnetic resonance pancreatography adapted to existing hardware and software in the Department of Diagnostic Imaging at University Hospital "Queen Joanna-ISUL." Currently, the protocol is routinely used in clinical practice for complex evaluation of patients with clinical signs of pancreatitis. The information obtained in this study was compared with clinical and laboratory data for each patient. It was started was creation of a model for inclusion / exclusion criteria, which allows to pre-select patients in whom secretin enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography contributes the highest level of diagnosis. This will allow future cost optimization in complex assessment of patients with suspected chronic pancreatitis. Data obtained in the study were included in the lectures for doctors specializing in Gastroenterology since 2016.

**Scientific publications and presentations:**

- Siminkovitch S, P Gecov, B Vladimirov, et al. 47th Annual Meeting of The American Pancreatic Association „Evaluation of secretin-enhanced MRCP in chronic pancreatitis“ November 2016;45(10)

**Contract 67/2015 Sequencing of gene MKRN3 in patients with central precocious puberty**

**Leading scientist:** Prof. Maya Mincheva Konstantinova, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Elisaveta Stefanova, MD, PhD
- Prof. Radka Tincheva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Albena Todorova-Georgieva, PhD
- Mihaela Dimitrova-Mladenova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics, University Children's Hospital "Prof. Ivan Mitev", Clinic of Endocrinology, Diabetes and Genetics

**RESULTS:** It is a prospective research, performed for the period of eleven months (from July 2015 to June 2016). Seven girls with confirmed diagnosis of "idiopathic" central precocious puberty were included. They all met the following criteria: progressive secondary sexual characteristics before the age of 8 years, advanced linear growth and bone age, elevated basal levels of luteinizing hormone, normal brain image on magnetic resonance. DNA was isolated from peripheral blood using standard procedures. The coding exons and exon/intron boundaries of gene *MKRN3* were amplified by PCR reaction. The amplification products were purified by ExoSAP-IT (Affymetrix USB products), and sequenced by ABI



BigDyeTerminator Cycle Sequencing Kit (v3.1). In the MKRN3 gene 2 heterozygous mutations were found. The first mutation is a novel frame shift mutation (c.1053\_1056delACAG, p.Arg351Serfs\*44). In our case this novel mutation is associated with early onset and fast progression of pubertal signs. The second mutation is a previously reported one (c.482delC, p.Pro161Argfs\*10). The results support the previous studies and suggest that mutations in the gene MKRN3 are a common cause of central precocious puberty and these are also found in sporadic cases. In addition to clarifying the etiology of the disease, targeted search for mutations in the gene MKRN3 will contribute to timely diagnosis and follow up of other family members.

**Scientific publications and presentations:**

- Dimitrova-Mladenova M, Stefanova E, Glushkova M, et al. A novel MKRN3 frameshift mutation in a Bulgarian girl with central precocious puberty; 55th Annual Meeting of the European Society of Paediatric Endocrinology, Paris, 10-12 Sep 2016.

**Contract 68/2015 Analysis of polymorphic variants in candidate genes associated with response to therapy with methotrexate in children with juvenile idiopathic arthritis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Stefan Nedev Stefanov, MD, PhD

**Research team:**

- Margarita Ganeva, PhD student
- Assist. Prof. Albena Telcharova, MD
- Assoc. Prof. Radka Kaneva, DSc
- Reni Tzveova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, University Children's Hospital "Prof. Ivan Mitev", Clinic of Rheumatology, Hematology and Cardiology,

**RESULTS:** 63 patients (50 girls and 13 boys) with diagnosed Juvenile idiopathic arthritis according to the ILAR (International League of Associations for Rheumatology) criteria are included. The mean age of the patients is 9.40 years (2.1-17.75 years), the mean age of disease onset is 5.15 years (0.83-16.25 years). The mean age of initiation of therapy with Methotrexate (MTX) is 6.076 years. The mean dose of MTX is 7.65 mg / m<sup>2</sup>. Patients were divided into two groups - undergoing treatment with MTX and putative optimal response (n = 30) and undergoing treatment with a biological agent and putative poor response to therapy with MTX (n = 33). Polymorphic variants in the gene MTHFR1 - c.677 C> T, rs1801133 and c.1298 A> C, rs180113 were investigated. No significant differences in the distribution of genotype and allele frequencies of c.677 C> T ( $\chi^2 = 1,04; df = 2; \chi^2 = 0,11; df = 1$ ) and c.1298 A> C ( $\chi^2 = 0,60; df = 2; \chi^2 = 0,03; df = 1$ ) between the two groups were found. Carriers of the variant allele have no statistically reliable connection with the development of poor response to therapy with MTX (c.677 C>T OR 0.64; c.1298 A>C OR 1.21). Among four of the patients side effects (nausea, dizziness, headache, hepatotoxicity) of the treatment were noticed. All four carry the allelic variant c.677 C> T (3 CT heterozygotes and a homozygote TT). Carriage of this allele could provide probability for an increased risk of side reactions. A variant allele c.1298 A> C is found in one of these four patients. Probably its role is less significant in terms of appearance of side effects during treatment with MTX. Determination of polymorphic variants associated with drug response needs more comprehensive study. This would lead to early detection of children with poor or no response to ongoing treatment with MTX.

**Scientific publications and presentations:**

- Ganeva M, Stefanov S. Genetic markers for evaluating the effectiveness of therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Practical Pediatrics*. 2016;1:4-5.
- Ganeva M, Stefanov S, Telcharova A, et al. Assessment of Disease Activity and Prognosis in a Group of JIA Patients. 23<sup>rd</sup> PReS Congress. Genoa, Italy. Sep 28-Oct 1, 2016.

**Contract 69/2015 Investigating the Role of Vitamin D Deficiency for the Occurrence and Severity of Lower Respiratory Tract Infections through Comparative Analysis of Vitamin D Levels in Children with Acute Pneumonia and Healthy Controls**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Daniel Iliev Iliev, MD, PhD

**Research team:**

- Nadezhda Rimpova, MD
- Emil Shaldarov, MD
- Assist. Prof. Adelina Tsakova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, University Children's Hospital "Prof. Ivan Mitev", Clinic for Pulmology and Intensive Care Unit

**RESULTS:** For the aim of the study, we selected 96 children, ill with acute pneumonia and 97 healthy controls aged 0-17 years. Both categories of children were divided into 3 age subgroups – 0-1y; 1-6y and over 6y. Serum vitamin D levels were measured, using ECLIA. We determined vitamin D status as follows: deficiency < 25 nmol/l; insufficiency 25-80 nmol/l; sufficiency 80-200 nmol/l. Severity of the acute pneumonia was defined by gathering data on duration of hospital stay; duration of intravenous and oral antibiotic therapy; number of antibiotics, applied for the treatment; inflammatory status – leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level. No statistically significant correlation between the serum levels of vitamin D and the severity of acute pneumonia in the investigated group was found. A tendency towards low vitamin D levels with raising of the organism's inflammatory response was observed. We did not find significantly lower vitamin D levels in ill children. Statistically lower levels were observed in healthy children, compared to the ill ones – mean values for controls were 51.80 and for patients with acute pneumonia – 69.09, P=0,009. Lowest values were found in children over 6y, mean 52.24, P=0,001. In the control group, 9.7% had deficiency, 72.7% had insufficiency and 11.6% had sufficient Vitamin D levels. In the pneumonia group, 3.8% had deficiency, 61.1% had insufficiency and 27.8% had normal values. Vitamin D deficiency is not associated with the occurrence and severity of acute pneumonia in the investigated children. Both groups of healthy and ill children showed a great percentage of insufficient values of vitamin D, which was much more noticeable for the control group. We consider that a large scaled population study of vitamin D status in healthy Bulgarian children should be carried out for better evaluation of current recommendations for dietary intake and supplementation.

**Scientific publications and presentations:**

- Rimpova N, D Iliev, A Tsakova. Investigating the role of vitamin D deficiency for the occurrence and severity of acute childhood pneumonia. 17<sup>th</sup> National Conference for G P and Pediatricians with International Participation, Slanchev Briag, 21-23 May 2016
- Rimpova N, A Tsakova, D Iliev. Vitamin D – non-classical effects and association of its deficiency with acute pneumonia in children, 3<sup>rd</sup> International meeting of the

Bulgarian National Society for Pediatric Endocrinology, Arbanasi, Bulgaria, Dec 1-3, 2016

- Iliev D, N Rimpova. Non-classical effects of vitamin D – an impact on the immunity and the role of vitamin D deficiency in acute childhood pneumonia. Medical Magazine (Sofia) 2015;21:34-6.
- Rimpova N, D Iliev. Vitamin D – biological functions and significance of its deficiency. Paediatrics (Sofia), 2015;55(Suppl):48-50.

### **Contract 70/2015 Peak bone mass and hormonal status of girls with regular or abnormal menstrual cycle in their adolescent period**

**Leading scientist:** Prof. Milko Marinov Sirakov, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Prof. Georgi Georgiev, MD, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Milena Iancheva-Stoicheva, MD, PhD
- Assoc. Prof. Plamen Popivanov, MD, PhD
- Diana Hristova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetric and Gynecology, University hospital of Obstetric and Gynecology “Maichin dom”

**RESULTS:** The survey is prospective for the period 2015-2017. and was held at State University Ob/Gyn Hospital “ Maichin dom”- Department for Adolescent Gynecology. 46 female patients between the age of 12 to 18 with different menstrual disorders such as primary and secondary amenorrhea, opsonomorea, late puberty, anorexia nervosa, young athletes, pituitary dysfunction, hypogonadism, were included. Each patient was examined: Tanner stage of puberty development, general and gynecological status, clinical anthropometry, BMI, ultrasound examination, serum levels of Estradiol, Progesterone, Prolactin, LH and FSH, DXA method of spine. The most common menstrual disorders were differentiated and compared with hormonal status and BMI. A positive correlation between the duration of amenorrhea, BMI, and Z-score deviation (-1 to -2SD) was found. The main risk factors were identified and associated with specific menstrual disorders. The conclusions of the survey are that timely diagnosis and adequate therapy prevent future reproductive failures and early development of osteoporosis.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristova D, M Sirakov. Peak bone mass and hormonal status of girls with regular or abnormal menstrual cycle in their adolescent period. XX national conference of gynecology. Borovets, Bulgaria. 16-18 March 2017.
- Hristova D, M Sirakov. Hypomenstrual disorders and their impact to reach optimal peak bone mass during adolescence. Obstetrics & Gynecology 2017;3(56):21-25.

### **Contract 71/2015 Assessment of zinc transporter 8 (ZNT8) antibodies in subjects with type 1 diabetes**

**Leading scientist:** Associate professor Iliana Atanassova, MD, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Greta Grozeva-Damyanova, MD, PhD
- Assoc. Prof. Nevena Chakarova, MD, PhD
- Assist. Prof. Romyana Dimova-Draganova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Center of Endocrinology, Department of Diabetology

**RESULTS:** 70 patients – 40 males and 30 females – of mean age  $37.24 \pm 11.08$  years and mean BMI  $23.46 \pm 4.49$  kg/m<sup>2</sup>, of up to 5 years duration of the disease - in 47% of the group diabetes being newly-diagnosed or of duration less than a year, were investigated. One or more of the investigated antibodies were detected in 85.7% of the participants, the ZnT8-Ab being the second most prevalent antibodies – 45.7%, right after GAD 65-Ab - 77.1% and before IA-2-Ab - 34.3%. Triple negative were 14.3% of the participants. Positive only to ZnT8 were 2.9% which accounts for 16.6% of the cases of idiopathic type 1 diabetes. ZnT8-Ab were significantly more prevalent in the subgroup with newly-diagnosed diabetes and diabetes of less than an year duration – 63.6%, ( $p=0.04$ ). The probability of positive ZnT8-Ab in this subgroup was 4.5 higher than that in the rest of the group - OR 4.5 (95% CI 1.6-12.5). The assessment of the combination of GAD 65-Ab + IA-2-Ab identified 83% of all type 1 diabetes cases ( $F=[2,3]$  43.4,  $p<0.001$ ,  $r=0.462$ ). The use of ZnT8-Ab instead of IA 2-Ab as a second immunologic marker identified more cases of type 1 diabetes - 87% ( $F=[2,3]$  46.6,  $p < 0.001$ ,  $r=0.486$ ), and the combination of all the three antibodies led to the diagnosis of 92% of the type 1 diabetes cases ( $F=[3,3]$  50.7,  $p = 0.043$ ,  $r=0.515$ ).

**Scientific publications and presentations:**

- Grozeva G, Tankova T, Atanassova I, et al. Prevalence and diagnostic importance of ZnT8 antibodies in Bulgarian population of type 1 diabetes patients. Endocrinology 2017(1).

**Contract 72/2015 Cardiovascular risk in patients with pheochromocytoma, evaluated by heart failure markers**

**Leading scientist:** Prof. Georgi Kirilov Georgiev, PhD, DSc

**Research team:**

- Atanaska Elenkova, PhD
- Joanna Matrozova, PhD
- Vladimir Vasilev, PhD
- Silvia Vandeva, PhD

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Clinical center of Endocrinology and gerontology, USHATE “Acad. Ivan Pentchev”

**RESULTS:** Pheochromocytoma is a rare neuroendocrine tumour with estimated prevalence of 2-3 in 100 000 patients. It is associated with increased number of cardiovascular incidents as result from elevated arterial pressure as well as direct cardiac effect from catecholamines leading to catecholamine cardiomyopathia. The aim of the present study was the identification of some additional markers for cardiovascular risk in patients with pheochromocytoma. In order to achieve this goal the levels of ProADM and BNP-32 were measured in 11 patients with pheochromocytoma and were compared to two control groups: 12 healthy controls and 10 patients with cardiac failure. Patients with pheochromocytoma presented with elevated levels of ProADM compared to healthy controls ( $9.63 \pm 4.87$  vs.  $3.45 \pm 0.69$  pmol/l,  $p=0.013$ ). In this group a correlation of this marker with urinary metanephrines and systolic arterial pressure was also identified. Levels of BNP-32 were also elevated in patients with pheochromocytoma compared to healthy subjects ( $283 \pm 152$  pg/ml vs.  $86 \pm 48$  pg/ml,  $p=0.041$ ), but however did not reach the levels in patients with cardiac failure ( $456 \pm 103$  pg/ml). Elevated levels of ProADM in patients with pheochromocytoma and their correlations with urinary metanephrines indicate that it can be a useful additional marker in diagnostics and management of this disorder. Elevated levels of BNP-32 in these patients suggest impaired

cardiac function which necessitates preventive measures concerning future cardiovascular complications in these patients.

**Contract 73/2015 Carbohydrate metabolism disturbances in patients with prolactinoma: frequency and effect of dopamine agonist treatment. Investigation of some markers for insulin sensitivity and endothelial dysfunction**

**Leading scientist:** Prof. Sabina Zaharieva Zaharieva, PhD, DSc

**Research team:**

- ssoc. Prof. Atanaska Elenkova, PhD
- rof. Georgi Kirilov, PhD
- rof. Dimitar Tcharaktchiev, PhD
- vaila Uzunova, PhD student
- dravka Abadzhieva
- ositza Nikolova

A  
P  
P  
I  
Z  
R

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical center of Endocrinology and gerontology, USHATE “Acad. Ivan Pentchev”

**RESULTS:** We conducted two studies with different design. *Retrospective study:* About 120 millions pseudoanonymous electronic recordss of more than 5 mln. Bulgarian subjects stored in the database of the BHIF for three consecutive years (2012-2014) were analysed using a Business Intelligence tool (BITool). The overall prevalence of diabetes mellitus (DM) in Bulgarian population was around 8% and in the younger target group (15-44 yr) was approximately 1.2% (2012– 1.18%; 2013 – 1.2%; 2014 – 1.2%). Analysis of the hyperprolactinemic subjects revealed not only higher frequency of DM in the younger group but also a tendency for increase during the analysed three-year period (2012 – 3.96%; 2013 - 4.8%; 2014 - 5.4%). *Cross-sectional study:* We investigated 138 subjects prospectively enrolled into 2 groups - 70 female patients with prolactinomas and 68 healthy women comparable in respect with their mean age, percentages of smokers, arterial hypertension and dyslipidemia. Obesity was observed 10 times more frequently among patients compared to control group (14.3% vs. 1.47%; p=0.005). Although carbohydrate disturbances were found in 6 patients (1 newly diagnosed DM type 2; 1 IGT and 4 IFG) compared to 2 controls (1 IGT and 1 IFG) these results did not reach statistical significance (8.57% vs. 2.94%; p=0.157). Correlation analysis in all subjects revealed a significant negative correlation between the Adiponectin levels from one side and the BMI (Spearman’s  $r = -0.346$ ; p=0.00003), basal Insulin levels ( $r_s = -0.258$ ; p= 0.002), serum fasting glucose ( $r_s = -0.251$ ; p=0.003) and HOMA-IR ( $r_s = -0.279$ ; p=0.00097) from the other. We failed to find a correlation between Prolactin and Adiponectin leves neither in newly diagnosed (naïve) nor in the DA-treated prolactinoma patients. On the other hand, a moderate negative relationship was demonstrated between Adiponectin levels and the cumulative dose in Cabergoline treated females with prolactinomas ( $r_s = -0.390$ ; p=0.036).

**Contract 74/2015 The significance of allergic rhinosinusitis in asthma pathogenesis and manifestation during childhood****Leading scientist:** Prof. Dimitar Temelkov Kostadinov, MD**Research team:**

- Assist. Prof. Albena Spassova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Department Respiratory Disease, Pulmonary Diseases and Tuberculosis in SBALBB "St. Sofia" Children's Clinic**RESULTS:** Early diagnosis and treatment are very important in children with allergic rhinitis (AR) in order to provide them a higher life quality and to stop the progress of their illness to asthma. This study aimed to investigate the usefulness of determination of serum ECP levels in children with respiratory allergies  
**Materials and Methods:** In our study 60 patients with rhinitis were divided into the following 3 groups: Group 1 (n=37, 61,7%) included children with allergic rhinitis, Group 2 (n=19, 31,7%) nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome, group 3 (n=4, 6,7%) children with nonallergic rhinitis. Every subject underwent the serum ECP levels, skin prick test, eosinophil count in nasal smear and total IgE. Serum ECP levels were measured by the commercially available immunoassay technique (Pharmacia CAP).  
**Results:** Studies have indicated that patients with asthma and rhinitis had higher IgE values than those with rhinitis alone. No statistically significant difference was found between ECP levels in patients with rhinitis and rhinitis plus asthma groups, although mean ECP was higher level in the later group. We conclude that the extent of allergic inflammation in mucosal surfaces such as allergic rhinitis plus asthma, might influence serum ECP levels.**Scientific publications and presentations:**

- Spasova A, Velizarova S. Antibiotic treatment in the therapeutic algorithm of allergic rhinosinusitis in children. *Bulg Med J* 2016;1(2):38-41.
- Spasova A, Velizarova S. Allergic rhinosinusitis - diagnostic algorithm in childhood. *Bulg Med J* 2016;10(2):42-6.

**Contract 75/2015 Phenotyping of bronchial asthma****Leading scientist:** Assoc. Prof. Vania Milosheva Youroukova, MD, PhD**Research team:**

- Prof. Yanina Slavova-Marinova, MD, PhD
- Prof. Marta Baleva, MD, PhD
- Denitsa Dimitrova, MD, PhD student
- Tsvetelina Velikova, MD, PhD
- Assit. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, MD, PhD
- Kalina Tumangelova-Yuzeir, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Center of Pulmonary Diseases, Specialized Hospital for Active Treatment of Pulmonary Diseases "Saint Sofia"**RESULTS:** In this study, we have examined 42 patients with moderate and severe asthma. Clinical characteristics and disease control were assessed. Tests for assessment of local and systemic inflammation were performed with the aim of phenotyping and detection of underlying mechanisms for development of BA. No significant differences were found in patients with controlled and uncontrolled BA according the clinical characteristics, except in exposure to cigarette smoke. In patients with uncontrolled asthma impaired lung function, frequent exacerbations during the last year were observed and FeNO levels above 50 ppb

were measured in relation to local and peripheral eosinophilia. These data confirm the presence of persistent inflammation despite the corticosteroid therapy. Significantly, higher levels of serum periostin ( $1.68 \pm 0.52$  ng / ml) and IL-6 ( $2.132 \pm 1.812$  pg/ml) were observed in asthmatic patients compared to healthy controls (respectively,  $p=0.001$ ,  $p=0.001$ ). Serum levels of periostin in patients with FEV1 <80% were significantly higher compared to those in patients with normal lung function ( $p = 0.04$ ). Higher levels of periostin were observed in patients on high dose ICS ( $p = 0.013$ ) compared to those on middle and low dose ICS. We have found correlation between serum levels of IL-17A and periostin  $r = 0.403$  (95% CI = 0.113-0.630),  $p = 0.008$ . Significantly, lower levels of serum IL-6 were measured in patients with sIgE antibodies to house dust mite. In addition, after a cluster analysis we have found a tendency for lower levels of IL-6 in those clusters with atopy. This is the first study in Bulgaria in which cluster analysis is used for phenotyping of patients with bronchial asthma. We have identified four clusters: Cluster 1 ( $n = 14$ ): Late, atopic asthma with impaired lung function; Cluster 2 ( $n = 13$ ): Late, atopic asthma with many symptoms, exacerbations and history of smoking; Cluster 3 ( $n = 6$ ): Late, eosinophilic asthma, sensitivity to aspirin / NSAIDs; Cluster 4 ( $n = 7$ ): Atopic asthma with early onset. Cluster 4 demonstrated significant higher levels of IL-17A in comparison with the cluster 1 and 2 (respectively,  $p = 0.021$ ,  $p = 0.023$ ).

#### Scientific publications and presentations:

- Youroukova V, Dimitrova D, Valerieva A, et al. Phenotypes determined by cluster analysis in moderate to severe bronchial asthma. Folia Med (Plovdiv). 2017;59(2):165-73.
- Dimitrova D, Youroukova V, Slavova Y, et al. Serum periostin as a biomarker for diagnosis and management of patients with moderate and severe persistent asthma. 3rd European Update Congress in Pneumology. Pneumo Update Europe 2016. Prague, 24-25 Jun 2016.
- Youroukova V, Dimitrova D, Slavova Y, et al. Cluster Analysis Of Patients With Moderate To Severe Uncontrolled Bronchial Asthma. International Severe Asthma Forum 2016 (ISAF 2016). Manchester, UK. 17 - 19 Nov 2016
- Dimitrova D, Youroukova V, Velikova Ts, et al. Serum Periostin Levels As A Biomarker For Impaired Lung Function In Adult Patients With Moderate To Severe Asthma. International Severe Asthma Forum 2016 (ISAF 2016). Manchester, UK. 17 - 19 Nov 2016. 28.
- Dimitrova D, Youroukova V, Slavova Y, et al. Markers of inflammation in uncontrolled moderate and severe persistent asthma. VI congress of BRS. Golden Sands resort, Bulgaria. 9-12. 06. 2016. Thoracic Medicine 2016, VIII (1):34.

#### **Contract 77/2015 Instrumental, immunological and serological correlations in patients with early systemic sclerosis and optimizing the early diagnosis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Ivan Iordanov Sheytanov, MD

#### **Research team:**

- Tsvetelina Yoneva, MD
- Prof. Rasho Rashkov, MD, PhD
- Prof. Ognyan Georgiev, PhD
- Prof. Atanas Batalov, MD, PhD, Plovdiv
- Assist. Prof. Rositsa Karalilova, PhD, Plovdiv
- Assoc. Prof. Dobroslav Kyurkchiev, MD, PhD

- Assist. Prof. Ekaterina Ivanova-Todorova, PhD
- Yana Zdravkova, MD
- Rada Gancheva, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Department of Internal Diseases, UMHAT “St. Ivan Rilski”, Sofia, Clinic of Rheumatology

**RESULTS:** According to the EUSTAR the Raynaud's phenomenon, the presence of puffy fingers and the positive ANA alarm for possible early scleroderma. In our investigation we tested 10 patients with the mean age of 45.2 years old (ranging between 33 and 53 years). All of them had videocapillaroscopy performed. 62.5 % of the tested subjects had the early scleroderma model; 37.5 % had capillaroscopy data of active scleroderma and none of the tested presented with the late capillaroscopy model. Out of the 10 tested patients 8 (80%) had elevated ANA titer between 1:80 and 1:1280. That titer of elevated and in about 60% of the cases correlates with the presence of specific antibodies directed against specific sclerodermic antigens. Two of the patients did not have specific antibodies. The data analysis of the antibodies distribution from the “Systemic Sclerosis Profile” shows that the antibodies against RNA polymerase III e with highest prevalence (34%) and only one patient has the classic anti-PM-Scl75 antibodies. The clinical presentation is arthritis, pulmonary fibrosis and decreased pulmonary diffusion capacity which is not typical for the patients with that types of antibodies. The second highest prevalence is that of antibodies against the centromer-associated proteins – 22%. The clinical presentation is of symptomatic vasculitis with digital ulcerations and pulmonary fibrosis, decreased FVC and diffusion capacity without pulmonary hypertension; localized skin presentation. In a small percent of the patients there are antibodies against the Th/To RNA-associated proteins, part of the RNA R complex. That group of patients present with overlapping rheumatic disease – rheumatoid type arthritis, Sjogren's syndrome and systemic sclerosis features. The patients with digital ulcerations and skin vasculitis have a capillaroscopy model of active and early scleroderma at the same time. There is association between the anti-CENT and anti-PM/Scl75. That patients have pulmonary involvement and decreased pulmonary function features.

### **Contract 78/2015 Pilot study on Human Papillomavirus and Herpes Virus as Oral Precancerous Lesions and Neoplasms**

**Leading scientist:** Prof. Angelina Ilieva Kisselova-Yaneva, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. prof. Assya Krasteva, PhD
- Assoc. prof. Rossen Kolarov, PhD
- Svetoslav Slavkov, MD
- Daniel Markov, MD
- Jordan Gylybov, MD, PhD student
- Antonia Dobрева, student
- Veselin Galabov, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Oral and Imaging Diagnostics.

**RESULTS:** Worldwide about 5 to 10 percent of the population is infected with HPV. It is predicted that a lot of carcinomas of the cervix and vulva are infected with HPV16 and 18.



The cervical cancer screening is both sensitive and specific, which has led to a significant reduction of the cervix carcinomas. HPV are involved in carcinogenesis of many other types of cancer (of the head and neck, penis, anus). Possible future epidemic of oropharyngeal cancer, as increasing numbers of people who maintain the virus in oropharyngeal mucosa. We investigated the presence of high-risk and low-risk HPV types in biopsy of 48 neoplastic patients - 16 women and 32 men with age range 35 to 90 years. We detect HPV in 11 neoplastic patients - 23%, with prevalence in men (nine). Positive for HPV 16 were only two patients, for HPV 11-3 persons and most often for HPV 6 -6 persons. Probably different geographic and demographic regions need to clarify the supporting role of other genotypes in carcinogenesis of oral and oropharyngeal cancers. We have found that the presence of HPV in oral and oropharyngeal carcinomas were 23%, most common in men and increases with age.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Krasteva A, Iliev A, Rangachev J, et al. HPV status of Bulgarian patients with oropharyngeal and oral carcinomas. Oral diseases, leading in oral, maxillofacial, head and neck medicineq vol 22, supplement 2, sept 2016, ISSN:1354-523N

## **MEDICO-SOCIAL AREA**

### **Contract 19/2015 Psychosocial risks of shift work**

**Leading scientist:** Prof. Emil Vlaykov Vodenicharov, MD, PhD

#### **Research team:**

- Anelia Ivanova-Kamenova, MD
- Vlayko Vodenicharov, MD
- Slava Joneva, MD
- Assoc. Prof. Konstantin Mitov
- Inj. Kiril Mladenov
- Svetlana Todorova

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Hygiene, medical ecology and nutrition

**RESULTS: Aim** - study of the chronotype, levels of stress and possible links between them among employees working in casinos in Bulgaria. **Materials and methods** - for the purpose of the study are used two questionnaires among 388 employees (221 women and 167 men), working as dealers or managers in 18 casinos. The questionnaires are MEQ (Morningness-eveningness questionnaire) for determining the chronotype and PSS (Perceived Stress Scale) for stress levels. The cortisol levels in saliva were measured of 32 employees. The data were statistically processed with MED CALC.

