

РЕЗЮМЕТА НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ **на гл. ас. д-р Христо Бойчев Попов**

Представени за участие в конкурс за заемане на академичната длъжност ДОЦЕНТ в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, и научната специалност „Обща и клинична патология“ към катедра „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“, Факултет медицина, Медицински университет Варна и Клиника по Клинична патология, УМБАЛ „Света Марина“ Варна, публикуван в ДВ бр. 7 от 23.01.2024 год.

Дисертация за ОНС „Доктор“ на тема:

ПРОГНОСТИЧНИ И ПРЕДИКТИВНИ МОРФОЛОГИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ УРОТЕЛЕН КАРЦИНОМ НА ПИКОЧНИЯ МЕХУР (Приложение 18.33 и 18.34)

Резюме: В момента развитието на знанията в съвременната медицинска наука е достигнало до идеята и признаването на необходимостта от индивидуален медицински подход при лечението на всеки пациент. Това е отразено в концепцията за персонализирана медицина – област, към която са насочени надеждите за възможността за напредък в диагностиката и лечението на злокачествени заболявания. Индивидуалният подход, изграден на базата на прецизна морфологична диагноза и определения молекулярен профил на тумора, дава възможност за провеждане на лечение на всеки пациент.

Карциномът на пикочния мехур е деветият най-често срещан карцином в света. Повечето тумори на пикочния мехур са с уротелиален произход и това е преобладаващият хистологичен тип сред населението в Западна Европа и Северна Америка. През последните години заболяемостта от уротелиален карцином в световен мащаб непрекъснато нараства, като най-уязвими са мъжете със светла кожа и лицата във възрастовата група 65-80 години. По данни на Националния онкологичен институт в България се наблюдава тенденция за нарастване на заболяемостта от уротелиален карцином – от общата онкологична заболяемост през 2015 год. 8,2% са мъже, а 2,7% са жени. Карциномът на пикочния мехур е изключително коварно неопластично заболяване, което протича дълго време без оплаквания от болните. Благодарение на ранната диагностика и подобреното лечение смъртността постепенно намалява, а фаталните изходи най-често са свързани с рецидиви или метастатична болест. В сравнение с други злокачествени заболявания карциномът на пикочния мехур се характеризира с изключително висока честота на рецидиви. Ето защо изследователските дейности в световен мащаб са фокусирани върху намирането на нови маркери, участващи в ангиогенезата, клетъчната пролиферация и диференциацията, които биха могли да помогнат за разбирането на биологията на карцинома на пикочния мехур и да служат като прогностични и предиктивни фактори. Повечето от новодиагностицираните уротелиални карциноми, определени като неинвазивни, често рецидивират или прогресират до инвазивен растеж. В същото време 20-30% от напредналите ракови заболявания са склонни да дават метастази. Въпреки радикалната цистектомия, лъчетерапията и химиотерапията, петгодишната преживяемост на пациентите в много случаи е под 50%. Смята се, че идентифицирането на маркери за прогнозиране на биологичното поведение на тумора в ранните етапи на неговото развитие може да увеличи шансовете за благоприятен изход. При голяма част от злокачествените тумори е постигнат напредък в персонализираната медицина, където дефинираният и вече известен имунохистохимичен и молекулярен профил позволява индивидуализиран терапевтичен подход. В тази посока уротелният карцином на пикочния мехур е все още назад. От друга страна повечето от изследванията върху канцерогенезата, прогресията и метастазите на злокачествените

тумори дълго време са фокусирани върху туморния паренхим. Туморната строма (съединителната тъкан между туморните гнезда и инвазивния ръб) се възприема механично като опора или пасивна бариера. Според концепцията за персонализирана медицина всяка структурна характеристика и/или функционално взаимодействие би послужило за оптимизиране на диагнозата, усъвършенстване на терапията чрез задаване на цели за въздействие и подобряване на прогнозата. Освен всички клетъчни и неклетъчни компоненти на съединителната тъкан, туморната микросреда включва и други клетки с висока метаболитна активност. Докато участието на лимфоцити, макрофаги, неутрофилните левкоцити са обект на редица изследвания, ролята на еозинофилите е по-слабо проучена, а съобщенията по този въпрос в периодичната литература са дори противоречиви. В допълнение към класическото разбиране за ролята на еозинофилите при алергични и паразитни заболявания през 80-те години на миналия век в научната преса се появиха съобщения за TATE - наличие на еозинофилни левкоцити около и сред гнездата на туморния паренхим.

