

Списък на научните трудове

на д-р Наталия Петева Чилингирова, дм

Дисертационен труд за ОНС “доктор”:

1. РАК НА БЕЛИЯ ДРОБ – ИНДИВИДУАЛИЗИРАНЕ НА ЛЕКАРСТВЕНОТО ЛЕЧЕНИЕ

Професионално направление: 7.1 Медицина,
Научна специалност: Медицинска Онкология

Карциномът на белите дробове е водещата причина за смърт сред мъжете, като увеличение в смъртността се наблюдава и сред жените. Тенденцията към прогресивно нарастване на заболяемостта през последните години съвпадна с опитите за оптимизиране на терапевтичните стандарти и навлизането на нови подходи (таргетни терапии) в неговото лечение. Нашето проспективното проучване върху 187 пациенти с хистологично доказан карцином на белия дроб в различни стадии и с различни хистологични подтипове за периода 11.2012-01.2014 в четири онкологични центъра в България: СБАЛО ЕАД София, КОЦ Стара Загора, МБАЛ Сердика, КОЦ Хасково показва превалиране на честотата (79.68%) при мъжете спрямо 20.32% при жените, което и в пълно съответствие със световните тенденции за честотата и разпределението на рака на белия дроб по пол.

За България съгласно последните статистически данни от Националния раков регистър за 2012 тенденциите в заболяемостта и смъртността от рак на белите дробове показват увеличение и при двата пола. Стандартизираните показатели на заболяемостта при мъжете нарастват с 1.2% средногодишно, а на смъртността с 0.2%. При жените средногодишните темпове на нарастване на стандартизираните показатели са сравнително по-ускорени както при заболяемостта, така и при смъртността – с 2.3% и с 0.5%, съответно.

Средната възраст при поставянето на диагнозата и за двата пола при нашата извадка е 61.6 години, което е в съответствие със световните данни, че ръкът на белите дробове основно се наблюдава при възрастни хора. Според американското онкологично дружество двама от трима, диагностицирани с рак на белите дробове са на 65 или по-възрастни, докато по-малко от 2% от всички случаи се срещат при пациенти под 45 години, определяйки средната възраст при диагноза на около 70, което акцентира на по-ранната възраст при диагностициране, наблюдавана в нашата извадка. Все пак по световни данни се приема, че възрастово-специфичната заболяемост от рак на белия дроб се увеличава стръмно с напредване на възрастта след 50 години, достига своя пик около 60 годишна възраст, след което отново стръмно намалява.

На фона на увеличаващата се заболяемост и смъртност от рак на белите дробове, оптимизирането на терапевтичните подходи и търсенето на нови такива доведе до въвеждането на таргетната терапия в лечението, а именно тирозинкиназните инхибитори (TKI). В самото начало TKI са замислени като алтернатива на стандартната химиотерапия при пациенти в тежко общо състояние. С набирането на опит в редица клинични проучвания се обърна внимание на предиктивната и прогностична роля на мутацията в EGFR гена, насочи се вниманието към TKI като терапевтична алтернатива на стандартната химиотерапия с по-малка обща токсичност и странични ефекти и разбира се се утвърди водещата роля на EGFR-тирозин киназните инхибитори (EGFR TKIs) спрямо химиотерапия при пациенти с активираща мутация в EGFR-гена. Ключовата роля в разбирането механизма на действието и в утвърждаването за стандарт на използването на TKI се пада на изследователски групи, които независимо едни от други през 2004 година откриват наличието и обясняват същността на EGFR мутациите. Активиращите обичайни мутации на EGFR са главно в екзони 19 и 21 (точкова мутация в екзон 21 L858R и делеция в екзон 19) и пациенти, носители на тези мутации са изключително чувствителни към EGFR TKIs. Проведените проучвания показаха, че тези мутации са най-често срещани в азиатската раса (приблизително 30%), най-вече при пациенти от женски пол, непушачи с новодиагностициран белодробен карцином. Това е и основната група пациенти на базата на които се утвърди използването на TKI инхибитори за първа линия терапия при белодробния карцином.

Според световните данни честотата на EGFR мутацията варира между 4-6% за кавказката /европейска раса, което не се наблюдава в нашата извадка пациенти. В нея от 187 пациенти при 1 (0.5%) е открита активираща мутация в EGFR гена, 140 или 74.9% са с негативен мутационен статус, а при 42 (22.5%) такова изследване не е провеждано. Уместно е да се отбележи, че по-голямата част от пациентите с неизвестен мутационен статус са с хистология за дребноклетъчен карцином на белите дробове или невроендокринен такъв, при които мутацията стандартно не се търси и изследва. Въпреки това стои въпросът за необходимостта от оптимизиране достъпа до това изследване на всички пациенти с новодиагностициран недребноклетъчен карцином на белите дробове и най-вече за тези в стадии IIIB и IV, където лекарственото лечение е водеща терапевтична опция, защото макар и в единични случаи в нашето проучване все още има пациенти, които започват да се лекуват с химиотерапия за рак на белия дроб, без да е известен техният мутационен статус. Резултатите предполагат уеднаквяване на стандартите в страната и подобряване на механизма на изследване. Честа причина за липсата на изследван мутационен статус е и липсата на морфология, тъй като при не малка част пациентите лечението все още се провежда на базата на цитологична диагноза, което прави невъзможен адекватния анализ на мутации, при който е необходима хистология.

Независимо от приетите медицински стандарти за първа линия схема на лечение в световен мащаб нашето проучване установи разнообразие по отношение на прилагането им при лечението на недребноклетъчния карцином на белия дроб в различните центрове. Най-често прилаганият режим на лечение е Gemcitabine/Cisplatin (29.4%), MIC (13.3%), Navelbine/Cisplatin (9.1%), Pemetrexede/Cisplatin (7.5%), Gemcitabine/Carboplatin (4.3%), Gemcitabine монотерапия (2.1%), Paclitaxel/Carboplatin, Navelbine монотерапия, което може да се обясни както с общото състояние на пациент

при започване на лечението така и с опита на лекуващия екип. Etoposide/Cisplatin и Etoposide/Carboplatin остават стандарт при лечението за първа линия на дребноклетъчния карцином на белия дроб, като по отношение на терапията на дребноклетъчния карцином не се наблюдават съществени различия.

Разпределението по стадии запазва тенденцията повечето пациенти да се диагностицират в напреднал стадий, когато са се проявили симптомите на заболяването. 77.57% са диагностицирани в четвърти стадий, 17.76% в трети, 3.74 % във втори стадий и само 0.93% в първи стадий на заболяването, в съответствие с процента за България около 70% от пациентите да се диагностицират в напреднал (трети и четвърти) стадий на заболяването. При 4.67% то е в първи и втори стадий, при останалите стадият е неуточнен, което подчертава превалирането на напредналия стадий при диагноза в нашата извадка.

При всички 187 пациенти от нашата извадка има морфологична диагноза за онкологичното заболяване. Като за България морфологично доказани са 72% от случаите, което поставя въпроса за адекватността на лечение на пациентите на базата само на цитологичен резултат. Най-широко застъпени при нашата извадка са 4 хистологични типа на рака на белия дроб, съответно най-много пациенти са диагностицирани с плоскоклетъчен карцином (36.4%), следвани от дребноклетъчния карцином на белия дроб (20.3), аденокарцинома (11.2%) и жлезисто-плоскоклетъчния карцином (9.1%). За България съответно разпределението по морфологични подвидове показва, че най-често диагностициран е плоскоклетъчният карцином на белия дроб – 51.0% от всички морфологично доказани случаи. Следващ по честота е аденокарциномът – 21.2% от морфологично доказаните и дребноклетъчният карцином – 16.8% от морфологично доказаните, което подчертава съответствието с данните за българската популация на нашите резултати, но и разликата в сравнение със световните данни (*Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Health Statistics. [CDC WONDER On-line Database](#), Compressed Mortality File 1999-2012 Series 20 No. 2R, 2014.*), където най-често диагностицирания хистологичен подтип на рака на белите дробове е аденокарциномът.

Приема се, че при много от онкологичните заболявания, в това число и при рака на белия дроб, се наблюдава фамилна обремененост, етиологията на която не е напълно изяснена, но може да се приеме за наследствено заболяване при наличието на други роднини от първа линия с такова. Въз основа на резултатите за наследственост от нашето проучване можем да твърдим, че по-голямата част от конкретните пациенти (82.4%) отричат фамилна обремененост и ракът на белите дробове при тях не може да бъде дефиниран като наследствено заболяване.

По отношение на рисковите фактори за рак на белия дроб превалира честотата на тютюнопушенето, което подчертава ролята на цигарите като доказан канцероген и връзката им с възникването на рака на белия дроб. Тютюнопушенето винаги е извеждано като неоспорима причина за карцином на белия дроб и има отношение към над 90 процента от ново диагностицираните случаи. За нашата извадка този процент на настоящи и бивши пушачи към момента на диагноза е 43.9%. Друг рисков фактор – употребата на алкохол е най- често в съчетание с тютюнопушенето, наблюдавана при 25.1% от включените пациенти. Връзката му с възникване на рака белия дроб не е

еднозначна, но може да се предполага и на базата на редица клинични проучвания в тази област.

Ролята на съпътстващите заболявания от своя страна често има отношение към качеството на живота и оказва влияние върху толерантността и поносимостта към прилаганата химиотерапия. Тъй като все още повечето онкологични заболявания се диагностицират в напреднала възраст наличието на едно или повече други заболявания оказва влияние върху общото състояние на пациентите, оказва влияние върху терапевтичния подход и допълнително повлиява качеството им на живот. Такива най-често са сърдечно-съдовите заболявания, пулмонални, ендокринни и гастроентерологичните, в по-малка степен нефрологичните и психиатричните. При най-голям процент от нашите пациенти 41.9% може да бъде описано поне едно съпътстващо заболяване, най-вече от страна на сърдечносъдовата система, за поне две такива съобщават 17.2%, а за три и повече 3.8%, което е в съответствие с възрастовата характеристика на нашата извадка.

Съпътстващите заболявания често променят терапевтичния подход при лечението на карцинома на белия дроб и не рядко допринасят за влошаването на качеството на живот, което повлиява в най-голяма степен нагласите на пациента в хода на лечение. Именно за това във времето на нови авангардни терапии отношението на пациента към терапията и лекуващия го екип придобиват все по-голямо значение в лечебния план. Акцентирането върху болния, като определяща страна в терапевтичния процес, дефинирането на нуждите и отношението му към лекарствената терапия на рака на белите дробове, придобиват все по-голямо значение в лечебния алгоритъм, а тяхната динамика в хода на лечението определя характеристиките на самия пациент и допринася за индивидуализиране на подхода не само на базата на нови прицелни терапии.

За да определим ролята и значението на отношението на пациента към терапията, разработихме и валидирахме първия в страната въпросник за измерване и оценка на отношението на пациента към терапията. Бяха включени 187 пациенти с хистологично верифициран карцином на белите дробове от четири онкологични центъра в страната, които попълниха въпросника два пъти – преди започване на терапията и в нейния ход, след провеждането на най-малко 2 до 4 курса химиотерапия съгласно стандартите за лечение на онкологични заболявания в България. След проведен за първи път в страната факторен анализ бяха отдиференцирани факторите, които характеризират отношението на пациента към терапията като преди нейното започване се отдиференцират 2 фактора „стремеж към здраве” и „избягване на страданието от болестта”. Отдиференцирането на трети фактор – „избягване на страничните ефекти от терапията” доказва промяна в отношението на пациента в хода на терапията на база на преживени странични ефекти и своеобразен опит. Много ясно се наблюдава и взаимовръзката между качеството на живот и отношението на пациента към терапията, което е с прогностично значение. Отношението на пациента се повлиява от качеството на живот, което е пряко свързано с проявата на странични ефекти от прилаганата терапия. Според нашите резултати преди започване на

терапията много пациенти биха приели тежката токсичност в замяна на удължаване на живота, но след като изпитат част от страничните ефекти на лечението, тяхната убеденост далеч не е толкова голяма. Ето защо на базата на формирането на трети фактор при повторното попълване на въпросника може да се твърди, че нагласата на пациента е променлива величина и е пряко повлияна от нежеланите реакции от провежданата терапия.