**Results** - Comparing risks of developing high stress levels among men and women displays 3,74 greater risk for stress among working women than men. The same risk is 1,54 higher for managers than dealers. The results from MEQ questionnaire show a preponderance of staff with intermediate type (70.4%). There is no discovered connection between type of chronotype and stress levels. There is a statistically significant correlation between the values of the two variables on the level of perceived stress and cortisol levels. **Conclusion** – working women in casinos have increased risk for developing high levels of stress.

**Scientific publications and presentations:**

- Vodenicharov V, Vodenicharov E, Mitov K et al. Stress levels and risks among casino employees in Bulgaria. *Acta morphol et antropol.* 2016;23:111-4.

**Contract 30/2015 Study of the attitudes and factors influencing prescribing and dispensing of generic medicines in cardiology**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Manoela Manova, PhD

**Research team:**

- Assoc. Prof. Manoela Manova-Ovcharova, PhD
- Prof. Valentina Petkova-Dimitrova, PhD, DSc
- Assoc. Prof. Alexandra Savova, PhD
- Assoc. Prof. Assena Stoimenova, PhD
- Maria Dimitrova, PhD
- Zornitsa Spasova-Mitkova, PhD
- Konstantin Tachkov, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of pharmacy, Department of Organization and Economy of Pharmacy

**RESULTS:** This study is the first comparative assessment of the perceptions for generic medicines of pharmacist and cardiologists in Bulgaria. Two questionnaires were designed for research of the perceptions regarding to prescribing and dispensing of the generic medicines and utilization of fixed doses combinations in cardiology. Seven of the questions rank the opinion in a 5 point Likert scale, six questions clarify the reasons and frequency of generics and fixed dose combinations prescribing and dispensing. The tetra-class analysis was created for the evaluation of satisfaction with generic medicines and fixed-dose combinations in cardiology. Pharmacists were approached in person, while in the pharmacy. The total number of interviewed pharmacists is 144. The results show that they have more positive outlook on generics safety, as opposed to a negative outlook on the generic medicines as a whole. Pharmacists indicate that on average 56.6% of their patients are being treated by a generic product, whereas 78% use combination drugs acting on the cardiovascular system. In the performed an inquiry study participated among 50 cardiologists. The questionnaire was distributed with the support of the country's Cardiologists' Association. The results show that the cardiologists possess positive perception in regards to efficacy and safety of generic medicines. They indicate that generics prescribing is about 57 % of the whole prescribed medicines. The perception towards the fixed dose combinations, is also positive because 65% of cardiologists prefer to prescribe combinations and recommend them for the patients with chronic conditions like hypertension for improving medication compliance. The results showed that the opinions of doctors and pharmacists differed. Doctors were more satisfied and positive regarding to generic prescribing than pharmacists whereas the satisfaction and opinion to fixed-dose combinations was high in both groups of health care specialists.

**Scientific publications and presentations:**

- Mitkova Z, Tachkov K, Petrova G, et al. Factors influencing generics and fixed dose combinations recommendation by pharmacists for cardiology patients. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2015;9(43):1020-5.
- Petrova G, Doneva M, Mitkova Z, et al. Generics and fixed-dose combinations in cardiology: satisfaction analysis of pharmacists and cardiologists. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2015;30(1):204-11.

- Mitkova Z, Milushewa P, Zlatareva A, et al. Study the cardiologists knowledge and perception about generic and fixed dose combination medicines in cardiology. *Pharmacia*.2015;62(4),22-9.

### **Contract 36/2015 Modeling of results and costs after implantation of hernial meshes**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Miglena Georgieva Kirilova-Doneva, Ph.D.

**Research team:**

- Assoc. Prof. Manoela Manova, PhD
- Assis. Prof. Maria Dimitrova, PhD
- Assis. Prof. Maria Kamusheva, PhD
- Assoc. Prof. Dessislava Pashkouleva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Social Pharmacy and Pharmaco-economics, Dunav 2 Str, 1000 Sofia

**RESULTS:** The experimental investigation of the mechanical characteristics of hernia meshes preferred by specialists were performed. Four light and ultra-light hernial meshes with density of 16-48 g / m<sup>2</sup> were applied to one-dimensional testing - Optilene (Braun, Germany), Parietex (Covidien, France), TiO2Mesh, ( BioCer Entwicklungs, Germany), Vypro II (Ethicon). The results confirm that the light meshes are more suitable for surgical practice. The mechanical properties of Parietex are the most similar to the properties of human tissue while closest deformability has TiO2Mesh. The proposed algorithm for the evaluation of the applicability of the hernia meshes complements the existing algorithms. Its main idea is to compare the hernial meshes and native tissue with respect to their elasticity and deformability, using the results of the one-dimensional tensile experiments. The algorithm will help to improve outcomes of the hernial operations- to reduce reoperations and discomfort of the patients. Costs of hernial operations in Bulgaria were estimated according to type of operation (standard with mesh or laparoscopic), size and material of the meshes (7x15, 15x15), type of the medical center (clinical center or municipal hospital) and emergency of the operation (elective or emergency). The differences in institutional and patients costs were revealed. Percent of complications, reoperations and chronic pain in a variety of surgical techniques and material were identified by a meta-analysis for the purposes of the proposed model. A "decision trees" were developed to facilitate evaluation of the costs associated with alternative treatment options for patients in elective and emergency operations and operations with different operating techniques.

**Scientific publications and presentations:**

- Sopotensky S, Kirilova-Doneva M, Pashkouleva D, et al. Hernial meshes – problems and decisions. *Bulgarian Medical Journal*. 2016;1:30-5.
- Kirilova-Doneva M, Pashkouleva D, Sopotensky S, et al. Application of light and partially resorbable meshes in Bulgaria. *Series on Biomechanics*. 2015;29(4):27-32.
- Kirilova-Doneva M, Kamusheva M, Petrova G, et al. Comparison of costs for elective versus emergency hernia repair and its reimbursement in Bulgaria. *EESJ* 2016;9(13):43-9.
- Kirilova-Doneva M, Pashkouleva D, Sopotensky S, et al. Application of light and partially resorbable meshes in Bulgaria. 5<sup>th</sup> Eurosummer School on Biorheology & Symposium on Micro and Nano Mechanobiology of Cells, Tissues and Systems. Varna. 1-5.09.2015

**Contract 37/2015 Technological and biopharmaceutical characterization of chronopharmaceutical formulations with montelukast sodium****Leading scientist:** Assoc. Prof. Milen Ventsislavov Dimitrov, MPharm, MPH-HMP, PhD**Research team:**

- Prof. Valentina Petkova, MPharm, MPH, PhD, DSc
- Assist. Prof. Teodora Popova, MPharm

**Organization unit:** MU–Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Technology and Biopharmacy**RESULTS:** Chronopharmaceutical drug dosage forms containing montelukast sodium with possible application in pediatrics were developed. The received data are summarized, interpreted, and optimal formulations rely to specific needs for the treatment of nocturnal asthma in pediatric population were proposed. The release of montelukast sodium from the matrix pellets could be extended by the increasing of ethanol concentration of the binder solution, increasing of the amount and molecular weight of the used ethylcellulose and increasing of the extruder`s die size. The suitable pellet formulations for the purpose of maintenance therapy from a biopharmaceutical point of view are formulations T3 and T16. From the both, formulation T3 is characterize with an easy and fast spheronization and more optimized release (quantitative release of montelukast sodium on the 7th hour) in comparison with T16 (quantitative release of montelukast sodium on the 5th hour) making it a potential candidate for use as a drug extended release formulation in the treatment of nocturnal asthma in children. The survey results will help the pharmacists working at pharmacies for care of patients with asthma disease and the formation of good practices for consultation prior dispensing of medicines for the treatment of obstructive pulmonary diseases**Scientific publications and presentations:**

- Popova T, Petkova V, Dimitrov M. Formulation approaches to pulsatile-release chronotherapeutical drug delivery system with montelukast sodium. WJPPS 2016;5(6):1-17

**Contract 38/2015 Cost analysis and quality of life of patients with chronic hepatitis C in Bulgaria****Leading scientist:** Assoc.prof. Alexandra Tzvetanova Savova, PhD**Research team:**

- Assoc. prof. Miglena Kirilova-Doneva, PhD
- Assoc. prof. Jordan Genov, PhD
- Assoc. prof. Konstantin Mitov, PhD
- Assist. prof. Maria Dimitrova, PhD
- Assist. Prof. Mariya Kamusheva, PhD
- Kaloyan Pavlov, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Department “Organization and economy of pharmacy”**RESULTS:** Chronic hepatitis C is a leading cause for chronic liver disease with long-term complications as extensive fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The cost analysis of 301 patients with chronic hepatitis C and cirrhosis, monitored for a 3-year period in the Gastroenterology department of University Hospital “Queen Joanna-ISUL” showed that 93% of the patients were diagnosed with cirrhosis Child-Pugh A and B. For these patients cirrhosis was a contraindication for antiviral therapy and the prescribed pharmacotherapy was mainly

for the treatment of the cirrhosis-related complications. 97% of the complications were oesophageal varices. 847 hospitalizations were reported for the observed 3-year period with average hospital stay of 17 days. The mortality rate was high-7%. The total direct medical costs accounted for 1,2 million BGN as the average cost per patient per year was 1343 BGN. The structure of the costs was 2/3 for the National Health Insurance Fund and 1/3 for the hospital and the patients with higher proportion for the patients. The progression of the cirrhosis severity and the related complications patients reported decrease in the quality of life. These results support the hypothesis that the HCV related-cirrhosis leads to increased risk of complications requiring additional treatment and also to increased direct medical costs with hospitalizations as a major cost driver.

**Scientific publications and presentations:**

- Petrova G et al. “How much does it cost the bad control of the chronic viral hepatitis infecitons” – presentation at Round table “Hepatitis: hidden epidemics or resolvable problem”. European context and significance of the introduction of National program for prophylaxis, screening, early diagnosis and treatment of viral hepatitis in Bulgaria. Houses of Parliament, 05.03.2015 – oral presentation
- Dimitrova M, Petrova G, Genov J, et al. Cost analysis of the chronic HCV-related cirrhosis in Bulgaria. ISPOR 18<sup>th</sup> Annual European Congress, Milan Italy, Nov 2015

**Contract 48/2015 Psychosocial risk assessment in organisation at high occupational risk- health care**

**Leading scientist:** Prof. Karolina Dosheva Lyubomirova, MD, PhD, ERT

**Research team:**

- Prof. Nevena Tzacheva–Hristova, MD, PhD
- Assoc. prof. Yanka Prodanova, PhD
- Assoc. prof. Milena Stoicheva, PhD
- Assoc. prof. Ruza Nikolova, PhD
- Assist. prof. Todor Kondurdziev, PhD
- Assist. prof. Milena Petkova-Petkova, MD
- Assist. prof. Iva Miteva

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Public Health, Department Occupational health

**RESULTS:** A study for assessment of the psychosocial health risks among employees in health care system was performed. A questionnaire for identification of the psychosocial risk at the workplace was distributed among 2500 participants in university and municipal hospitals in Sofia. The analysis of the data received from the fulfilled and returned forms shows that more than 30% of the participants were at the age group above 55 years with the length of work more than 10 years. Almost half of the participants were nurses (47,2%), followed by medical doctors (34,6%) and hospital attendants (18,2%). The leading reasons for psychological discomfort at the workplaces were identified: work at high pressure (reported by 89,9%), bad definition of the work tasts (controversary demands)- 33,4%, lack of influence over the mthods of work- 37,5%. More than 20% reported the presentce of bad social environment at the workplaces and poor collaboration with the colleagues (35,5%). Almost half of the participants (43,6%) thought that interindividual conflicts existed which influenced the work. They suggested additional discussion on the problems related to work and improvement of the relationships with the leaders. The majority of the participants (57,3%) work at stress due to aggression fro the society (patients, relatives) as offends, treaths and physical injuries. The resuts received were compared to those from the conducted risk

assessment procedures in the investigated hospitals. The analysis confirmed the leading importance of the physiological risk at work. It was revealed that the rest health risks at work were acceptable and under control. The temporary disability analysis shows that the health status of the health care employees in the investigated hospitals was satisfactory. Recommendation for health risk reduction measures were forwarded to the employers. A handbook for risk elimination and increase of the resistance of the health care employees was designed.

**Scientific publications and presentations:**

- Samuneva M, Kondurdziev T, Lyubomirova K, et al. Specific occupational health risks among medical doctors in Bulgaria. Praemedicus, 2016.
- Lyubomiriva K, Samuneva M, Angelov K, et al. Analysis of the Risk Perception Among Health Care Expert in Bulgaria. (in Bul) INGA, 2016.
- Lyubomirova K, Tzacheva N, Samuneva M. Specific Health Risks among Medical Doctors in Bulgaria. Second Macedonian Congress on Occupational health with International Participation. 12-14 Oct, 2016, Skopje, Macedonia

**Contract 49/2015 Socialization, resocialization and social adaptation by applicability of art therapy in social and rehabilitation facilities**

**Leading scientist:** Prof. Penka Angelova Marinova, PhD

**Research team:**

- Assist. prof. Pavlinka Dobrilova, PhD
- Assist. prof. Anna Marinova, PhD
- Assist. prof. Iveta Marinova, PhD Student

**Organization unit:** MU - Sofia, Branch "Prof. Dr. Ivan Mitev" Vratsa

**RESULTS:** Through research It was established the applicability of art therapy in social institutions and the possibilities for its application in rehabilitation facilities. The results of the survey among employees and service users in rehabilitation and social institutions and students majoring in "labor therapy" show lower utilization art-therapeutic activity in labor-therapeutic centers of social institutions and omissions in rehabilitation facilities and spa hotels, in which there isn't separate labor-therapeutic centers. Art therapy is a major labor-therapeutic action taken in nursing homes in the processes of socialization, resocialization and social adaptation, but the specialists do not make full use of all its capabilities. The art-therapeutic activities are applied in practice only partially, as these are mainly the production of cards and coloring. Do not apply new, modern methods and other directions in art therapy as drama therapy, music therapy, occupational therapy game, dance therapy, quilling, decoupage and more. As a result of successfully implemented art therapeutic sessions shows that despite their weak awareness art therapeutic activities, consumers are willing to engage in art therapy. This shows the willingness to work with art materials and a positive attitude in the availability of more information and professionalism of art-therapist or occupational therapist. Established evaluation card rehabilitation facilities that will facilitate the work of occupational therapists.

**Scientific publications and presentations:**

- Dobrilova P, Marinova A, Mihailova I at al. Applicability of labor-therapeutic activity in a day care center for people with disabilities. Nursing. 2016; 2: 7-10
- Mihaylova I, Tsacheva N, Marinova A et al. Art therapy and the need for it in specialized rehabilitation facilities in the country. Medical management and health policy. 2016; 1: 31-42

- Mihailova I, Marinova A, Dobrilova P. Art-therapeutical employment in process of socialization and social adaptation. Science & Technologies. Medicine. 2015;1:159-63
- Dobrilova P, Mihailova I, Marinova A et al. Art therapy – a modern approach to life quality improvement for handicapped people, Abstract book, 4th world conference on psychology and sociology, Rome, Italy, 26-28 Nov 2015
- Marinova A, Dobrilova P, Mihailova I et al. Art therapy – an unpopular method of effect on the mental health in rehabilitation institution in Bulgaria, Abstract book, 4<sup>th</sup> world conference on psychology and sociology, 26-28 Nov 2015, Rome, Italy

## GRANT YOUNG SCIENTISTS 2014

### MEDICO-BIOLOGICAL AREA

#### **Contract 1-D/2014 Immunocytochemical investigation of dopaminergic neurotransmission in the retina of lower vertebrates**

**PhD student:** Desislava Ivanova Zhekova

**PhD supervisor:** Prof. Liliya Vitanova, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Physiology

**RESULTS:** The aim of the present investigation was to study, using the indirect immunocytochemical method, the presence of dopaminergic neurons and distribution of dopaminergic receptors in the retina of frog and turtle – major representatives of Amphibia and Reptile respectively. Our results showed that the dopaminergic neurotransmission is widely distributed in the retina of the investigated species. In the investigated retinas there were dopaminergic neurons. These were the dopaminergic amacrine cells. The D1 and D2 class dopaminergic receptor were also expressed in both types of retinas. Similarity with mammals was established in the case of D1A/D1 receptors. We observed immunofluorescence in virtually all retinal layers. Horizontal cells, amacrine cells, ganglion cells and/or so called “displaced amacrine”, Müller glial cells were visible as well. On the basis of our results we can conclude that in the retina of the investigated species dopamine serves as neurotransmitter as well as neuromodulator.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Zhekova D, Vitanova L. Immunofluorescent investigation of D1 class dopaminergic receptors in the retina of cold-blooded vertebrates. Anniversary Scientific Conference “Science for Health”, Plovdiv 20-22.05.2015

#### **Contract 2-D/2014 Investigation of association between polymorphisms in 6 candidate-genes: *IL17RC*, *GPR126*, *VDR*, *BMP4*, *Lep*, *TGFB1* and genetic predisposition to idiopathic scoliosis in Bulgarian patients**

**PhD student:** Svetla Todorova Nikolova, MD

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Alexey Savov, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Obstetrics and Gynaecology, National Genetic Laboratory, University Hospital “Maichin Dom”,

**RESULTS:** Our study confirmed: 1) the positive association between 3 polymorphisms in 3 candidate-genes (*IL17RC*, *GPR126*, *TGFBI*) and the etiology of idiopathic scoliosis; 2) the lack of association between 3 polymorphisms in 3 candidate-genes (*Lep*, *BMP4*, *VDR*) and the etiology of idiopathic scoliosis; 3) the positive association between 2 polymorphisms in 2 candidate-genes (*IL17RC*, *TGFBI*) and the progression of idiopathic scoliosis in Bulgarian patients. The role of 3 candidate-genes for idiopathic scoliosis in Caucasian population (*IL17RC*, *GPR126*, and *TGFBI*) was confirmed. In addition, an association between: 1) 2 candidate-genes (*TGFBI* and *IL17RC*) and familial idiopathic scoliosis; 2) 3 candidate-genes (*TGFBI*, *IL17RC* and *GPR126*) and non-familial idiopathic scoliosis; 3) 3 candidate-genes (*TGFBI*, *GPR126* and *IL17RC*) and female gender; 4) *IL17RC* gene and male gender; 5) 3 candidate-genes (*VDR*, *BMP4* and *GPR126*) and curve pattern was found. In this way confirmatory and novel information for the genetics of idiopathic scoliosis in Bulgarian patients was obtained. The identification of molecular markers with diagnostic and prognostic value will be useful in clinical practice for early diagnosis of scoliosis among relatives and for more accurate prognosis of the risk of rapid progression of the deformity among affected individuals. That will permit prophylaxis and early treatment.

**Scientific publications and presentations:**

- Nikolova S, Yablanski V, Vlaev E, et al. In Search of Biomarkers for Idiopathic Scoliosis: Leptin and BMP4 Functional Polymorphisms. *J Biomark.* 2015;2015:425310
- Nikolova S, Yablanski V, Vlaev E, et al. Association Study between Idiopathic Scoliosis and Polymorphic Variants of VDR, IGF-1, and AMPD1 Genes. *Genet Res Int.* 2015;2015:852196

**Contract 4-D/2014 Synthesis and охарактеризиране of 1-substituted arylpiperazines with xanthine moiety at N4 with potential antioxidant and aniproliferativeactivity**

**PhD student:** Lilia Antonova Andonova

**PhD supervisor:** Prof. Alexander Zlatkov, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Chemistry, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** Twelve new compounds have been synthesized - 6 containing 1-(propyl)-theobromine and other 6 containing 1-(butyl)-theobromine as substituent. The structure of the obtained compounds was adequately characterized and elucidated with the corresponding IR and <sup>1</sup>H NMR data. Their purity was proven with TLC characteristics and elemental analysis data for C, H, N and chalogen (where ncessary). Aiming to study the chemical structure of the synthesized derivatives, in addition to the experimentaly obtained spectral characteristics, part of the products were subjected to ZINDO/S calculational methods for determination of their physicochemical properties and spectral behavoiur. It was established that the thearetical spectra in the UV area are in good correlation with the experimentaly obtained ones. The contribution of each of the avsorbing group has been also determined, corresponding to excited state for the target compound. The corresponding radical scavenging and antioxidant activity was determined for all synthesized compounds, as preliminary screening test. Highest effect is observed for two of the target structures, both containing a hydroxylic group. The



suppression of the lipid peroxidation for the target products was evaluated. It was established that a compound from Series 1 expressed the highest activity. The results for the derivatives from Series 2 do not differ statistically significant from the control. The evaluated antiproliferative activity of two of the newly synthesized compounds is comparable with that of the reference drug Cisplatin. One of them shows even higher inhibitory effect on the malignant cellular life and proliferation in REH cell line, when compared to the clinically applied cytostatic drug.

**Scientific publications and presentations:**

- Andonova L, Zheleva-Dimitrova D, Georgieva M, et al. Synthesis and antioxidant activity of some 1-aryl/aralkyl piperazine derivatives with xanthine moiety at N4. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2014; 28(6): 1165-71.
- Andonova L, Momekov G, Georgieva M, et al. ZINDO/S computations of absorption bands in the UV spectra of some N4-substituted aralkylpiperazines with antiproliferative activity. *Int J Pharm Pharmaceut Res* 2015;2(3):44-59.

**Contract Nr. 5-D/2014 Comparative analysis of the aerial parts of *Astragalus glycyphylloides* and *Astragalus glycyphyllos***

**PhD student:** Aleksandar Mihaylov Shkondrov

**PhD supervisor:** Prof. Iliana Krasteva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** Pure compounds (flavonoids and triterpene saponins) were isolated from the overground parts of two species, distributed in Bulgaria (*A. glycyphylloides* and *A. glycyphyllos*) using various chromatographic methods (CC, PTLC и semi-preparative HPLC). The structural elucidation of the isolated compounds will take place. The defatted extract (EAG), obtained from *A. glycyphyllos*, from which a part from the flavonoids and saponins were isolated, was tested *in vivo* for hepatoprotective and antioxidant activity on a model of tetrachlormethane-induced hepatotoxicity. In combination with tetrachlormethane, EAG displayed concentration and dose-dependent, statistically significant hepatoprotective and antioxidant activity. In the present study the pharmacological activity of EAG, which was found comparable to silymarin is in good correlation with previous data for the same activity of extract obtained from *Astragalus glycyphylloides*. These results make the isolated compounds from the two species potential candidates for continuing examination as possible antioxidants and hepatoprotectors.

**Scientific publications and presentations:**

- Shkondrov A, Simeonova R, Kondeva-Burdina M, et al. Study to evaluate the antioxidant activity of *Astragalus glycyphyllos* extract in carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Eur J Med Plants*. 2015; 7(2):59-66.

**Contract Nr. 6-D/2014 Development of specialized textbook in Dental Biochemistry**

**PhD student:** Nikolay Dimitrov Ishkitiev

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Analysis and systematization of the up-to-time biochemical information, concerning the specific biochemical processes in oral tissues have never been done in Bulgaria. Systematic literature on dental biochemistry are extremely rare worldwide. Such a textbook

would increase the dental specialists' understanding for physiological and pathological processes in oral region by introducing to them the specific molecular mechanisms characteristic for dental tissues. Biochemical information in world literature was systematized based on the cytohistological and morphological characteristics of different oral tissues (enamel, dentine, pulp, cement, periodontal ligament, alveolar bone and saliva glands). The structure of every chapter describes contemporary knowledge for specific molecular mechanisms, determining the functions of the specific oral tissue, and puts a stress on the correlations between its biochemical, cytological and physiological characteristics.

### **Contract 10-D/2014 Flavonoids in *Astragalus thracicus* - wild plants and conventional in vitro cultures**

**PhD student:** Hristo Nikolaev Vasilev

**PhD supervisor:** Prof. Iliana Ionkova PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy and Botany

**RESULTS:** We investigated the flavonoid content in extracts, gained from the Balkan endemic species *Astragalus thracicus*. For the first time we developed in vitro cultures with different composition of the nutrition medium, as we changed the concentration of the macro- and micro elements in the one hand, and growth regulators in the other. We have done basic phytochemical investigation of the flavonoid content of the plant and we have isolated five pure compounds. The work on their structure elucidation continues. By means of spiking method we investigated the presence of C-glucoside orientin in different extracts from intact plants – aerial parts and roots and it is compared with in vitro cultures. In HPLC screening we investigated comparatively good total flavonoid content. This provoked us to investigate the radical-scavenging activity by the means of DPPH free radical. Aerial parts from intact plant showed good radical-scavenging potential equal to 1094,01 µg ascorbic acid and 1166,82 µg Hyperoside. Extracts from plants grown on MS and HP9 medium gave commensurable results with intact plants as the radical-scavenging activity is as follows 968,77 µg, respectively 940,73 µg equivalent of ascorbic acid and 1036,50 µg, respectively 1007,34 µg Hyperoside. The results show that HP9, which contains half the macro- and micro- elements shows insignificantly lower activity. This supposes the usage of more economically paying HP9 media in eventual industrial production. Overall, the shown results suppose that plants grown in *in vitro* conditions could be used as a successfully-producing alternative of the wild-growing species.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Vasilev H, Ionkova I. DPPH radical scavenging activity of extracts obtained from *Astragalus aitosensis* Ivanisch. and *Astragalus thracicus* Griseb. Proceedings of the Eighth Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (Proceedings of the 8th CMAPSEEC) Durres, Albania Mar 2014.
- Vasilev H, Ionkova I. HPLC investigation of the flavonoid composition of *Astragalus thracicus* Griseb. Book of Abstracts: "International Symposium: Natural products and drug discovery – future perspectives", 13-14 November 2014, Vienna, Austria.

### **Contract 11-D/2014 Apoptosis and hypoxia in squamous cell carcinoma of the larynx - molecular and genetic factors**

**PhD student:** Todor Miroslavov Popov

**PhD supervisor:** Prof. Ivan Chalakov, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Department of Ear, Nose and Throat diseases

**RESULTS:** We studied the mRNA expression of the bcl-2, p53, c-Myc and PKM genes in laryngeal carcinoma. The youngest patient is 41 and the oldest is 84. Mean age of the group is 60.52. Correlation between mRNA expression of PK and c-Myc was found,  $rs(98) = .576$ ,  $p < .0005$ . Additionally we found statistically significant moderate positive correlation between levels of expression of PKM and p53,  $rs(98) = .352$ ,  $p < .05$ . Spearman method was used. The third statistically significant correlation was between bcl-2 and p53,  $rs(98) = .374$ ,  $p < .05$ . Spearman correlation was found also between the expression levels of HIF-1 alpha and PKM  $rs(98) = .431$ ,  $p < .005$ , between HIF -2 alpha and bcl-2 ( $rs(98) = .447$ ,  $p < .005$ ). The mRNA levels of bcl-2 had also a statistically significant correlation, moderate to strong, with the expression levels of VEGFR1, VEGFR2 and MMP2. This data was available from previous projects on the same group of patients.