Настоящото проучване има за цел да сравни някои клинични и морфологични характеристики на уротелния карцином на пикочния мехур, за да открие някои характеристики, които биха могли да имат прогностично и/или предиктивно значение. За тази цел дефинирахме няколко задачи:

1. Да се проучат и анализират уротелните карциноми в стадий pTa и pT1 за петгодишен период във връзка с клинично-морфологичните характеристики (възраст, пол, преживяемост до настъпване на локален рецидив, диференциация и стадий).
2. Да се проучат и съпоставят клинично-морфологичните показатели между рецидивиращите и нередидивиращи уротелни карциноми на пикочния мехур.
3. Да се анализират полуколичествено и количествено тумор-асоциираните еозинофили и мастоцити във връзка с клинично-морфологичните показатели на рецидивиращите и нередидивиращите уротелни карциноми.
4. Да се оцени и сравни имунохистохимичната експресия на FGF2 в туморната строма при инвазивни и неинвазивни уротелни папиларни карциноми.
5. Да се изследва имунохистохимичната експресия на цитоскелетния протеин CK20, транскрипционния фактор GATA3 и сигнал-индуциращ рецепторен протеин gp130 в туморния паренхим.

Всички морфологични процедури са извършени в лабораториите на Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Св. Марина“ върху биопсични материали от пациенти на Клиниката по урология към същата болница.

Проби от 163 пациенти с папиларен уротелен карцином на пикочния мехур в стадий pTa и pT1 бяха събрани и разделени на две групи. Първата група се състои от 95 пациенти (n = 95) с уротелен карцином на пикочния мехур за периода 2007-2011 год. Тези пациенти са проследени в продължение на 5 години (съответно 2011-2016 год.) чрез редовно провеждани цистоскопии и не е установен рецидив (контролна група). Втората група се състои от 68 пациенти (n = 68), диагностицирани с уротелен карцином на пикочния мехур за периода 2007-2011 год. с хистологично доказан локален рецидив. Всички пациенти са лекувани с трансуретрална резекция и последваща интравезикална терапия. Всички биопсични материали са обработени за рутинна хистология и имунохистохимия в съответствие с етичните правила, съобразени с нормативната уредба в лабораториите на Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ „Св. Марина“. Хистологичният тип, степента на диференциация и стадият на тумора също се определя за първичния тумор във всяка от двете групи. Допълнителни срезове от парафиновите блокове се оцветяват за оценка и преброяване на мастоцитите, както и за имунохистохимична оценка на експресията на следните антитела: FGF2, GATA3, CK20 и gp130. Тумор-свързаната тъканна еозинофилия и тумор-свързаните тъканни мастоцити се определят полуколичествено и количествено и при двете групи пациенти.

Включените в проучването пациенти (n=163) са на средна възраст 65.92 ± 11.06 години, повечето от тях (63) са във възрастовата група 61-70 години, което съвпада с данните на GLOBOCAN, СЗО и Националния Раков регистър на България. При сравняване на групите уротелни карциноми с рецидивиращ и нередидивиращ карцином установихме, че средната

възраст при пациенти с локален рецидив е $47,09 \pm 11,31$ години и $66,01 \pm 10,96$ години при пациенти с нередицивиращи уротелни карциноми. Прави впечатление, че при рецидиращи уротелни карциноми средната възраст е по-ниска, без статистически значими разлики. Можем да предположим, че повторната поява на уротелните карциноми в по-ранна възраст е свързана с по-бърза прогресия на заболяването. Според Shi B *et al.* 2008, продължителността на преживяемостта без рецидив намалява с възрастта. Това вероятно се дължи на факта, че карциномът на пикочния мехур има тенденция да бъде добре диференциран при пациенти на възраст под 40 години и стадий pTa, за разлика от по-възрастната популация. В нашата група 14 пациенти (8,59%) на възраст под 50 години са били първоначално диагностицирани с неинвазивен карцином. От тях 7 пациенти (4,29%) са имали рецидив (средна преживяемост 13,6 месеца до настъпване на рецидива). Пациентите на възраст под 50 години обикновено са в стадий pTa и ниска степен на диференциация в сравнение с пациентите на възраст над 50 години.

Според нашите резултати броят на pT1 туморите, които носят по-висок риск от прогресия, е значително по-нисък при по-младите пациенти. Yossepowitch и Dalbagni посочват, че по-високата честота на тумори с висок стадий при по-възрастните популации трябва да се тълкува с повишено внимание, тъй като системите за класификация на тумори са претърпели няколко модификации през годините и вероятно степента на диференциация в тези проучвания може да бъде оценена различно. Възрастта и полът на пациентите не корелират със склонността към настъпване на рецидив. Нашите резултати показват, че едновременното сравнение на стадия със степента на диференциация и в двете групи показва висока достоверност. По-склонни към рецидив са уротелните карциноми в стадий pTa, които са с ниска степен на диференциация (Chamssuddin *et al.* 2013). Според резултатите при 121 от пациентите (74,23%) уротелният карцином се е появил след 60-годишна възраст, като съотношението мъже/жени е 3/1. Тези данни съвпадат с резултатите от литературата (Aliramaji *et al.* 2015, Flaiga *et al.* 2017). Анализът на тези данни в двете групи не показва статистически значима разлика между тях по възраст и пол.