Редица автори признават, че освен личното отношение на пациента към терапията и лекуващия го екип съществуват и други фактори - като отношенията в семейството, които корелират с нагласата на пациента, могат да повлияят реакциите му и отговора му към терапията. Затова семейното положение е доминанта при формиране на представите на самия пациент. На база на семейното си положение 147 от болните /79%/ са семейни (женени, омъжени), 5 са несемейни (2.7%), 19 или 10.2% са разведени, 15 (8%) – вдовец/вдовица, което формира възгледите и разбирането им към прилаганото лечение и повлиява техния избор.

Изходните физикални и туморни характеристики на пациентите, както и клиничната картина би трябвало да повлияват както отношението към терапията, така и преживяемостта. Тези с най-лоша прогноза е много по-вероятно да предпочетат удължаване на живота на всяка цена. В подкрепа на тази теза е проспективно, случай-контрол проучване на отношението на пациента към химиотерапията, където пациентите с новодиагностицирани солидни тумори приемат в много по-голяма степен високата токсичност и за най-малък шанс за полза (удължаване на живота, излекуване или подобряване на симптоматика) отколкото тези, които нямат онкологично заболяване. Не открихме статистически значима взаимовръзка между отношението на пациента и преживяемостта, което е в съответствие с резултатите на друго многоцентрово проучване в тази област – PLUS, но пациентите с най-голяма преживяемост са тези, които държат на максимално удължаване на живота, само когато то е свързано и с нормално качество на живота. Затова разбирането на отношението на пациента към терапията би могло да подпомогне лекари и пациенти в избора и целта на най-добрия терапевтичен и индивидуализиран подход.

В последните години основна насока в терапията както на рака на белите дробове така и на всички онкологични заболявания е индивидуализирането на подхода към самия пациент. Оценката на неговото отношение предполага познаване на психическата компонента, докато самото онкологично заболяване има своя етиология, на базата на сложни молекулярни пътища, станали обект на научен интерес с разкодирането на човешкия геном. Ерата на таргетната терапия в лечението на рака на белите дробове започва с откриването на активиращите мутации в EGFR гена и въвеждането на обратимите (gefitinib, erlotinib) и необратими (afatinib) TKI в ежедневната практика, ALK пренареждането за терапия с ALK-инхибитори, с които се постави начало на нов подход в терапията на това заболяване. Въвеждането на много нови таргетни молекули изведе на преден план молекулярното профилиране на тумора за оптимизиране на терапевтичния подход на лечението на рака на белия дроб.

Повечето от съвременните автори занимаваща се с генетично профилиране при рак на белия дроб са фокусирани върху прогнозиране на рецидиви при ранен стадий на болестта, но подобни анализи са с прогностична стойност в по-късните етапи от неговото развитие. Молекулярният анализ на проби от биопсия може да се използва с

прогностична цел, т.е. в случай на високо-рискови профили - предполагащи много патологични и фармакогенетични мутации, водещи до резистентност към терапии, може да се очаква по-лоша обща преживяемост или най-малкото голямата вероятност за ранен рецидив след операция или в ход на лечението. Това от своя страна би дало възможност на лекарите да вземат по-информирани решения за терапевтичния подход и прогнозата на пациента, с което ролята на генетиката и фармакогеномиката в онкологията става все по-голяма и навлиза трайно в ежедневната клинична практика.

Неоспоримо доказателство за тези факти дават Kratz и сътр. в своето проучване, доказвайки, че са налице съществени разлики в преживяемостта на пациентите на базата на генетичния профил на туморите им. От 266 пациенти включени в проучването 73% са с високо рискови тумори, 17% със средно рискови и 10% с ниско рискови тумори. Цялостните резултати по отношение на 5-годишната преживяемост се различават значително между тези групи – само 25 % при високо-рисковата група докато при средната и ниско-рисковата е 50 % ($p = 0.0044$). Друга група автори (Shen и сътрудници) [205] също подчертават ролята на молекулярното профилиране като изследват микроРНК от препаратите на пациенти в ПБВ и ША (EGFR-mutant NSCLC) и откриват, че определени нива на експресия на мРНК говорят за повишен риск от рецидиви на болестта, намалена преживяемост и липса на отговор спрямо ТКИ, в случая гефитиниб.

За да подчертаем значението освен на отношението на пациента към терапията като нов подход в лечението, но и на индивидуалния прогностичен и предиктивен подход на базата на генетичен анализ, проведохме геномно секвениране, използвайки TruSight Cancer Panel на Алумина за кодиращи последователности в 94 гена и 284 SNPs, при 20 пациенти, попълнили въпросници в хода на нашето проучване. Установихме голямо разнообразие от генетични нарушения, отговорни за туморното възникване и прогресия – общо 243 мутации. Въз основа на световната база данни тези мутации най-общо можем да категоризираме в три групи – 1. Мутации свързани с възникването на рака на белия дроб (driver mutations) 2. Потенциални мутации отговорни за растежа и развитието на рака на белия дроб (вероятно патологични мутации) и 3. Мутации с неизвестно клинично значение. При задълбочен анализ на резултатите установихме изключително голяма хетерогенност на мутациите при изследваните пациенти. Реално всеки един пациент има уникална комбинация от генетични нарушения и в трите подгрупи мутации и именно това наложи подробното представяне на резултатите на всеки един пациент отделно и независимо от останалите. Пациентите бяха разделени на база хистологичен подтип и резултатите за патологичните мутации са изведени и спрямо хистологията. При всеки пациент открихме поне една ясна патологична мутация, водеща до загуба на функция на хаплойнсуфициентен ген. Засегнатите гени при пациентите с аденосквамозен карцином са *APC* (p.Ser2497Ter; p.Gly857Ter; c.730-1G>T), *TP53* (p.Arg196Ter; p.Val197Met), *BRCA2* (c.9089_9090insA), *ATM* (p.Tyr313Ter), *NF1* (p.Arg304Ter), *CDKN1C* (p.Ala166Arg), *PTEN* (c.80-1G>T) и *EZH2* (p.Arg288Ter); за пациентите с плоскоклетъчен карцином: *TP53* (p.Glu204Ter, p.Arg306Ter, p.Glu298Ter), *XPC* (p.Gln320Ter), *WT1* (p.Gly91Leu), *NF1* (c.730+1G>A), *KIT* (c.1347-1G>T), *TSC1* (c.663+1G>T), *MSH2* (p.Tyr522Ter) и *GPC3* (p.Glu196Ter); за едроклетъчен карцином: *TP53* (p.Gln167Ter), *BRCA2* (Thr3033Asn), *MET* (p.Glu355Ter); за аденокарцином, които в световен мащаб е и най-изследвания хистологичен подтип: *TP53* (p.Arg213Ter), *FH* (p.Arg343Ter). Прави впечатление засягането на *TP53* гена при всички хистологични подтипове. Туморния супресорен ген *TP53* е един от най-често мутиралите при карциномите. При карцинома на белия дроб мутация в него се среща

при 46 % от аденокарциномите и при 90 % от аденосквамозният карцином. Независимо от честотата на неговите мутации до сега той не е бил обект на прицелна терапия. Едно от обяснението на този факт е изключителното разнообразие на мутациите на гена. TP53 мутира в цялата кодираща последователност на гена, което има различни последствия – от нон-сенс до мис-сенс мутации. Всеки пациент също е носител на други соматични и герминативни потенциално патологични мутации като хетерозиготни нонсенси, както и много други миссенси мутации в други гени, определени като патогенетични по алгоритъма на RadialSVM. Генетичното разнообразие определя хетерогенността на туморите на рака на белите дробове, като подчертава ролята на генетичния анализ за адекватен подход в диагностиката и терапията на заболяването. Голямата хетерогенност, наблюдавана при пациентите, подчертава важността от задълбочен анализ на генома при NSCLC за идентифицирането на механизмите и сигнални пътища с клинично значение и съответно персонализиран подход. След клинична валидация, молекулярното профилиране чрез NGS може да се интегрира в практиката с цел да се организира голяма база данни за потенциални мутации, които в бъдеще биха могли да служат като основа за изследвания и откриване на нови таргети и терапии.

Резултатите доказват и че причината за ниската успеваемост при лечението на рака на белия дроб е именно липсата на индивидуална терапевтична схема при всеки един пациент. Тази необходимост се потвърждава от редица съвременни автори. Единствено персонализираната медицина ще даде възможност за пълното прекъсване в механизма на растеж на раковите стволови клетки. Те съставляват малък процент от всички туморни клетки и са уникални с това, че притежават качествата на самообновяване и плурипотентност (способност за неограничен пролиферативен капацитет), както и способността да не се повлияват от химио и лъчетерапия. Именно те са причината за рецидивизиране на заболяването след радикална оперативна терапия с последвала химио и/или лъчетерапия.

Друга причина за лош резултат от проведеното лечение, неповлияване или резистентност, са фармакогенетичните особености на всеки отделен пациент. За изследваните 19 пациенти беше проведен и фармакогенетичен анализ с интересни резултати. Отдиференцирани са 15 мутации с фармакогенетично значение, които според световната база данни имат отношение към отговора и ефекта от терапия (TP53 (хромозома 17) SNP: rs 1042522; ERCC2 (хромозома 19) SNP: rs 1799793; ARID5B (хромозома 10) SNP: rs 10821936; XPC (хромозома 3); EGFR (хромозома 7); ERCC2 (хромозома 19) SNP: rs 13181), повечето от които до сега са извеждани и при други онкологични заболявания и имат ясно изразен ефект при определени цитостатици и таргетни терапии.

Към други лекарства, използвани в ежедневната практика (CDK4 (хромозома 12); HNF1A (хромозома 12); MC1R (хромозома 16); KIF6 (хромозома 6); SLC03A1 (хромозома 15); CHRNA3 (хромозома 15); HRH1 (хромозома 3)).

За други все още няма данни, но включването им като вече регистрирани в дадено проучване към световната база данни дава възможност за по-бързо изясняване на тяхното значение (FGFR2 (хромозома 10); AGPHD1 (хромозома 15); ADH1B (хромозома 4)) както и подчертава връзката им със странични ефекти след други

проведени терапии. На база на получените резултати може да се твърди, че фармакогеномиката е крайъгълен камък в терапията на онкологичните заболявания, в частност на карцинома на белите дробове, област, която все още не е достатъчно добре разработена, но проучванията в тази посока биха оптимизирали и индивидуализирали подхода в лечението на пациентите.