**Scientific publications and presentations:**

- Popov T, Chalakov I. Clinico-pathological profile of patients with carcinoma of the larynx in Bulgaria. Medical Magazine. 2014, 9:94-96
- Popov T, Chalakov I. Metastasizing – from the molecule to the macroscopic lesion. Oto-Rhino-Laryngology 2014, 1:33-39.
- Popov T, Goranova T, Stancheva G et al. Relative quantitative expression of HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$  and VEGF-A in laryngeal carcinoma. Oncology Letters 2014, 9: 2879-2885

**Contract 13-D/2014 Phytochemical investigation and isolation of biologically active substances from the seeds of *in vitro* cultures of *Gloriosa superba*.**

**PhD student:** Yancho Angelov Zarev

**PhD supervisor:** Prof. Iliana Ionkova PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy and Botany

**RESULTS:** *Gloriosa superba* is considered as a potential source of biologically active substances with an anticancer activity. The study performed of total *in vitro* culture extracts of *Gloriosa superba* shows presence of a similar antiproliferative activity probably due to common compounds. The initial phytochemical study of the same extracts indicates lack of the main metabolites for *Gloriosa superba* - colchicine and colchicoside. The isolation of these compounds is expected. A similar group of compounds was isolated within the conducted phytochemical study of the *Gloriosa superba* seeds which chromatography samples suggest a structure containing an indole ring. There are no data available in the literature concerning the isolation of the similar compounds. The spectral analysis is expected for further data about clarifying the structure of the isolated compounds. In accordance with the growing interest in colchicoside we proposed biotechnological method for its biosynthesis. After 14 days of cultivation of cell suspension cultures we achieved concentration of colchicoside of 0.01299 mg/ml in a total extract. The presence of glycosylated colchicine after biotransformation event was proved by chromatographic methods ( $R_f = 0.275$ ; RT 11.557 min  $\pm$  0.12) and spectral methods - UPLC MS/MS ( $R_t = 3.12$ ; Molecular formula C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>11</sub>; Molecular weight 547,554 Da; Molecular ion: 548.21 [M + H]<sup>+</sup>) of analysis. In conclusion we propose a biotechnological method for production of important secondary metabolites via cell suspension cultures established for the first time in our lab.

**Contract 16-D/2014 Replicative study to identify the potential association between polymorphic variants in leading candidate - genes from genomic - association studies and coronary heart disease in Bulgarian patients**

**PhD student:** Reni Stoyova Tzveova

**PhD supervisor:** Acad. prof. Vanio Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry/ Molecular Medicine Center

**RESULTS:** The purpose of this study was to investigate allelic and genotypic frequencies of three polymorphic variants: a polymorphism near to *SORT1-CELSR2-PSRC1* locus (rs599839), a genetic variant, located in the *HCG27 - HLA-C* locus (rs3869109) and a single nucleotide polymorphism within intron 8 of *ADAMTS7* gene (rs1994016) in both groups of patients with coronary artery disease and population controls. During the analysis the high allelic frequencies of these variants in a sample of healthy subjects with Bulgarian origin were detected. No deviation from Hardy-Wienberg equilibrium was observed for studied variants except rs3869109. Allelic and genotypic frequencies of the analyzed markers corresponded to these reported for Europeans. No significant association was found for any of the investigated loci with the coronary artery disease risk. Similar results were obtained in the analysis of the relationship of these genetic markers with systolic and diastolic blood pressures, triglycerides and cholesterol levels. Extend the group of analyzed patients and controls need to increase the power of the experiment and obtain reliable results. After multiple regression analysis two statistical epistatic interactions were identified between the three studied variants in terms of coronary artery disease risk (*SORT1-CELSR2-PSRC1* rs599839 and *HCG27,HLA-C* rs3869109 OR 2.65, p=0.01), systolic blood pressure (*SORT1-CELSR2-PSRC1* rs599839 and *HCG27 - HLA-C* rs3869109  $\beta = -26.55$ , p = 0.02) and diastolic blood pressure (*HCG27,HLA-C* rs3869109 and *ADAMTS7* rs1994016  $\beta = -13.52$ , p=0.004)

**Scientific publications and presentations:**

- Tzveova R, Vandeva S, Matrozova Y, et al. Polymorphic variants in leading candidate-genes from genome-wide association studies and coronary artery disease risk – part two. Cardiovascular diseases, 02/2014, XLV, p. 48-57.

**Contract 17-D/2014 Analysis of the spectrum of somatic mutations in tumors from Bulgarian breast cancer patients using next generation sequencing**

**PhD student:** Daniela Rosenova Dacheva

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center

**RESULTS:** Breast cancer is the most commonly diagnosed malignancy and the most frequent cause of death in women due to cancer in Bulgaria. Intra tumor heterogeneity of breast cancer is well-known but driver mutations and mutational processes in which they are involved in have not yet been comprehensively explored. Results from the NGS analysis in current research project show that pathogenic somatic mutations are found in all patient samples. The total number of annotated variants was 630 and includes all types of SNV and small insertions and deletions. A total of 48 known pathogenic mutations were found- 4 stop gained mutations, 38 small insertions/deletions, 6 known pathogenic mutations, all spread in 44% of the genes. In addition 136 new likely pathogenic missense mutations were also found. From the pathogenic mutations 39.6% were found in ATM, ERBB4, PIK3CA and APC genes. In addition we found that some mutations appeared in more than 50% of samples like

c.5228delC in ATM, c.1815delT in BRAF, c.891dupT in ERBB4, c.5871T>A in ATM and c.1598T>C in SMAD4. Statistical analysis results show that there is a pattern of gaining more mutations with age. No significant differences between the number of mutations and tumor differentiation or size was found.

### **Contract 18-D/2014 Analysis of the role of SALL1, EYA1 and SIX1 genes in the etiology of congenital anomalies of kidney and urinary tract**

**PhD student:** Valentin Martinov Penchev

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, 2 Zdrave str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract (CAKUT) are diverse group of pediatric disorders. They include most often kidney agenesis, malformations in the ureter, kidney hypoplasia, dysplasia, etc. CAKUT consist approximately 1/3 of all malformations which are found during the usual sonographic fetal morphology examinations. During the performance of the present study a specific group of patients was selected. All of them were screened for TCF2 and PAX2 mutations but without any findings. The Sanger sequencing was targeted in to the coding regions of the SALL1, EYA1 and SIX1 genes. As a result we found fourteen changes in the DNA sequence. Three of them were with potential association with the CAKUT pathogenesis. The collection of more patients samples according to good examination criteria and the implementation of new powerful technologies like the next generation sequencing will help us to clarify the etiology of these complex and severe diseases.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Penchev V, Boueva A, Zlatanova G, et al. Different type of mutations are responsible for expression of CAKUT phenotype in Bulgarian population, European Human Genetics Conference, Glasgow, Scotland, UK, 06-09.06.2015, 388-389.
- Penchev V. Genetics of kidney anomalies in children. Year symposium “Acad.Chudomir Nachev”, Sofia, October 25<sup>th</sup>, 2014, p.16

### **Contract 23-D/2014 Modelling the interaction of ionizing radiation with eye lens and developing a method for calibration of personal dosimeters to assess the dose of the lens of the medical specialists working in interventional radiology and cardiology**

**PhD student:** Anna Roumenova Zagorska

**PhD supervisor:** Prof. Boris Tenchov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Dept of Medical Physics and Biophysics

**RESULTS:** Within the project were created anthropomorphic mathematical models of the head, the eye and the eye lens. The simulated acquisition geometry and photon transport were done by XrayImaging Simulator. Mean and effective energy of the scattered spectra were estimated and the first half value layer was calculated at a medical specialist typical position. It was estimated the dose distribution within the operator’s eye and eye lens. Depending on investigations was decided the personal dose equivalent  $H_p(3)$ , will provide a better estimation of the real eye dose. Two calibration phantoms were created: cylinder with a

spherical segment and elliptical. Energy and angular dependence of the two phantoms and two types dosimeters were done. Dosimeter EYE-D™ (MCP-N) satisfies international standards requirements. Conversion coefficients from air kerma to dose equivalent at depth 3 mm at 0° of radiation incidence are proposed: (1) narrow spectra - for both phantoms; RQR-spectra – for cylindrical phantom. According to the literature review the results show a good agreement within 6 % with other authors. A method for calibration and assessment of personal dose equivalent for the eye lens was created.

**Scientific publications and presentations:**

- Zagorska A, Bliznakova K, Buchakliev Z. Towards the estimation of the scattered energy spectra reaching the head of the medical staff during interventional radiology: A Monte Carlo simulation study, 2015 J. Phys.: Conf. Ser. 637 012036
- Zagorska A, Buchakliev Z, Bliznakova K. Scattered spectra simulations in interventional radiology and calibration of personal dosimeters for eye dose, Physics in the protection of human health and environment, The Light in Medicine, editors B. Tenchov, L. Traikov 2015; pp 347-364.
- Dilkovska-Petrova T, Zagorska A, Bliznakova K. The Role of Cloud Services in Research Projects (Case Study) Big Data, Knowledge and Control Systems Engineering - BdKCSE'2015, editor Rumens D. Andreev, Ist sai Press, 2015; p. 75-88.

**Contract 24-D/2014 Mutation analysis of *LRRK2* gene in Bulgarian patients with Parkinson`s Disease**

**PhD student:** Kalina Ionkova Mihova

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc and Corr. Member Prof. Latchezar Traykov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center

**RESULTS:** Parkinson disease (PD) is the most common motor neurodegenerative disease, characterized by motor – rigidity, bradykinesia, rest tremor, postural instability and non-motor features – cognitive, neuropsychiatric, etc. Mutations in *LRRK2* gene are the most common cause of Parkinson disease in familial and sporadic cases. In this study 137 patients were screened by Sanger direct sequencing and were identified three novel variants affecting conservative functional domains of the protein - cDNA.4299T> C, cDNA.4335C> T and cDNA.5331A> G. Programs for prediction showed higher pathogenicity for two of them. We discovered already described mutations c.4229C> T, rs72546327 and rs7133914 c.4193G> A with unclear clinical significance.

Finding novel variants and results from previous studies assumes that Bulgarian population differs in frequency and distribution of mutations compared to the other European populations. Screening and distribution of known mutations and discovery of new and already reported would clarify their role in disease progression. This would increase opportunities for early diagnosis and clarification of genotype-phenotype correlations that help clarify the function of the protein and its relationship with the pathology of the disease. Our findings contribute to a better understanding the molecular basis of Parkinson disease and have implications for diagnostic testing and genetic counseling in Bulgarian population.

**Scientific publications and presentations:**

- Mihova K. Genetic and genomic screening in neurodegenerative diseases, Year symposium “Acad. Chudomir Nachev”, Sofia, 25<sup>th</sup> October 2014, p16

## MEDICO-CLINICAL AREA

### **Contract 3-D/2014 Myokines and Risk for Type 2 Diabetes Mellitus**

**PhD student:** Yavor Sashov Assyov, MD

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine. Dept. of Internal Medicine. Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases

**RESULTS:** Myokines are substances that are released from muscles after physical activity. In the current study, we have compared the serum levels of two such myokines – irisin and fraktalkine between three groups of patients – prediabetics (n=60), diabetics (n=50) and normoglycemic subjects (n=50). The three study groups were age, sex, BMI and self-reported physical activity-matched. We've established that irisin progressively decreases with worsening of the glycemia –levels are highest in normoglycemic subjects, lower in prediabetics and lowest in diabetics. Furthermore, serum irisin was negatively associated with biochemical parameters, defining the risk metabolic profile of the evaluated subjects: triglycerides, hepatic enzymes, glycated hemoglobin nad immunoreactive insulin. Serum fraktalkine did not differ statistically between the evaluated subjects Fatty Liver Index is a surrogate marker for liver steatosis, calculated using simple biochemical parameters. For it we discovered to correlate positively with glycated hemoglobin, immunoreactive insulin and uric acid and negatively with HDL cholesterol. Of practical value was the evaluation of the prognostic value of ultrasound measured fat. In a comparative correlation analysis, we've discovered it to correlate better with the metabolic profiles of the study subjects and serum irisin levels than the most widely-used surrogate parameter for the evaluation of fat mass – waist circumference.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Assyov Y, Kamenov Z, Tsakova A, et al. A comparison of four clinical methods for the evaluation of metabolic syndrome in women. 22nd European Congress on Obesity, Prague, Czech Republic – ECO. 6-9 May, 2015. Abstract 609
- Kamenov Z, Assyov Y. Neck circumference – a more informative indicator for metabolic disturbances compared to waist circumference? 24<sup>th</sup> Clinical Congress of the American Association of Clinical Endocrinologists – AACE, Nashville Tennessee, USA. 13-17 May, 2015. Abstract 606
- Kamenov Z, Assyov Y, Tsakova A. Irisin in the glucose continuum – from normal glucose tolerance through prediabetes to type 2 diabetes mellitus. 24<sup>th</sup> Clinical Congress of the American Association of Clinical Endocrinologists – AACE, Nashville Tennessee, USA. 13-17 May, 2015. Abstract 263
- Assyov Y, Gateva A, Tsakova A, et al. Irisin in the Glucose Continuum. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016; 124(1):22-7.

**Contract 7-D/2014 Cardiovascular risk in type 2 diabetes**

**PhD student:** Aleksandra Nikolaeva Doncheva

**PhD supervisor:** Prof. Mihail Boyanov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Endocrinology and metabolic disorders

**RESULTS:** Objective: to assess cardiovascular risk in type 2 diabetics and its correlation with atherosclerosis markers. 97 patients participated - 60 women and 37 men (mean age  $63.2 \pm 9.3$  years). The risk for fatal and non-fatal coronary heart disease (CHD) and stroke was calculated with the UKPDS Risk engine 2.0 including age, diabetes duration, smoking status, systolic blood pressure, atrial fibrillation, glycated hemoglobin, total and HDL-cholesterol. Serum levels of N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) were measured by electrochemiluminescence and asymmetric dimethylarginine (ADMA) by enzymatic immunoassay. The mean risk for non-fatal CHD was 20,65%, for fatal CHD - 15,5%, for stroke- 16,78%, for fatal stroke- 2,58%. Mean levels of NT-proBNP were  $32.85 \pm 55.35$  pmol/l, and 53,6% of the participants had values under the reference level. The mean ADMA values were  $0.62 \pm 0.19$   $\mu$ mol/l; 70,1% had values in the reference range. NT-proBNP and the risk for non-fatal and fatal CHD correlated best in S regression ( $R^2 = 0.072, 0.082$ ), while non-fatal and fatal stroke – in a linear model ( $R^2 = 0.279, 0.257$ ). No relationship was found for ADMA. There is a correlation between the risk for non-fatal and fatal CHD and the NT-proBNP levels, but not with ADMA levels.

**Contract 8-D/2014 Clinical significance of homocysteine and vaspin and their correlation with cardiovascular autonomic dysfunction in subjects with different stages of glucose intolerance – prediabetes (impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance) and newly-diagnosed type 2 diabetes**

**PhD student:** Rumyana Boymova Dimova-Draganova

**PhD supervisor:** Prof. Tsvetalina Tankova, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Centre of Endocrinology

**RESULTS:** There was no difference in vaspin levels between the groups according to their glucose tolerance, the presence of metabolic syndrome (MetS), and cardiovascular autonomic dysfunction. Vaspin positively correlated with total body fat and negatively with fasting plasma glucose and HbA1c in the group with newly-diagnosed type 2 diabetes. Subjects with normal glucose tolerance (NGT) and MetS demonstrated positive correlation between vaspin and age, and AGEs, whilst in those with NGT without MetS vaspin correlated just with age. In MetS groups vaspin positively correlated with age, total body fat, and AGEs; whereas in the groups without MetS just with age. Vaspin negatively correlated with sympathetic and parasympathetic activity at rest ( $r = -0.305, p=0.01, r = -0.304, p=0.01$ , respectively), deep breathing ( $r = -0.243, p=0.042, r = -0.417, p<0.001$ , respectively), Valsalva ( $r = -0.243, p=0.043, r = -0.327, p=0.006$ , respectively), and standing ( $r = -0.312, p=0.009, r = -0.337, p=0.004$ , respectively) in subjects with NGT. The subgroup with NGT+MetS showed negative correlation between vaspin and sympathetic tone at rest ( $r = -0.389, p=0.021$ ), sympathetic and parasympathetic tone during deep breathing ( $r = -0.405, p=0.016, r = -0.352, p=0.038$ , respectively), and standing ( $r = -0.358, p=0.035, r = -0.335, p=0.049$ , respectively), while in the subgroup with NGT-MetS vaspin negatively correlated just with parasympathetic power at rest ( $r = -0.379, p=0.025$ ), deep breathing ( $r = -0.510, p=0.002$ ), Valsalva ( $r = -0.415, p=0.013$ ), and standing ( $r = -0.384, p=0.023$ ).

**Scientific publications and presentations:**



- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. "Is vaspin related to cardio-metabolic status and autonomic function in early stages of glucose intolerance and in metabolic syndrome?". *Diabetol Metab Syndr*. 2016;8:46.
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. Serum vaspin relation to cardiovascular autonomic function in euglycemic subjects with or without metabolic syndrome. *Endokrinologia* 2015;4:197-205.
- Dimova R, Tankova T. The role of vaspin in the development of metabolic and glucose tolerance disorders and atherosclerosis. *BioMed Res Int*. 2015:823481. doi: 10.1155/2015/823481. Epub 2015 Apr 6.
- Dimova R. Clinical significance of homocysteine for the increased cardio-vascular risk and the development of chronic complications in subjects with diabetes mellitus. *Nauka Endocrinologia*. 2015;1:7-13.
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. The role of vaspin in the early stages of glucose intolerance and in metabolic syndrome. 8th World Congress on Prevention of Diabetes and its Complications, Cartagena, Colombia, 15-17 October 2015
- Dimova R, Tankova T, Kirilov G, et al. Correlation between vaspin levels and autonomic tone in normoglycemia, prediabetes and newly-diagnosed type 2 diabetes. IDF World Diabetes Congress 2015, Vancouver, Canada, 30-01 December 2015

**Contract 9-D/2014 Measurement of ultrasonographic parameters of the kidneys, heart, common carotid arteries and serum levels of IL-1 $\beta$  and IL-18 in patients with chronic gout**

**PhD student:** Rada Nikolaeva Gancheva, MD

**PhD supervisor:** prof. Zlatimir Kolarov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Clinic of Rheumatology

**RESULTS:** A total of 211 subjects were examined and divided into five groups: healthy controls – 20 males and 21 females, aged 55.29 $\pm$ 12.9; patients with osteoarthritis – 15 males and 20 females aged 61 $\pm$ 9.7; asymptomatic hyperuricemia – 23 males and 18 females aged 54.6 $\pm$ 15.6; gouty arthritis without tophi – 45 males and 7 females aged 55.9 $\pm$ 11.6 and gouty tophi – 41 males and 1 female aged 58.8 $\pm$ 11.4. RRI was significantly higher in gouty tophi in comparison with gouty arthritis without tophi ( $p=0.002$ ). In LVMi we observed a tendency of significance when we compared gouty tophi to gout without tophi ( $p=0.071$ ). In gouty tophi Em was significantly the lowest. Between the two gout groups there was no great difference in IMT ( $p=0.102$ ), but gouty tophi were with significantly higher CCARI ( $p=0.002$ ). In all gout patients IL-1 $\beta$  was undetectable. In the four groups of patients there was no great difference in the mean values of IL-18. The concentration of IL-1 $\beta$  and IL-18 did not correlate with ultrasonographic parameters and serum uric acid. We suggested that tophi increase CV risk and supposed that serum level of IL-1 $\beta$  and IL-18 could not reflect the severity of disease and CV risk in patients with gout.

**Scientific publications and presentations:**

- Gancheva R, Kundurdjiev A, Kundurzhiev T, et al. Ultrasonographic assessment of diastolic function of the left ventricle as an indicator of cardiovascular risk in patients with gout. 4<sup>th</sup> National Conference in Osteoporosis and Osteoarthritis, 11-13 December 2014, Plovdiv.

- Gancheva R, Kundurdjiev A, Ivanova M, et al. How the appearance of tophi changes ultrasonographic parameters independently associated with cardiovascular risk. 6th European Crystal Workshop, 5-6 March 2015, Paris, France, p. 14.

**Contract 12-D/2014 Research on Omentin and Copeptin as markers for early diagnosis of metabolic and pre-metabolic syndrome.**

**PhD student:** Daniela Georgieva Vasileva

**PhD supervisor:** Nikolay Runev, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Propedeutics Internal Medicine, Clinic of Cardiology

**RESULTS:** Despite that etiology of metabolic syndrome is yet unknown the clinician's attempts to set up an early diagnosis is important because early recognition of pathological constellation can prevent metabolic syndrome and its complications. In the current project we search for correlation between the values of copeptin and omentin values and the presence of premetabolic and metabolic syndrome. In the current study were included 3 groups of patients-healthy controls (n=24), patients with premetabolic syndrome (n=30) and patients with metabolic syndrome (30). In patients with premetabolic syndrome was found significantly lower fasting blood glucose levels in comparison with metabolic syndrome. There is correlation between WHR and the count of risk factors in the group of patients with metabolic syndrome. Patients with MS demonstrate significantly higher levels of BMI, abdominal obesity, as well as results of lipid profile, and blood pressure. We determine higher levels of omentin in the group of metabolic syndrome in comparison with healthy controls and MS. The received results shows difference between copeptin and omentin levels in premetabolic and healthy controls' groups, but without statistical significance. In both groups /PrMS and MS / predominate diastolic dysfunction. Our data is comparable to the worldwide results and announcements. These results confirm the established relation between levels of omentin and metabolic syndrome. As a conclusion both biomarkers can be used as a screen tools for metabolic disorders. Our results underline the necessity of future studies in the field of metabolism and CV complications.

**Contract 14-D/2014 Role of serum lipids for the viral kinetics, pathogenesis and treatment response in chronic HCV infection. Evaluation of the lipid profile along with clinical, imaging, laboratory, virological and histological methods for liver disease assessment**

**PhD student:** Ivan Tsvetanov Valkov, MD

**PhD supervisor:** Prof. Krasimir Antonov, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of gastroenterology, UMHAT “St. Ivan Rilski”

**RESULTS:** Lp(a) was negatively correlated to the presence of liver cirrhosis ( $r = -0.216$ ,  $p = 0.033$ ); stage of fibrosis ( $r = -0.239$ ,  $p = 0.045$ ); FIB-4 score ( $r = -0.294$ ,  $p = 0.003$ ); APRI score ( $r = -0.273$ ,  $p = 0.006$ ); GGT ( $r = -0.228$ ,  $p = 0.004$ ) in HCV genotype 1 infected patients. Nonresponders and relapsers to prior antiviral therapy had higher GGT ( $p = 0.037$ ) and lower Lp(a) ( $p = 0.010$ ). There was no statistically significant difference between genotypes 1 and 3 in mean Lp(a). Total cholesterol correlated negatively with liver fibrosis ( $r = -0.279$ ,  $p = 0.011$ ) and the presence of cirrhosis ( $r = -0.343$ ,  $p = 0.001$ ), as it was with LDL correlation to liver fibrosis

( $r = -0.308$ ,  $p = 0.005$ ) and cirrhosis ( $r = -0.343$ ,  $p = 0.001$ ). Total cholesterol and LDL correlated separately with the presence of liver steatosis ( $r = 0.265$ ,  $p = 0.005$ ;  $r = 0.257$ ,  $p = 0.006$ ). Triglycerides correlated positively with HCV RNA ( $r = 0.274$ ,  $p = 0.003$ ) the presence of liver cirrhosis ( $r = 0.207$ ,  $p = 0.032$ ). The presence of liver cirrhosis was associated with high viral load ( $p = 0.029$ ). Conclusions: Lp(a) is lower in advanced liver fibrosis and liver cirrhosis. There is a positive connection between serum triglycerides and VLDL, and the stage of liver fibrosis. Serum triglycerides are in a positive connection with viral load. Total cholesterol and LDL correspond with the presence of liver steatosis and tend to be diminished with the progression in stages of fibrosis and with the loss of hepatocytes.

**Contract Nr. 15-D/2014 Prevalence of vitamin D deficiency, metabolic syndrome and diabetes mellitus type 2 in COPD patients.**

**PhD student:** Evgeni Vitkov Mekov

**PhD supervisor:** Assoc. prof. Yanina Georgieva Slavova-Marinova, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Center of pulmonary diseases

**RESULTS:** The prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency and diabetes mellitus type 2 (DM) in COPD patients hospitalized for to exacerbation is high and that of metabolic syndrome (MS) - low. Vitamin D deficiency and insufficiency occurs more often in women. MS is also more common in women, while DM is more common in men, but in both cases the difference is not statistically significant. There is a correlation between the presence of DM and MS. Vitamin D status and vitamin D levels didn't show correlation with the presence of MS and DM. The number of fractures correlated with hypovitaminosis D. The presence of DM is associated with a higher number of severe exacerbations and longer hospital stay. Vitamin D deficiency is a risk factor for prolonged hospital stay, while MS is associated with a higher number of exacerbations. Reduced level of vitamin D and the presence of MS are associated with reduced quality of life as mMRC correlates better with the level of vitamin D, while the CAT questionnaire – with MS. The presence of DM does not affect the quality of life. Reduced level of vitamin D is associated with impaired lung function. The presence of MS or DM does not worsen lung function, but the unknown (untreated) DM is associated with reduced FVC.

**Scientific publications and presentations:**

- Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, et al. Vitamin D deficiency and insufficiency in hospitalized COPD patients. PLoS ONE 2015;10(6):e0129080.
- Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, et al. Metabolic syndrome in hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease. PeerJ 2015;3:e1068.

**Contract 19-D/2014 Investigation of activation and secretion of IL-10 in Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy donors after culturing with Glioblastoma multiforme cell cultures media.**

**PhD student:** Kalina Dinkova Tumangelova-Yuzeir

**PhD supervisor:** Assoc. prof. Dobroslav Kyurkchiev, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, University hospital “St. Ivan Rilski”

**RESULTS:** The aim of this study was to investigate *in vitro* some of the mechanisms which Glioblastoma multiforme (GBM) uses to suppress the immune system. For this purpose we

tested the presence of suppressing humoral factors secreted by cultured tumor cells. The data on the impact of factors secreted by cells of GBM on cells of the immune system is poorly studied. On the first stage of our study we selected healthy donors and isolated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). We found that after treatment with control media T-lymphocyte population from studied PBMCs is activated normally as the mean stimulation index was 26.53. Unlike them, however, T lymphocytes from PBMCs, cultured in a media of GBM cell cultures particularly lost their ability to be activated by PHA and the stimulation index (average 13.18) was significantly lower. When comparing the average stimulation index of T-lymphocytes in the group of PBMCs treated with control media and in the group of treated with the media from GBM cultured cells, we found a statistically significant difference ( $p = 0.007$ ). Our team couldn't find a differences between the levels of IL-10 in supernatants from the both described groups of PBMCs.