В нашето проучване тъканна еозинофилия, свързана с тумора, присъства при 102 пациенти (62,58%). Установена е висока статистическа значимост ($p < 0,001$) между плътността на еозинофилната инфилтрация в стромата и появата на рецидив на тумора. Когато при първична ендоскопска биопсия се установи голям брой еозинофили (с плътност над $5,17/\text{mm}^2$) в стромата на уротелния карцином на пикочния мехур, рискът от локален рецидив се счита за твърде висок. Подобна връзка е открита от Miyata *et al.* 2015 г. при карцином *in situ* на пикочния мехур. Като продължение на анализа кривите на Каплан-Майер не показват връзка между броя на TATE и времето до настъпване на локален рецидив. Според анализа на ROC Curve високостепенният TATE не влияе на общата преживяемост въпреки тенденцията към настъпване на рецидив. Предполага се, че еозинофилната инфилтрация благоприятства настъпването на рецидив, тъй като дегранулацията на еозинофилните гранули освобождават фактори (основен алкален и катионен протеин, еозинофилна пероксидаза, еозинофилен невротоксин и др.), които пречат на процесите фагоцитоза, възпаление и клетъчно увреждане (Ogasawara *et al.* 2020, Holm-Bentzen 1989, Rosenberg *et al.* 1999) и като цяло модулират туморната микросреда.

Количествените изследвания на TATE представляват интерес и са предмет на текущи задълбочени проучвания както при нетуморни (Awad H *et al.* 2020), така и при туморни процеси (Horiuchi *et al.* 1993, Alrawi *et al.* 2005, Said *et al.* 2005).

Наблюдението и оценката на мастоцитите в туморната строма показват, че те са разположени единично, в малки групи или под формата на малки клъстери. Установихме наличието на тумор-асоциирани тъканни мастоцити (TATM) и в двете групи пациенти съответно с нередицивиращ и рецидиращ уротелен карцином. Прави впечатление, че техният абсолютен брой и плътност са значително по-ниски при нередицивиращите карциноми, с максимална плътност до 9 клетки/ mm^2 , а при рецидиращите – до $30,70 \text{ mm}^2$. Както полуколичественият, така и количественият анализ на теста на Mann-Whitney показват значителна разлика ($\chi^2 = 13,49$, $p = 0,0001$) в броя на TATM в стромата на първичните тумори при пациенти от двете групи. Същата връзка е потвърдена от анализа на ROC кривата. Въпреки това, броят и плътността на мастоцитите не са свързани с

преживяемостта без локален рецидив. Кривите на Kaplan-Meier показват, че пациентите с висок брой ТАТМ нямат значителни разлики в преживяемостта без локален рецидив в сравнение с тези с по-нисък брой мастоцити.

Няма задоволително обяснение за увеличения брой мастоцити в стромата на рецидивиращи карциноми. Представените тук резултати и литературните данни не могат да отговорят на важен въпрос – дали мастоцитите стимулират настъпването на рецидив или участват в потискането му. От една страна стимулираните мастоцити имат антитуморен потенциал чрез директно активиране на цитотоксични лимфоцити (Nakae S *et al.* 2006). От друга страна данните за влиянието им върху ангиогенезата са противоречиви. Смята се, че мастоцитите стимулират ангиогенезата чрез няколко различни механизма и дори се предполага, че те задействат „ангиогенетичния превключвател“ (Norrby 2002, Peltanova *et al.* 2019). Други автори предполагат, че при определени условия и локализации ТАТМ индуцират апоптоза на ендотелни клетки (Heikkilä *et al.* 2008).

FGF2 е друг фактор на туморната строма, който взаимодейства с широк спектър от клетки от туморната микросреда и елементи на екстрацелуларния матрикс. FGF2 има висок митогенен потенциал и участва в редица биологични процеси, включително туморен растеж и инвазия. Фактът, че модулира ролята на еозинофилите, адипоцитите и други имунни клетки, го прави важен фактор за прогресията на уротелните карциноми. Неговият рецептор (FGFR3) показва мутации и свръхекспресия в голяма част от уротелните карциноми и дори е цел за терапия с тирозинкиназни инхибитори (Gust K *et al.* 2013).