ИЗВОДИ

- 1. Оценихме промяната в отношението на пациента към терапията преди започване на лечение и след провеждане на няколко курса (4-6) химиотерапия. Отношението на пациента към химиотерапията се променя в зависимост от степента на изява на страничните ефекти.**
- 2. Въз основа на анализа по стадий на заболяването, възраст при диагноза, пол и хистология, получените данни на база регистрацията на рака за България, в нашето проучване изведохме плоскоклетъчния карцином на белия дроб като най-често диагностициран, обратно на световните данни, където първа позиция се заема от аденокарцинома.**
- 3. С анализа на прилаганата първа линия химиотерапия в нашата извадка доказахме видими различия между онкологични центрове, но се запазва тенденцията за придържане към общоутвърдените стандарти за лечение на злокачествени заболявания в страната, при значимо разнообразие на прилаганите схеми.**
- 4. Установихме, че промяната в нагласите на пациента към терапията не оказва влияние върху общата преживяемост.**
- 5. На базата на NGS секвениране, определихме молекулярни подтипове на рака на белия дроб.**
- 6. Доказахме изключителна хетерогенност при различните хистологични подтипове на НДКБК.**
- 7. Установихме генетични полиморфизми с фармакогенетично значение, които корелират пряко с отговора към терапията.**
- 8. Определихме ключови патологични мутации с изявена роля в туморната генеза и прогресия.**

Глави от книги, учебници и студии:

2. **Чилингирова Н., Герасимов А, Станева К, Куртева Г, Глава 5: екстравазати, Нежелани лекарствени реакции - онкологично ръководство за медицински сестри и специализанти; под редакцията на И. Трифонова и Г. Куртева, 2017 г., стр.110-148**

Обобщение:

Лечение на екстравазати в съответствие с най-новите научни схващания и медицински консенсус дава възможност да се прилага оптимално лечение в различни региони. Следвайки примера, посочен в този модул, който включва най-новата информация за екстравазациета и подбрани актуални протоколи от известни центрове, медицинските сестри и други медицински специалисти може да допринесат за пивешаване на стандарта за лечение на онкологичните заболявания.

Медицинските сестри изпълняват основна роля при практическото приложение. Както е посочено в този модул те имат уникално взаимодействие с пациента и играят голяма роля при приложението на интравенозни противоракови лекарства. Чрез обучение как лесно да се разпознава екстравазата и чрез запознаване с всички местни протоколи за справяне с нея, включително и използване на антидоти, медицинските сестри могат да подпомогнат да се понижи честотата на това усложнение при лечение на онкологичните заболявания.

Медицинските сестри също имат възможността да изпълняват водеща роля при разширяването на използването на най-добрите практики в тази област. Те могат да помогнат да се разработят местни протоколи там, където няма такива, благодарение на ключовата им роля в приложението на лекарства и познанията им за пациента.

Надяваме се, че тъй като помага да се разшири разбирането за екстравазациета и нейното лечение сред медицинските сестри и другите специалисти в здравеопазването, този образователен модул ще постигне своята цел за подобряване на превенцията и цялостното лечение на екстравазати при пациенти с онкологична заболяване чрез използване на най-новите налични данни.

3. **Чилингирова Н., Куртева Г, Симеонова Л, Глава 6: Орален Мукозит, Нежелани лекарствени реакции - онкологично ръководство за медицински сестри и специализанти, под редакцията на И. Трифонова и Г. Куртева, 2017 г., стр. 149-163;**

Резюме:

Оралният мукозит (ОМ) може да бъде значителен проблем за пациентите с онкологично заболяване, тъй като се развива като често срещана нежелана реакция на химио- и лъчетерапията. Засегнати са почти всички пациенти, получаващи високодозова химиотерапия с трансплантация на хемопоетични стволови клетки. ОМ причинява болка и други симптоми, които засягат качеството на живот. Освен това ОМ може да представлява бариера за успешното прилагане на химиотерапия и/или лъчетерапия. Глава 6 въвежда темата за ОМ и разглежда насоките за клиничната практика по отношение на превенцията и лечението на ОМ, предизвикан от терапията на онкологичното заболяване, разработени от Международната асоциация за палиативни грижи при онкологично заболяване и Международното дружество по орална онкология (MASCC/ISOO). Тези насоки дават препоръки за ефективни стратегии за превенция и лечение на ОМ в контекста на лъчетерапия, химиотерапия и комбинирана химиолъчетерапия, като също това обръщат внимание на подходи, които да не се прилагат в клиничната практика.

4. Куртева Г, Трифонова И, Маринова В, Арабаджиев Ж, **Чилингирова Н**, Герасимов А, Караниколова Т, Солакова Г, Стоева Д; Поведение при редки неепителни овариални тумори, Учебна книга, Клинично поведение при овариален карцином, 2014, стр 235-244

Резюме:

Неепителните овариални тумори (ОТ) включват злокачествени болести с произход от зародишни клетки, от полова връв-стромални клетки, метастазирал овариален карцином (ОК), както и разнообразие от изключително редки видове ОТ като саркоми и липоидни клетъчни тумори. Въпреки че има много прилики, в диагнозата и лечението на тези пациенти има много различия, които изискват специален подход. Това е особено важно за неепителните тумори с произход от зародишни клетки, които обикновено се срещат в по-млада възраст.

5. Куртева Г, Трифонова И, Маринова В, Арабаджиев Ж, **Чилингирова Н**, Герасимов А, Караниколова Т, Солакова Г, Стоева Д; Изкуство в цитотоксичното лечение на овариален карцином- настояще и перспективи - Учебна книга, Клинично поведение при овариален карцином, 2014, стр. 209-221

Резюме:

Епителният овариален карцином (ОК) е на четвърто място като причи- на за смърт при жени. На този етап за “златно” правило се приема хирургич- ното лечение (циторедуктивна хирургия), последвана от цитостатичен режим carboplatin/paclitaxel. Въпреки първоначалните добри резултати на системна химиотерапия след циторедуктивна хирургия, показателите за далечна прежи-

ваемост и риск от рецидиви са лоши. От друга страна, лекарствената терапия при ОК силно влошава качеството на живот заради нежелани лекарствени реакции, като алопекция, невротоксичност, отпадналост и др. С оглед подобряване на ефективността от системна терапия и редуциране на токсичността през последните десет години в рандомизирани проучвания са включени над 10 000 жени и са изследвани различни терапевтични алтернативи, като интраперитонеална химиотерапия, двойни и тройни цитостатични режими, за да се постигне оптимална ефективност на първа линия.

6. Трифонова И. , Чилингирова Н, Герасимов А, Димова И, Солакова Г, Симеонова А, Куртева Г, Съвременна имунотерапия при тумори на глава и шия – настояща реалност и бъдещи предизвикателства – Учебна книга, Поведение при малигнени тумори на глава и шия, стр. 191-196, 2016 г.

Резюме:

През 2015 г. са диагностицирани 59 340 нови случаи с тумори на глава и шия в САЩ и 12 290 смъртни случаи. При локорегионални рецидиви се провежда най-често лъчехимиолечение; при метастатична болест обаче химиотерапия се провежда с палиативна цел. Клинични проучвания при солидни тумори и хематологични болести прилагат с клиничен ефект имунотерапия (възможност на имунната система да се бори с болестта), която се добавя като четвърта терапевтична възможност за лечение на тумори. Този коментарен анализ прави преглед на състоянието на имунотерапията и клиничните проучвания при лечение на тумори на глава и шия.

Публикации в чужди научни списания:

Свързани с дисертацията:

7. **Chilingirova N., Hammoudeh Z., Balabanski L., Ivanov S., Vazharova R., Nikolova D., Kurteva G., Toncheva D., Chilingirov P.** TruSight Cancer Sequencing Panel reveals pharmacogenetic variants associated with sensitivity to chemotherapy in lung cancer; memo - Magazine of European Medical Oncology - An International Journal for Oncology and Haematology Professionals, memo DOI 10.1007/s12254-015-0244-2, Volume 8, Issue 3 2015

Abstract Lung cancer is the most common cause of cancer death worldwide, and its prognosis and treatment response rate as well as the survival rate remain poor. In our study, we performed next generation sequencing (NGS) with cancer panel (Illumina) for 19 Bulgarian patients with both non-small cell lung cancer (NSCLC; 18 patients) and neuroendocrine tumor (1 patient) and focused on common polymorphisms which define proven or reported sensitivity to platinum-based therapy.

We report reference SNP (rs)1042522 (*TP53*), rs2228001 (*XPC*), rs2227983 (*EGFR*), rs1799793, and rs13181 (*ERCC2*) single nucleotide polymorphism variants which have been detected in our patients in homozygous and/or heterozygous state. Therefore, we give important information to confirm the role of those polymorphisms in tumor resistance and recurrence after chemotherapy treatment. The results reveal that TruSight Cancer Panel could be a useful clinical tool for determining pharmacogenetic variants associated with the effect of chemotherapy.

Keywords Lung cancer · Next generation sequencing (NGS) · Pharmacogenetic variants · Chemotherapy resistance and sensitivity

Несвързани с дисертацията:

8. Kurteva G, Chilingirova N, de Mello R, Kurtev P, Chronomodulated Capecitabine for First Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer in Elderly Patients: a pilot study, Revista da Associação Médica Brasileira (*in press*)

Abstract

Several clinical trials states that chronomodulated chemotherapy is feasible to increase the dose but not the toxicity in colorectal cancer patients. This is rationale to use the chronomodulated therapy in elderly patients with the only purpose – lower toxicity. Capecitabine is an oral fluoropyrimidine that mimics the pharmacokinetics of continuous 5-FU infusion and is preferentially converted to the active 5-FU metabolite within tumor cells by exploiting the higher activity of the enzyme thymidine phosphorylase in tumor tissue compared with normal tissue.

Objectives: The aim of the study was to define the feasibility, tolerability and tumor response of capecitabine administered through a new and original schedule in elderly patients with advanced colorectal cancer (CRC).

Methods: 16 untreated metastatic CRC elderly patients were included in the study.

Treatment: Chronomodulated capecitabine 2,000 mg/m²/day per orally on days 1–10, every 20 days.

Results: Most frequent related G1-2 adverse reactions were diarrhea (18.75%), nausea/vomiting (25%), mucositis (12.5%), asthenia(12.5%) and hand-foot syndrome (25%). G3–4 anaemia, leucopenia and liver toxicities were not observed. The overall response rate was 25% (4/16 patients). Stable disease was observed in 7 patients (44%) and progression in 5 patients (31%).

Conclusions: The high overall tumor growth control, and the good safety profile are of particular interest for elderly patients' treatment.

Keywords: Chronotherapy; Circadian rhythm; Metastatic colorectal cancer; Liver metastases; Cancer; Clock genes, Capecitabine

Публикации в български периодични списания:

Свързани с дисертацията:

9. **Чилингирова Н, Дамянов Д, Куртева Г, Отношение на пациента към терапията,** списание Онкология, 2014, брой 1 , стр. 17

Abstract: Lung cancer is the leading cause of cancer-related mortality in both men and women throughout the world. The overall 5-year survival rate for small cell lung cancer (limited and extensive) is only about 6% and that for non-small cell lung cancer (all stages combined) is round 15%. When studying the factors influencing lung cancer survival, attention is commonly being focused on the patient's clinical characteristics. The aim of our study is to pay attention to the prognostic significance of a less traditional factor such as patient's attitude toward treatment, which correlates with quality of life (QoL), role of adverse events and their influence on response to treatment and time to progression, which generally correlate with improvement in survival for lung cancer. We analyze the literature on the role of the patient's attitude toward treatment options.