**Scientific publications and presentations:**

- Tumangelova-Yuzeir K, Ivanova-Todorova E, Velikova T et al. Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy humans, show a reduced ability to activation after culturing with medium from cell cultures derived from Glioblastoma multiforme, Yearbook of Bulgarian Association for Clinical Immunology 2014, 2015, p. 48-57
- Tumangelova-Yuzeir K, Ivanova-Todorova E, T Velikova et al. Peripheral blood mononuclear cells isolated from healthy humans, show a reduced ability to activate after culturing with medium from cell cultures derived from Glioblastoma multiforme, XI National Conference on Medical Biology, Plovdiv, 15-17 May 2015, p. 192

**Contract 20-D/2014 Role of mutations in mitochondrial DNA in the pathogenesis of nonsyndromic hearing loss associated with the use of aminoglycoside antibiotics**

**PhD student:** Iglia Petrova Stancheva

**PhD supervisor:** Prof. Diana Popova, MD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Ear, Nose and Troath Diseases

**RESULTS:** Aminoglycoside-induced hearing loss caused by mutations in mtDNA is described in various popilations since 1993. The aim of the present study is to define in the first time in Bulgaria the role and importance of mutations A1555G (MT-RNR1) and A7445G (MT-ST1) in the pathogenesis of nonsyndromic hearing loss in patients receiving aminoglycoside antibiotics. We performed genetic testing on 48 patients with different levels of hearing damage, according to preliminary selected criteria. Firstly wesearchedfor mutations and/or polymorphisms in GJB2, because in previous studies we found they explain about 1/3 of the cases with unknown cause of auditory damage. In 16.7% (8/48) we found the following genotypes: c.35delG/WT (6,3%), p.W24X/p.W24X (4,2%), c.35delG/p.W24X (2,1%), p.Val27Ile/p.W24X/p.Glu114Gly (2,1%). Subsequently, all patients were evaluated for mitochondrial mutations A1555G and A7445G. We were not observed any of them. We investgsted a new, unpublished until now synonymous mutation at codon 404 (p.Thr404Thr), leading to the nucleotide substitution of C by T mother and daughter. It does not explain hearing loss. The results show the importance of connexin 26 in genetic hearing damage. The lack of identified mutations in mitochondrial genes MT-RNR1 and MT-ST1 suggests that they do not play a significant role in hearing loss in the study population. Demand should continue to study other genes responsible for hearing damage.

**Scientific publications and presentations:**

- Popov T, Stancheva I, Kachakova D, et al. Auditory Outcome After Cochlear Implantation in Patients With Congenital Nonsyndromic Hearing Loss: Influence of the GJB2 Status, *Otology & Neurotology* 2014;35(8):1361-6.
- Stancheva I, Popova D, Varbanova S, et al. Role of mutations in mtDNA of hearing damage after taking aminoglycoside antibiotics. Spring Conference "Current concepts in the treatment of ear, nose and throat." Plovdiv. 27-29 Mar 2015

**Contract 21-D/2014 Neurocognitive impairment in bipolar patients and genetic markers of 5HTTLPR, FKPB5, 5HTR2A, NR3C1, MAOA -uVNTR genes**

**PhD student,** Mladen Germanov Penchev

**PhD supervisor:** Prof. Vihra Milanova, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dep. of Psychiatry

**RESULTS:** In the current study 122 patients with bipolar disorder were genotyped for polymorphisms in FKPB5, 5HTR2A, NGF genes. Patients were cognitively tested and results were compared to the results of 120 controls. Patients performed with poorer scores at all of the tests (TMT – A,  $p < 0,000$ ; TMT – B,  $p < 0,000$ ; DST,  $p < 0,000$ ; VFT,  $p < 0,000$ ). We established some significant associations between genotypes and performance of the patients at cognitive tests and the most significant appeared to be HTR2A\_rs6311 polymorphism (respectively  $p = 0,045$  for TMT-A,  $p = 0,049$  for TMT-B and  $p = 0,008$  for VF). We established that later onset, longer duration of illness and psychotic symptoms are associated with poorer score at tests. Attempting to precise the impact of different variables we made regression analysis to find the extent of influence of the relevant factor. There are statistical associations that we found: between age at the onset and performance at cognitive tests (TMT-A,  $p = 0,026$ ; TMT-B,  $p < 0,000$ ; DST,  $p = 0,003$ ; VFT,  $p = 0,1$ ) and between years spent with disease and performance at cognitive tests (TMT-A,  $p = 0,023$ ; TMT-B,  $p < 0,000$ ; DST,  $p = 0,004$ ; VFT,  $p = 0,05$ ). The influence of the clinical status also was accounted (TMT-A,  $p = 0,035$ ; TMT-B,  $p = 0,004$ ; DST,  $p = 0,017$ ; VFT,  $p = 0,52$ ). Data from regression analysis showed that years spent with disease, age at the onset and clinical status affect significantly cognitive functions and these factor may be used as a predictor for cognitive impairments.

**Contract 27-D/2014 Serum Level of Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes and Latent Autoimmune Diabetes of the Adults and their Relation to Glycaemic Control and Concomitant Chronic Complications in Bulgarian Population.**

**PhD student:** Emanuela Tsvetkova Zaharieva

**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Endocrinology

**RESULTS:** The project included 51 patients with diabetes, 15 with prediabetes, 14 controls. We used ELISA to analyse antiGAD65 and antiIA2 antibodies and TNF alfa and IL6 level. In 15,7% of the diabetes patients ( $n = 8$ ) we found positive antiGAD65 antibodies, in 5,9% ( $n = 3$ ) both antibodies were positive. Patients with latent autoimmune diabetes of the adults (LADA) have a better antropometric signs, lipide profile and better control of the systolic blood pressure. HbA1c is lower too (7,5% vs 9,2%,  $p = 0,014$ ) with 87,5% of LADA patients being

treated with insulin already. Only 20,9% of patients with negative antibodies received insulin with comparable duration of the disease (2,9vs4,2y). People with autoimmune reaction have lower IL6 (1,84 vs 3,84pg/ml, p=0,04) and it does not correlate with glycemia, only with triglycerides. Concomitant chronic complications do not differ statistically in both groups of diabetic patients. IL6 and TNF alfa level is not changed in their presence and do not relate to glomerular filtration rate. Positive antibodies however associate with better renal function. Prediabetes patients are antibodies negative. Their cytokine level is not altered compared to diabetes and controls, but TNF alfa correlates negatively with BMI, triglycerides and VLDL cholesterol.

### **Contract 28-D/2014 Creation and storage of tissue samples for expanding the breast cancer tissue biobank**

**PhD student:** Mariela Borisova Vasileva MD

**PhD supervisor:** Prof. George Todorov MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Surgery

**RESULTS:** The biobank consist 50 samples of tumor tissue and 49 peripheral blood samples. The biobank register consist information for 49 patients (one with bilateral synchronous cancer) who filled our eligibility criteria for involvement in to the project. They are from 33 to 84 years old at the time of diagnosis (mean 58,5 years). In the bank are included 47 patients with primary carcinoma and 2 with recurrent. 11 patients of all filled the criteria for hereditary cancer. Out of 49 patients 14 had multiple carcinoma. The histologic examination revealed 41 of tumors to be invasive ductal carcinomas, 5 invasive lobular carcinomas and 2 pure in situ carcinomas. 6 patients of all were with triple negative subtype of breast cancer and in 10 patients had both ER and PR negative. The results from the questionnaire showed that the mean BMI was 27,17kg/m<sup>2</sup>. Out of 48 patients, who filled correctly the questionnaire 6 didn't have children and another 7 of all did not breastfeed a single month. The average age of menarche was 13,4 years and of menopause was 50,1 years. From 44 patients answered that question 14 were smokers and 30 were non-smokers. At the date of the last follow up (1.05.2015r.) 4 of our patients have died. Two of them had triple negative tumours and two of them had metastases at the time of initial diagnosis.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Vasileva M, Sedloev T, Angelov K, et al. Annual report of Medical University of Sofia Breast Cance Biobank. 5thTurkish - Bulgarian Breast & Endocrine Surgery Club Meeting Abstracts and papers 27/28 May 2015, Varna Bulgaria, p 22-26

### **Contract 35-D/2013 Determination of atopic status and exhaled breath temperature as a diagnostic tools for monitoring the airway inflammation and asthma control in children**

**PhD student:** Snezhina Mihaylova Lazova, MD

**PhD supervisor:** Prof. Penka Perenovska, MD, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Dept. of Paediatrics

**RESULTS:** The most common risk for exacerbation / hospitalization allergens in children with asthma are D. pteronyssimus, grass pollen, followed by D. farinae, Alternariq alt. and cat. In children with allergic rhinitis (AR) and positive specific IgE to dust mites and Alternariq alt. was found a higher percentage of nasal eosinophils compared to children without symptoms of AR and negative specific IgE. The presence of allergy to tree pollen and

house dust mites (birch, *D. pteronyssimus* and *D. farinae*) is a risk factor for more difficult to achieve asthma control. Children with symptoms of AR show with high probability a positive result from Phadiatop and positive IgE against *D. pteronyssimus*, greater probability to get exacerbations on contact with an allergen and often have limited physical activity. It was found a higher incidence of positive IgE against potato and carrot in children with positive aeroallergens, probably due to cross-reactivity with grass / tree pollen. Precise detection of the allergen could help not only in maintaining better control in SA patients using avoidance technique, but also in designing a recommendation plan in patients who are unable to be tested. Children with poor control of asthma and those with AP tend to have a higher value of EBT compared to well-controlled patients and those without symptoms of AR.

#### Scientific publications and presentations:

- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Severe asthma and allergy– allergen significance, 2014, *Science Pulomology*, 9, 2014, N4
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Severe asthma in childhood and allergens Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences 2015;3(3):092-5
- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Атопичен статус и риск за екзацербация при деца с бронхиална астма. *Science Pulomology* 2015;4.
- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al Atopic status ans bronchial sthma in children Health navigator – Paediatrics, 2015;3, year 1.
- Petrova G, Lazova S, Papochieva V et al. Allergic rhinitis prevalence and impact on asthma control therapy in children. *Allergy* 2014;69,S99,546
- Petrova G, Lazova S, V Papochieva et al. Allergic rhinitis does it have an impact on controller asthma therapy choice *Eur Respir J* 2014; 44: Suppl. 58,1168
- Lazova S, G Petrova, D Miteva, et al. Small airway indices, bronchodilator response and asthma control in children, *Eur Respir J* 2014; 44: Suppl. 58, 3516 1936
- Lazova S, Petrova G, Miteva, D et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens, *Clin and Transl Allergy* 2015; Suppl. ISSN 2045-7022
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Bronchodilator response and small airway indices in asthmatic chidren, Jubilee Scientific Conference "135 years Hospital Alexandrovska" Oct 31, 2014, Sofia, University Hospital "Aleksandrovska"
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Atopic statis and exacerbation risk in children with bronchial asthma , XIIIth National Paediatric Congress with international participation 28 - 31 May 2015, Nesebar, Bulgaria
- Lazova S, Petrova P, Miteva D et al. Atopic status ans bronchial asthma in children XVI-th National Conference for GPs and paediatricians with international participation 9 to 11 Oct 2015 Pravets
- Lazova S, Perenovska P, Petrova G et al. Bronchodilator response and small airway indices in asthmatic children, Pediatric Allergy and Asthma Meeting (PAAM 2013), 17-19 Oct 2013, Athens, Greece
- Petrova G, Lazova S, Papochieva V et al. Allergic rhinitis prevalence and impact on asthma control therapy in children, The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Annual Congress 2014, Copenhagen, 7–11 Jun
- Petrova G, Lazova S, V Papochieva et al. Allergic rhinitis does it have an impact on controller asthma therapy choice, European Respiratory Society International Congress 2014, Munich, Germany, 6-10 Sep
- Lazova S, G Petrova, D Miteva et al. Small airway indices, bronchodilator response and asthma control in children, European Respiratory Society International Congress 6-10 Sep 2014, Munich, Germany

- Lazova S, Petrova G, Miteva D et al. Severe asthma and allergy – should we look for the allergens, 2nd International Severe Asthma Forum (ISAF 2014), 13-15 Nov 2014, Athens, Greece
- Lazova S, Petrova G, Matovska L, et al. Small airway indices in asthmatic children , poster presentation, 4-th Meeting of three respiratory societies: Slovenia, Croatia, Hungary, Bled. Slovenia, May 22-23, 2015
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Specific IgE and asthma in children, poster presentation №856, EAACI Annual Congress, 6-10 Jun 2015, Barcelona, Spain
- Lazova S, Petrova G, Miteva D, et al. Asthma control questionnaire and specific IgE in children , Paediatric Allergy and Asthma Meeting, 15-17 Oct 2015, Berlin, Germany

## MEDICO-SOCIAL AREA

### **Contract 26-D/2014 Pediatric Type 1 Diabetes Mellitus Treatment-social and economic aspects**

**PhD student,** Elina Svilenova Petkova

**PhD supervisor:** Prof. Valentina Petkova, PhD, MPharm, MPH

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Social Pharmacy

**RESULTS:** The received results have direct practical application to the treatment of diabetes type1 with children thus leading to the improvement of the therapy and the avoidance of the diabetes complications, which will guarantee good-quality life to the patients. The study results, together with the manual “Diabetic Nourishment for Children”, will help the children themselves, as well as their parents, with advice on exercise, hypoglycemia and hyperglycemia and with recommendations concerning the blood vessel complications appearing at a later stage. The pharmacoeconomic analysis of the three ways of treatment of diabetes type 1 with children- continuous subcutaneous insulin infusion(CSII), treatment multiple daily analogues injections and on human insulin treatment pointed to the best cost-effectiveness therapy. The children with CSII systems showed HbA1c levels close to the referential levels as well as greater treatment flexibility. CSII systems, however, are not a standard treatment for the Bulgarian children. They are not included in the Positive list for reimbursement, so their usage is limited. The study results can serve as an evidence before NHIF that CSII systems are a cost-effectiveness therapy so they can be included in the Positive list.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Petkova E, Petkova V, Mitov K et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections for children treatment-pharmacoeconomic analysis, WJPR, 2015;4(4):01-11.
- Yordanova S, Petkova V, Petrova G, et al. Comparison of health-related quality-of-life measurement instruments in diabetic patients, Biotechnology&Biotechnological Equipment, 2014;28(4):769-74.
- Petkova E, Petkova V, Petrova G et all, Assessment of effect of continuous subcutaneous insulin infusion treatment, insulin analog and human insulin of children



with diabetes, ISPOR 17th Annual European Congress, Amsterdam, The Netherlands, November 8-12, 2014, A 355

- Petkova E, Petkova V, Dimitrova M et al. Children with diabetes. The treatment and effect of continuous insulin infusion. International scientific and practical internet conference “Social pharmacy: state, problems and perspectives”. Kharkiv, Ukraine, 17-20 Mar 2014, 73-5

## GRANT YOUNG SCIENTISTS 2015

### MEDICO-BIOLOGICAL AREA

#### **Contract 3-D/2015 Phytochemical fractionation и characterisation of biologically active compounds from Bulgarian species from genus *Astragalus* L. – *A. glycyphyllos* and *A. glycyphylloides***

**PhD student:** Aleksandar Mihaylov Shkondrov

**PhD supervisor:** Prof. Ilina Krasteva, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmacognosy, 2 Dunav Str., 1000 Sofia

**RESULTS:** Phytochemical investigation of the overground parts of two species – *A. glycyphylloides* and *A. glycyphyllos* (Fabaceae) distributed in Bulgarian Flora is performed. Pure compounds – flavonoids and saponins, were isolated from extracts with different polarity – ethylacetate and n-butanol. This was done applying different chromatographic methods, i.e. column chromatography, preparative thin-layer chromatography, semi-preparative HPLC. The structural elucidation of the isolated compounds is ongoing. The flavonoid kaempferol-3-*O*-[2-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl-6-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside (Camelliaside A) was isolated for the first time from representative of the Fabaceae family. This adds new information on the chemical composition of the examined taxa.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Krasteva I, Shkondrov A, Ionkova I, et al. Advances in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of Bulgarian *Astragalus* species. *Phytochem Rev.* 2016;15(4)

#### **Contract 6-D/2015 Comparative evaluation of the antioxidant and cytotoxic effect of new 4-methoxy aryl hydrazones in in vitro model systems**

**PhD student:** Nadya Georgieva Hristova-Avakumova

**PhD supervisor:** Assoc. prof. Vera Hadjimitova, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of medical physics and biophysics, Bulgaria

**RESULTS:** The aim is to determine the impact of three new 4-methoxy arylhydrazones in *in vitro* model systems for free radical processes (including cell lines). The tested compounds revealed high antioxidant effectiveness. In the ABTS system the derivatives have higher activity than Trolox. Comparing with results for 3-methoxy derivatives from previous investigations we revealed that the change in the position of the methoxy group from position

3<sup>th</sup> to position 4<sup>th</sup> in the aldehyde part of the molecule has positive effect on the studied properties. The data from lecithin peroxidation methods disclosed better antioxidant properties of the derivatives in the system where there is no expectation for chelation activity due to use of Fe-EDTA complex for initiation. Comparing the results from the two deoxyrobse systems, with the ones of classical antioxidants, hydroxyl radical scavengers and previous investigations we made the assumption that the 4-methoxy derivatives have similar mechanism of action. The MTT test revealed better cytotoxic effect on the neoplastic cell lines. The incorporation of hydroxyl group in the hydrazid part of the molecule (4mShBH) which relates to better antioxidant effect in most of the studied systems, requires higher IC<sub>50</sub> values in all cytotoxic experiments.

#### Scientific publications and presentations:

- Hristova-Avakumova N, Yoncheva K, Mladenova B, et al. Retention of antioxidant activity of hydrazones by their encapsulation in chitosan-alginate nanoparticles. 17th International Workshop on Nanoscience and Nanotechnology, Sofia 27-28 Nov 2015
- Hristova-Avakumova N, Mladenova B, Hadjimitova V. Antioxidant activity of new designed 4-methoxy derivatives. Protection effect against lipid peroxidation in *in vitro* model systems. 3rd national congress of physical sciences, Sofia, 29 Sep–2 Oct 2016

#### **Contract 7-D/2015 Acylphloroglucinols from the Bulgarian species *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson - isolation, structural characterization and examining for cytotoxic and antineoplastic activity**

**PhD student:** Yana Emilova Ilieva

**PhD supervisor:**

- Assoc. Prof. Paraskev Nedyalkov, PhD
- Prof. George Momekov, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy Dept. of Pharmacognosy

**RESULTS:** A phytochemical research of the dichloromethane extract of the species St John's wort *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson was carried out. As a result four new natural compounds were isolated and identified by means of spectral techniques (UV, NMR, MS). The compound 5-hydroxy-2,2,4,6-tetrakis(3-methylbut-2-en-1-yl)-6-(2-methylpropanoyl)cyclohex-4-ene-1,3-dione named hycerforin. The substance (2S,5R)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-5,7,7-tris(3-methylbut-2-en-1-yl)-5-(2-methylpropanoyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1-benzofuran-4,6-dione was named furohycerforin A. The next compound (2R,5R)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-7,7-bis(3-methylbut-2-en-1-yl)-5-(3-methylbutyl)-5-(2-methylpropanoyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1-benzofuran-4,6-dione was named furohycerforin B. And (2R,7S)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-5,5,7-tris(3-methylbut-2-en-1-yl)-7-(2-methylpropanoyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1-benzofuran-4,6-dione was given the name of furohycerforin C. The cytotoxic activity of these substances was tested on a panel of human tumor cell lines (SKW-3, K-562, MDA-MB, HL-60, HL-60/DOX) and the non-tumorigenic cell line HEK-293. It was established that the IC<sub>50</sub> value was in the range of 2.92 – 26.64 μM on the tumor cell lines and in the range of 31.11 - 59.67 μM on the non-tumorigenic cell line HEK-293. Therefore the isolated compounds exert significant cytotoxic activity at low micromolar values. It turned out that the compound hycerforin is the main cytotoxic principle from *Hypericum cerastioides* (Spach) N. Robson. It has the potential to be used as a lead structure in developing antitumor therapeutic agents. The preliminary pharmacodynamics research of that compound showed that its cytotoxic activity is mediated by induction of programmed cell death through the internal signal pathway.

**Scientific publications and presentations:**

- Ilieva Y, Nedialkov P, Momekov G. A cytotoxic acylphloroglucinol from *Hypericum cerastoides* (Spach) N. Robson. 2nd International Conference on Natural Products Utilization: from Plant to Pharmacy Shelf: ICNPU 2015. Plovdiv, Bulgaria. 14-17 Oct, 2015.
- Ilieva Y, Nedialkov P, Momekov G. Novel acylphloroglucinols from *Hypericum cerastoides* (Spach) N. Robson. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries: 9th CMAPSEEC. Plovdiv, Bulgaria 26-29 May, 2016.

**Contract 11-D/2015 Effects of kaempferol and kaempferol-3-glucoside on keratinocyte proliferation and wound healing**

**PhD student:** Vesela Valentinova Lozanova

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Ivanov Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** The aim of the present study was to investigate the effects of kaempferol and kaempferol-3-glucoside on normal human keratinocytes, with focus on cell proliferation and programmed cell death. It was found that neither kaempferol, nor kaempferol-3-glucoside at concentration ranging from 0 to 50 µg/mL, influenced cell viability as determined by two independent experiments. Those flavonoids at a concentration of 10 µg/mL did not alternate the intracellular levels of ROS as well. Using immunocytochemistry and Western blot, were evaluated the effects of kaempferol and kaempferol-3-glucoside on the levels and the activity of different intracellular proteins, involved in signal transduction. None of the tested compounds had changed the levels, as well as the activity, of the kinases MEK-1/2, p38 MAPK and ERK-1/2, which are key components of the MAPK cascade that plays a role in the control of apoptosis, proliferation and differentiation. Akt kinase (termed also protein kinase B), which is a major component of the PI3K signaling pathway, was not influenced by kaempferol and kaempferol-3-glucoside as well. The tested compounds had no effect also on the expression and activity of the epidermal growth factor receptor (EGFR), mediating cellular response to various extracellular signals, namely growth factors and cytokines. The tested concentration of both kaempferol and kaempferol-3-glucoside did not influence keratinocyte mobility and wound healing, as evaluated by a scratch assay. Short-term treatment of normal human keratinocytes with relatively low concentrations of the flavonoids kaempferol and kaempferol-3-glucoside did not lead to any statistically significant alteration of cellular metabolism, evaluated based on analysis of key cellular proteins involved in the major signaling cascades, as well as the viability of cells and their morphology.

**Contract 15-D/2015 Expression analysis of miRNAs as potential molecular markers for early diagnosis and prognosis of laryngeal cancer**

**PhD student:** Silva Garo Giragosyan

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, and Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of medicine, Dept. of Medical chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) is one of the most common cancers of the head and neck. LSCC is characterized with a high frequency in Bulgaria and Europe. No change was observed in the survival, although

contemporary approaches to treatment. Therefore it is necessary to establish biomarkers that successfully applied in clinical and medical-biological practice in diagnosis and therapy of patients with LSCC. MiRNAs are small non-coding sequences that are actively involved in the regulation of cellular processes. In the present study were investigated two miRNAs: miR-155 and miR-210 in 35 patients with cancer of the larynx. We found significant upregulated expression of both miRNAs in laryngeal tumor tissue compared to the corresponding laryngeal normal tissue: miR-155 ( $p=0.0018$ ) and miR-210 ( $p<0.001$ ). Analysis of ROC curve showed that miR-155 can distinguish tumor from normal laryngeal tissue with  $AUC = 0.679$ ,  $p = 0.007$  and miR-210 can serve as a marker for discrimination of tumor from normal laryngeal tissue with  $AUC = 0.831$ ,  $p<0.0001$ , making it a good marker to distinguish tumor from normal tissue in clinical and medical-biological practice. In addition we established positive correlation between studied miR-210 and HIF1 $\alpha$  ( $p=0.002$ ) and VEGFA (0.003). From the results we can conclude that miR-155 and miR-210 have a role in tumor progression and they participate in the processes of cell regulation in hypoxia and their potential use in medical practice. It is necessary to validate the results of the studied samples in an enlarged group to confirm the initial results.

**Scientific publications and presentations:**

- Giragosyan S, Stancheva G, Popov T, et al. Expression of hypoxia related miRNAs in laryngeal squamous cell carcinoma. EACR24 congress, Manchester, UK, 9-12 July, 2016

**Contract 16-D/2015 Analysis of the germline mutations in a panel of 94 tumor-associated genes using next generation sequencing in familial breast cancer Bulgarian patients**

**PhD student:** Daniela Rosenova Pencheva

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, and Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Breast cancer is the most commonly diagnosed malignancy and the most frequent cause of death in women due to cancer. About 5% to 10% of breast cancers are thought to be hereditary. Pathogenic mutations in BRCA1/2 genes across breast cancer patients estimates are at around 15-20%. Other less common genes have also been associated with an increased risk of developing breast cancer, such as mutations in the TP53, PTEN, RAD51C, CDH1, ATM, CHEK2 or PALB2 tumor suppression genes. NGS based sequencing panels allow fast and simultaneous screening of large number of high- and low-penetrance susceptibility genes in these patients. All of the analyzed patients were prescreened by direct sequencing and MLPA analysis, and tested negative for pathogenic mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. Next generation target resequencing using a panel of 94 cancer related genes (Illumina TruSight cancer panel) was performed to explore the hereditary component beyond BRCA1/2 genes in these patients. Pathogenic and likely pathogenic mutations were as follow: 1 new frameshift mutation in ATM gene; 6 new likely pathogenic missense mutations in PTCH1, RAD51C, MET, MUTYH, ATM and CHEK2; 7 previously reported pathogenic missense variants in WRN, ERCC4, PALB2, PRF1, RET, SDHB and AIP genes.

**Scientific publications and presentations:**

- Dacheva D, Dodova R, Mitkova A et al. “Exploration of the clinical utility of next generation sequencing with TruSight cancer panel for BRCA negative Hereditary

Breast and Ovarian Cancer patients”. Poster presentation; “ San Antonio Breast Cancer Symposium“, San Antonio, Texas, USA, December 8th-12th

### **Contract 17-D/2015 Implementation of next generation sequencing for mutation detection in patients with congenital anomalies of kidney and urinary tract**

**PhD student:** Valentin Martinov Penchev

**PhD supervisor:** Acad. Prof. Dr. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center

**RESULTS:** Renal cystic disease accounts for the majority of the developmental anomalies of the kidney and the urinary tract observed during the prenatal and postnatal period. These cases are often associated with chronic kidney disease (CKD) or end-stage renal failure (ESRD), thus leading to significant morbidity and mortality. Thanks to the extensive genetic studies carried out during the last few years in diverse populations and ethnic groups, the role of multiple genes for the pathogenesis of these disorders has been demonstrated. So far more than 70 genes have been found to contribute to the pathology of renal cystic diseases. The majority of them code for proteins with essential role for the function and structure of the cilia, which places a large proportion of the renal cystic diseases among the ciliopathies - a heterogeneous group of degenerative developmental disorders characterized with defects in the cilium-centrosome complex. Another large group are genes coding for transcription factors with key role for cell differentiation during embryonic development. The results revealed the heterogeneity of the congenital anomalies of kidney and urinary tract and especially in the cases of the so called complex phenotypes. The genetic defects detected in NPHP3, NPHP4 and NIPBL genes demonstrate the benefit of the implementation of high throughput molecular genetics techniques like NGS. The results will help for better understanding, diagnosis and consultation of the patients and their families.