В нашето изследване положителната експресия на FGF2 беше открита имунохистохимично в цитоплазмата на фибробластите в стромата на тумора и около тумора и в цитоплазмата на ендотелните клетки от кръвоносните съдове. В настоящото проучване не е установена връзка между FGF2 и диференциацията/рецидивите на уротелните карциноми, а само връзка с тяхната инвазивност.

Не е открита връзка между експресията на FGF2 и другите клинични и патологични параметри (пол, възраст, диференциация и локален рецидив) при статистически значимо $p < 0,05$. Анализът на ROC кривата показва, че високите нива на експресия на FGF2 в стромата съответстват на нисък потенциал за субмукозна инвазия при висока статистическа значимост ($p < 0,0001$).

От подобно значение за инвазивността на уротелния карцином е експресията на CD10 - мембранен металопротеин с много противоречива роля в биологичното поведение на карциноми с различна локализация. Предишното ни проучване върху друга група уротелни карциноми на пикочния мехур показва положителна експресия на CD10 в тумори, инвазиращи в подлежащата гладка мускулатура, докато при неинвазивните експресия не беше открита (Porov *et al.* 2015). CD10 инактивира няколко ЕСМ фактора, разцепвайки аминотерминалите на пептидните връзки и по този начин улеснява прогресията на туморите. Смята се, че FGF участва в блокирането на медираната от FGF ангиогенеза (Mishra *et al.* 2016).

Предвид бързото развитие на технологиите и навлизането им в биологичните науки и медицинската практика е логично да очакваме нови предизвикателства. Например конфокалната лазерна ендомикроскопия осигурява хистологично изображение в реално време на жива човешка тъкан на дълбочина около 60 μm . В субмукозния интерстициум (включително пикочния мехур), този метод за първи път разкрива пълни с течност синусоидални структури, за които се смята, че играят роля в процеси като инвазия и разпространение на злокачествени тумори (Benias *et al.* 2018).

GATA3 е транскрипционен фактор, който регулира клетъчната диференциация и пролиферация в ДНК последователности, но ролята му в туморогенезата все още не е достатъчно изяснена. Авторы като Gulbinas *et al.* 2006, Engelsens *et al.* 2008, наблюдавайки експресията на GATA3 в някои тумори (карцином на панкреаса и ендометриума и др.), заключиха, че повишените нива на експресия на GATA3 имат отрицателна роля по отношение на степента на диференциация, както и стадия на развитие на тумора. Някои автори обаче свързват по-благоприятния биологичен ход на туморите (напр. невробластом) с високи нива на експресия на GATA3 (Hoene *et al.* 2009). Имунохистохимичната експресия на GATA3 се прилага широко като полезен маркер за уротелна диференциация. В

настоящото изследване ние определихме нивата на ядрена експресия на GATA3 в туморни клетки, които варират значително при пациенти с папиларен уротелен карцином на пикочния мехур. Не е установена връзка между експресията на GATA3 и изследваните клинично-патологични параметри (пол, възраст, диференциация и стадий) при статистически значимо $p < 0.05$. Анализът на ROC кривата показва, че нивата на експресия на GATA3 са намалени или липсват при нередицидивиращи карциноми, докато при рецидивиращи карциноми експресията е интензивна при статистически значими стойности ($p < 0.001$). Zheng *et al.* 2012 и McConkey *et al.* 2009 обсъждат възможността експресията на GATA3 също да е свързана с епително-мезенхимна трансформация, което предполага по-висока склонност на уротелния карцином към инвазия и метастази. Този механизъм може също да обясни ролята на GATA3 в локалния рецидив. Според други автори (Li *et al.* 2014) по-ниските нива на експресия на GATA3 са свързани с уротелния карциноми с висока степен на диференциация и по-висока склонност към инвазия. Нашите резултати не доказват такава връзка. Това може да се обясни с различната хистогенеза и регулаторни механизми на туморите, свързани с експресията на GATA3 от туморни клетки и неговото участие в епително-мезенхимната трансформация на туморната микросреда.

Нашето внимание беше насочено и към цитокератините, които са междинни филаменти, характерни за цитоплазмата на епителните клетки. Преходният епител или уротелът на пикочните пътища показва промени в експресията и конфигурацията на CK20, свързани със стратификация и диференциация.