Key words: lung cancer, attitude toward treatment, quality of life, adverse events

Резюме: Ракът на белия дроб е водеща причина за смъртност в света от онкологично заболяване както сред мъжете, така и сред жените. Общата 5 годишна преживяемост при дребноклетъчния рак на белия дроб е само около 6%, а тази при недребноклетъчния, имайки в предвид всички стадии, е около 15%. При изследване на факторите, които оказват влияние върху преживяемостта, вниманието обичайно е насочено към клиничните характеристики на пациента. Целта на този обзор е да обърне внимание на прогностичната значимост на по-малко традиционен фактор като отношението на пациента към прилаганата му терапия, което обичайно корелира с качеството на живот, ролята на страничните ефекти и влиянието им върху отговора на лечението и времето до прогресия, които пък са свързани с подобряване на преживяемостта при рака на белия дроб. С този обзор анализираме наличната литература по тази тема.

Ключови думи: рак на белия дроб, отношение към терапията, качество на живот, нежелани странични реакции

10. **Чилингирова Н.** Роля на туморните маркери. Списание Ревматология 2013, брой 1, стр. 30-34

Резюме: Класическият туморен маркер представлява протеин, който може да бъде открит в кръвта в по-високи от нормалните концентрации, когато пациентът е болен от определен тип рак. Други се откриват в урината или телесни течности, а трети в туморната тъкан. Биват продуцирани от самите ракови клетки или от организма на пациента, в отговор на онкологично или неонкологично състояние състояния. Повечето туморни маркери са протеини, но някои от тях са гени или други субстанции. Някои туморни маркери са специфични за определен тип рак, докато други могат да бъдат открити в много онкологични заболявания. Идеалният маркер би бил този, който може да се приложи при цялата популация, но позитивният резултат ще се наблюдава само при пациенти с неоплазия, такъв, който би корелирал със стадия и отговора към терапия и който може да се измери лесно и сигурно. Никой туморен маркер до момента не покрива всички тези критерии! Туморните маркери могат да се използват за една от следните цели: (1) скрийнинг на здравата или високо рискова популация за наличието на онкологично заболяване; (2) за поставяне на диагноза; (3) за определяне прогнозата на пациента; (4) мониториране на лечението и проследяване на пациент в ремисия.

11. **Чилингирова Н, Куртева Г, Тончева Д,** Рак на белия дроб и генетика, списание Онкология, 2015, брой 4, стр 40-45

Резюме:

В последните години ракът се утвърди и като генетична заболяване. Ролята на генетиката за рака на белия дроб като водеща причина за смъртност сред онкологичните заболявания, в последните години придобива все по-голяма важност. Редица генетични анализи изясниха критичната роля, която имат определени мутации в прогресията на това заболяване. Задълбоченият анализ в патобиологията на недребноклетъчния рак на белия дроб (НДРБД) доведе до въвеждането в клиничната практика на редица малки молекули, които таргетират специфични генетични мутации и които промениха значително тенденциите в лечението на белодробния карцином. Тази статия е обзор на наличната до момента информация за генетичните аспекти при рака на белия дроб. Тя представя таргетните молекули с голяма клинична стойност, които рутинно се прилагат в практиката, такива като тирозин-киназните инхибитори (ТКИ), АЛК (анопластична лимфом киназа)-инхибитори, както и редица други молекули все още в клинични проучвания. С въвеждането на методиката на next-generation sequencing (NGS) в онкологичната практика, се внесе по-голяма яснота за генетичните фактори при белодробния карцином и се поставиха нови предизвикателства пред медицинските онколози.

Ключови думи: рак на белия дроб, мутации, таргетни терапии

Abstract:

Cancer is now known as a disease of genomic alterations. The role of genetic for lung cancer as the leading cause of cancer death worldwide is becoming more important in the last couple of years. Mutational analysis and genomics profiling have advanced the field of lung cancer pointing the critical role of some mutations in the progression of the disease. Deeper understanding of the pathobiology of non-small cell lung cancer (NSCLC) has led to the development of small molecules that target genetic mutations and that has changed the treatment paradigm of lung cancer significantly. This article is a review of the available data as well as the molecular details behind lung cancer. It also highlights the importance of different targeted agents that are currently in the clinical practice, such as tyrosine kinase inhibitors (TKI) and ALK inhibitors, as well as some others still under clinical development. With the introduction of next-generation sequencing (NGS) in the oncology practice, the genetic landscape of lung cancer became much more clear and introduced new challenges for the medical oncologist for the upcoming years.

Key words: lung cancer, genomic alternations, mutations, target therapies

12. **Н. Чилингирова, Г. Куртева, Д. Тончева,** Роля соматичните мутации за клиничната практика в онкологията, списание Онкология, 2015, брой 4, стр.18-24

Резюме: Новите достижения в молекулярните анализи през последните години доказаха, че ракът е генетично заболяване – клонална пролиферация на клетки, която възниква в следствие на мутации в субсет от гени, които дават растежно предимство. Все повече свързани с рака гени акумулират соматични мутации. Самите соматични мутации са ненаследствени, могат да възникнат спонтанно в соматични клетки в следствие на грешки в ДНК репликацията или при експозиция на мутагени, в резултат на което възниква клетъчна трансформация и неконтролиран растеж. В този обзор обръщаме внимание на доказани с геномно секвениране важни патологични мутации, които определят генетичната карта на различни типове рак и които определят различни биомаркери с предиктивна и прогностична стойност за клиничната практика и проучванията в областта на онкологията.

Ключови думи: рак на белия дроб, соматични мутации, геномно секвениране, биомаркери

Abstract: New achievements in the molecular profiling in the last years proved that cancer is a genetic disease - a clonal proliferation that arises following mutations in a subset of genes that give growth advantage. More and more cancer related genes are identified and characterized to have accumulated somatic mutations. Somatic mutations are non-heritable mutations that can arise spontaneously in somatic cells due to mistakes in DNA replication, or from exposure to mutagens, resulting in uncontrolled cell growth and cellular transformation. This is a review of some important driver mutations that have assembled emerging views of the genetic landscape of various cancer types through next generation sequencing (NGS) analyses

that can help to identify biomarkers that are prognostic or predictive, relevant in clinical trials and practice.

Key words: lung cancer, somatic mutations, next generation sequencing, biomarkers

Несвързани с дисертацията:

13. **Чилингирова Н, Куртева Г, Роля на EGFR-тирозин киназните инхибитори в лечението на рака на белия дроб, Medicard Онкология, юни 2016, стр. 18-22**

Резюме: В последните години онкологичните заболявания се утвърдиха и като генетични заболявания, а ролята на генетиката за рака на белия дроб като водеща причина за смъртност сред онкологичните заболявания придобива все по-голяма важност. Редица генетични анализи изясниха критичната роля, която имат определени мутации в прогресията на това заболяване. С въвеждането на методиката на next-generation sequencing (NGS) в онкологичната практика се внесе по-голяма яснота за генетичните фактори при белодробния карцином и се поставиха нови предизвикателства пред медицинските онколози. Задълбоченият анализ в патобиологията на недребноклетъчния рак на белия дроб (НДРБД) доведе до въвеждането в клиничната практика на редица малки молекули – инхибиторите на рецептора за епидермалния растежен фактор (EGFR), които таргетира специфични генетични мутации и които променят значително тенденциите в лечението на белодробния карцином. Пациенти с активиращи мутации на EGFR гена показват чувствителност към, а и клинична полза от лечение с EGFR тирозин киназни инхибитори (EGFR-TKIs).

Тази статия акцентира на таргетните молекули с голяма клинична стойност, които рутинно се прилагат в практиката, такива като тирозин киназните инхибитори (EGFR-TKIs), които доказаха своята ефективност в лечението на недребноклетъчния рак на белия дроб (NSCLC).

Ключови думи: *рак на белия дроб, мутации, таргетни терапии, ТКИ*

14. **Чилингирова Н, Недребноклетъчният белодробен карцином в ерата на прецизираната медицина, списание ИНСПИРО, Брой 40 / април 2017, стр.13-16**

Резюме: Онкологията е естествен избор за основен фокус на прецизирана медицина. С 14.1 милиона нови случая годишно и 8.2 починали годишно, онкологичните болести заемат водещо място сред социално значимите болести на нашето съвремие. Карциномът е заболяване на генома и колкото повече знания

се натрупват за злокачествените тумори, толкова по-ясно става, че всеки тумор има своя собствен набор от генетични промени. Разбирането за карциномните генетични изменения води до много по-ефективни терапевтични подходи на базата на генетичния профил на всеки отделен пациент. Като цяло генетиката в онкологията цели да подпомогне напредъка на персонализираната медицина чрез ДНК-секвениране и анализи на тумори на пациентите, за да се открият нови генетични изменения, свързани със специфичните видове тумори. Даването на такава специфична информация за ключови геномни промени ще подпомогне разработването на по-ефективни терапевтични, диагностични и превантивни методики. В онкологичната практика прецизираната медицина вече отдавна е навлязла, много таргетни терапии са вече рутинно използвани в практиката, други са обект на редица клинични проучвания, а още повече се очакват да станат възможни в обозримо бъдеще. В САЩ, Националният раков институт (National Cancer Institute (NCI) фокусира инициативите си по програмата за прецизирана медицина върху четири основни точки:

(1) *увеличаване ролята на прецизираната медицина в клиничните проучвания* – в тях пациентите ще получават терапия на базата на генетичните мутации на техния вид карцином; в колаборация с публичния и частния здравен сектор през последните две години вече са започнали редица такива изпитвания;

(2) *преодоляване на лекарствената резистентност* – използване на генетичния профил на тумора за разкодиране на механизмите за поява на резистентност и разработване на лабораторни модели за това;

(3) *разработване на нови лабораторни модели за изследвания* – увеличаване броя на линии човешки ракови клетки и ксенографски модели; включва и разработване на лабораторни модели за имунобазирани терапии и идентифициране на нови възможности за по-широкото им приложение;

(4) *развиване на национална ракова информационна система* – създаване на национална база данни за съхранение и интегриране на геномна информация от различни тумори с данни за клиничния отговор (напр. намаляване в размера на тумора) и изхода от терапията (продължителност на отговор, преживяемост без прогресия и обща преживяемост), съответно като ресурс за учени, лекари и пациенти.

Взети заедно, всички горепосочени инициативи целят да обединят откритията в областта на онкологията и да допринесат за още ползи за отделния пациент. Това има отношение към огромните количества информация, които науката във всичките ѝ аспекти генерира ежедневно и налага нуждата от интернет-базирана общодостъпна платформа (Big Data) за обмяна, анализиране и проверка на данни.

15. **Чилингирова Н**, Ваксини и имунотерапия при недребноклетъчния карцином на белия дроб, списание ИНСПИРО, брой 42 / септември 2017, стр.55-57

Резюме: В последните години имунотерапията се развива като обещаваща област на научни изследвания за лекарства, които повлияват на имунната система да индуцира антитуморен ефект, като се избягват свързаните с това нежелани лекарствени реакции. Има различни начини да се активира имунната система и те се класифицират в следните категории: модификатори на биологичния отговор (напр. цитокини, колонии стимулиращи фактори), моноклонални антитела, ваксини и клетъчна имунотерапия (дендритни клетки (DC), НК-клетки, Т-клетки). Няма консенсус по отношение на оптималния подход при карцинома на белия дроб, поради което се цели индивидуализиране на лечението на база специфични маркери. В този обзор ще се спрем само на две от тези направления – ваксини и checkpoint инхибитори.