### **Contract 19-D/2015 Development of a new personal dosimeter for eye lens dose measurement in interventional radiology**

**PhD student:** Anna Zagorska

**PhD supervisor:** Prof. Boris Tenchov

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of medicine, Dept. of Medical physics and biophysics.

**RESULTS:** This study presents the new TLD holder „XRyM“ to be used for eye lens dosimetry in interventional radiology and cardiology. Within the Project 19D/2015 of the Medical University, Sofia, a new ergonomic dosimeter with thermoluminescent detectors (TLD) was designed, produced and calibrated to be used for correct measurement of Hp(3) in photon fields. The energy response of the dosimeter was reduced in order to increase the measurement accuracy. Investigations for filter type and filter thickness were performed in the Secondary Standard Dosimetry Laboratory (SSDL), Sofia, National Centre of Radiobiology and Radiation Protection, with Standard Narrow energy spectra. The new holder of dimensions 40 x 20 x 4 mm<sup>3</sup> was constructed to contain two MCP-N (LiF:Mg,Cu,P) detectors, located under two semi-spheres, made of aluminum of 1.2 mm thickness and polymethyl-metacrilat of 1 mm thickness. The energy dependence of the response of the TLD was found to be within  $\pm(15\div 25)$  % for PMMA and up to -20 % for Al filters. The energy compensation method was applied and the weighted response of the detectors was calculated.

The results showed  $\pm 10\%$  energy dependence of the new dosimeter in the energy range between 30 and 100 keV.

**Scientific publications and presentations:**

- Zagorska A, Tsrunchev Ts, Buchacliev Z, et al. Development of a new TLD holder for eye lens dosimetry in interventional radiology, NMPEC2016, Sofia, Bulgaria 3-5.11.2016
- Zagorska A, Tsrunchev Ts, et al. Development of a new TLD holder for eye lens dosimetry in interventional radiology, NMPEC2016, Sofia, Bulgaria 3-5.11.2016

**Contract 20-D/2015 Role of vitamin D in the development of collagen-induced rheumatoid arthritis**

**PhD student:** Lyubomir Trifonov Marinov

**PhD supervisor:** Prof. Nikolai Danchev MD, PhD and Assoc. Prof. Irina Nikolova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Pharmacy Dept. of Pharmacology, Pharmacotherapy and Toxicology

**RESULTS:** Two hundred mice (100 male and 100 female) were used in the experiment with collagen-induced arthritis. Experimental arthritis was induced by injection of collagen type 2CII and CFA, in the form of an emulsion. Each mouse was injected with 50  $\mu$ l of emulsion. The emulsion was injected intradermally at 1.5 cm distal to the base of the tail of the mouse. Additional immunization was carried out on the 21st day of the initial immunization. A total of 86 mice developed arthritis (68 male and 18 female). Statistically significant ( $p < 0.01$ ) less arthritic manifestations were observed in females compared to males. The severity of manifestations in females was significantly less compared to males. Inflammation occurred in only 3 females out of 20 (induced arthritis without treatment, 15%) compared to 100% occurring in males (induced arthritis without treatment). Vitamin D has a significant role in normal cell cycle, immunity and inflammation. Vitamin D has no effect on the progression of collagen-induced arthritis, but the number of joints affected and severity of involvement is significantly lower in the groups pre-treated (2 weeks before the induction of arthritis). The data demonstrate that pretreatment with 80IU vitamin D has a positive effect on development of inflammation as rheumatoid arthritis. Methotrexate, Leflunomide and Etanercept induce statistically significant ( $p < 0.05$ ) decreased inflammatory changes and the effect was preserved up to 60 days after treatment of animals. Methylprednisolone reduced inflammation statistically significant ( $p < 0.01$ ) compared to etoricoxib and diclofenac. Etoricoxib and diclofenac decrease in comparable degree inflammatory changes with no statistically significant difference between them.

**Scientific publications and presentations:**

- Marinov L, I Nikolova, N Danchev. The role of vitamin D in collagen-induced arthritis in mice. VI<sup>th</sup> Congress of Pharmacy with International Participation Oct 13–16, 2016 Sandanski, Bulgaria
- Marinov L, Nikolova I, Danchev N. The Effect of Etanercept in Collagen-Induced Arthritis in Mice. National PhD Conference on Biology, 1.11.2016, Plovdiv, Bulgaria
- Trendafilova I, M Popova, A Szegedi, et al. Design of mesoporous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MS nanoparticles as drug delivery platform of prednisolone. International Conference On Nanomedicine And Nanobiotechnology (ICONAN) 28-30.09.2016 Paris, France
- Trendafilova I, M Popova, A Szegedi, et al. Prednisolone loaded mesoporous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MS nanoparticles 18th International Workshop on Nanoscience and Nanotechnology, NANO 2016, 18 - 19 Nov 2016

**Contract 23-D/2015 Validation of potentially pathogenic chromosomal microaberrations, found in patients with epilepsy and intellectual disability using array comparative genomic hybridization assay****PhD student:** Valentina Lyubenova Peycheva**PhD supervisor:**

- Acad. prof. Vanyo Mitev
- Assoc. prof. Radka Kaneva

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, Zdrave 2 str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Complex epileptic syndromes are multifactorial or autosomal dominant disorders, in which the epileptic seizures are present in a combination with intellectual disability, autism spectrum disorders, general and facial dysmorphism, as well as delayed or absent speech. A great number of them are due to unbalanced chromosome aberrations-deletions and/or duplications, affecting variable sizes of genomic DNA. In the present study, we performed confirmatory quantitative real time PCR (qPCR) analysis of 14 microabberations using aCGH assay found in 25 patients with complex epileptic syndromes. qPCR analysis confirmed 7 microdeletions in 6 patients from our cohort, located on chromosome regions 1p36.33, 16p13.3, 6p25.1, 7p22.3, 3p21.33, 1p34.2 and 10q21.3. Among them, one deletion in 1p34.2 confirmed the suspected diagnosis, two other deletions were found to be the likely genetic cause of the presented phenotype. The third aberration is hypothesized to be associated with novel microdeletion syndrome. The latter three, affecting different genes with role in neurodevelopment, might be responsible partly for the presented clinical phenotypes in the patients, in which they were found. However, further studies are needed to elucidate their effect through functional analysis, which will clarify their pathogenicity and genotype-phenotype correlations. Moreover, as a next step it is necessary to be performed target new generation sequencing in order to find pathogenic point variants in additional genes with role in neurodevelopment. These potential defects will clarify the genetic causes for the complex phenotype, observed in our patients. This will improve subsequent genetic counseling and will increase the possibility for early diagnostics. In addition, qPCR analysis has shown that is accurate, rapid, reliable, and inexpensive technique for confirming copy number changes and is applicable as routine diagnostic tool in the clinical practice.

**Scientific publications and presentations:**

- Ivanova N, V Peycheva, K Kamenarova, et al. Molecular genetic analysis of patients with GLUT1 deficiency syndrome (GLUT1-DS). 17<sup>th</sup> national conference of GP and pediatricians with international attendance, May 20-22, Sunny Beach, Bulgaria
- Peycheva V, N Ivanova, G Maksimov, et al. 7p22.3 microdeletion and 6q26 microduplication found in Bulgarian patients with complex epileptic syndromes” 12th European Congress on Epileptology, September 11-15, Prague 2016

**Contract 24-D/2015 Association study of polymorphisms in genes *COMT*, *MTHFR*, *MAO* in Bulgarian patients with Alzheimer disease and Parkinson disease****PhD student:** Kalina Ionkova Mihova**PhD supervisor:** Acad. Prof Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc and Prof. Latchezar Traykov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD) are the most common neurodegenerative diseases of great social and economic significance. Globally, 6-8% suffer from AD and 1-2% suffer by PD from the population over 65 years. Number of neuropsychiatric symptoms could appear during disease progression or due to the treatment. In the present study 140 patients with Parkinson's disease, 200 patients with Alzheimer's disease and 100 healthy control individuals were included. TaqMan method was used for genotyping selected polymorphisms in genes COMT (rs4680), MTHFR (rs1801133), MAO (rs1799836). The present study showed statistically significant association of rs1801133 in MTHFR with Alzheimer's disease. Carriage of the rare allele T is more common in the control subjects, compared affected, meaning that carriage of allele T ( $P = 0.018$ ) is associated with a lower risk ( $OR = 0.6611$ ) for disease development. No significant association of variants in genes COMT (rs4680), MAO (rs1799836) was observed in patients with AD and PD. Association was not detected in patients with PD for MTHFR (rs1801133). This may be due to the difference in Bulgarian population, compared to the European or the limited power of the study due to the small sample size. Finding newly associated PD and AD markers could help early diagnostics and treatment, clarification of genotype-phenotype correlations.

**Scientific publications and presentations:**

- Mihova K, S Mehrabian, R Pavlova, et al. Association study of MAOB and COMT polymorphisms in Bulgarian patients with Parkinson disease, The European Human Genetics Conference, 21-24 May, 2016, Barcelona, Spain / vol.24, Supplement 1, E-P09.30, p.656

**Contract 25-D/2015 Effects of SSRI on neuroinflammation in neonatal model of epilepsy**

**PhD student:** Evgenii Yriev Haritov

**PhD supervisor:** Prof. dr. Nadka Boyadjieva, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of pharmacology and toxicology

**RESULTS:** This study aimed to determine the effects of Escitalopram on the severity of epileptogenic activity and levels of proinflammatory cytokines, IL-1beta and TNF-alfa, in neonatal LPS-model of inflammation. The results of the study showed that: Administered in the postnatal period of life, LPS decrease seizure threshold in rats subject of Pilocarpine model of depression later in life. Administration of Escitalopram in the period after LPS application and before Pilocarpine, leads to statistically significant reduction of scores for epileptogenic activity (Racine scale and number of WDS). It was shown, that proinflammatory cytokines IL-1beta and TNF-alfa are involved in the LPS-induced reduction of seizure threshold. Importantly, it was demonstrated, that Escitalopram reduced the plasma levels of both cytokines and that correlates with higher antiepileptic effect.

In conclusion, present results indicate that Escitalopram exerts its antiepileptic effect by reduction of proinflammatory cytokine levels. This provides rationale for suggestion of a shared pathogenic mechanism between depression and epilepsy, whilst showing the potential use of SSRI as a antidepressants and antiepileptic drugs.

**Scientific publications and presentations:**



- Haritov E, Angeleska E, Boyadjieva N. Epilepsy and depression: Comorbidity and biological basis. *Lekarska praktika*, 2015;2:12-21.
- Haritov E, Angeleska E, Boyadjieva N. Neurobiological effects of early-life stress on the epileptogenesis. *Lekarska praktika*, 2015;1:3-11.
- Haritov E, Angeleska E, Boyadjieva N. The role of immunity and neuroinflammation in the pathogenesis of epilepsy. *Bulgarian Medical Journal*, 2015;1:28-33.

## MEDICO-CLINICAL AREA

### **Contract 1-D/2015 Treatment of pancreatic exocrine insufficiency - monitoring and optimizing**

**PhD student:** Mila Dimitrova Kovacheva-Slavova

**PhD supervisor:** prof. Borislav Vladimirov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine”, Dept. of Gastroenterology, UMBAL “Tsaritsa Ioanna-ISUL”

**RESULTS:** Study enrolled and followed-up 100 patients with chronic and acute pancreatitis, pancreatic tumors and resections leading to pancreatic exocrine insufficiency (PEI). The mean age of the patients was  $50,16 \pm 13,72$  years, 59% were men, 41% - women. All patients received pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) at a dose based on PEI severity. 44 of all patients were monitored again six months after adjusting therapy. Protein malnutrition with low levels of prealbumin and retinol-binding protein (RBP) was observed in 40% and 39% of all patients. Protein malnutrition did not correlate with sex, etiology (alcohol was most common factor), weight loss and history of steatorrhea. We found significant correlation between prealbumin, RBP and age, BMI, morphological changes in CP. We observed positive correlation between prealbumin and RBP and other nutritional parameters (hemoglobin, magnesium, albumin), lipid profile and negative correlation with CRP in patients with CP/AP. We found no significant influence of PEI on the levels of prealbumin in WON and drains. Deficiency of vitamin E was observed in 43.75%, deficiency of vitamin A in 31.25% and deficiency of vitamin A in 4.68%. The lowest levels were in patients with resection / tumors. Vitamin A correlated with weight loss. Vitamin A and E correlated with structural changes. In all patients regardless diagnose there was a nutritive deficiencies incl. for fat-soluble vitamins despite of adequate clinical response to PERT. After adjusting PERT we demonstrated overall improvement, decreasing of symptoms with significant increase in BMI and nutritional parameters. We found out all risk factors for cardiovascular events and assessed lipid levels and apolipoproteins A1, A2, B. We observed increased cardiovascular risk in 2/3 of all patients. Dyslipidemia correlated with gender and diagnosis being more severe in men and CP. Quality of life was improved by adequate PERT with normalization of clinical symptoms and malnutrition.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Kovacheva-Slavova M, S Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Cardiovascular Risk Assessment in Patients with Chronic and Recurrent Pancreatitis- preliminary data. *Pancreatol.* 2016;16
- Kovacheva-Slavova M, S Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Evaluation of Prealbumin and Retinol Binding Protein as Severity Markers during Episode of Acute Pancreatitis- Falk Simposia 200, Oct 16-17, 2015 Freiburg

**Contract 2-D/2015 Myokines in the glucose continuum****PhD student:** Yavor Sashov Assyov**PhD supervisor:** Prof. Zdravko Kamenov, PhD, DMSc**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine. Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, University Hospital “Alexandrovska”

**RESULTS:** Myokines are substances that are released from muscles after physical activity. In the current study, we have compared the serum levels of two such myokines – myostatin and sestrin-3 between three groups of patients – prediabetics (n=60), diabetics (n=50) and normoglycemic subjects (n=50) for myostatin and between two groups of patients – prediabetics (n=40) and normoglycemic subjects (n=40) for sestrin-3. The three study groups were age, sex, BMI and self-reported physical activity-matched. We’ve established that serum myostatin progressively increases with worsening of the glycemia – myostatin levels are highest in T2D subjects, lower in prediabetics and lowest in subjects with normoglycemia. Furthermore, serum myostatin was positively associated with biochemical parameters, defining the risk metabolic profile of the evaluated subjects: triglycerides, hepatic enzymes, glycated hemoglobin and immunoreactive insulin. Serum sestrin-3 did not differ statistically between the evaluated subjects and was only positively associated with fasting plasma glucose. Fatty Liver Index is a surrogate marker for liver steatosis, calculated using simple biochemical parameters. For it we discovered to correlate positively with glycated hemoglobin, immunoreactive insulin and uric acid and negatively with HDL cholesterol. Of practical value was the evaluation of the prognostic value of ultrasound measured fat. In a comparative correlation analysis, we’ve discovered it to correlate better with the metabolic profiles of the study subjects and serum myostatin levels than the most widely-used surrogate parameter for the evaluation of fat mass – waist circumference.

**Scientific publications and presentations:**

- Assyov Y, Gateva A, Tsakova A, et al. A comparison of the clinical usefulness of neck circumference and waist circumference in individuals with severe obesity. *Endocr Res.* 2017;42(1):6-14.
- Assyov Y, Gateva A, Kamenov Z. Prevalence of metabolic disturbances and cardiovascular risk factors in Bulgarian patients with obesity. Jubilee national congress on endocrinology, 8-11 Oct, 2015, Plovdiv.
- Assyov Y, Gateva A, Kamenov Z. Abdominal ultrasound for the evaluation of visceral fat in women with Metabolic Syndrome. Jubilee national congress on endocrinology, 8-11 Oct, 2015, Plovdiv.
- Gateva A, Assyov Y, Kamenov Z. Intima media thickness in patients with carbohydrate disturbances. Jubilee national congress on endocrinology, 8-11 Oct, 2015, Plovdiv.

**Contract 4-D/2015 Investigation of Endothelin-1 and Endothelin-A receptor plasma levels in patients with glaucoma and correlation with retinal nerve fiber layer changes****PhD student:** Bilyana Grozdanova Mihaylova**PhD supervisor:** Prof. Iva Todorova Petkova, MD, PhD,**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Ophthalmology, Clinic of ophthalmology, University Hospital “Alexandrovska”, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Endothelin-1 (ET-1) is a potent vasoactive peptide, which has a key role in the regulation of ocular perfusion and probably in the pathogenesis of glaucoma. Several studies

have reported high levels of ET-1 and ET<sub>A</sub>- and ET<sub>B</sub>-receptors in patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and normal tension glaucoma. To compare the mean plasma ET-1 concentration and ET<sub>A</sub>-receptor between control group and patients with early and advanced stage of POAG with raised intraocular pressure. To evaluate the correlation and the degree of the relationship with circumpapillary and macular retinal nerve fiber layer (cpRNFL and mRNFL) thickness changes. Total number of patients included in this study was 75 aged 45-83 years- 25 (controls), 22 (early stage of POAG), 28 (advanced stage of POAG). The cells in the blood plasma were removed by centrifugation, the plasma was separated and frozen. The enzyme-linked immunosorbent assay test was used as a tool to determine the concentration of ET-1 and ET<sub>A</sub>-receptor. Thickness of RNFL was evaluated with optical coherence tomography (device Topcon 3D OCT 2000+). Descriptive, dispersion and correlation statistical methods were used. Mean ET-1 plasma concentration is lower in the controls (4.88±1.75 pg/ml) versus the levels in patients with early and advanced POAG (6.33±2.38 pg/ml and 6.34±1.56 pg/ml). It was found statistically significant difference in mean ET-1 plasma concentrations between controls and patients with POAG (p=0.029 - early glaucoma, p=0.018 - advanced glaucoma). There was no significant difference in mean ET-1 concentrations between groups with early and advanced glaucoma stage (p=0.998). Mean plasma ET<sub>A</sub>-receptor was found to be highest in the control group (1209.28±314.48 pg/ml) and statistically significant difference was established in inter-group dispersion analysis between three groups. Significant relationship was found only between ET-1 and RNFL. Because of the observed statistically significant difference in plasma levels of ET-1 and ET<sub>A</sub>-receptor between healthy and patients with glaucoma, the current research demonstrates that ET-1 has an important role in the pathogenesis of glaucoma. It is an opportunity to consider a new approach in glaucoma treatment- endothelin antagonists.

**Contract 8-D/2015 Link Evaluation of Markers for Systemic Inflammation (CRP, IL-6, IL-10, IL-33, CCL2/MCP-1), the Vitamin D Status, and the Disease Characteristics in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria**

**PhD student:** Anna Valerieva Dimitrova, MD

**PhD supervisor:** Vasil Dimitrov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Centre of Allergology

**RESULTS:** In 45 patients with chronic spontaneous urticaria (CSU) we determined the levels of IL-6, IL-10, IL-33, CCL2 / MCP-1 by immunoenzymatic methods (ELISA) and compared them with the data for the cytokine levels in healthy individuals. We measured vitamin D status in patients with CSU. According to the severity of the disease we defined two patient groups: mild-to-moderate and severe-to-very severe CSU. The patients were defined by demographic characteristics and compared according to the obtained values of the studied cytokines. In patients with CSU we found significantly elevated values compared to healthy subjects for: IL-6 (1.91 ± 0.50 vs. 0.03 ± 0.02, pg / ml) (p <0.001), IL-10 (5.91 ± 0.48 vs. 0.86 ± 0.51) (p <0.001), and IL-33 (0.89 ± 0.41 vs. 5.04 ± 1.02) (p = 0.005). hsCRP values were different in patients with mild / moderate (1.97 ± 0.45) compared to those with severe CSU (5.37 ± 0.94) (p = 0.03) and for ESR (8.09 ± 1.32 vs. 15.38 ± 2.62) (p = 0.015 ). For CCL2 / MCP-1 we did not find difference, though there was a tendency for elevated levels in CSU patients (p = 0.076). There was a significant difference of IL-33 in CSU patients and accompanying agioedema (p = 0.048). Correlation analysis revealed weak but significant associations between hsCRP - ESR (r = 0.417, p = 0.005), D-dimer - ESR (r = 0.476, p =

0.007), IL-10 - IL-33 ( $r = 0.368$ ,  $p = 0.014$ ), and the number of monocytes - IL-10 ( $r = 0.420$ ,  $p = 0.006$ ), CCL2 / MCP-1 and IL-6 ( $r = 0.426$ ,  $p = 0.001$ ), and for CCL2 / MCP -1 and IL-33 ( $r = -0.281$ ,  $p = 0.040$ ). We established the first genetic DNA biobank in Bulgaria with samples from patients with severe/very severe CSU, which will help future research in this area. The tested markers IL-6, IL-10, IL-33, hsCRP and ESR are promising markers of disease activity in patients with CSU.

### **Contract 9-D/2015 Sequencing of gene KISS1R in patients with central precocious puberty**

**PhD student:** Mihaela Sashova Dimitrova-Mladenova

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Elisaveta Stefanova, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Pediatrics, Clinic of Endocrinology, Diabetes and Genetics, University Children's Hospital "Prof. Ivan Mitev"

**RESULTS:** It is a prospective research, performed for the period of nine months (from August 2015 to May 2016). Eight girls with confirmed diagnosis of "idiopathic" central precocious puberty were included. They all met the following criteria: progressive secondary sexual characteristics before the age of 8 years, advanced linear growth and bone age, elevated basal levels of luteinizing hormone, normal brain image on magnetic resonance. DNA was isolated from peripheral blood using standard procedures. The coding exons and exon/intron boundaries of gene *KISS1R* were amplified by PCR reaction. The amplification products were purified by ExoSAP-IT (Affymetrix USB products), and sequenced by ABI BigDyeTerminator Cycle Sequencing Kit (v3.1). We did not find any mutations in the *KISS1R* gene in our patients with central precocious puberty. In this gene we detected only previous known two single nucleotide polymorphisms (rs10407968; rs350132). These polymorphisms do not alter gene's expression and function. The results of the this study support previous studies and suggest that mutations in the gene *KISS1R* are not a common cause of central precocious puberty. Therefore, there is no need in routine sequencing of the gene *KISS1R* in patients with idiopathic central precocious puberty in clinical practice. There is evidence in support that kisspeptin receptor, encoded by *KISS1R*, plays a major role in pubertal development. This suggests future search for mutations in regulatory regions that modify the gene expression.

### **Contract 12-D/2015 Follow-up of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease patients by fecal calprotectin examination**

**PhD student:** Radislav Ventsislavov Nakov

**PhD supervisor:** Vanya Aleksandrova Gerova-Nankova

**Organization unit:** MU-Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Centre of Gastroenterology, Tsaritsa Yoanna – ISUL University Hospital

**RESULTS:** The current prospective study includes 40 patients with inflammatory bowel disease – IBD (20 with UC, 20 with CD) and 10 healthy controls. In all the subjects ileocolonoscopy, calculation of clinical and endoscopic indices, laboratory tests and fecal calprotectin (FCP) examination with rapid quantitative immunochromatographic test (Quantum Blue® Calprotectin) were performed. ROC analyses in UC patients showed the best area under the curve (AUC) in FCP examination (AUC 0,925,  $p < 0,001$ ), followed by CRP (AUC 0,795,  $p = 0,001$ ), fibrinogen (AUC 0,736,  $p = 0,008$ ), white blood count (AUC 0,717,  $p = 0,015$ ), ESR (AUC 0,646,  $p = 0,103$ ) and platelets (AUC 0,497,  $p = 0,971$ ). IN CD

patients, ROC analyses describes the best AUC in FCP (AUC 0,733,  $p=0,017$ ), followed by CRP (AUC 0,694,  $p=0,048$ ). No statistical significance was observed in the other laboratory tests. There was no statistically significant difference between FCP levels in controls and UC patients in remission ( $p=0,205$ ), but there was such between controls and active UC ( $p<0,001$ ), and quiescent UC and active UC ( $p<0,001$ ). Significant difference between FCP levels in controls and CD patients in remission ( $p=0,001$ ), active L1 CD ( $p<0,001$ ), active L2 and L3 CD ( $<0,001$ ) and all patients with active CD ( $<0,001$ ) was observed. Moreover, significant difference between FCP levels in patients with quiescent CD and those with active L1 CD ( $<0,001$ ), active L2 and L3 CD ( $<0,001$ ) and all patients with active CD ( $<0,001$ ) was observed. FCP levels in active L1 were significantly different from those in L2 and L3 ( $<0,001$ ). FCP cut-off level of 315  $\mu\text{g/g}$  differentiates CD in remission from active CD with 94% sensitivity, 98% specificity and AUC 0,989. FCP showed significant correlation with UCEIS ( $r = 0,869$ ,  $p <0,001$ ), endoscopic Mayo subscore - EMS ( $r = 0,814$ ,  $p <0,001$ ), Lihtiger Clinical Index ( $r = 0,836$ ,  $p <0,001$ ) and CDAI ( $r = 0,63$ ,  $p = 0,001$ ).

#### Scientific publications and presentations:

- Nakov R, Gerova V. Follow-up of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease patients by fecal calprotectin examination. *Bulgarian hepatogastroenterology*. 2016;17(2):51-5.
- Nakov R, Nakov V, Penchev P, et al. Correlation between Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity, Lichtiger Index and fecal calprotectin in ulcerative colitis patients. *Falk Symposium 205: New Treatment targets in Gut and Liver Diseases*, Lucerne, Switzerland, 21-22.10.16
- Topuzanska N, Tankova L, Gerova V, et al. Sigmoid carcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis and long-standing ulcerative colitis. 2nd national congress for young gastroenterologists, Tsaritsa Yoanna – ISUL University Hospital, Sofia, 25-26.03.2016

#### **Contract 14-D/2015 Biochemical markers and ultrasound methods for early diagnosis of cardiovascular complications in type 2 diabetes patients**

**PhD student:** Aleksandra Nikolaeva Markova, MD

**PhD supervisor:** Prof. Mihail Boyanov, MD, PhD, DSc

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Endocrinology and metabolic diseases, University Hospital "Alexandrovska"

**RESULTS:** The aim of the study was to assess the cardiovascular risk of type 2 diabetes patients and the association with biochemical and ultrasound markers for subclinical atherosclerosis. 171 DM2 patients were enrolled in the study - 103 women and 68 men (mean age  $60.7 \pm 9.6$  years). ADVANCE and UKPDS Risk engines and were used to calculate the risk for fatal and non-fatal coronary-heart disease (CHD) and stroke, based on the data obtained from the medical records which included: age, diabetes duration, age at diagnosis, smoking status, waist circumference, ACR, blood pressure, atrial fibrillation, retinopathy, hypertension, HbA1c, total, HDL and non-HDL-cholesterol. Serum levels of N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and placental growth factor (PIGF) were measured using electrochemiluminescence immunoassay and asymmetric dimethylarginine (ADMA) using enzyme immunoassay. Intima-media thicknes of the common carotid artery was measured with 2D ultrasonography. Echocardiography was used to assess the size of the myocardial structures, ejection fraction, deceleration time, and diastolic dysfunction markers- E/A, E/E'. The calculated mean risk with the ADVANCE calculator was 3.05% (1.48; 5.12). UKPDS risk for non-fatal CHD was 16.8% (11.1; 25.6), for fatal CHD -11.1% (6.6; 17.9), for stroke- 8.2% (4.4; 13.8), and for fatal stroke- 1.2% (0.2; 2.1). The levels of NT-proBNP, IMT

and E/E' correlated with the ADVANCE risk ( $r=0.527$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.841$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.777$ ,  $p=0.001$  accordingly); UKPDS risk for CHD ( $r=0.183$ ,  $p=0.021$ ;  $r=0.679$ ,  $p=0.004$ ;  $r=0.626$ ,  $p=0.013$  accordingly); fatal CHD ( $r=0.264$ ,  $p=0.001$ ;  $r=0.814$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.773$ ,  $p=0.001$ ), stroke ( $r=0.497$ ;  $p<0.001$ ;  $r=0.581$ ,  $p=0.018$ ;  $r=0.612$ ,  $p=0.015$ ), fatal stroke ( $r=0.515$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.571$ ,  $p=0.026$ ;  $r=0.683$ ,  $p=0.007$ ). No significant relation was found with the serum levels of ADMA and PIGF. There is a correlation between the risk for non-fatal and fatal CHD and stroke with the higher values of NT-proBNP, cIMT and E/E', but no such relation was found for the ADMA and PIGF levels.