Положителна експресия на CK20 се наблюдава в цитоплазмата на уротелните туморни клетки. Не се установява връзка между експресията на CK20 и изследваните клинично-патологични параметри (пол, възраст, стадий и поява на локален рецидив) при статистически значимо $p < 0.05$. Анализът на ROC кривата показва статистически значима разлика между ниска и висока степен на диференциация на уротелния карцином. При тумори с висока степен на диференциация експресията на CK20 е значително намалена както по интензитет, така и по площ, с тенденция да липсва напълно. Проучвания на други автори показват, че експресията на CK20 е до голяма степен свързана с времето до настъпване на рецидив (Bertz *et al.* 2012). Нашите резултати не показват статистически значима връзка между нивата на експресия на CK20 и времето до настъпване на рецидив. Автори като Desai *et al.*, оценяващи експресията на CK20 върху 42 нискостепенни и 62 високостепенни уротелни карциноми, установяват, че тя е свързана с високостепенни карциноми и стадий на тумора. За разлика от тях ние открихме връзка между високи нива на експресия и нискостепенните уротелни карциноми. Не се открива връзка между експресията на CK20 и стадия на тумора.

Въпреки обширните проучвания за ролята на експресията на CK20 в уротелните карциноми ясно е, че има много несъответствия и разлики в интерпретацията. Това ни дава основание да приемем, че тя варира при уротелните карциноми и CK20 не може да бъде категоричен диагностичен, прогностичен и предиктивен маркер за тумори с уротелен произход.

Ролята на gp130 при уротелния карцином на пикочния мехур не е добре изяснена. Според Omokehinde *et al.* 2020 gp130 регулира широк спектър от процеси, включително туморната патогенеза и метастазирането. Автори като Xu *et al.* 2013 изказват хипотеза, че gp130 може да играе роля в иницирането на уротелен карцином чрез коекспресия с гени, които стимулират пролиферацията на туморни клетки.

Martin *et al.* 2019, оценявайки експресията на gp130, Bcl-xL и VEGFR2 върху 11 уротелни карцинома доказват, че тя е свързана с агресивността на тумора. По-специално експресията на gp130 значително корелира с диференциацията на тумора, нодалния статус и преживяемостта на пациента. Същите автори отбелязват ниска експресия на gp130 при неагресивни папиларни тумори на пикочния мехур, докато високите нива корелират със злокачествени тумори с лоша прогноза. В настоящото изследване не установихме такава връзка, което може да се обясни от факта, че броят на изследваните от нас пациенти е по-голям. Установената положителна експресия на gp130 в цитоплазмата на туморните клетки не показва връзка с клиничните и патологични параметри (пол, възраст, диференциация, стадий и поява на локален рецидив) при статистически значимо $p < 0.05$.

По-доброто разбиране на сигналните пътища и поведението на туморните клетки, околната

микросреда и взаимодействието между тях би предоставило познания за механизмите, отговорни за стимулиране и/или инхибиране на туморогенезата. Изясняването на тези механизми може да доведе до разработването на нови терапевтични цели за предотвратяване на иницирането и прогресирането на туморите и тяхното повторение. Резултатите, получени в това проучване на 163 пациенти с уротелен карцином на пикочния мехур в стадий pTa и pT1, предоставиха данни, потвърждаващи установените факти в литературата, и от друга страна, разкриха някои нови обстоятелства, свързани с прогресията на уротелния карцином. Ние доказахме, че увеличеният брой еозинофили и мастоцити в стромата и положителната експресия на GATA3 са черти в първичния тумор, които статистически предопределят по-висок риск от по-ранен локален рецидив. Установена е и статистически значима връзка между експресията на FGF2 и инвазивността на карцинома.

Въз основа на тези модели бихме могли да предложим общ профил на рецидивирация уротелен карцином на пикочния мехур. Имайки предвид горните критерии, морфологичната оценка на всеки отделен случай в бъдеще ще позволи определянето на висок или нисък риск от настъпване на рецидив. Рискът ще включен в окончателния биопсичен доклад. Това ще бъде още един фактор, определящ индивидуализирането на терапията при онкоболните, и ще се отрази на клиничното му проследяване и своевременното откриване на новия рецидив.

Изводите, които можем да направим, са следните:

1. Локалният рецидив при уротелните карциноми в стадий pT1 настъпва много по-рано от тези в стадий pTa.
2. Вероятността от локален рецидив е статистически доказана като по-висока при уротелни карциноми с висока степен на диференциация.
3. Времето до локален рецидив е много по-кратко при пациенти с уротелен карцином с висока степен на диференциация.
4. Наличието и плътността на TATE и броят на мастоцитите в стромата на уротелния карцином корелират положително с по-висок процент на статистическа значимост ($p < 0,001$), с повишения риск от локален рецидив, но не могат да определят времето до неговата поява.
5. Високите нива на цитоплазмена експресия на FGF2 от туморната строма са предпоставка за намален риск от инфилтративен растеж в субмукозата.
6. Високите нива на ядрена експресия на GATA3 в туморни клетки корелират с по-висок риск от локален рецидив, но не могат да определят времето до появата му.
7. Нивата на цитоплазмена експресия на CK20 в туморните клетки корелират с нискостепенна диференциация на уротелните карциноми.
8. Нивата на експресия на gr130 не корелират с клиничните морфологични параметри.