16. **Чилингирова Н**, Лечение на дребноклетъчния карцином, списание ИНСПИРО, брой 44 / декември 2017 online

Въпреки отчетения напредък в свободната от прогресия преживяемост при пациенти с недребноклетъчен карцином и активиращи мутации, лекувани с таргетни терапии, прогната при SCLC не се е подобрила значително през последните години и остава терапевтично предизвикателство. Заради биологията на тумора и в определени случаи неговата резистентност на системна химиотерапия се полагат все повече усилия за интегрирането на таргетните терапии и в този аспект. Извън клиничните проучвания, лечението се базира на утвърдени стандарти, които включват мултимодалния подход при стадии I–III, включително PCI. В стадий IV се препоръчва системна терапия на базата на индивидуалната прогноза на пациента, като прилагането на втора линия се базира на свободния от прогресия интервал след първа линия. Лечението е желателно да се осъществява в големи онкологични центрове, където може да се предложи екипен подход към всеки един случай.

17. **Чилингирова Н**, Генетични мутации и рак, списание Здравен Навигатор, брой 1 / юни 2017, стр. 47-49

Онкологичните заболявания са отговорни за 1 от всеки 8 смъртни случаи в света[64]. Като заболяване, ракът включва повече от 100 различни подтипа с различни рискови фактори и епидемиология, произхождащи от повечето клетъчни линии и органи в човешкото тяло, характеризирани се със сравнително неконтролирана пролиферация на клетки, които могат да

метастазира в различни органи. Приема се, че всички типове рак имат обща патогенеза. Всеки вид рак произлиза от наследени и/или соматични промени, настъпили в ДНК последователности в генома на раковата клетка. През последните 30 години са натрупали много данни за тези мутации в гени от човешкия геном. Сега навлизаме в ера, в която се проучва пълният раков геном.

18. **Чилингирова Н**, Рак на белия дроб - общ преглед, списание Здравен Навигатор, брой 3 / ноември 2017, стр. 2-4

Ракът на белия дроб е на първо място по заболяемост и водеща причина за смърт при мъжете, като съществува тенденция за непрекъснато нарастване на честота и при жените. В началото на 20-ти век ракът на белите дробове е бил сравнително рядко диагностицирано заболяване, докато в края на века той се превръща в едно от най-тежките и чести онкологични заболявания. Като социално значимо заболяване, поради широкото разпространение, водещо до икономически, социални и демографски щети при рака на белия дроб броят на болелите се изравнява с този на починалите.

19. **Чилингирова Н, Чилингиров Н**, Фармакогеномика и лекарствена резистентност в онкологията (Pharmacogenetics and drug resistance in oncology), списание Ревматология, брой 4, декември 2017 first online

Абстракт: Лечението на онкологичните заболявания се базира на мултидисциплинарния подход, включващ хирургия, лъче-, , таргетна- и хормонотерапия. Предизвикателство пред лекарственото лечение е развитието на резистентност към прилаганото лечение. Различни цитотоксични медикаменти селективно се насочват към активно делящите се клетки, като различните им групи включват медикаменти с различен механизъм на действие. Лекарствената резистентност се дефинира като неадекватен отговор в инхибирането на туморния растеж. Може да бъде унаследен в субпопулация от хетерогенни ракови клетки или да отразява клетъчен отговор в следствие излагане на лекарството, т.е. резистентността варира. Друго предизвикателство в терапията са фармакогенетичните различия при всеки отделен пациент. Тази статия разглежда лекарствената резистентност и ролята на фармакогеномиката в онкологичната практика и като се фокусира върху генетичните ѝ аспекти. **Ключови думи:** онкология, лекарствена резистентност, фармакогеномика

Abstract: Treatment in oncology is based on a multidisciplinary approach, including surgery, radio- therapy, targeted and chemotherapy and hormone therapy. A huge challenge in the treatment area is the development of drug resistance in the course

of therapy. Various cyto- toxic drugs with a different mechanism of action are selectively targeting the actively divid- ing cells. Drug resistance could be defined as an insufficient response in inhibiting tumor growth. It may be inherited in a subpopulation of heterogeneous cancer cells or it could reflect the cellular response as a result of exposure to the drug. Cancers have the ability to develop resistance to traditional therapies, and the increasing prevalence of these drug resistant cancers necessitates further research and treatment development. Another chal- lenge in therapy are pharmacogenetic differences in the individual patient. This paper ex- amines drug resistance and the role of pharmacogenomics in oncology and focuses on its genetic aspects. Key words: oncology, drug resistance, pharmacogenomics

20. **Чилингирова Н**, Чилингиров Н, Странични ефекти от лекарственото лечение при рак на белия дроб (Therapy related side effects), списание Ревматология, брой 4, декември 2017 first online

Резюме: Нежеланите лекарствени реакции (НЛР) представляват предизвикателство в терапия на онкологичните заболявания и в частности в тези на рака на белия дроб, в някои случаи и лимитиращ фактор за постигане на максималентерапевтичен ефект. Този обзор разглежда основните странични реакции, които се проявяват при системното химиотерапевтично и таргетно лечение на рака на белия дроб.

Ключови думи: рак на белия дроб, системно лечение, нежелани лекарствени реакции

Abstract: Chemotherapy side effects remain a huge challenge in the treatment of oncology diseases, in particular in the treatment of lung cancer - in some cases even limiting the achievement of maximal therapeutic effect. This article is a review of the main chemotherapy and targeted therapy related adverse events in lung cancer treatment.

Key words: lung cancer, systemic treatment, treatment side effects

21. Dimitrov D, Ivanov T, Deliyski T, Iliev S, Filipov E, Karamanliev M, Betova T, Popovska S, **Chilingirova N**, Georgieva I, Tomov S, Gortchev G. Macroscopic assessment of total mesorectal excision quality after robotic assisted rectal resection due to rectal cancer in Bulgaria - a prospective trial. JBCR (2017)-in press

Abstract

Total mesorectal excision (TME) is a standard surgical procedure for rectal cancer. Robotic surgery has the potential to minimize the disadvantages of laparoscopic rectal

resection. Circumferential margin and macroscopic quality assessment of the resected specimen are the major prognostic factors for local recurrence of the disease. The aim of this study was to research the macroscopic assessment of the quality of TME after robotic-assisted rectal resections for rectal cancer performed in a single center.

Data was prospectively collected about macroscopic assessment of the quality of TME in thirteen patients after robotic-assisted rectal resections for rectal cancer between 09.04.2014 and 31.12.2016. After all robotic TMEs, a pathologist made macroscopic assessment of the completeness of the mesorectal excision.

The quality of TME was complete in 12 cases and nearly complete in one case. The circumferential and distal resection margins were negative in all cases. The mean number of harvested lymph nodes was nine.

This study indicated that using robotic surgery for rectal cancer does not lead to worsening the quality of TME. Further studies in this field are necessary.

Key words: rectal cancer, TME, quality of the specimen, robotic surgery

Резюме:

Тоталната мезоректална ексцизия (ТМЕ) е стандартна хирургична процедура за ректален карцином. Роботизираната хирургия има потенциала да сведе до минимум недостатъците на лапароскопската ректална резекция.

Циркумферентната резекционна граница и макроскопската оценка на качеството на резекционния препарат са основните прогностични фактори за локален рецидив на заболяването. Целта на това проучване е да се изследва макроскопската оценка на качеството на ТМЕ след роботизирани ректални резекции за ректален карцином, извършени в един център.

Проспективно се събираха данни за макроскопска оценка на качеството на ТМЕ при тринадесет пациенти след робот-асистирани ректални резекции по повод ректален карцином между 09.04.2014 и 31.12.2016. След всички роботизирани ТМЕ патолог направи макроскопична оценка на пълнотата на мезоректалната ексцизия.

Качеството на ТМЕ е определено като: пълно в 12 случая и почти пълно в един случай. Циркумферентната и дисталната резекционни граници са негативни във всички случаи. Средният брой на събраните лимфни възли е девет.

Това проучване показва, че използването на роботизирана хирургия за ректален карцином не води до влошаване на качеството на ТМЕ. Необходими са допълнителни проучвания в тази област.

Ключови думи: ректален карцином, ТМЕ, качество на резектата, роботизирана хирургия

22. Маринова В, Куртева Г., Трифонова И, Арабаджиев Ж, Солакова Г, **Чилингинова Н**, Стоева Д, Симеонова А; Съвременно лечение на ректалния карцином. Опит на клиниката по Химиотерапия СБАЛО ЕАД.; Списание Онкология 43, брой 2, 2015г., стр.17-25

Статията обобщава опита на клиниката по Медицинска онкология към Специализираната болница за активно лечение по онкология в София (СБАЛО) ЕАД в комплексното лечение на ректалния карцином и прави преглед на съвременните подходи за лечение на ректален карцином.

Резюме: Мултидисциплинарният подход при тази локализация е основна съвременна стратегия. Въпреки че се прилагат хирургичните методи ТМЕ и CRM, както и предоперативната химио-лъчетерапия, наличието на далечни метастази се установява при повечето от болните. Това изисква интензификация на лекарственото лечение. Регистрирани са нова генерация цитостатици (флуоропиримидини) за комбинирана химио-лъчетерапия, нови режими и прицелни агенти за по-агресивно поведение при ректален карцином. Добавянето на оксалиплатин към флуоропиримидини в съчетание с предоперативна лъчетерапия не показва значим ранен хистологичен отговор в клиничните проучвания фаза 3, освен в German CAO/ARO/AIO-04. Атрактивната таргетна терапия в неoadювантен аспект в съчетание с ЛТ демонстрира незадоволителен патологичен отговор при анти-EGFR инхибитор (цетуксимаб), а лечението с анти-VEGFR инхибитор (бевацизумаб) е довело до увеличаване на сериозните постоперативни усложнения. Локално авансираният ректален карцином представлява хетерогенна група с различни прогностични рискови фактори и изисква индивидуален подход на лечение. Поведението при рецидив или далечно метастазиране не се различава от това при карцином на дебелото черво. През периода 2008-2012 в клиниката по химиотерапия (ЪБАЛ по онкология) са провели лечение за карцином на ректума 171 пациенти. Най-често диагнозата е поставяна в IV стадий (27,5%). По голяма част от болните са провели предоперативна ЛТ, след което е извършена оперативна интервенция. Постоперативна химиотерапия са получили 62% от пациентите. Рецидив или метастазиране на заболяването са регистрирани при 46% от проследените болни. При част от тях е проведена палиативна лъчетерапия или резекция на далечните метастази. Лекарственото лечение при дисеминация на заболяването е проведено според стандартите на страната. Генетично изследване е извършено при малка част от болните. Таргетната терапия е определяна в зависимост от K-RAS статуса. Проследена е токсичността на комбинираните химиотерапевтични режими, както и на прицелните молекули. В сравнение с нежеланите странични реакции при лечение на карцинома на колона се наблюдават известни различия, но те са несъществени. При наблюдение на нашите болни до месец юни 2013 е установена 5-годишна обща преживяемост - 44,2% и време до прогресия - 77,04 месеца, които са статистически значими ($p < 0.0001$) и по-високи от показателите за страната.

Ключови думи: карцином на ректум, химио-лъчетерапия, таргетна терапия, токсичност.