**Scientific publications and presentations:**

- Markova A. Role of Asymmetric dimethylarginin, NT-proBNP, Endothelion-1 and Placental growth factor as markers of subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes patients, J Endocrine disorders, 2017;2 (under print)
- Kundurdzhiev A, Markova A. Ultrasound methods for cardiovascular disease screening in type 2 diabetes patients, J Acta Med Bulg (under print)
- Doncheva A, Bakalov D, Tsakova A, et al. Serum levels of NT-proBNP and asymmetric dimethylarginin in type 2 diabetics- correlation with calculated CV-risk, National congress of Endocrinology, Plovdiv, 8-11 Oct 2015

**Contract 18-D/2015 Transplantation of ex vivo expanded human limbal stem cells on amniotic membrane**

**PhD student:** Rozaliya Hristova Hristova

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Ivan Tanev, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Ophthalmology

**RESULTS:** The study introduced for the first time transplantation of ex vivo expanded limbal stem cells in Bulgarian patients. It included 25 limbal samples. Nine patients underwent minimally invasive limbal biopsy. Sixteen controls were obtained from corneo-scleral buttons after corneal transplantation from patients with no history of ocular surface disease. A comparison between two culture protocols was conducted. The first protocol was based on classic culture media (DMEM/HAMF12), different growth factors (Epidermal Growth Factor - EGF) and bovine serum. This method was effective in 50% of the samples. The second protocol included the use of innovative culture systems (CnT-Frame culture medium, CELLnTEC) without xenobiotic products and developed according to Good Manufacturing Practice conditions. Effective expansion of cells and epithelial sheet formation was observed in all samples. This is probably due to improved composition of the medium with a number of growth factors not included in current protocols. Ex vivo expanded stem cells were used for ocular surface reconstruction in neurotrophic keratitis and ocular rosacea for the first time. Success was defined by improved visual acuity, stable epithelization, regaining corneal transparency, reduction of neovascularization. Success criteria were completely or partially met in all of the patients, depending on the initial severity of the disease. It was established that in partial unilateral deficiency biopsy can be performed on the affected eye without impact on the ex vivo expansion. The use of ex vivo expanded stem cells after previous amniotic membrane transplantation does not lead to higher rate of graft failure. An innovative protocol for limbal stem cell culture fulfilling all current requirements was inaugurated. Effectiveness of ex vivo expanded stem cell transplantation was established in different ocular surface disorders.

**Scientific publications and presentations:**

- Hristova R, Tanev I. Limbal stem cell deficiency – concept and treatment. Ophthalmreviews 2016

- Hristova R, Zdravkov Y, Hristova M, et al. Transplantation of ex vivo expanded limbal stem cells in a case of neurotrophic keratopathy – a case report. Ophthalmreviews 2016
- Hristova R, Atanassov A, Behaegel J, et al. The best corneal substitute is....., COST Summer School, Varna, 30.05-03.06.2016

### **Contract 21-D/2015 Mmuohistochemistry in the differential diagnosis of early hcc vs. hgdn**

**PhD student:** Kaloyan Pavlinov Pavlov, MD

**PhD supervisor:** Assoc. Prof. Jordan Genov, MD, PhD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Gastroenterology, University Hospital “Tzaritza Ioanna - ISUL”, Clinic of Gastroenterology

**RESULTS:** Percutaneous ablative techniques have been employed as a treatment/palliation option in liver malignancies for almost two decades in Bulgaria. Ever since, procedure indications, application and results have markedly evolved. We introduce our 18-years experience in PEI, radiofrequency (RF) and microwave (MW) ablation of primary liver tumors. Precise tumor type and subtype (HCC vs. iCC vs. HCC/iCC) has prognostic and therapeutic implications. For the period 1997-2015 we investigated on 327 patients (80,4 % male, 19,6% female) aged 26-84 (mean 64,2) with primary liver tumors (89,4% hepatocellular carcinoma, 9,9 % cholangiocarcinoma, 0,7% mixed HCC/CC). Diagnosis was established through imaging (US, CEUS, CECT) and histology/immunohistochemistry. All patients had cirrhosis (Child A 59,7%; B 35,4%; C 4,9%); 81,6% had viral infection (HBV 53,3%; HCV 32,4%; co-infected 8,1%). HCC was staged BCLC A (21,7%); B (38,5%); C (32,2%); D (7,7%); 69,4% had solitary lesion, 52,6% exceeding 5 cm. Percutaneous ablation was used in 67,8% of the cases: RFA (40,1%), MWA (6,4%), shot-PEI (17,2%) and combination of the methods at initial work up (3,9%). Tumor tissue of 30 patient has been immunostained with glypican-3, arginase-1 and pCEA and has been assessed by experienced pathologists. Patients were followed-up for 1–72 months (mean 11,9) using imaging (CEUS/CECT) and occasionally biopsy. Local recurrence was found in 26.4% 1-72 months (mean 12,2) in the follow-up period and new lesions in 23.8% 1-52 months (mean 10,1). Our results suggest that MWA enhances local procedure performance in lesions with unfavorable localizations. Finally 70% of eHCC showed positive for glypican-3 versus only 27% positivity in the HDGNs. UP to 65% of the eHCCs have showed positive for HSP70 versus only 15% positivity in the groups with HDGNs. More data is needed to confirm diagnostic accuracy and prognostic implications in patient with primary liver tumors stained with this immunohistochemical patterns.

## MEDICO-SOCIAL AREA

### **Contract 5 -D/2015 Developing a model for management functions of health care in the hospital**

**PhD student:** Kamelia Kostadinova Bogdanova

**PhD supervisor:** Prof. Galina Chaneva, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Public Health, Dept. of "Health Care"

**RESULTS:** Health care professionals who occupy leadership positions in hospital structures are aged from 35 to 50 years. The largest share of leaders in health care are between 42 and 47 years - 27.50%, and those between 36 and 41 years - 25.83%. Professional experience of supervisors nurses / midwives, technicians and rehabilitators / as leaders is from 1 to 36 years. The largest share of health care executives with professional experience between 6 and 12 years are 35%. Nearly half of surveyed executives in health care are not trained and do not have the necessary qualifications to manage health care. In terms of daily organization about 1/3 of them draw up a list of priority tasks for the day and organized the activities of the staff. The leaders in healthcare that constantly train and implement management methods and tools are only 38.33%, and there are a considerable part of holding managerial positions, carrying out managerial functions solely on the basis of practical experience they have gained (35.83%). It is therefore important to focus on postgraduate training of leaders in health care to learning and competence relating to the implementation of scientifically proven managerial instruments. Organization and management of health care supervisors staff primarily rely on monitoring (68.33 %) and daily control (72.05%), while in practice introduced protocols and datasheets only 57.02% of respondents, and organization planning for individual patient care - 40.00%. Respondents surveyed patients from hospitals indicate that only 40.00% are satisfied with the arrangements made for admission and hospital treatment. In addition, patients who are completely satisfied from the manipulations performed by staff and procedures are only 34.80%. These results definitely indicate the existence of problems in the organization and quality of health that affect patient satisfaction. The leaders in health care have attitude and desire to develop a model of management functions with appropriate software, complemented hospital information system and thus will help the complex process of managing health care in hospital structures and will ensure improvement of the quality of patient

#### **Scientific publications and presentations:**

- Bogdanova K, G Chaneva, M Stoicheva. Management methods and tools for organization of health care Nursing. 2016;2:29-32.
- Bogdanova K, G Chaneva, M Stoicheva. Patient satisfaction by health care quality in medical establishment. Thirty-seven scientific technological contact session 2016.





## COMPETITION „STIMULATION OF SCIENTIFIC RESEARCH IN AREAS OF EXCELLENT ACHIEVEMENT” 2014 – 2015

### **Contract 1-S/2014 Design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel galantamine derivatives – second stage**

**Leading scientist:** Prof. Iринi Atanas Doytchinova-Tsekova, PhD, DSc

**Research team:**

- Assist. Prof. Mariyana Atanasova, PhD
- Assoc. Prof. Ivan Dimitrov, PhD
- Assist. Prof. Georgi Stavrakov, PhD
- Assist. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Nikola Yordanov, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, 2 Dunav st., 1000 Sofia

**RESULTS:** Nine novel galanthamine (GAL) derivatives, structural analogues of the three most active compounds obtained in the first stage of the project, have been designed. The compounds were docked in the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and the energy of the complexes was evaluated under conditions optimized in the first stage. The docking results were used to define two working hypotheses. They were verified by the synthesis and testing of five compounds. GAL was used as a control. The new compounds have activity from 20 to 139 times higher than that of GAL. The experimental results confirm the working hypotheses. The elongation of the linker between the two cycles – GAL and aromatic – increases the AChE affinity. The phenyl ring is bioisosteric to indole moiety. The structure – affinity relationships derived in the first two stages of the GAL project were used to design two new series of derivatives for the next stage of the project. In the first series the phenyl ring will be substituted by a bulky aliphatic fragment (camphane), in the other – by a set of alkyl-phenyl moieties. Both fragments will be attached to GAL by alkyl amide linkers with different length. These fragments aim to inhibit the binding of A $\beta$  peptide in the peripheral anionic center (PAS) of AChE.

### **Contract 2-S/2014 New markers of vascular risk in patients with prediabetes**

**Leading scientist:** Prof. Zdravko Asenov Kamenov, DSc

**Research team:**

- Antoaneta Gateva, MD, PhD
- Yavor Assyov, MD, PhD student
- Adelina Tsakova

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine, Clinic of Endocrinology

**RESULTS:** In the study were included 80 patients with mean age 50,4 $\pm$ 10,6 years, divided into two groups – group 1 (control group) with obesity without glycemic disturbances (n=41) and group 2 with prediabetes (n=39), that were similar in age, antropometric indices and the presence of classical cardiovascular risk factors, despite the slightly higher prevalence of

metabolic syndrome in patients with prediabetes. We found similar levels of the markers for microvascular and macrovascular complications in both groups. There were similar indices of calcium-phosphorus homeostasis, despite the tendency towards lower levels of 25(OH)D in patients with prediabetes. We found however extremely high prevalence of vitamin D deficiency in both groups. There were higher levels of MCP-1, copeptin, kallistatin, TNIXP, peroxiredoxin, sICAM and sVCAM in patients with prediabetes compared to controls, although statistical significance was present only for kallistatin and peroxiredoxin. MCP-1 showed a significant correlation to BMI and HOMA index ( $r=0,239$ ;  $0,226$ ;  $p<0,05$ ). TXNIP also correlated with HOMA index ( $r=0,230$ ;  $p<0,05$ ). We found higher levels of sialic acid in the patients with insulin resistance compared to those without and of kallistatin in patients with metabolic syndrome. There was no correlation between the studied markers and the indices of micro- and macrovascular risk.

**Scientific publications and presentations:**

- Gateva A, Assyov Y, Velikova T, et al. Increased peroxiredoxin 4 levels in patients with prediabetes compared to normal glucose tolerance subjects. Clin Endocrinol 2016;85:551-5.

**Contract 3-S/2013 Molecular-genetic diagnostic of skeletal dysplasia and craniostenosis**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Albena Parvanova Todorova, PhD

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev, MD, DSc
- Tihomir Todorov, PhD, GMDL Genica
- Assist. Andrey Kirov, PhD
- Mihaela Mladenova, GMDL Genica

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** There were introduced and optimized the analytical methods for testing genes associated with skeletal dysplasia and craniofacial skeletal dysplasias including sequencing analysis of the targeted genes and array-CGH. Based on the clinical data the patients were classified in 2 groups: patients with skeletal dysplasias, patients with cranio-facial skeletal dysplasias. The present study was focused on clarification of molecular defects along the *FGFR3*, *FGFR2*, *FGFR1*, *RWIST1*, *TCF12* genes and test of copy number variation in genome. *FGFR3* gene was screened for mutations in 16 patients. In 9 patients point mutations were found ( $9/16 = 57\%$ ) - 7 patients with achondroplasia (44%) and 2 with hypochondroplasia (12%). In the group of cranio-facial skeletal dysplasias patients, one pathological mutation in the *FGFR2* gene was screened for mutations in 4 patients and was detected 1 pathological mutation of patient with diagnose Apert syndrome. Array-CGH analysis was performed in 4 patients and identified mutations in two of them (50%). Additional genetic testing is needed to clarify the relationship with the clinical diagnosis and monitoring of disease pathogenesis. The clinical diagnosis was genetically proved in 10 out of 22 patients (45.5%) and the detected mutations were well-known in the literature.

**Contract 4-S/2014 Pilot biomonitoring of urinary bisphenol A levels among students of dentistry, students of dental technician school, assistants and medical personnel involved in the process of education****Leading scientist:** Prof. Angelina Kisselova-Yaneva, DDS, PhD, DSc**Research team:**

- Acad. Prof. Bogdan Petrunov, MD, PhD, DSc, BAS, NCIPD - Sofia
- Assoc. Prof. Georgy Nikolov, MD, PhD, NCIPD - Sofia
- Assit. Prof. Maya Lyapina, MD, PhD
- Assoc. Prof. Maria Dencheva, DDS, PhD
- Assoc. Prof. Assya Krasteva – Panova
- Assit. Prof. Mariana Tzekova – Yaneva, DDS, PhD
- Stella Petrova, student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Oral and Image Diagnostic

**RESULTS:** A pilot biomonitoring of urinary bisphenol A (BPA) levels in exposure occurring during the course of practical training in dentistry was performed. Epicutaneous testing aiming to evaluate the frequency of contact sensitization to bisphenol A and other key for dental practice allergens, as well as assessment of sensitization frequency to atopic allergens and possible allergic predisposition were carried out. The results obtained from the biomonitoring of urinary levels of BPA confirm the ubiquitous exposure, but no values above the health-based ones were established. Urinary BPA levels and average rank were significantly higher in the group of dental patients compared to that of dental students, with no significant differences concerning the gender characteristic. Basing on the results obtained, we do not consider the exposure to dental materials containing BPA derivatives during the course of practical training in dental medicine as the major one. A relatively high frequency of sensitization to rubber allergens and BPA among the students of dentistry was established. Carba mix was outlined as a sensitizer of primary importance for both students of dental medicine as well as for dental patients. The second most important sensitizer for the students of dental medicine was benzoyl peroxide. Positive reactions to bisphenol A and toluenesulfonamide formaldehyde resin were established only in the group of students of dentistry. Concerning the allergens being ingredients of both dental practice materials and of household and cosmetics products, major sensitizers for both students of dentistry as well as for dental patients were rosin and polysorbate 80. Fragrance mix was the third of significance sensitizer for the group of dental students. A relatively high frequency of sensitization to compositae mix was established, with positive reactions observed only among the students of dentistry. The exposure to formaldehyde is ubiquitous and it is difficult distinguish the role of environmental and occupational exposures. Our previous observations regarding a high rate of co-sensitization to formaldehyde and glutaraldehyde were confirmed. Basing on the results achieved, we can't assume the role of allergic predisposition and sensitization to atopic allergens for the frequency of contact sensitization to the studied by us dental practice allergens. The results from the present study could serve as both theoretical basis and practical implementation of adequate preventive measures in both occupational and environmental exposures to BPA-based materials and to products containing the investigated by us sensitizers. This will provide a better work, medical and socio-economic prognosis and objective health status of individuals involved in dental practice.

**Scientific publications and presentations:**

- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Pilot study of contact sensitization to formaldehyde-releasers, formaldehyde and glutaraldehyde in dental students. SANAMED, 2016;11(1):21-27.

- Lyapina M, Krasteva A, Dencheva M, et al. Pilot study of contact sensitization to rubber allergens and bisphenol A in dental students. *Int J Occup Med Environ Health*, 2017; 30(3):397-405.
- Lyapina M, Dencheva M, Krasteva A, et al. Biomonitoring of urinary levels of bisphenol A in dental students. 26th Annual Assembly of IMAB. Varna, Bulgaria. 12 – 15 May 2016.

### **Contract 5-S/2014 Diagnostics of pancreatic exocrine and endocrine insufficiency**

**Leading scientist:** Prof. Borislav Georgiev Vladimirov, MD, PhD

**Research team:**

- Sylvie Mitova-Siminkovitch, MD
- Mila Kovacheva-Slavova, MD

**Organization unit:** MU – Sofia, Department of Gastroenterology, University Hospital "Tsaritsa Yoanna - ISUL"

**RESULTS:** For Protein malnutrition markers- Prealbumin and RBP were observed statistically significant differences between Cambridge subgroups,  $p < 0.05$ . Prealbumin and RBP together with Hemoglobin and Albumin demonstrated differences in chronic pancreatitis severity subgroups assessed with M-ANNHEIM severity index score ( $p < 0.05$ ). In conditions of acute inflammation both correlated negatively with CRP and could be used for early predictors for systematic inflammatory response. In patients with pancreatic carcinoma and after pancreatic surgery malnutrition is multifactor and the observed low levels cannot be interpreted only in relation with PEI. Vitamin A, D, E insufficiencies were presented in 5%; 93,6% and 70% of patients. Moreover 38.5% had VD deficiency ( $< 25$  nmol/L). Mean $\pm$ SD of VD, VA and VE levels were  $38.9 \pm 25.7$  nmol/L,  $520 \pm 306$   $\mu$ g/L and  $4,36 \pm 3,93$  mg/L. VD status worsened with severity of morphological changes regardless of season or cause ( $p < 0,01$ ). VD and VA levels were lower in patients with PEI,  $p < 0.05$ . VE insufficiency did not depend on PEI ( $p > 0,05$ ). However, there is no significant difference in VA and VE within morphological groups. Calculation of VE/Total lipids ratio allows differentiation of severe deficiency with levels below 0.8 mg/L, which were observed in 40 pts (56.34%). VA levels correlated very closely with RBP ( $R = 0.716$ ;  $R^2 = 0.513$ ) and preAlb, ( $R = 0.696$ ;  $R^2 = 0.484$ ) and with Total Cholesterol ( $R = 0.630$ ;  $R^2 = 0.397$ ) and triglycerides ( $R = 0.548$ ;  $R^2 = 0.301$ ),  $p < 0.001$ . DM type 3c was found in 23% of our patients (63.64% of pts with pancreatitis and Diabetes melitus, 17% of pts with acute and recurrent pancreatitis and 5% from pts with chronic pancreatitis without DM) and another 58% (FGL 5.6-6,9 mmol/L) were with increased risk of developing it. We ascertained the fact that endocrine function is worse due to PEI. Serum C-peptide is better marker than serum insulin in patients with chronic pancreatic disorder as it only shows differences in CT/MRCP subgroups.

**Scientific publications and presentations:**

- Siminkovitch S, Vladimirov B, Kovacheva-Slavova M, et al. Vitamin D deficiency in chronic pancreatitis, *Int J Med Sci Clin Invent*. 2016;3(6):1914-20.
- Kovacheva-Slavova M, S Mitova-Siminkovitch, B Vladimirov, et al. Diabetes mellitus type 3c screening by patients with chronic pancreatitis Preliminary data, 47 Annual Meeting of the European Pancreatic Club-24-26 Jun 2015 Toledo Spain
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of Vitamin D, A, E Status in Patients with Pancreatic Disorders; 46 Annual Meeting of the American Pancreatic Association; Nov 4-7, 2015 San Diego CA
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Assessment of Pancreatic Exocrine Function and Fat-soluble Vitamins during Episode of Acute

Pancreatitis ; Falk Symposium 200 Therapeutic strategies of the Digestive Tract-2015 and Beyond, Oct 16-17, 2015 Freiburg, Germany

- M Kovacheva-Slavova, S Siminkovitch, B Vladimirov, J et al. Evaluation of Prealbumin and Retinol Binding Protein as Severity Markers during Episode of Acute Pancreatitis ; Falk Symposium 200 Therapeutic strategies of the Digestive Tract-2015 and Beyond, Oct 16-17, 2015 Freiburg, Germany
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of vitamin D status in patients with chronic pancreatitis, recurrent pancreatitis and after pancreatic surgery; 23 United European Gastroenterology Week; Oct 24-28, 2015 Barcelona Spain
- Siminkovitch S, M Kovacheva-Slavova, B Vladimirov, et al. Evaluation of prealbumin and retinol binding protein as screening tools for malnutrition in patients with chronic pancreatitis, recurrent pancreatitis and after pancreatic surgery – preliminary results; 23 United European Gastroenterology Week; Oct 24-28, 2015 Barcelona Spain
- Vladimirov B, YValerieva, P Gecov, et al. Chronic pancreatitis Diagnosis and clinical assessment National Conference of Gastroenterology 2015 Burgas 04-06 2015

### **Contract 6-S/2014 Immuohistochemistry in the differential diagnosis of primary liver tumors – HCC VS. ICC VS. HCC/ICC**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Jordan Georgiev Genov, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Borislav Vladimirov, MD, PhD
- Roumiana Mitova, MD
- Kaloyan Pavlov MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Gastroenterology, University Hospital “Tzaritza Ioanna - ISUL”

**RESULTS:** Percutaneous ablative techniques have been employed as a treatment/palliation option in liver malignancies for almost two decades in Bulgaria. Ever since, procedure indications, application and results have markedly evolved. We introduce our 18-years experience in PEI, radiofrequency (RF) and microwave (MW) ablation of primary liver tumors. Precise tumor type and subtype (HCC vs. iCC vs. HCC/iCC) has prognostic and therapeutic implications. For the period 1997-2015 we investigated on 327 patients (80,4 % male, 19,6% female) aged 26-84 (mean 64,2) with primary liver tumors (89,4% hepatocellular carcinoma, 9,9 % cholangiocarcinoma, 0,7% mixed HCC/CC). Diagnosis was established through imaging (US, CEUS, CECT) and histology/immunohistochemistry. All patients had cirrhosis (Child A 59,7%; B 35,4%; C 4,9%); 81,6% had viral infection (HBV 53,3%; HCV 32,4%; co-infected 8,1%). HCC was staged BCLC A (21,7%); B (38,5%); C (32,2%); D (7,7%); 69,4% had solitary lesion, 52,6% exceeding 5 cm. Percutaneous ablation was used in 67,8% of the cases: RFA (40,1%), MWA (6,4%), shot-PEI (17,2%) and combination of the methods at initial work up (3,9%). Tumor tissue of 30 patient has been immunostained with glypican-3, arginase-1 and pCEA and has been assessed by experienced pathologists. Patients were followed-up for 1–72 months (mean 11,9) using imaging (CEUS/CECT) and occasionally biopsy. Local recurrence was found in 26,4% 1-72 months (mean 12,2) in the follow-up period and new lesions in 23,8% 1-52 months (mean 10,1). Our results suggest that MWA enhances local procedure performance in lesions with unfavorable localizations. Finally 70% of HCC showed positive for glypican-3 versus only 7% positivity in the iCCs. 85% of the cholangiocarcinomas have showed positive for pCEA versus only 10% of the

hepatocellular neoplasms. More data is needed to confirm diagnostic accuracy and prognostic implications in patient with primary liver tumors stained with this immunohistochemical patterns.

**Contract 1-S/2015 Serum hepcidin, zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu), magnesium (Mg) concentrations, and their relation to anemia and oxidative stress in chronic kidney disease (CKD) patients, in terminal phase, on dialysis**

**Leading scientist:** Prof. Dyana Hristova Yonova-Ivancheva, MD, PhD

**Research team:**

- Prof. Kamen Tzatchev, MD, PhD, DSc
- Prof. Evgeniy Vazelov, MD, PhD
- Assist. Prof. Ina Georgieva, MD
- Assist. Prof. Victor Manolov, MD, PhD
- Assoc. Prof. Bisera Atanasova, PhD
- Assist. Prof. Ivan Trendafilov, MD
- Assist. Prof. Velimir Papazov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical center of dialysis

**RESULTS:** During this project we used different methodological approaches for the diagnosis of chronic kidney disease (CKD) and assessment of iron disorders and oxidative stress in the 70 patients included. Included patients were with average age, separated by gender: males  $47.1 \pm 3.6$  years and females  $42.8 \pm 2.9$  years. We establish statistically significant increased serum hepcidin concentration in CKD, patients on dialysis (248.0  $\mu\text{g/l}$ ) compared to the control group,  $P < 0.001$ . Plasma GPx levels were statistically decreased in CKD, on dialysis patients (7.8 U/gHb) compared to healthy individuals, which confirmed presence of oxidative stress,  $P < 0.001$ . Plasma Se concentrations were decreased in CKD, on dialysis patients, compared to included control group (422.6 nmol/l),  $P < 0.001$ . Quantification of serum iron in patients with CKD, on dialysis (12.2  $\mu\text{mol/l}$ ) showed decreased levels, caused by anemia of chronic diseases (ACD) in CKD cases, caused by impaired erythropoietin secretion,  $P < 0.001$ . Ferritin in serum in CKD patients, on dialysis (536.3 ng/ml) showed considerably elevation compared to control group,  $P < 0.005$ . Concentrations of serum Cu and Zn in patients with CKD, on dialysis (21.9  $\mu\text{mol/l}$  and 10.1  $\mu\text{mol/l}$ , resp.) were increased (for Cu) and decreased (for Zn) in comparison to controls included, which confirms role of trace elements in oxidative stress progress,  $P < 0.01$ . We establish significant negative correlation between serum creatinine and plasma Se levels in CKD patients, on dialysis ( $r = -0.731$ ;  $P < 0.005$ ). Correlation between serum hepcidin and transferrin in patients with CKD, on dialysis ( $r = -0.699$ ;  $P < 0.01$ ) was negative. Quantified hepcidin correlated negatively to GPx, Se and Zn levels in CKD patients, on dialysis ( $r = -0.811$ ;  $r = -0.659$ ;  $r = -0.679$ ;  $P < 0.005$ ). Correlation between serum hepcidin and magnesium in cases with CKD, on dialysis ( $r = -0.599$ ;  $P < 0.005$ ) showed a significant negative level. Serum hepcidin in CKD patients, on dialysis ( $r = 0.754$ ;  $P < 0.001$ ) correlates positively to ferritin. We found a statistically significant elevation of serum hepcidin levels in patients with CKD, on dialysis. Increased levels are caused by inflammatory stimuli. Plasma GPx concentrations are significantly decreased in CKD patients, on dialysis, which is connected to oxidative stress in this disease. Evaluated Zn, Cu, Se and Mg were out of reference ranges, in connection to role of trace elements in oxidative stress development. Heparin levels determine redistribution of iron between macrophages and parenchymal cells and may thus have a bearing on the extent and rate of progression of organ damage and particularly cardiomyopathy.