Приноси с оригинален характер:

1. Изследването дава морфологична оценка на голяма група уротелни карциноми, интерполирани според склонността им към локален рецидив.
2. Доказана е връзката между плътността на TATE, мастоцитите и появата на локален рецидив.
3. Предлага се примерен морфологичен профил на рецидивиращ уротелен карцином.

Приноси с потвърдителен характер:

1. Потвърдена е връзката между стадия (pT), high grade на диференциация и по-ранното настъпване на локален рецидив.
2. Потвърдено е значението на експресията на FGF2 и стадия (pT)/инвазивност.

Приноси с научно-приложен характер:

1. Позитивната експресия на CK20 не може да бъде използвана като категоричен хистогенетичен маркер.
2. Потвърдена е връзката между експресията на CK20 и low grade на диференциация.
3. Експресията на GATA3 от уротелните тумори се свързва с настъпването на локален рецидив, но не може да бъде категоричен хистогенетичен маркер за уротелен

произход на тумора.

Predictive and Prognostic Morphological Factors in Urothelial Carcinoma of the Urinary Bladder

Abstract: Currently, the development of knowledge in modern medical science has reached the idea and recognition of the need for an individual medical approach in treating each patient. This is reflected in the concept of personalised medicine - an area to which hopes are focused on the possibility of making progress in the diagnosis and treatment of malignant diseases. The individual approach, built based on the precise morphological diagnosis and the determined molecular profile of the tumour, allows for the implementation of each patient's treatment.

Bladder cancer is the ninth most common cancer in the world. Most bladder tumours are of urothelial origin, and this is the predominant histological type among the population in Western Europe and North America. Over the last years, the incidence of urothelial carcinoma worldwide has been steadily increasing, with the most vulnerable being light-skinned men and individuals in the 65-80 age group. According to the National Oncology Institute data in Bulgaria, there is a tendency for an increase in urothelial carcinoma incidence - of the total oncological incidence in 2015, 8.2% are men, and 2.7% are women. Bladder cancer is an extremely insidious neoplastic disease that exists for a long time without complaints. Because of the early diagnosis and improved treatment, mortality rate undergoes gradual reduction, and fatal outcomes are most often associated with recurrence or tumour metastases. Compared to other malignancies, bladder cancer is characterised with an extremely high recurrence rate. That is why research activities worldwide are focused on finding new markers involved in angiogenesis, cell proliferation, and differentiation that could help understand bladder cancer biology and serve as prognostic and predictive parameters. Most of the newly diagnosed urothelial carcinomas, defined as noninvasive, often recur or progress to invasive growth. At the same time, 20-30% of advanced cancers tend to produce metastases. Despite radical cystectomy, radiation therapy, and chemotherapy, the five-year survival of patients is below 50% in many cases. It is believed that the identification of markers to predict the biological behaviour of the tumour in the early stages of its development, may increase the chances of a favourable outcome. In a large proportion of malignant tumours, progress has been made in personalised medicine, where the defined and already known immunohistochemical and molecular profile allow individualised therapeutic approach. In this direction, urothelial bladder carcinoma is still behind.

On the other hand, most of the studies on the carcinogenesis, progression and metastasis of malignant tumours have been for a long time focused on the tumour parenchyma. The tumour stroma (the connective tissue between the tumour wells and the invasive margin) was perceived mechanically as support or passive barrier. According to the concept of personalised medicine, any structural feature and/or functional interaction would serve to optimise the diagnosis, refine the therapy by setting targets for impact and improve prognosis. In addition to all cellular and non-cellular components of connective tissue, the tumour microenvironment includes other cells with high metabolic activity. While the involvement of lymphocytes, macrophages, polymorphonuclear cells has been the subject of a number of studies, the role of eosinophils has been less studied, and reports on this issue in the periodical literature are even contradictory. In addition to the classical understanding of eosinophils' role in allergic and parasitic diseases in the 1980s, reports of TATE appeared in the scientific press - the presence of eosinophilic leukocytes around and among the nests of the tumour parenchyma. TATE was found in almost all tumour sites.