23. Герасимов А, Трифонова И, Арабаджиев Ж, Солакова Г, Маринова В, **Чилингирова Н**, Сточева Д, Симеонова А, Куртева Г; Кабазитаксел в оптималното лечение на метастазирал резистентен на кастрация рак на простатата, прогресиращ след лечението с доцетаксел; Списание Онкология 43, брой 2, 2015 , стр.11-16

Ракът на простатата отнема живота на над 70000 мъже в Европейския съюз всяка година. В България ракът на простатата е на второ място по честота при мъжете и представлява 17% от всички злокачествени заболявания при тях за 2012. Заболяемостта и смъртността от рак на простатата се увеличават с 3,7% и 1,3% съответно, като се затвърждава и резкият скок на заболяемостта от 2011, вероятно поради нарастналата диагностична активност. Въпреки че ракът на простатата обичайно се развива бавно, то неминуемо се достига до метастатичен стадий, при който хормоналната терапия е първият избор и позволява контрол над заболяването за период, който зависи от характеристиките на тумора и неговата агресивност. Следващата фаза на прогресия на заболяването е развитието на кастрационна резистентност, която се определя като покачване на серумния специфичен за простатата антиген (PSA) независимо от поддържането на тестостерона в кръвта на кастрационни нива <50ng/dl. Резистентният на кастрация рак (КРПК) е нелечимо състояние.

Доцетаксел е установен като стандарт за лечение на прогресиращи пациенти с метастазирал кастрационно резистентен рак на простатата (мКРПК), които имат поносимост към това средство, като през последното десетилетие се разработиха и нови лекарства, които предстои или вече се използват в клиничната практика. Установи се, че андрогенният рецептор (АР) може да бъде манипулиран от нова хормонална терапия (т.е. абиратеронов ацетат и ензалутамид), както и че имунната система на пациента може да бъде стимулирана да се бори с рака (сипулеусел-Т), разработи се и нов таксан, активен срещу резистентни на доцетаксел клетки (кабазитаксел) и се установи, че микросредата на костите може да бъде по ефективно лекувана, за да се забавят скелетните усложнения (т.е. денозумаб) или даже да се увеличи общата преживяемост (223RaCl₂ -радий 223 дихлорид Ra223). На фона на тези нови терапевтични възможности е необходимо да се оцени мястото на таксановата химиотерапия и ползата на пациента в континуума на неговото лечение.

Ключови думи: метастатичен кастрационно резистентен простатен карцином, хормонална терапия, химиотерапия, таксани

Резюмето е налично и на английски език.

24. Трифонова И, Арабаджиев Ж, Герасимов А, **Чилингирова Н**, Солакова Г, Маринова В, Куртева Г; Таргетиране на съдовоендотелния растежен фактор- VEGF- в лечението на рак на яйчниците, сп. Онкология, бр. 3/2014, стр. 22-27

Статията разглежда подхода в лечението на малигнени тумори чрез таргетиране на съдовоендотелния растежен фактор VEGF, като поставя акцент върху терапията на рака на яйчниците. Резюмето е налично и на английски език.

Резюме: Ангиогенезата е критичен компонент в развитието и пролиферацията на тумора, а усилената ангиогенеза се асоциира с по-лош клиничен резултат при редица солидни тумори, в това число и при овариалния тумор. Поради това прицелните агенти, насочени към процеса на ангиогенеза, са от значим интерес при лечението на овариалния карцином. Докладвани са проучвания за оценка на ефикасността на антиангиогенни агенти. Разглежданите агенти включват инхибитори на васкуларен ендотелен растежен фактор (VEGF), включително моноклонални антитела, тирозинкиназни инхибитори (ТКИ) и разтворими рецепторни антагонисти както и инхибитори на други ангиогенни фактори и агенти, нарушаващи васкуларизацията. Инхибиторът на VEGF, бевацизумаб, е показал ефикасност във фаза 2 клинични изпитвания при овариален карцином, както и предимство в свободната от прогресия преживяемост в едно фаза 3 изпитване. ТКИ блокират VEGF рецепторите и вторичните пътища на ангиогенезата и са показали активност във фаза 1 и 2 клинични изпитвания. Други инхибитори на ангиогенезата са EphA2 инхибиторите и селективните ангиопоетин 1/2 неутрализиращи пептитела. Алтернативна стратегия е разрушаването на съществуващата туморна васкуларизация, като в тази посока в предклинични модели и фаза 1 са изследвани множество агенти, нарушаващи васкуларизацията. Антиангиогенезните агенти имат специфичен профил на странични лекарствени ефекти, вероятно поради инхибицията на нормалната физиологична ангиогенеза.

Фаза 2 и ранни фаза 3 проучвания са демонстрирали, че антиангиогенната терапия има значима роля в лечението на овариалния карцином. Резултатите от фаза 3 в предна линия и последващи линии ще определят степента на клинична полза от антиангиогенната терапия в комбинация с химиотерапия. Антиангиогенните агенти имат специфичен профил на странични лекарствени ефекти. Необходими са допълнителни изпитвания да се оцени как да се намали честотата на възникването на тези неблагоприятни събития, както и да се идентифицират пациентите, които ще имат най-много полза от антиангиогенната терапия.

Ключови думи: растежен фактор, таргетна терапия, овариален карцином.

25. Куртева, Г., Куртев П, Грудева Ж, **Чилингинова Н**, Маринова В, Трифонова И, Атанасова М, Караниколова Т. Преглед на терапевтичните възможности при бъбречноклетъчен карцином. Фокус върху razoranib, сп. Онкология , 2012, 40, 2, стр. 28-38.

Оригинална статия за терапевтичните възможности при лечението на бъбречноклетъчния карцином. Дефинитивният метод за лечение остава нефректомията, но в метастатичният стадий подход на избор е лекарственото лечение

с цел овладяване на прогресията и удължаване на преживяемостта на пациентите. Фокусира се върху pazopanib като медикамент на първи избор в лекарственото лечение на метастазирал бъбречноклетъчен карцином. Резюмето е налично и на английски език.

Резюме: Бъбречно клетъчният карцином (БКК) съставлява по-голямата част от всички бъбречни тумори, представляващи 3-3% от всички малигнени заболявания при човека. Метастатичният БКК от своя страна се характеризира с много ниска чувствителност към конвенционалната химиотерапия, поради което пробив в лечението на мБКК е цитокин-базираната терапия, а с въвеждането на таргетната терапия се измества почти напълно имунотерапията при тези пациенти. Целта на настоящата статия е да направи преглед на молекулярните механизми и обосновката за действието на тирозин киназните инхибитори при БКК, в частност на едно от тях - pazopanib, като подробно се разглежда клиничните данни за приложението му.

По правило БКК е хиперваскуларизиран тумор, резултатот промяната в сложното взаимодействие между вножество сигнални пътища в клетката, централна роля от които има вътреклетъчната сигнализация по оста VHL-HIF-VEGF. Затова таргетното инхибиране на киназите чрез ниско молекулни ТКИ може да блокира стъпала от тази каскада. Pazopanib е мултикиназен ТКИ, който инхибира VEGF рецепторите (VEGFR)-1,-2 и -3, PDGF рецепторите (PDGFR)-alfa beta и c-KIT фосфорилирането на VEGFR-2 в клетъчната линия. На базата на фаза 1 и 2 клинични проучвания са доказани стабилният клиничен отговор и добрата поносимост на медикамента с най-чести нежелани лекарствени реакции от степен 1 или 2 - диария, депигментация на косата и гадене, а най-честата степен 3 реакция - хипертония, се характеризира като класов ефект.

Рандомизирани двойно слепи, плацебо контролирани фаза 3 проучвания доказват клинично значима полза при пациенти с БКК като лечението с pazopanib е било с добра поносимост, а тежки степен 3 и 4 нежелани реакции се наблюдават при под 5% от пациентите. При сравнителен анализ на класовите ефекти при различните мултикиназни инхибитори, pazopanib е с най-ниска честота на проява на всеки един от тях, а качеството на живот на пациентите е запазено, с което се отбелязва напредъкът в лечението на БКК и се извеждат pazopanib и sunitinib като средство на първи избор при мБКК.

Ключови думи: БКК, тирозин киназни инхибитори, pazopanib, поносимост, качество на живот.

26. Герасимов А., Трифонова И, Маринова В, Арабаджиев Ж, Чилингирова Н, Соклакова Г, Стоева Д, Симеонова А, Куртева Г, Клинично приложение на абиратерон при

метастатичен, резистентен на кастрация рак на простатата - анализ. Онкология , 43, 2015, 4, 2-10.

Статията е преглед на показанията за клинично приложение на абиратерон в терапията на метастатичния резистентен на кастрация простатен карцином и отразява опита в клиниката по медицинска онкология. Резюмето е налично и на английски език.

Резюме: Ракът на простатата е най-често срещания рак сред мъжете в САЩ като през 2014 има 233000 диагностицирани нови случаи и 29480 починали. Честотата на рака на простатата спада приблизително с 2,4% на година всяка година от 2002 до 2011. За сравнение броят на смъртните случаи е спаднал средно с 3,3% всяка година за последните 10 години и има удължаване на 5-годишната преживяемост от 66% до 99,6% от 1970 до сега. Причината за този спад на починалите от рак е многофакторна и се дължи на повишения скрининг, ранното откриване, лечението на болни в ранен стадий и използването на нови антинеопластични продукти.

Ракът на простатата зависи от хормоналното стимулиране на клетъчната пролиферация. В началото има недоловим ход, но независимо от това може да метастазира в лимфните възли, черния дроб и костите, ако не се проведе хормонално лечение - чрез медикаментозна или хирургическа кастрация, като се цели намаляване нивата на тестостерона под 50ng/dL. Независимо от проведеното лечение след 2 до 3 години ракът може да развие андрогенова резистентност, известна още като резистентен на кастрация рак на простатата (CRPC).

Абиратерон ацетат е перорално прилаган, селективен инхибитор на 17алфа-хидроксилаза и C17,20-лиазната ензимна активност на цитохром P450 (CYP17). Разрешен е за употреба в комбинация с преднизон за лечение на мъже с метастатичен CRPC. CYP17 (17алфа-хидроксилаза и C17,20-лиаза) е ключов ензим, отговарящ за биосинтезата на андрогени и ограничаващ скоростта и продукцията на тестостерон. При метастатичен CRPC се експресира 16,9 пъти повече отколкото при първични тумори на простатата. Освен че катализира андрогенната биосинтеза CYP17 е важен и за продукцията на глюкокортикоиди. Нарушеното равновесие в нивата на глюкокортикоидите и минералкортикоидите налага прилагането на агонистите им, най-често преднизон и преднизолон. Като абиратерот, така и абиратерон ацетат са селективни необратими инхибитори на CYP17. Абиратерон ацетат трябва да се приема с преднизон, за да се избегне създаването на нарушено равновесие в минералкортикоидната активност.

Абиратерон е проучен и с разрешение за употреба при лечение на метастатичен CRPC в групата преди лечение с доцетаксел, като лечението с абиратерон плюс преднизон води до 57% намаление на риска от рентгенографско прогресиране или смърт. Клиничното проучване потвърждава употребата като възможност за

лечение от първа линия при асимптоматични или минимално симптоматични пациенти. Необходими са обаче допълнителни проучвания, за да се проучи ефикасността на абиратерон при пациенти с висцерално заболяване.

И в двете рандомизирани проучвания лечението с абиратерон се понася добре и не само подобрява преживяемостта, но подобрява и качеството на живот на пациента като повлиява контрола на болката и забавя костно свързаните събития.

Началните наблюдения в клиниката по медицинска онкология на СБАЛО показаха надеждни клинични резултати и добра поносимост като се наблюдава известна пъстрота на приложените линии лечение. Оформя се становище, че при тежко претретиран болни, лечението е неефективно, както и при органна дисеминация и остра прогресия. С натрупване на достатъчно опит както от клинични проучвания, татка и от собствен такъв, може би последователността на различните терапевтични режими ще е определяща за резултатите от лечение.

Ключови думи: простатен карцином, резистентност, кастрация, СУР17, минералкортикони, преднизон.