The concentration of hepcidin is important for individualization of eritropoetin replacement therapy or treatment with eritropoetin stimulating substances (ESs). Heparidin levels determine the effectiveness of eritropoetin replacement therapy or treatment with ESs.

**Scientific publications and presentations:**

- Manolov V, Yonova D, Vazelov E, et al. Heparidin and hemodialysis patients in oxidative stress. 24<sup>th</sup> Balcan Clinical laboratory Federation Meeting. 5-8.10.2016, Tirana, Albania
- Manolov V, Yonova D, Velizarova M, et al. Evaluation of oxidative stress in dialysis patients. 10<sup>th</sup> National Clinical laboratory Conference. 29.09-01.10.2016, „Golden sands”, Bulgaria
- Georgieva I, Manolov V, Atanasova B, et al. Plasma levels of zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu) and magnesium (Mg) in patients on HDT and supplementation of their deficiency. National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D. Oxidative stress (OS) in patients with chronic kidney disease (CKD). National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Trendafilov I, et al. Inflammation, serum hepcidin levels and iron supplementation in patients with chronic kidney diseases (CKD) on chronic hemodialysis (HHD). National Conference of Neurology. 13-16.10.2016, „Albena”, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Papazov V, et al. Oxidative stress in hemodialysis patients (HDP) with or without sec-hyperparathyroidism. XLIII<sup>rd</sup> Annual Congress of the European Society for Artificial Organs (ESAO). 14-17.09.2016, Warsaw, Poland
- Yonova D, Georgieva I, Vazelov E, et al. Serum levels of selenium (Se) in patients on hemodialysis (HD) and peritoneal dialysis (PD). XLIII<sup>rd</sup> Annual Congress of the European Society for Artificial Organs (ESAO). 14-17.09.2016, Warsaw, Poland
- Yonova D. Inflammation, hepcidin levels and iron supplementation in patients with chronic kidney diseases on hemodialysis. 17<sup>th</sup> International Conference on Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis & Antioxidants. 13-15.06.2016, Paris, France
- Yonova D. Oxidative stress (OS) in patients with chronic renal failure (CRF). 5<sup>th</sup> Congress of the Macedonian Society of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial organs (MSNDTAO) and 6<sup>th</sup> Southeastern European Pediatric Nephrology working group (SEPNEWG) meeting and Third IPNA teaching course. 09-12.06.2016, Skopje, Macedonia
- Georgieva I, Manolov V, Atanasova B, et al. Preliminary results from measurement of plasma levels of zinc (Zn), selenium (Se), copper (Cu) and magnesium (Mg) in patients on chronic dialysis treatment (CDT). VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Yonova D, Georgieva I, Trendafilov I, et al. Plasma selenium (pSe) in patients with CKD on hemodialysis (HD) without chronic liver diseases (CLD) and with chronic hepatitis or cirrhosis. VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Manolov V, Atanasova B, Yonova D, et al. New diagnostic tools in anemia in chronic kidney diseases (CKD) on CDT. VII<sup>th</sup> National Congress of Neurology. 20-22.11.2015, Hisaria, Bulgaria
- Manolov V, Yonova D, Bogov B, et al. Heparidin, selenium and superoxide dismutase in oxidative stress and in dialysis patients. J Urol Nephrol 2017 2(1):000116



- Manolov V, Hadjidekova S, Petrova J, et al. The role of iron homeostasis in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Neurodegener Dis* 2017;3:011.
- Manolov V, Yonova D, Vazelov E, et al. Oxidative stress in chronic dialysis patients. *Med Rew* 2017;53(1):13-8.
- Manolov V, Yonova D, Velizarova M, et al. Evaluation of oxidative stress in hemodialysis patients. 10<sup>th</sup> National Clinical Laboratory Conference. 29.09-01.10.2016, Golden Sands, Bulgaria
- Manolov V, Yonova D, Vazelov E, et al. Hecpidin and hemodialysis patients in oxidative stress. 24<sup>th</sup> BCLF Congress. 5-7.10.2016, Tirana, Albania
- Manolov V, Petrova J, Bogov B, et al. Evaluation of hepcidin and atherosclerosis in dialysis patients. *Clinical Laboratory GmbH*
- Yonova D, Trendafilov I, Georgieva I, et al. Status and relations of some plasma trace elements (TE) in hemodialysis (HD) patients. *Hippokratia Journal*

### **Contract 2-S/2015 Genotype-phenotype correlations in neurofibromatoses in bulgaria**

**Leading scientist:** Assoc. Prof. Albena Purvanova Todorova-Georgieva, DSc

**Research team:**

- Acad. Prof. Vanyo Mitev PhD, DSc
- Tihomir Todorov, PhD, GMDL Genica OOD
- Iglia Yordanova, PhD
- Maria Glushkova, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry

**RESULTS:** Neurofibromatosis (NF) is a group of heterogeneous autosomal dominant disorders, which affects central nervous system by tumor formations in combination with abnormal skin pigmentation. Within the course of the present research, the team introduced successfully and optimized preselected molecular-genetics methods for diagnostics of *NF1* and *NF2* genes, which include sequencing for point mutations and MLPA for detection of large deletion/duplications in a target cohort of Bulgarian patients with suspected diagnosis of neurofibromatosis. The target cohort of 27 patients was clinically well characterized. The performed molecular-genetic tests revealed 16 mutations in the *NF1* gene, three of which were novel for the literature: a splice site mutation, a small deletion of five bases and a single base duplication. In a patient with diagnosis segmental NF1 a somatic deletion of exons 1-12 was detected in a fresh biopsy from neurofibroma. Two nonsense mutations were found in the *NF2* gene, which were well-known in the literature. Most of the mutations found in Bulgarian patients are described in the literature and they are associated with typical clinical presentation of neurofibromatosis and segmental NF1. The clarification of mutation spectra of the analyzed genes in Bulgarian patients will contribute to the enrichment of the mutation database worldwide. In total, 67% of analyzed patients were genetically verified. In the cases with NF1 diagnosis 70% were genetically verified, which confirms the data for high frequency of NF1 worldwide (1: 3000 newborns). The genotype-phenotype correlations in NF patients are difficult to interpret, due to the extremely complex NF1 phenotype, representing a combination of different clinical features, its strong age dependence and huge genetic heterogeneity in respect to the pathogenic mutations. The genotype is important to be carefully characterized, in order to prove or reject the clinical diagnosis. For these reasons, the molecular-genetic testing and subsequent genetic counselling are strongly recommended.

**Contract 3-S/2015 Adipocytokines and cardio-vascular risk in patients with carbohydrate disturbances****Leading scientist:** prof. Zdravko Asenov Kamenov, MD, PhD, DSc**Research team:**

- Assist. Prof. Antoaneta Gateva, MD, PhD
- Assist. Prof. Yavor Assyov, MD, PhD
- Assist. Prof. Adelina Tsakova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Internal Medicine., University Hospital "Alexandrovska" Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, 1 St. George Sofiyski Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** Adipocytes are a source of various circulating hormones called adipokines. Besides the classically identified – leptin, adiponectin and resistin, recently there has been an identification of novel adipokines, released from the fat tissue which might be associated with insulin resistance and the increased cardio-vascular risk in patients with carbohydrate disturbances. We have shown that serum adiponectin is statistically higher in subjects with normoglycemia as compared to prediabetic individuals and correlates negatively with BMI, waist circumference, immunoreactive insulin and HOMA-IR index. Furthermore, it is of predictive value in distinguishing subjects with insulin resistance. Circulating leptin correlates positively with BMI, fat mass percentage, waist circumference and the marker of endothelial dysfunction LhRHI, as measured by ENDOPAT. It has a good discriminative value for distinguishing subjects with metabolic syndrome. Serum omentin correlates positively with systolic arterial pressure and with total cholesterol and other lipid fractions. After correction for various confounders, in a ROC-analysis it did not reach statistical significance for distinguishing subjects with dyslipidemia. Serum chemerin has a good discriminative value for distinguishing subjects with dyslipidemia in the studied population. Circulating levels of the evaluated adipokines do not correlate with most parameters for micro and macrovascular damage, evaluated in the current study. Similarly, we did not observe statistically significant differences in these parameters between subjects with prediabetes and normoglycemia, despite the trend for a higher frequency in patients with prediabetes.

**Contract 4-S/2015 Association between sensitization to inhalant and food allergens, prevalence and types of allergic diseases and environmental factors****Leading scientist:** Prof. Vasil Dimitrov Dimitrov MD, PhD**Research team:**

- Assoc. Prof. Dr. Maria Staevska-Kotasheva, MD, PhD
- Assit. Prof. Elena Petkova, MD
- Assit. Prof. Denislava Nedeva, MD
- Assit. Prof. Anna Valerieva Dimitrova, MD, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Clinical Centre of Allergology

**RESULTS:** We investigated the relationship between sensitization and clinical manifestations of allergic diseases (rhinitis, asthma, contact dermatitis, urticaria, and angioedema) and environmental factors in 252 volunteers (mean age 42 years) from 8 different geographical and urban areas in Bulgaria. Two groups were defined: urban and agricultural. We found no significant difference in the distribution of rhinitis symptoms according to the type of area ( $p=0.639$ ) and subjects' age ( $p=0.993$ ). There was also no

difference for cough symptoms ( $p=0.419$ ) and "wheezing". There was a significant difference in terms of age and "wheezing" ( $p=0.029$ ) and cough ( $p=0.014$ ). This was also observed for urticaria and type of area ( $p=0.034$ ), in contrast, there was no significant difference for angioedema ( $p=0.403$ ). There was no significant difference for positive skin tests (SPT) with inhalant allergens and area ( $p=0.355$ ), as well as subjects' age ( $p=0.086$ ). Same results were observed in terms of drug reactions and area ( $p=0.321$ ) and age ( $p=0.365$ ). Significant difference between population groups in terms of reported reactions to anesthetics ( $p=0.023$ ), as well as reported insect reactions and type of area ( $p<0.001$ ) were found. There was no significant difference for food reactions ( $p=0.245$ ), and family predisposition ( $p=0.452$ ) and area. SPT with inhalant allergens revealed that most subjects in the selected areas were sensitized to tree, grass and weed pollens (seasonal) and house dust mites, epidermal allergens and molds (perennial). SPT with food allergens revealed that most common sensitization in the study group was to peanut, sesame, soy, cow's milk, and egg white. Patch testing with European standard series showed major sensitization to nickel, p-phenylenediamine, cobalt, potassium dichromate, Peru balsam and colophonium. From the studies conducted, it could be discussed that the increase in morbidity among allergic diseases was observed with the same frequency and distribution, both in urban and industrial environment, as well as in agricultural environment.

#### **Scientific publications and presentations:**

- Petkova E, Valerieva A, Nedeva D, et al. Association Between Environmental Factors and Sensitization to Inhalant and Food Allergens, Prevalance and Types of Allergic Diseases. *Allergies, Hypersensitivity and Asthma* 2016]13(1):24-8.

#### **Contract 5-S/2015 Influence of remote ischemic preconditioning on renal function by patients after cardiac surgery**

**Leading scientist:** Prof. Gentcho Krastev Natchev MD, PhD, DSc

#### **Research team:**

- Prof. Georgy Tsaryanski, MD, PhD
- Antoaneta Dimitrova-Karamfilova, MD, PhD
- Prof. Kamen Tsachev, MD, PhD, DSc
- Assist. Prof. Julieta Hristova-Dimitrova, MD, PhD
- Vera Manolova, MD
- Neda Bakalova, MD
- Natalya Hristova, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Cardiovascular surgery, University Hospital "St. Ekaterina" 52 Georgy Sofiiski Str., 1463 Sofia

**RESULTS:** Aim of the study is to investigate the influence of RIPC on the incidence and severity of AKI in patients following cardiac surgery. 176 high-risk patients undergoing elective cardiac surgery were randomized into two groups. In 87 patients, the study group, RIPC was carried out in three sequential cycles of a 5 minute inflation of a blood pressure cuff on one arm followed by a 5 minute rest. In 89 patients, the control group, the same cycle of inflation and rest was applied, but the cuff was inflated up to only 20 mm Hg. Patients were under general combined anesthesia with Sevoflurane and Propofol. The main endpoint was the development of AKI at 72 hours postoperatively according to the RIFLE criteria and the need for renal replacement therapy (RRT). Additional endpoints were length of stay in the ICU, duration of mechanical ventilation and hospital mortality. The serum creatinine level was tested perioperatively and the markers for acute kidney injury NGAL in serum and KIM-1 in urine were tested. We found a difference in the mean values of KIM-1 and NGAL

between the study group (KIM-1- 0,525ng/ml; NGAL-329,8 ng/ml) and the control group (KIM-1- 0,572 ng/ml; NGAL- 318,8 ng/ml,  $p < 0,001$ ). We found no difference in the mean values of creatinine: 114,3  $\mu\text{mol/l}$  for the study group and 117,2  $\mu\text{mol/l}$  for the control group,  $p = 0,77$ . The AKI stage assessed according to the RIFLE classification did not differ significantly between the two groups on the 24<sup>th</sup>, 48<sup>th</sup> and 72<sup>nd</sup> hour. The incidence of RRT initiated by the end of the third postoperative day was comparable in the two groups: 11 patients in the RIPC group versus 10 patients in the control group,  $p = 0,76$ . NGAL is a good predictor for the initiation of RRT at 72 hours postoperatively: AUC 0,79 in the RIPC group and 0,78 in the control group. No statistically significant difference was found between the two groups in terms of duration of mechanical ventilation, ICU length of stay and 30-day mortality. In this single center prospective study among high-risk cardiac surgery patients the application of RIPC did not change the incidence or degree of AKI according to the RIFLE criteria in the first 72 hours. The changes in the biomarkers KIM-1 and NGAL were not unidirectional. The value of NGAL postoperatively can be used as a predictor for the need for RRT in the first 72 hours postoperatively. The effect of RIPC on reducing the need for RRT in those patients requires further investigation.

**Scientific publications and presentations:**

- Tsaryanski G, Dimitrova-Karamfilova A, Hristova-Dimitrova J, et al. Influence of remote ischemic preconditioning upon kidney function in patients after cardiac surgery, *Anesthesiology and intensive care*, 2016;4.

**Contract 6-S/2015 New, thermodynamic methods for registration and analysis of the changes in the state of the plasma proteome and the cerebrospinal fluid in cancer and autoimmune diseases**

**Leading scientist:** Prof. Boris Gotsev Tenchov, PhD, DSc

**Research team:**

- Assist. Prof. Borislava Antonova, PhD
- Assist. Prof. Lili Athanasova
- Emanuil Naidenov, MD
- Assoc. Prof. Dobroslav Kyurkchiev
- Assoc. Prof. Regina Komsa-Penkova, PhD, MU-Pleven
- Leyla Nazim, student
- Chanka Andreeva, student
- Blaga Vitanova, student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine

**RESULTS:** Using a new, based on DSC approach, we characterized the changes in the denaturational heat capacity profiles of blood plasma and cerebrospinal fluid (CSF) induced by brain tumors (glioblastoma multiforme and high-degree gliomas) and by the autoimmune disorder multiple sclerosis (MS). The analysis of the DSC data resulted in the following conclusions of importance: DSC has certain potential as a diagnostic method able to clearly differentiate between MS conditions of different gravity, as well as to evaluate the effect of therapeutic treatments. Grave MS forms resulted in significant differences between plasma denaturational profiles of MS patients and the respective profiles for healthy individuals. These differences reflect changes in the plasma proteome composition and display as a substantial decrease of the albumin fraction accompanied by a significant increase of the globulin fractions. Contrary to a widely held paradigm, plasmapheresis of the blood of MS patients does not result in a decrease of the globulin fractions, but has exactly the opposite

effect. It results in a relative increase of the globulins at the expense of decreased albumin fraction. This effect was observed for both MS patients and healthy individuals and it is obviously generally valid. It indicates that the reasons for the beneficial plasmapheresis effects are not due to a decrease of the globulin fractions, but should be sought elsewhere. Albumin oxidation results in a decrease of its denaturational peak, not accompanied by changes in its denaturation temperature. This result shows that the albumin peak decrease observed in grave MS forms might be due to oxidative stress. The heat capacity profiles of CSF from patients with brain tumors fall into several groups of profiles with distinctly different shapes. However, we were unable to find correlations of these groups with specific tumor characteristics described in the epicrises.

**Scientific publications and presentations:**

- Sezanova B, Antonova B, Naydenov E, et al. "Changes in the state of the plasma proteome and cerebrospinal fluid in glioblastoma multiforme" p.99, 12-th National Medical Physics and Biomedical Engineering Conference with international participation, 3-5 Nov 2016, Sofia, Bulgaria

**Contract 7-S/2015 Analysis of a panel of genes associated with a predisposition for the development of familial breast cancer and ovarian cancer, by next generation sequencing**

**Leading scientist:** Acad. prof. Vanyo Mitev, MD, PhD, DSc

**Research team:**

- Assoc. Prof. Radka Kaneva, PhD
- Assist. Prof. Atanaska Mitkova, PhD
- Daniela Rosenova Dacheva, PhD student
- Romyana Ivanova Dodova, PhD
- Ivan Emilov Popov, PhD
- Darina Kachakova-Yordanova, PhD
- Reni Tzeova PhD
- Kunka Kamenarova, PhD
- Gergana Stancheva, PhD
- Silva Giragosyan, PhD student

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Medicine, Dept. of Medical Chemistry and Biochemistry, Molecular Medicine Center, 2 Zdrave Str., 1431 Sofia

**RESULTS:** It has been estimated that about 5% to 10% of breast cancers and 15 to 20% of ovarian cancers are hereditary. Germline mutations in the highly penetrant cancer susceptible genes *BRCA1/2* account for the majority of the cases with HBOC. Advances in next generation sequencing technologies make massive parallel sequencing more feasible and afford an efficient hereditary gene panel testing of HBOC patients. In the present study we included a group of 48 Bulgarian high-risk HBOC patients, selected following the recognized BCLC and NCCN criteria for genetic testing. Ten of them were *BRCA1/2* mutation carriers selected for validation of the technology. The mutation screening was performed by NGS in a panel of 94 cancer related genes (TruSight Cancer Panel, Illumina) on a MiSeq platform (Illumina). All detected mutations were confirmed by Sanger sequencing. Fifteen pathogenic mutations (14 frameshift, and 1 missense) were observed in 18 out of 48 HBOC patients. All 10 *BRCA1/2* mutations from the validation set were confirmed with high accuracy and coverage. Other pathogenic variants were found in 21.05% (8/38) of the patients with unknown genetic predisposition: 5 damaging FS *BRCA1/2* mutations, followed by three

missense mutations in *AIP*, *WT1* and *BUB1B*, respectively. The performed *in silico* analysis identified 11 probably damaging variants (3 in *BRCA1/2* and 8 in other cancer related genes). Four of the mutation carriers harbored two pathogenic variants in two different genes. Our result suggested that the hereditary multi-gene cancer panel (TruSight Cancer, Illumina) on the NGS platform MiSeq (Illumina) offers new opportunities in the diagnosis and clinical management of cancer susceptibility, with improved power to identify more Bulgarian HBOC patients who are carrying undiagnosed pathogenic mutations.

**Scientific publications and presentations:**

- Mitkova A, R Dodova, D Pencheva, et al. "Mutation screening of Bulgarian hereditary breast and ovarian cancer patients with multi-gene cancer panel" 24<sup>th</sup> Biennial Congress of the European Association for Cancer Research, Vol 61 Supplement 1, Jul 2016
- Dodova R. Study of genes associated with a predisposition for the development of familial breast and ovarian cancer by next generation sequencing Symposium "Acad. Chudomir Nachev," 2016, Sofia Bulgaria

**Contract 8-S/2015 Design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel galantamine derivatives - third stage**

**Leading scientist:** Prof. Irini Atanas Doytchinova, PhD, DSc.

**Research team:**

- Assist. Prof. Georgi Stavrakov, PhD
- Assist. Prof. Dimitrina Zheleva-Dimitrova, PhD
- Nikola Yordanov, PhD student

**Organization unit:** MU – Sofia, Faculty of Pharmacy, 2 Dunav st., 1000 Sofia

**RESULTS:** Thirty six novel derivatives of galantamine (GAL), divided into two sets, were designed. The compounds from set A contain a bulky aliphatic fragment (camphane) attached to a N-alkylamide chain of different length, while the compounds from set B contain a small aromatic fragment (phenyl) attached to the same chains. The compounds were docked into the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and the energy of the complexes was evaluated under conditions optimized in the first two stages of the project. Seventeen compounds were selected among the best scored compounds: 6 compounds from set A and 11 compounds from set B. The selected compounds were synthesized and tested for anticholinesterase activity. GAL was used as a control. All 17 novel derivatives showed an activity between 11 and 1338 times higher than the activity of GAL. The compounds of set A are less active than the compounds from set B. In both sets, the terminal fragments are positioned in the peripheral anionic site (PAS) of AChE and inhibit the binding of A $\beta$  peptide. The two most active compounds 5d and 7d are directed to preclinical studies: acute toxicity tests, *in vivo* AChE activity, effects on memory and cognition.

**Scientific publications and presentations:**

- Stavrakov G, Philipova I, Zheleva D, et al. Docking-based design of galantamine derivatives with dual-site binding to acetylcholinesterase. *Mol Inf* 2016;35:278-285.
- Stavrakov G, Philipova I, Zheleva-Dimitrova D, et al. Docking-based design and synthesis of galantamine-camphane hybrids as inhibitors of acetylcholinesterase. *Chem Biol Drug Des.* 2017;1-10.
- Doytchinova I, Stavrakov G, Philipova I, et al. Galantamine derivatives as dual-site binding acetylcholinesterase inhibitors. 6th Congress of Pharmacy, Sandanski, Oct 13-16, 2016.

**Contract 9-S/2015 Study the role of some etiological factors for the occurrence of idiopathic urticaria and angioedema****Leading scientist:** Assoc. Prof. Maria Stoyanova Dencheva, PhD**Research team:**

- Prof. Angelina Kisselova-Yaneva, PhD, DMS
- Prof. Vasil Dimitrov, PhD, DMS
- Maya Ljapina, MD, PhD
- Assoc. Prof. Dimitar Iovchev, PhD
- Stella Hristova, student
- Elena Petkova, MD
- Denislava Nedeva, MD
- Anna Dimitrova, MD
- Nikolay Rusekov, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Dental medicine, 1 St. George Sofiyski Str , 1431 Sofia

**RESULTS:** Modern dental treatment is associated with the usage of different dental materials. Their influence is diverse and often associated with negative consequences such as the occurrence of mucosal lesions, burning mouth syndrome and even urticaria and angioedema. **Aim:** To investigate the allergic potential of some dental materials, their ingredients and the latex allergen as well as their role in the occurrence of idiopathic angioedema and urticaria. Study was based on three groups of patients with urticaria (n = 39), angioedema (n = 11) and healthy controls (n = 60). The methods of complex focal diagnostics, allergic tests and some blood tests have been performed. Study proves that patients with idiopathic urticaria and angioedema are highly sensitized to dental materials, have poor oral health and are carriers of active fields of disturbance in maxillo-facial area in comparison with the healthy control group. In both working groups, we find out decreased levels of vit. D, elevated TAT and MAT values. One fifth of patients with urticaria are positive to H. pylori antigens in a stool sample. We have not found evidence of the effects of latex and food allergens as a cause of idiopathic form of urticaria and angioedema. The electrolyte profile of patients is unchanged and within the normal range of C1, C3 and C4 esterase inhibitor. The microbiological finding in patients groups did not show the prevalence of a specific bacterial agent. We found that the chance of developing idiopathic urticaria and angioedema is almost five times higher in patients with inflammatory disease and with sensitization on dental materials and is once elevated at DMFT score over 18.

**Scientific publications and presentations:**

- Dencheva M, M Lyapina, A Kisselova, et al. [Study the role of some etiological factors for the occurrence of idiopathic urticaria and angioedema] Sbornik nauchni trudove. Jubilee scientific session "45 years Faculty of dental medicine Plovdiv" 2015,16-31
- Dencheva M, E Petkova, M Lyapina. [Dental treatment- a reason for chronic urticaria and angioedema.] Евразийский Союз Ученых, 2016;4(25):104-7.
- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. Disturbance fields in maxilla-facial area as a reason for idiopathic urticaria and angioedema. IJDR, 2017;07(01):11336-42.
- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. The role of sensitization to dental materials for the manifestation of idiopathic urticaria and angioedema. Medinform, 2017;1:575-90.
- Dencheva M. Dental materials a possible reason for idiopathic urticaria and angioedema. European congress of laser dentistry. 30 Mar – 01 Apr 2017, Plovdiv, Bulgaria

- Dencheva M, Ljapina M, D Iovchev, et al. DMFT index and some biochemical indicators in patients with idiopathic urticaria and angioedema. 22<sup>nd</sup> BaSS Congress, 4-6 May, 2017, Thessaloniki, Greece

## GRANTS FOR BUILDING RESEARCH INFRASTRUCTURE 2015

**Contract 1-I/2015 Development and implementation of EDC platform for epidemiologic research and registries for health conditions with high social impact by affiliating of MU-Sofia to the international consortium REDCap**

**Leading scientist:** Prof. George Christoff Christoff, MD, PhD

**Research team:**

- Assos. prof. Antonia Yanakieva, PhD
- Prof. Nevena Tsacheva, MD, DS
- Assoc. prof. Milena Yancheva, PhD
- Assist. prof. Todor Kundurjiev, PhD
- Assist. prof. Alexandrina Vodenicharova, PhD
- Assist. prof. Svetlin Georgiev
- Assist. prof. Stefan Velikov, PhD
- Radoslav Mladenov, MD, PhD
- Petar Chavdarovski, MD

**Organization unit:** MU - Sofia, Faculty of Public Health, Dept. of Health Technology Assesments

**RESULTS:** In the intranet of MU-Sofia a WEB-based REDCap platform for EDC is ntergrated. It can be accessed at: [www.redcap.mu-sofia.bg](http://www.redcap.mu-sofia.bg). Basic system settings are performed and certain characteristics are defined. An administrative team for running and supporting the platform was formed. A procedure and rules for using the platform by different user are developed and implemented. Previously organised registries for benign prostate hyperplasy and occupational medical health problems are transfered to REDCap system. Medical practioners and hospital managers as well as faculty staff of FPH were inform during special meeting about the availability of the REDCap system and and its potential in the field of epidemiology research and medical registries. The results achieved are sustainable for the installed software is an asset for multiple usages. The cpacity of MU-Sofia servers is huge and in that way it can provide space for hundreds of registries in different medical specialities and facillitate its access and management. The implementation of the platform for EDC will ensure the HTA department and FHP, MU-Sofia means to improve and advance its scientific and practical activities.

**Scientific publications and presentations:**

- Velikov S, Yanakieva A, Georgiev S, et al. EDC method for collecting medical practice data. Medical magazine. 2016;27:36-41.
- Velikov S, Yanakieva A, Georgiev S, et al. Implementing of REDCap platform for capturing everyday medical data. Medical magazine. 2016;28:38-41.



- Velikov S, Vodenicharova A, Popov N. New trends of training in information technology in medical college of Sofia. J Edu Instruct Stud World. 2016;6, SII(8):48-53.
- Velikov S, Vodenicharova A, Popov N. New trends of training in information technology in medical college of Sofia. 7th International Congress on New Trends in Education, Antalya, Turkey, 13-15 May 2016, 114.