The present study aims to compare some clinical and morphological characteristics of urothelial bladder cancer to detect some features that could be of prognostic and/or predictive significance. For this purpose, we defined several tasks: (i) to study and analyse urothelial carcinomas in stage pTa and pT1 for five years in relation to clinical and morphological characteristics (age, sex, survival to local recurrence, differentiation and stage); (ii) to compare the clinical and morphological parameters between recurrent and non-recurrent urothelial carcinomas of the bladder; (iii) to analyse semiquantitatively and quantitatively tumour-associated eosinophils and mast cells in relation to the clinical and morphological parameters in the two groups of patients with recurrent and non-recurrent urothelial bladder cancers; (iv) to evaluate and compare the

immunohistochemical expression of FGF2 in the tumour stroma in invasive and noninvasive urothelial papillary carcinomas; (v) to evaluate the immunohistochemical expression of the cytoskeletal protein CK20, the transcription factor GATA3 and the signal-inducing receptor protein gp130 in the tumour parenchyma.

All morphological procedures were carried out in the laboratories of the Clinic of General and Clinical Pathology at the University Hospital "St. Marina" on biopsy materials from patients of the Clinic of Urology in the same hospital.

Samples of 163 patients with papillary urothelial bladder carcinoma in stage pTa and pT1, were gathered and divided into two groups. The first group consisted of 95 patients ($n = 95$) with urothelial bladder cancer for the period 2007-2011. These patients were followed for 5 years (2011-2016 respectively), and no recurrence was established by regularly repeated cystoscopy (control group). The second group consisted of 68 patients ($n = 68$) diagnosed with urothelial bladder cancer for the period 2007-2011 with histologically verified local recurrence. All patients were treated with transurethral resection and subsequent intravesical therapy. All biopsy materials were processed for routine histology and immunohistochemistry in accordance with the ethical rules following the regulations in the laboratories of the Clinic of General and Clinical Pathology at the University Hospital "St. Marina". The histological type, the degree of differentiation, and the tumour stage were also determined for the primary tumour in each of the two groups.

Additional sections of the paraffin blocks were stained for the presence and counting of mast cells and immunohistochemical evaluation of the expression of the following antibodies: FGF2, GATA3, CK20 and gp130. Tumour-associated tissue eosinophilia and tumour-associated tissue mast cells were determined semiquantitatively and quantitatively in both groups of patients.

The patients included in the study ($n=163$) were with a mean age of 65.92 ± 11.06 years, most of them (63) belonged to the age group 61-70 years, which coincides with the data from GLOBOCAN, WHO and the National Cancer Registry of Bulgaria. When comparing the groups of urothelial carcinomas with a recurrent and non-recurrent course, we found that the mean age in patients with local recurrence was 47.09 ± 11.31 years and 66.01 ± 10.96 years in patients with non-recurrent urothelial carcinomas. It is noteworthy that in recurrent urothelial carcinomas, the mean age is lower, without statistically significant differences. We can assume that recurrence of urothelial carcinomas at an earlier age is associated with faster disease progression. According to Shi B et al. 2008, the duration of relapse-free survival decreases with age. This is probably because bladder cancer tends to be well-differentiated in patients under the age of 40 and the pTa stage, in contrast to the older population. In our group, 14 patients (8.59%) under the age of 50 were initially diagnosed with noninvasive carcinoma, of which 7 patients (4.29%) had a relapse (mean survival 13.6 months to recurrence). Patients younger than 50 years of age are usually at the pTa stage and low grade of differentiation compared to patients over 50 years of age.

According to our results, the number of pT1 tumours that carry a higher risk of progression is significantly lower in younger patients. Yossepowitch and Dalbagni point out that the higher incidence of high-grade tumours in older populations must be interpreted with caution, as the tumour classification systems had undergone several modifications over the years and probably the degree of differentiation in these studies may be evaluated variably. The age and sex of the patients do not correlate to the tendency to relapse. Our results show that the simultaneous comparison of the stage with the degree of differentiation in both groups shows high reliability, as more prone to recurrence are urothelial carcinomas in stage Ta, which have a low degree of differentiation (Chamssuddin et al. 2013). According to the results, in 121 of the patients (74.23%), urothelial carcinoma appeared after the age of 60, and the male/female ratio was 3/1. These data coincide with the literature results (Aliramaji et al. 2015, Flaiga et al. 2017). The analysis of these data in the two groups shows no statistically significant difference between them in terms of age and gender.

In our study, tumour-associated tissue eosinophilia was present in 102 patients (62.58%). High statistical significance ($p < 0.001$) was found between the density of eosinophilic infiltration in the stroma and the occurrence of tumour relapse. When a high number of eosinophils (with a density above $5.17/\text{mm}^2$) is established in a urothelial bladder carcinoma stroma on primary endoscopic biopsy, the risk of local recurrence is considered to be too high. A similar relationship was found by Miyata et al. 2015 in the bladder in situ carcinoma. As a continuation of the analysis of this

association, the Kaplan-Meier curves do not show a relationship between the number of TATEs and the time to local recurrence. According to the ROC Curve analysis, high-grade TATE does not affect overall survival despite the tendency to relapse. It is assumed that eosinophilic infiltration favours relapse because the degranulation of eosinophilic granules releases factors (major alkaline and cationic protein, eosinophilic peroxidase, an eosinophilic neurotoxin, etc.) that interfere with processes such as phagocytosis, inflammation and urothelial damage (Ogasawara et al. 2020, Holm-Bentzen 1989, Rosenberg et al. 1999) and generally modulate the tumour microenvironment.