27. Солакова, Г., Трифонова И, Стоева Д, Маринова В, Арабаджиев Ж, Герасимов А, Чилингирова Н, Симеонова А, Куртева Г. Карцином на маточната шийка - проблеми и перспективи. Онкология, 2015, 43, 3, 2-11.

Резюмето е налично и на английски език.

Резюме: Карциномът на маточната шийка е здравен проблем в световен мащаб. Въпреки наличието на лесно достъпни превантивни мерки и ефективни методи за ранна диагностика, заболяването продължава да е една от водещите причини за смърт от онкологични заболявания при жените. В България статистиката е още по-черна като се отчитат заболяемост и смъртност два пъти надхвърляше средната за Европа стойност на съответните показатели. Заболяването достига своя пик във възрастовия диапазон от 30 до 40 години, представлявайки 21,1% от всички онкологични заболявания в тази възрастова група. Диагностициран в ранен стадий, този карцином е лечим. Петгодишната преживяемост при стадий IA е 93%, IB е 80% и IVB е 15%. Хирургичното лечение обичайно се прилага при ранен стадий на заболяването и по-малки лезии като IA, IB1 и отделни случаи в стадий IIA. Конкурентното химио-лъчелечение е метод на първи избор при стадиите в диапазона от IB2 до IVA. В стадий IVB основното лечение е цисплатина базирана терапия, като лечението е предимно палиативно с цел подобряване качеството на живота без да се наблюдава значимо удължаване на преживяемостта. От 80 години цисплатината е най-ефикасният химиотерапевтичен агент въпреки многобройните опити за откриване на такъв с по-добри резултати. Неоадювантната химиотерапия не е утвърдена като стандарт на лечение поради незадоволителните резултати, но изследванията в тази област продължават. След доказване на етиопатогенетичната роля на HPV-вирусната

инфекция и по-специално стимулирането на неоваскуларизацията. Вниманието и усилията се насочиха към комбинирането на цитостатичното лечение с антиангиогенни агенти. Резултатите от проучването GOG 240 доведоха до добавянето на бевацизумаб към стандартните схеми на лечение на метастазирало, рецидивирало или персистиращо заболяване. Изследванията на молекули, които подтискат процеса на неоваскуларизация, продължават. Очакваните резултати имат за цел откриването на нови таргетни молекули, които добавени към цитостатичната терапия, да удължат преживяемостта на пациентките. Позитивните резултати безспорно ще обнадееват както пациентките, така и клиницистите в неравностойната битка с това заболяване. **Ключови думи:** цервикален карцином, HPV-вирус, ангиогенеза, неоваскуларизация, конкурентно химио-лъчелечение, неoadювантна химиотерапия, адювантна химиотерапия.

28. Трифонова, И., **Чилингирова Н**, Герасимов А, Димова И, Солакова Г, Симеонова Л, Харалампиева Т, Куртева Г. Съвременна имунотерапия при тумори на главата и шията - настояща реалност и бъдещи предизвикателства. Списание на българското онкологично дружество, 2016, 4, стр.17-20

Абстракт: През 2015 година са диагностицирани 59 340 нови случаи с тумори на глава и шия в САЩ и 12 290 смъртни случаи. При локорегионалните рецидиви се провежда най-често химио-лъчелечение; при метастатично заболяване обаче химиотерапия се провежда с палиативна цел. Клинични проучвания при солидни тумори и хематологични заболявания прилагат с клиничен ефект имунотерапия (възможността имунната система на организма да се бори със заболяването) която се добавя като четвърта терапевтична възможност за лечение на туморите. Този коментарен анализ прави преглед на състоянието на имунотерапията и клиничните проучвания при лечение на тумори на главата и шията.

Abstract: 59,340 new cases of head and neck cancer would be diagnosed in the US alone in 2015 and 12,290 deaths would be attributed to the disease. Local and regional recurrences may be treated with chemotherapy and radiation; however, metastatic head and neck cancer is fatal and is treated with chemotherapy for palliation. Recent successful treatment of a variety of solid and hematological malignancies by immunotherapeutic approaches (i.e. harnessing the body's own immune system to combat disease) has added a fourth therapeutic option for the treatment of cancer. This commentary will review the status of immunotherapies in clinical development for the specific treatment of head and neck cancer.

Публикации (пълнотекстови) в сборници от научни форуми в България и чужбина:

Несвързани с дисертацията:

29. **Chilingirova N, Miteva L, Stanilova S; IL12 -12_Pro Polymorphism by Two Ethnic Groups in Bulgaria; Trakia Journal of Sciences, Vol.5, Suppl.1, pp 7-8, p. 60; 2007**

Summary: Single institution experience and project on testing for IL12 Peo polymorphism by two bulgarian ethnic groups.

Резюмета в международни списания:

1. **Chilingirova N, Balabanski L, Toncheva D, Kurteva G, Damyanov D, Chilingirov P** Identifying the genetic landscape of squamous cell carcinoma (SCC) and adenosquamous carcinoma (ASC) of the lung using next- generation sequencing (NGS), Ann Oncol (2015) 26 (suppl 1): i5. doi: 10.1093/annonc/ mdv043.16

Aim: Genetic tests have become an important part of oncology, as the number of molecular markers and viable targets for the treatment of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) continues to expand. Squamous cell carcinoma (SCC) of the lung is the main histotype where molecular testing is not routinely performed, since driver mutations are uncommon in this subset. The aim of this study is to identify the mutation profile of SCC and adenosquamous carcinoma (ASC) and to provide more information in order to fulfill the needs of personalized medicine.

Methods: In this prospective study we included 15 patients (13 male, 2 female) stage IIIB- IV with histology for NSCLC: 9 SCCs, 6 ASCs. DNA was extracted from paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue. Sequencing was performed on an Illumina MiSeq platform using a TruSight Cancer Panel targeting the coding sequence of 94 genes and 284 SNPs. BaseSpace was used for alignment and variant calling, and VariantStudio – for further analysis. The effect of rare (<3% global frequency) missense variants was predicted using RadialSVM and LR scores. Variants were classified into 3 groups – pathogenic mutations associated with cancer development (driver mutations), presumed pathogenic variants that might contribute to its growth, and variants with unknown clinical significance.

Results: In total, 243 variants were identified - median 13 (4-26) variants per sample for SCC and 22 (4-57) for ASC. Loss-of-function variants including nonsense, frameshift and splice site mutations were detected in all patients. In 14/15 those mutations were in haploinsufficient genes. The genes affected were ATM, NF1, APC, TP53, BRCA2, APC, CDKN1C, EZH2, PTEN in ASC, and NF1, TP53, KIT, XPC, WT1, TSC1, MSH2, GPC3 in SCC revealing the role of NF1 and TP53 in both histotypes.

Conclusions: This study successfully provided insights into the complex genetic landscape of SCC and ASC tumor cells. After clinical validation, molecular profiling by NGS could be integrated into practice for patients with SCC in order to build a large database of potential driver mutations that could in turn be utilized for future research and discovery of new targets and treatments for SCC.

2. **Chilingirova N, Balabanski L, Kurteva G, Toncheva D, Damyanov D, Chilingirov P,** Detection of driver mutation heterogeneity in patients with non- small cell lung cancer (NSCLC) using next generation sequencing (NGS), *European Journal of Cancer*, Sept. 2015, Volume 51, Supplement 3, Pages S612–S613
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049\(16\)31692-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049(16)31692-6)

Background: Lung cancer is a leading cause of cancer-related mortality worldwide. Its heterogeneous nature has become more apparent over the last years, but genetic mechanisms underlying the onset and progression of this cancer type are still not that clear. The aim of this study is to gain some insights into the mutational profile of Bulgarian patients with NSCLC. **Material and methods:** We report a sequencing-based study of tumor specimens from 19 patients (16 male, 3 female – age 38-72 yo, median age by diagnosis 60 years, stage IIIB-IV) with histologically confirmed adeno (1), adenosquamous (6), squamouscell (9) and large cell carcinoma (3) using NGS. Sixteen (16) of the patients were active or formal smokers (quit smoking by diagnosis) and three (3) - non-smoker. All patients were treated with platinum based chemotherapy according to local protocols. DNA was extracted from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tumor tissue. Sequencing was performed on an Illumina MiSeq platform using a TruSight Cancer Panel targeting the coding sequence of 94 genes and 284 SNPs. BaseSpace was used for alignment and variant calling, and Variant Studio – for further analysis. The effect of rare (<3% global frequency) missense variants was predicted using RadialSVM and LR scores. Variants were classified into 3 groups – pathogenic mutations associated with cancer development (driver mutations), presumed pathogenic variants that might contribute to its growth, and variants with unknown clinical significance. **Results** In each of the patients we identified at least one clear-cut driver mutation leading to a loss of function of a haploinsufficient gene. The genes affected for adenosquamous carcinoma were APC (p.Ser2497Ter; p.Gly857Ter; c.730-1G>T), TP53 (p.Arg196Ter; p.Val197Met), BRCA2 (c.9089_9090insA), ATM (p.Tyr313Ter), NF1 (p.Arg304Ter), CDKN1C (p.Ala166Arg), PTEN (c.80-1G>T) and EZH2 (p.Arg288Ter); for squamous cell: TP53 (p.Glu204Ter, p.Arg306Ter, p.Glu298Ter), XPC (p.Gln320Ter), WT1 (p.Gly91Leu), NF1 (c.730+1G>A), KIT (c.1347-1G>T), TSC1 (c.663+1G>T), MSH2 (p.Tyr522Ter) and GPC3 (p.Glu196Ter); for large cell carcinoma: TP53 (p.Gln167Ter), BRCA2 (Thr3033Asn), MET (p.Glu355Ter); for adenocarcinoma: TP53 (p.Arg213Ter) and FH (p.Arg343Ter). Each patient also carried other somatic and germline potential driver mutations such as heterozygous nonsense mutations, as well as many novel missense mutations in other genes predicted as pathogenic by the RadialSVM algorithm. **Conclusions:** The great heterogeneity in all patients in our findings highlight the importance of comprehensive analysis of the lung cancer genome for identifying novel pathways with clinical significance and personalized approach. After clinical validation, molecular profiling by NGS could be integrated into practice for patients with SCC in order to build a

large database of potential driver mutations that could in turn be utilized for future research and discovery of new targets and treatments.

3. **Chilingirova N**, Balabanski L, Ivanov S, Vazharova R, Toncheva D, Kurteva G, Detection of extensive driver mutation heterogeneity in 5 Bulgarian patients with adenosquamous carcinoma of the lung, *European Journal of Human Genetics*, Vol.23, Suppl. 1, June 2015, Nature Publishing Group

Background: Lung cancer remains amongst the leading causes of death worldwide. Adenosquamous carcinoma of the lung is a relatively rare subtype of non-small cell lung cancer accounting for approximately 1-4% of all cases. The genetic mechanisms underlying the onset and progression of this type of cancer are still not clear. The aim of this study was to gain an insight into the mutational profile of tumour tissue from 5 Bulgarian patients with adenosquamous carcinoma of the lung.

Materials and Methods: DNA was extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded tumour tissue. Libraries were prepared for sequencing using a TruSight Cancer Panel and included the exons of 94 cancer genes and 284 SNPs associated with cancer. Sequencing was performed on an Illumina MiSeq platform. The BWA pipeline was used for alignment and variant calling.