**G**

Giuseppe Lauria · 82, 267

**A**

Аделина Цакова · 66, 136, 141, 149, 205, 213  
 Адиле Мухтарова · 52, 98  
 Адриана Иванова Бочева · 44, 102  
 Албена Кирилова Йорданова · 106  
 Албена Първанова Тодорова · 34, 94, 205, 212  
 Албена Първанова Тодорова-Георгиева · 34, 94, 212  
 Албена Спасова · 153  
 Албена Телчарова · 148  
 Албена Тодорова · 33, 99, 109, 147  
 Албена Тодорова-Георгиева · 33, 147  
 Александра Александрова · 54, 107  
 Александра Николаева Дончева · 174  
 Александра Николаева Маркова · 200  
 Александра Савова · 158  
 Александра Цветанова Савова · 87, 160  
 Александрина Влахова · 75  
 Александрина Воденичарова · 220  
 Александър Борисов Златков · 119  
 Александър Георгиев Стойнев · 49, 103  
 Александър Копчев · 142  
 Александър Михайлов Шкондров · 166, 185  
 Александър Червеняков · 62  
 Александър Шкондров · 41, 113, 120  
 Алексей Йорданов Алексеев · 33, 99  
 Алексей Савов · 83  
 Алексей Славков Савов · 73  
 Алън Начев · 61  
 Анастас Баталов · 155  
 Анастас Пашов · 125  
 Анастасия Михайлова · 124  
 Ангел Дандов · 95  
 Ангелина Илиева Киселова-Янева · 76, 156, 206  
 Ангелина Киселова-Янева · 218  
 Андрей Иванов · 95  
 Андрей Киров · 34, 94, 205  
 Анелия Василева · 100  
 Анелия Димитрова-Каменова · 157  
 Анелия Кузева · 35, 93  
 Анелия Христова Буева · 63  
 Анета Иванова · 71  
 Анета Попиванова · 67  
 Анита Марковска · 91  
 Анна Валериева Димитрова · 197  
 Анна Димитрова · 214, 218

Анна Маринова · 162  
 Анна Петрова · 91  
 Анна Руменова Загорска · 171, 190  
 Антоанета Байрактарова · 77  
 Антоанета Гатева · 141, 205, 213  
 Антоанета Димитрова-Карамфилова · 68, 214  
 Антоанета Млъчкова · 132  
 Антон Койчев · 75  
 Антония Добрева · 156  
 Антония Исаева · 43, 105, 122  
 Антония Янакиева · 220  
 Асен Венциславов Бусарски · 125  
 Асен Иванов Николов · 78  
 Асен Хаджиянев · 77  
 Асена Стоименова · 87, 158  
 Асена Христова Стоименова · 88  
 Ася Кръстева-Панова · 76, 156, 206  
 Атанаска Еленкова · 36, 152  
 Атанаска Кънева · 61  
 Атанаска Миткова · 36, 57, 62, 63, 75, 106, 108, 126, 217

**Б**

Биляна Георгиева · 94  
 Биляна Грозданова Михайлова · 196  
 Бисера Атанасова · 128, 129, 210  
 Бистра Костова · 46  
 Блага Витанова · 216  
 Блага Рукова · 109  
 Богдан Петрунов · 76, 206  
 Бойка Георгиева Цветкова · 32  
 Бойка Цветкова · 117  
 Бойчо Василев Ланджов · 59, 97  
 Борис Гоцев Тенчов · 111, 215  
 Борис Илиев Богов · 80  
 Борислав Владимиров · 195, 209  
 Борислав Георгиев Владимиров · 146, 207  
 Борислав Цанков · 46, 51, 116  
 Борислава Мирчева · 216  
 Борислава Фильова · 56  
 Боряна Младенова-Николова · 34  
 Боряна Николова-Младенова · 42, 118  
 Боряна Петрова Слънчева · 67

**В**

Валентин Карабелъв · 101  
 Валентин Лозанов · 100, 114, 136  
 Валентин Мартинов Пенчев · 171, 189  
 Валентин Пенчев · 64

Валентина Любенова Пейчева · 192  
 Валентина Пейчева · 60  
 Валентина Петкова · 87, 157, 160  
 Валентина Попова · 53  
 Валентина Решкова · 141, 142  
 Валентина Хаджинешева · 104  
 Ваньо Везиров · 111  
 Ваньо Иванов Митев · 57, 105, 216  
 Ваньо Митев · 33, 34, 36, 48, 53, 57, 61, 62, 63, 64, 75,  
 92, 94, 99, 100, 105, 106, 122, 123, 126, 205, 212  
 Ваня Милошева Юрукова · 154  
 Ваня Николова Масларска · 117  
 Ваня Юрукова · 127  
 Васил Димитров · 197, 213, 218  
 Васил Димитров Димитров · 213  
 Васил Павлов · 75  
 Велимир Папазов · 210  
 Величка Досева-Панова · 69, 132  
 Венера Николова · 50, 104  
 Венета Паскалева-Пейчева · 84  
 Венцел Младеновски · 75  
 Вера Ангелова Хаджимитова · 34  
 Вера Дамянова · 109  
 Вера Манолова · 214  
 Весела Балабанова · 39, 114, 115  
 Весела Валентинова Лозанова · 187  
 Весела Васкова Райкова · 131  
 Весела Вичева · 113  
 Весела Карамешева · 78  
 Весела Лозанова · 100  
 Весела Райкова · 74, 81, 131, 138  
 Веселин Гълъбов · 156  
 Веселин Илинов · 75  
 Виктор Братков · 41, 113  
 Виктор Манолов · 84, 128, 129, 210  
 Виктор Славов · 109  
 Виктория Георгиева · 35  
 Виктория Илиева · 44  
 Виолета Димитрова · 105, 122  
 Виолина Стоянова · 101  
 Вирджиния Йорданова Цанкова · 46, 116  
 Вирджиния Цанкова · 41, 113, 119  
 Вихрен Николаев Петков · 91  
 Владимир Барановски · 87  
 Владимир Богданов · 72  
 Владимир Василев · 152  
 Владислава Тодорова · 80  
 Влайко Воденичаров · 157

---

**Г**

Габриела Манова · 62  
 Галина Гергова · 37  
 Галина Добревска · 60

Галина Жегова · 43  
 Галя Атанасова · 92  
 Галя Златанова-Рашкова · 64  
 Генчо Генчев · 133  
 Генчо Кръстев Начев · 214  
 Георги Богданов · 58  
 Георги Велев · 75  
 Георги Георгиев · 59, 97, 150  
 Георги Димитров · 48, 91, 92, 128  
 Георги Кирилов · 152  
 Георги Кирилов Георгиев · 152  
 Георги Момеков · 42, 118, 121  
 Георги Николов · 76, 206  
 Георги Петков Пехливанов · 81, 138  
 Георги Поптодоров · 126  
 Георги Ставраков · 204, 217  
 Георги Стаменов · 108  
 Георги Тодоров Тодоров · 74  
 Георги Христов Христов · 220  
 Георги Царянский · 214  
 Гергана Василева · 67  
 Гергана Манолова-Георгиева · 82, 138  
 Гергана Станчева · 62, 63, 106, 126, 217  
 Гергана Стоянова · 83, 98, 139  
 Гергана Цветкова · 130  
 Грета Грозева-Дамянова · 151  
 Григорий Иванов Неделков · 147  
 Грозданка Лазарова · 100  
 Гюлнас Джебир · 57, 65, 140

---

**Д**

Даниел Илиев Илиев · 149  
 Даниел Йорданов · 37  
 Даниел Марков · 156  
 Даниела Атанасова · 38  
 Даниела Георгиева Василева · 176  
 Даниела Дачева · 36, 53, 57, 61, 64, 75, 100, 106, 107,  
 123, 217  
 Даниела Пенчева · 108  
 Даниела Пехливанова · 49, 103  
 Даниела Росенова Дачева · 170  
 Даниела Росенова Пенчева · 189  
 Данка Обрешкова · 32  
 Данчо Даналев · 44  
 Дарвин Славчев Иванов · 42, 118  
 Дарина Качакова · 63, 78, 96, 108, 144, 145  
 Дейвид Икономов · 33  
 Денислава Недева · 214, 218  
 Деница Димитрова · 154  
 Десислава Жекова · 55  
 Десислава Иванова Жекова · 164  
 Десислава Калинова · 141, 142  
 Десислава Нешева · 56, 109

Десислава Пашкулева · 159  
 Диана Йорданова · 78  
 Диана Людиева · 77  
 Диана Петрова Попова · 96  
 Диана Христова · 150  
 Диана Христова Йонова-Иванчева · 210  
 Дилян Фердинандов · 125  
 Диляра Маринова · 101  
 Димитрина Желева-Димитрова · 39, 40, 114, 115, 204, 218  
 Димитринка Атанасова · 95  
 Димитринка Димитрова-Диканарова · 56  
 Димитринка Митева · 83  
 Димитър Добринов Чаръкчиев · 36  
 Димитър Йовчев · 218  
 Димитър Костадинов · 63, 127  
 Димитър Кочев · 102  
 Димитър Първанов · 108  
 Димитър Рачев · 46  
 Димитър Стаматов · 60  
 Димитър Темелков Костадинов · 153  
 Димитър Чаръкчиев · 152  
 Димо Кръстев · 77  
 Добрин Аврамов Свиначков · 136  
 Добрин Василев · 136, 137  
 Добрина Караяшева · 47  
 Добринка Иванова · 53  
 Добромир Танев · 73  
 Доброслав Кюркчиев · 139, 144, 155, 216  
 Доброслав Станимиров Кюркчиев · 142  
 Дора Маринова · 63, 127  
 Доротея Александрова · 100  
 Драга Тончева · 56  
 Драгомира Николова · 109

**Е**

Евгени Витков Меков · 178  
 Евгени Меков · 127  
 Евгений Възелов · 210  
 Евгений Хаджиев · 129  
 Евгений Юриев Харитов · 194  
 Екатерина Иванова-Тодорова · 139, 142, 144, 154, 155  
 Екатерина Куртева · 142  
 Екатерина Стоянова Ботева · 47  
 Елена Петкова · 213, 218  
 Елина Петрова · 42  
 Елина Свиленова Петкова · 184  
 Елисавета Йорданова Наумова · 124  
 Елисавета Наумова · 79  
 Елисавета Стефанова · 147  
 Елица Голкочева-Маркова · 143  
 Елка Василева-Ганова · 91  
 Елка Попова · 35

Елка Радева · 133  
 Емануела Цветкова Захариева · 181  
 Емануил Найденов · 216  
 Емил Влайков Воденичаров · 157  
 Емил Шалдъров · 149  
 Емма Кьолеян · 100

**Ж**

Жанет Николова · 134  
 Жейна Чернева · 136, 137  
 Жоржета Стоянова Бочева · 58  
 Жулиета Христова-Димитрова · 68, 129, 214

**З**

Зафер Сабит · 56  
 Здравка Абаджиева · 152  
 Здравка Дренкова · 67  
 Здравко Асенов Каменов · 81, 204, 213  
 Здравко Каменов · 82, 141  
 Зефира Михнева · 143  
 Златимир Господинов Коларов · 145  
 Златимир Коларов · 73  
 Златина Коканова-Недялкова · 45, 121  
 Златина Ненчовска · 95  
 Зора Хамуде · 56  
 Зорница Каменарска · 65, 140  
 Зорница Михайлова · 122  
 Зорница Спасова-Миткова · 158  
 Зоя Васкова · 136, 137

**И**

Ива Димитрова · 97  
 Ива Митева · 90, 161  
 Ивайла Узунова · 152  
 Ивайло Еленков · 71  
 Ивайло Петров Иванов · 100  
 Ивайло Рангелов · 108  
 Ивайло Търнев · 64, 94, 123  
 Иван Гергов Митов · 74, 131  
 Иван Димитров · 204  
 Иван Иванов · 133, 146  
 Иван Йорданов Шейтанов · 155  
 Иван Митов · 38, 52, 53, 98, 100, 131  
 Иван Олегович Литвиненко · 60  
 Иван Попов · 36, 57, 92, 106, 140, 217  
 Иван Трендафилов · 210  
 Иван Цветанов Вълков · 177  
 Иванка Исталианова Димова · 55, 109  
 Иванка Огнянова Галева · 79, 140

Ивелина Асенова · 32  
Ивелина Жекова · 143  
Ивелина Химчева · 44  
Ивет Борисова Колева-Йошинова · 77  
Ивета Маринова · 162  
Иво Кременски · 57, 61  
Иво Сираков · 52  
Иглика Йорданова · 94, 212  
Иглика Петрова Станчева · 179  
Иглика Станчева · 54  
Илиана Илиева Йонкова · 32, 112  
Илина Брайнова-Мичич · 97  
Илина Николаева Кръстева · 41, 113, 120  
Илия Фидошев · 75  
Илияна Атанасова Борисова · 151  
Ина Георгиева · 210

---

**Й**

Йоанна Матророва · 152  
Йордан Генов · 146, 160  
Йордан Георгиев Генов · 209  
Йордан Гълъбов · 156

---

**И**

Ирен Цочева · 66  
Ирена Петкова Костова · 50  
Ирина Лазарова · 40, 114  
Ирина Чакърва · 50, 104  
Ирини Атанас Дойчинова · 204, 217  
Ирини Атанас Дойчинова-Цекова · 204  
Ирини Дойчинова · 39

---

**К**

Калина Динкова Тумангелова · 178  
Калина Йонкова Михова · 172, 193  
Калина Каменова · 110  
Калина Тумангелова-Юзеир · 139, 142, 144, 154  
Калоян Павлинов Павлов · 202  
Калоян Павлов · 160, 209  
Камелия Костадинова Богданова · 203  
Камен Николаев Цачев · 68, 128  
Камен Пирински · 75  
Камен Цачев · 80, 84, 129, 210, 214  
Карела Майнхард · 61  
Каролина Дошева Любомирова · 161  
Каролина Любомирова · 90  
Кирил Карамфилов · 137  
Кирил Любенов Найденов · 48, 92  
Кирил Младенов · 157

Кирил Петров · 49, 103  
Константин Митов · 157, 160  
Константин Ташков · 158  
Костадин Ангелов · 74  
Костантин Гроздев · 75  
Красимир Визев · 91  
Красимир Коев · 123  
Красимир Христов · 122  
Красимира Йончева · 116  
Красимира Павлова Йончева · 51  
Кремена Славова · 109  
Кунка Каменарова · 60, 64, 106, 123, 217

---

**Л**

Лаура Стефанова Андреева-Гургуриева · 72  
Лейла Назим · 216  
Лена Петрова Сечанова · 54, 107  
Лидия Христова · 90  
Лили Атанасова · 216  
Лили Пейкова · 32, 117  
Лилия Александрова Витанова · 55  
Лилия Антонова Андонова · 165  
Лилия Вакрилова · 67  
Лилия Витанова · 35  
Лилия Владимирова · 136, 137  
Лилияна Райчева · 66  
Лина Малинова · 59, 97  
Любка Стоянова-Митева · 138  
Любка Танчева · 111  
Любомир Асенов Дурмишев · 65, 140  
Любомир Балабански · 56  
Любомир Досев · 136, 137  
Любомир Маринов · 120  
Любомир Трайков · 111  
Любомир Трифонов Маринов · 191  
Людмила Боянова Георгиева · 37  
Людмила Владимирова · 70  
Людмила Кънчева · 71  
Людмила Янкова · 102

---

**М**

Магдалена Кондева-Бурдина · 40, 41, 45, 46, 113, 116, 119  
Майя Маркова · 50, 104  
Маноела Манова · 87, 89, 159  
Маноела Методиева Манова-Овчарова · 157  
Манол Соколов · 75  
Маргарита Ганева · 148  
Маргарита Каменова · 126  
Мариана Гойчева · 143  
Мариана Цекова-Янева · 76, 206

Мариела Борисова Василева · 181  
 Мариела Василева · 74  
 Мариела Янева-Деливерска · 76  
 Марина Александрова · 71  
 Мария Вълчева-Трайкова · 58  
 Мария Глушкова · 47, 212  
 Мария Денчева · 76, 206  
 Мария Денчева-Гарова · 76  
 Мария Димитрова · 88, 89, 158, 159, 160  
 Мария Димитрова Драгнева · 105  
 Мария Камушева · 88, 159, 160  
 Мария Лалева · 126  
 Мария Николова · 71  
 Мария Средкова · 53  
 Мария Стаевска-Коташева · 213  
 Мария Стоянова Денчева · 218  
 Мария Трайкова · 51  
 Мария Христова · 65, 140  
 Марияна Атанасова · 204  
 Марта Балева · 154  
 Марта Славкова · 87  
 Мартин Мариянов · 72  
 Мая Визева · 91  
 Мая Георгиева · 119  
 Мая Кичева · 69, 132  
 Мая Ляпина · 76, 206, 218  
 Мая Рашева Рашкова · 43  
 Мелания Радионова · 94  
 Миглена Георгиева Кирилова-Донева · 89, 158  
 Миглена Кирилова-Донева · 88, 160  
 Миглена Копринарова · 34, 56, 109  
 Мила Димитрова Ковачева-Славова · 194  
 Мила Ковачева-Славова · 207  
 Милен Венциславов Димитров · 87, 160  
 Милена Велизарова · 84, 128  
 Милена Георгиева Велizarова · 66, 129  
 Милена Иванова-Кръстанова · 79, 140  
 Милена Мурджева-Андонова · 104  
 Милена Стойчева · 161  
 Милена Табанска-Петкова · 90, 161  
 Милена Янчева-Стойчева · 90, 150, 220  
 Милко Маринов Сираков · 150  
 Мимоза Цветкова · 44, 102  
 Мирена Каймаканова · 119  
 Мирослав Михайлов · 127  
 Мирослава Варадинова · 110  
 Михаела Димитрова-Младенова · 147  
 Михаела Младенова · 205  
 Михаела Сашова Димитрова-Младенова · 198  
 Михаил Михайлов · 56  
 Младен Германов Пенчев · 180  
 Мохамед Хаят · 75

---

**Н**

Надежда Римпова · 149  
 Надка Иванова Бояджиева · 60, 110  
 Надя Георгиева Христова-Авакумова · 185  
 Надя Митова · 43  
 Надя Христова-Авакумова · 34  
 Наталия Гатева · 135  
 Наталия Христова · 122, 215  
 Наталия Христова Грънчарова · 122  
 Невена Гешева · 124  
 Невена Костова Цачева-Христова · 90  
 Невена Цачева-Христова · 161, 220  
 Невена Чакърва · 151  
 Неда Бакалова · 215  
 Неци Низамова · 111  
 Нели Жекова · 67  
 Нелина Зарева · 117  
 Никола Йорданов · 204, 218  
 Николай Кътев · 75  
 Николай Стоилов · 143  
 Николай Василев · 101  
 Николай Велинов · 126  
 Николай Горанов · 75  
 Николай Дамянов Данчев · 120  
 Николай Дамянов Данчев · 40  
 Николай Данчев · 46, 116  
 Николай Денков · 39, 114, 115  
 Николай Димитров Ишкитиев · 167  
 Николай Еленков Лазаров · 95  
 Николай Ишкитиев · 43, 105, 122  
 Николай Кръстев · 77  
 Николай Ламбов · 51  
 Николай Русеков · 218  
 Николай Стефанов Габровски · 126  
 Николай Стойнев · 56  
 Николай Улевинов · 98  
 Нина Янчева · 71  
 Нина Яръкова · 67  
 Ния Сърбянова · 62

---

**О**

Огнян Георгиев · 155  
 Олга Белчева · 48, 57, 64, 92  
 Олег Георгиев Чолаков · 62

---

**П**

Павел Джуров · 110  
 Павел Кирилов Станимиров · 122  
 Павел Станимиров · 122  
 Павел Теохаров · 143

Павлина Гатева · 56, 101  
 Павлинка Добрилова · 162  
 Павлинка Попова · 33, 112  
 Параскев Недялков · 45  
 Параскев Тодоров Недялков · 121  
 Пенка Ангелова Маринова · 162  
 Пенка Георгиева · 91  
 Пенка Илиева Переновска · 83, 139  
 Пенка Переновска · 66, 98  
 Петар Чавдаровски · 220  
 Петко Минчев · 98  
 Петранка Здравева · 41, 113, 120  
 Петър Великов · 139  
 Петър Грибнев · 75  
 Петя Ангелова · 81  
 Петя Купенова · 55, 93  
 Петя Николова Купенова-Шербанова · 35  
 Петя Радулова · 67  
 Пламен Гецов · 147  
 Пламен Попиванов · 150

---

**P**

Рада Ганчева · 155  
 Рада Николаева Ганчева · 176  
 Радина Иванова · 82  
 Радислав Венциславов Наков · 199  
 Радка Кънева · 36, 48, 53, 57, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 75,  
 78, 92, 96, 100, 106, 123, 126, 140, 145, 148, 217  
 Радка Петрова Кънева · 56, 108  
 Радка Тафраджийска · 44, 56, 101, 102  
 Радка Тинчева · 147  
 Радой Димитров · 135  
 Радослав Байкушев · 74, 131  
 Радослав Клисуров · 60  
 Радослав Младенов · 220  
 Райна Цветанова Гергова · 52, 98  
 Ралица Живкова · 50  
 Ралица Златанова-Великова · 91  
 Ралица Панчева · 136, 137  
 Ралица Робева · 73  
 Ралица Стефанова Живкова · 104  
 Рашо Колев Рашков · 141  
 Рашо Рашков · 73, 142  
 Регина Комса-Пенкова · 216  
 Ренета Гевренова · 40, 115  
 Ренета Славова Гевренова · 39, 114  
 Рени Стойова Цвеова · 169  
 Рени Цвеова · 48, 92, 106, 123, 148, 217  
 Розалия Христова Христова · 201  
 Розалия Циканделова · 105, 122  
 Роман Ташев · 44, 102  
 Росен Кирилов Николов · 70  
 Росен Коларов · 156

Росица Вачева-Добревска · 134  
 Росица Дачева · 145  
 Росица Димова · 53  
 Росица Илиева Кабакчиева · 135  
 Росица Кабакчиева · 122  
 Росица Каралилова · 155  
 Росица Методиева · 60, 110  
 Росица Младенова · 90  
 Росица Николова · 152  
 Ружа Николова · 90, 161  
 Румен Георгиев Димитров · 61  
 Румен Димитров · 50  
 Румен Малинов Стоилов · 143  
 Румяна Бойкова Димова-Драганова · 175  
 Румяна Димова-Драганова · 151  
 Румяна Додова · 57, 61, 75, 106, 217  
 Румяна Донкова Марковска-Давидкова · 53, 100  
 Румяна Марковска-Давидкова · 37  
 Румяна Митова · 146, 209  
 Румяна Митрева · 49, 103  
 Румяна Симеонова · 40, 41, 45, 46  
 Румяна Събчева Търновска-Къдрева · 137  
 Румяна Търновска-Къдрева · 48, 92, 128  
 Руска Шумналиева · 78, 144, 145

---

**C**

Сабина Захариева · 36, 92, 152  
 Савина Петрова Хаджидекова · 84  
 Савина Тинчева · 34  
 Савина Хаджидекова · 109  
 Сара Мухафел · 114, 115  
 Сашка Желязкова-Главеева · 94  
 Сашка Райчева · 61  
 Светла Тодорова Николова · 164  
 Светлана Жотева-Атанасова · 98  
 Светлана Тодорова · 157  
 Светлана Христова · 75  
 Светлин Георгиев · 220  
 Светослав Димов · 38  
 Светослав Славков · 156  
 Светослав Славчев · 59, 97  
 Светослав Тошев · 75  
 Свилен Масляков · 75  
 Свилен Маслянков · 56  
 Севдалин Начев · 127  
 Сена Карачанак-Янкова · 56, 109  
 Силва Гаро Гирагосян · 188  
 Силва Гирагосян · 217  
 Силви Митова-Симинкович · 207  
 Силвия Абарова · 111  
 Силвия Андонова · 73, 81, 83  
 Силвия Андонова-Бъклова · 73, 81  
 Силвия Върндева · 48, 92, 152

Силвия Върдева-Кълвачева · 48, 92  
Силвия Здравкова Чернинкова · 64, 123  
Силвия Начева · 82  
Силвия Русева · 100, 114  
Симеон Валентинов Монов · 78, 144  
Симеон Монов · 145  
Сирма Димитрова · 79, 140  
Слава Джонева · 157  
Славейко Минев · 75  
Славина Кирилова Сурчева · 101  
Снежана Кандиларова · 79, 140  
Снежана Парина · 66  
Снежанка Запринова Топалова-Пиринска · 134  
Снежина Кандиларова · 124  
Снежина Лазова · 83, 139  
Снежина Михайлова Лазова · 182  
София Георгиева · 90  
Спаска Лесичкова · 124  
Станислава Владимирова · 44  
Станислава Йорданова · 87, 88  
Станислава Хитрова-Николова · 67  
Стелла Петрова · 206  
Стелла Христова · 218  
Стефан Балкански · 51  
Стефан Великов · 220  
Стефан Димитров Николов · 45  
Стефан Ковачев · 109  
Стефан Недев Стефанов · 148  
Стефка Делимитрева · 104  
Стефка Иванова · 143  
Стефка Методиева Делимитрева · 49  
Събина Митова · 95

---

**Т**

Таня Василева Стратева · 38  
Таня Кадийска · 34, 47  
Таня Праматарова · 67  
Татяна Петрова Пенкова-Червенякова · 71  
Теменуга Стоева · 53  
Теодора Попова · 160  
Теодора Стойчева · 33, 99  
Теодора Ханджиева-Дърленска · 60  
Теодора Янева-Сиракова · 48, 92, 128  
Тихомир Диков · 75  
Тихомир Тодоров · 34, 94, 205, 212  
Тодор Джендов · 62  
Тодор Кундурджиев · 220  
Тодор Кундурджиев · 90, 161  
Тодор Мирослав Попов · 168  
Тодор Найденов · 88  
Тодор Чаушев · 108  
Трайко Трайков · 34

---

**Х**

Христина Войчева · 87  
Христина Лазарова Попова · 69, 132  
Христина Ночева · 44, 102  
Христо Василев · 33, 112  
Христо Георгиев · 91  
Христо Найденов · 115  
Христо Николаев Василев · 167

---

**Ц**

Цветанка Маркова · 56  
Цветелина Великова · 139, 142, 144, 154  
Цветелина Горинова · 116  
Цветелина Йонева · 155  
Цонко Тодоров Узунов · 133

---

**Ч**

Чанка Андреева · 216

---

**Ш**

Шеип Панев · 93

---

**Ю**

Юлиан Войников · 51, 101  
Юлиан Картелов · 59  
Юлия Йорданова Петрова · 82  
Юлиан Хаджиев · 96

---

**Я**

Явор Асьов · 205, 213  
Явор Коев · 135  
Явор Сашов Асьов · 173, 195  
Яна Владимирова · 146  
Яна Емилова Илиева · 186  
Яна Здравкова · 155  
Яна Илиева · 121  
Яна Попова · 72  
Яна Чекаларова · 95, 101  
Янина Георгиева Славова-Маринова · 63, 127  
Янина Славова-Маринова · 154  
Янка Проданова · 90, 161  
Янчо Ангелов Зарев · 169  
Янчо Зарев · 33, 112