Results: In each of the patients we identified at least one clear-cut driver mutation leading to a loss of function of a haploinsufficient gene. The genes affected were *APC* (p.Ser2497Ter; p.Gly857Ter; c.730-1G>T), *TP53* (p.Arg196Ter; p.Val197Met), *BRCA2* (c.9089_9090insA), *ATM* (p.Tyr313Ter) and *NF1* (p.Arg304Ter). Each patient also carried other somatic and potential driver mutations such as heterozygous nonsense mutations in the haplosufficient FANC family genes (*FANCA*, *FANCC*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCM*), as well as many novel missense mutations in other genes predicted as pathogenic by the RadialSVM algorithm. **Conclusion:** We observed great heterogeneity in all patients, which highlights the need for a personalised approach in designing a therapeutic strategy for lung cancer patients in order to maximise their chances for successful treatment.

4. **Chilingirova N**, Hammoudeh Z, Balabanski L, Ivanov S, Vazharova R, Nesheva D, Rukova B, Karachanak-Yankova S, Antonova O, Staneva R, Hadjidekova S, Dimova I, Damyanova V, Kurteva G, Toncheva D, Pharmacogenomic study of non-small cell lung cancer, *European Journal of Human Genetics*, Vol.23, Suppl. 1, June 2015, Nature Publishing Group

Background: Lung cancer is a leading cause of death. Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for approximately 85% of all cases. Platinum based therapy is used as standard treatment for patients with NSCLC. The epidermal growth factor receptor (EGFR) has been shown to play an important role in the growth and survival of many solid tumors, including NSCLC. Gefitinib and erlotinib are EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKI) that blocks the signal transduction pathways implicated in the proliferation and survival of cancer cells. Little is known about other pharmacogenetic variants in NSCLC.

Methods: We performed DNA analysis on 19 patients with NSCLC. Tumor sample DNA

was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded samples. The samples were NGS sequenced using Illumina cancer panel (96 genes and 256 variants) by MiSeq instrument. The pharmacogenetic significance of our variants was evaluated using the information from PharmGKB database.

Results: Pharmacogenetic variants were found in different genes: ERCC2 (63% of the samples), TP53 (74%), XPC (68%). These variants define NSCLC as sensitive to treatment with the platinum based therapy. Another variant in EGFR gene (EGFR R497K) sensitive to EGFR-TKI was found in 47% of the samples by NGS sequencing. These variants can't be detected by the current IVD labelled real time PCR assays for NSCLC target therapy.

Conclusion: Our data shows that next generation sequencing tests reveals a new useful information for the personalized therapy of NSCLC.

5. Popovska S, **Chilingirova N**, Dineva T, Kamburova Z. Prevalence of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations in non small cell lung cancer (NSCLC) in Bulgarian population, Journal of Thoracic Oncology Volume 11, Issue 4, Supplement, April 2016: S57-S166. S1556-0864(16)X0004-4

Background: In the last couple of years genetic tests have become a significant part of the diagnosis of NSCLC. Mutational analysis and genomics profiling have advanced the field of lung cancer pointing out the critical role of some mutations in the treatment of the disease. The aim of this study is to determine and evaluate the EGFR mutation in Bulgarian patients with NSCLC.

Methods: In this prospective study we included 440 patients (320 male, 120 female, age 45 to 70 years) stage IIIB (10.8%)– IV (81.1%) with histology for NSCLC. Tumor samples amole were collected between July 2013 and November 2015. DNA was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue, using the Cobas[®] DNA Sample Preparation Kit. For the mutational screening we used the Cobas[®] EGFR Mutation Test v2. performed on the Cobas[®] 4800 System. All mutations were detected at 5% sensitivity with the exception of the 2240_2257del18 exon 19 deletion mutation, detected at a sensitivity of >10%. Presence of more than 50% adequate tumor tissue was confirmed by a pathologist.

Results: Histological evaluation found 380 (86.4%) cases with adenocarcinoma, 40 (10%) with squamous-cell carcinoma and 20 (4.6%) with NSCLC- NST. From all 440 tested samples in 58 (13.2%) we found mutation in the EGFR gene. By 37 (63.8%) of them (15 male, 22 female) it was an activating mutation in EGFR gene and by 21 (36.2%) mutations were linked to insensitivity to TKIs. The prevalent type of activating EGFR mutation was deletion in exon 19 (in 24 cases – 64.9%), in 11 (29.7%) cases – L858R in exon 21, in 1 (2.7%) case – S768I in exon 20 and by one patient we found double heterozygosity – S768I in exon 20 and G719X in exon 18. Half of the patients were non-smokers. 97.3% of the tumor samples with activating mutations were adenocarcinomas, the rest with histology for squamous-cell carcinoma. 81.1% of the samples were from the primary tumor and the rest from the secondary metastasis. All patients with activating mutations were treated with first line TKIs according to guidelines.

Conclusions: This study successfully provided insights into the prevalence and type of the EGFR gene mutation, which was detected in 13.2% of the studied Bulgarian population and corresponds to the publicly available data.

6. **Chilingirova N, Damyanov D, Kurteva G, Tonev S, Dimitrova N.** Small cell lung cancer – therapeutic challenge. A long time single institution experience. Journal of Thoracic Oncology: April 2014, 9 , 4 - abstract S29

Aim: Despite reported decrease in small cell lung cancer (SCLC) incidence, it still remains a considerable source of mortality. The aim of our study is to present a single institution experience on standard treatment of SCLC during the last 40 years, compare different treatment regimens and evaluate treatment efficiency and survival rates.

Methods: A retrospective study of the medical records of patients with histologically proven SCLC was performed for an interval of 40 years (1970– 2010) in the National Oncology Center, Sofia.

Results: To verify the reliability of therapeutic regimens and median survival rates we have studied retrospectively a group of 144 patients (23 women, 121 men), median age by diagnosis – 57 years and median follow up time of 320 months, divided by age into 3 groups – to 55, between 55–65, and over 65 yo with median survival of 9,3 months and no statistically significant difference in survival by age, but statistically significant difference in the median overall survival (OS) by gender 8,9 months for males, and 12,6 for females. 69 of the patients were with LD and 75 with ED SCLC, median survival rates of 10,6 and 9,3 months respectively. Patients were divided in groups based on the induction chemotherapy they had received: Group 1 - Vincristine, Cyclophosphamide, Methotrexate (VCM) followed by radiotherapy (RT), Group 2 – Cyclophosphamide (C) followed by RT, Group 3 – VCM, Group 4 – C only, Group 5 – without treatment, Group 6 – Etoposide, Cisplatin (EP) followed by RT, Group 7 – EP. Groups 1–4 include therapeutic regimens used before introducing EP as standard treatment for SCLC. According to the subgroup analysis no statistically significant difference in OS rates was observed between groups 2-1, 2-4, 2-6, 2-7, 3-4, 4-1, 4-7, 6-1, 7-1 and 6-7, which gives no superiority of EP/RT and EP over VCM/RT and C/RT. Old therapeutic regimens showed no statistically significant difference between VCM/RT - C/RT and VCM - C, but pointed the role of RT for some improvement in survival rates. General comparison between old and new regimens gives superiority to EP+/-RT. **Conclusions:** Although there were some advances after introduction of new therapeutic regimens, changes in OS rates remain relative small, there is no dramatic change in outcomes and treatment of SCLC still remains a challenge, which makes it important to look for new therapeutic options.

7. **Chilingirova N, Marinova V, Kurteva G, Svinarov D,** Personalized Dose Management for 5-fluoruracil Based Chemotherapy Regimens to Lower Severe Toxicity by Cancer Patients.

Background: Doses of chemotherapy drugs are administered based on body surface area (BSA), determined by height and weight of the patient. This standard does not reflect the difference in absorption and metabolism by each patient, which causes big blood drug level variations. We investigated the blood level of 5-fluoruracil (5-FU) in 3 chemotherapy regiments for treatment of colorectal cancer to determine the individual dose management with less side effects for each patient compared to standard dose treatment. **Material and methods:** A group of 56 patient with colorectal cancer were first divided into two subgroups according to the stage of the disease: 21 patients receiving adjuvant chemotherapy and 35 treated for metastatic disease. Three chemotherapy regiment were chosen: 5-FU (day1 and day5) + leucovorin (every 21 days), FOLFOX every 21 days and FOLFIRI every 21 days. 5-FU individual plasma concentrations were determined in four different ways - once on day 1 at the end of 2 hours infusion, twice at the 20th and 46th hour of pump infusion, measuring the concentration on the first, second and third day of the infusion and on the first, second, third and fourth day of the 5-FU infusion with a chromatography method. Another group of 50 patients receiving the same standard dose chemotherapy based only on BSA (without any dose adjustment) was used as a control group to follow up toxicity, intensity of treatment and period to progression. **Results:** The area under the time/concentration curve (AUC) of 5-FU (according to Gamelin FU dose adjustment table) for patients treated in adjuvant aspect: AUC 15 – 20 mgh/l resulted in recommendation for a 15% higher dose for 2 patients; AUC 20-24 mgh/l – 1 patient with no dose correction; AUC 30-35mgh/l – 1 patient with a lower dose recommendation. Results for patients with metastatic disease: by AUC under 10 mgh/l – 13 patients recommended for a high dose, AUC 10-15 mgh/l - 4 patients for 15% higher dose and AUC 20-24 mgh/l – 5 patients with no dose changes. From the results without any recommendation of dose adjustment: by 7 patients plasma concentrations of 5-FU could not be measured, the other 30 results are either with too high or too low AUC values. The concentration by follow up of patients on first, second and third day was different. **Conclusions:** Personalized dose management based on testing of blood drug levels has the potential to lessen severe side effects of chemotherapy drugs and to deliver the more accurate treatment to patients and a better quality of life

8. Bichev S, **Chilingirova N**, Savov A, EGFR mutation frequency in squamous cell carcinoma of the lung (SCC) in the Bulgarian population, Making it Personal. Cancer Precision Medicine March 2017 Amsterdam, Netherlands. Abstract book, march 2017, p.25, abstract nr.6

Background: Molecular testing has become an important part of clinical practice since targeted therapies are routinely used in oncology, in particular in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). By squamous cell carcinoma (SCC) of the lung molecular testing is not routinely performed, since driver mutations are uncommon in this subset, but is still the main histotype in Bulgaria. The aim of this analysis is to identify the EGFR mutation frequency in SCC in order to highlight the need of

mutational testing in this NSCLC subtype. Methods: For the time period 2010-2015 our prospective study analysed 2357 samples from patients with NSCLC, stage IIIB-IV, 926 of them with histology for SCC. DNA was extracted from paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue using QIAamp DNA FFPE Tissue Kit® (Qiagen). The quantity and quality of extracted DNA was assessed by NanoDrop 1000 spectrophotometer (Thermo Scientific). Real-time PCR amplification by the Scorpions Amplification Refractory Mutation System (SARMS) method was used to detect mutations in the EGFR gene exons 18-21. **Results:** In total, by 51 of all 926 patients (74% former or current smokers, 2/3 male, 1/3 female with median age by diagnosis 64 yo, 59% stage IV) with SCC (5,5%) mutation in EGFR was detected. Exon 21 L858R was found by 25 pts of them (49%), del19 by 17 (33,3%), T790M by 3 of them (5,9%), S768I ex21 by 3 pts (5,9%), G719X, L861Q and ins ex20 by 1 pts each (2%). All patients with activating mutations were treated according to the guidelines with first line TKI with a good therapeutic response. **Conclusion:** We detected activating mutations in 38 pts with SCC, which according to protocols should not be routinely tested and proved efficacy of first line TKI treatment. Our results demonstrated the need of molecular testing in certain cases with SCC NSCLC.