Quantitative studies of eosinophilic infiltrates are of interest and subject to ongoing in-depth studies in both non-tumour (Awad H et al. 2020) and tumour processes (Horiuchi et al. 1993, Alrawi et al. 2005, Said et al. 2005).

Observation and evaluation of mast cells in the tumour stroma show that they are located singly, in small groups or in the form of short chains. We found the presence of tumour-associated tissue mast cells (TATM) in both groups of patients with non-recurrent and recurrent urothelial carcinoma, respectively. It is noteworthy that their absolute number and density are significantly lower in non-recurrent carcinomas, with a maximum density of up to 9 cells / mm², and in recurrent - up to 30.70 mm². Both semi-quantitative and quantitative Mann-Whitney test analyses showed a significant difference ($\chi^2 = 13.49$, $p = 0.0001$) in the number of TATM in the stroma of primary tumours in patients from both groups. The same relationship was confirmed by ROC curve analysis. However, the number and density of mast cells are not related to survival without local recurrence. The Kaplan-Meier curves show that patients with high stromal mast cell counts did not have significant survival differences without local recurrence compared to those with lower mast cell counts.

There is no satisfactory explanation for the increased number of mast cells in the stroma of recurrent carcinomas. The results presented here and the literature data cannot answer an important question - whether mast cells stimulate recurrence or are an unsuccessful attempt to suppress it. On the one hand, stimulated mast cells have antitumor potential through direct activation of cytotoxic lymphocytes (Nakae S et al. 2006). On the other hand, data on their influence on angiogenesis are contradictory. It is believed that mast cells stimulate angiogenesis through several different mechanisms, and it is even assumed that they trigger the "angiogenetic switch" (Norrby 2002, Peltanova et al. 2019). Other authors suggest that under certain conditions and localisations, TATMs induce endothelial cell apoptosis (Heikkilä et al. 2008).

FGF2 is another factor of the tumour stroma, which interacts with a wide range of cells from the tumour microenvironment and elements of the extracellular matrix. FGF2 has a high mitogenic potential and is involved in a number of biological processes, including tumour growth and invasion. The fact that it modulates the role of eosinophils and adipocytes and other immune cells makes it a significant factor in urothelial carcinomas' progression. Its receptor (FGFR3) shows mutations and overexpression in a large proportion of urothelial carcinomas and is even a target for therapy with tyrosine kinases and inhibitors (Gust K et al. 2013).

In our study, positive expression of FGF2 was found immunohistochemically in the cytoplasm of fibroblasts in the stroma of the tumour and around the tumour and in the cytoplasm of endothelial cells from blood vessels. In the present study, no relationship was found between FGF2 and the differentiation/recurrence of urothelial carcinomas, but only an association with their invasiveness. No relationship was found between FGF2 expression and the other clinical and pathological parameters (sex, age, differentiation and local recurrence) at a statistically significant $p < 0.05$. ROC curve analysis showed that high levels of FGF2 expression in the stroma corresponded to low potential for a submucosal invasion at high statistical significance ($p < 0.0001$).

Of similar importance for the invasiveness of urothelial carcinoma is the expression of CD10 - a membrane metalloprotein with a very controversial role in the biological behaviour of carcinomas with different localisation. Our previous study on another group of urothelial bladder carcinomas showed positive CD10 expression in tumours invading the underlying smooth muscle, while noninvasive expression was not detected (Popov et al. 2015). CD10 inactivates several ECM factors, cleaving the amino terminals of peptide bonds and facilitating tumour progression. Specifically, FGF is thought to be involved in blocking FGF-mediated angiogenesis (Mishra et al. 2016).

The involvement of the stroma in the carcinogenesis and progression of malignant tumours is obviously beyond the results presented here and the comments in the scientific literature. Given the rapid development of technologies and their entry into the biological sciences and medical practice, it is logical to expect new challenges. For example, confocal laser endomicroscopy provides a real-time histological image of living human tissue at a depth of about 60 μm . In the submucosa interstitium (including the bladder), this method for the first time reveals fluid-filled sinusoidal structures that are thought to play a role in processes, such as invasion and spread of malignant tumours (Benias et al. 2018).

GATA3 is a transcription factor that regulates cell differentiation and proliferation in DNA sequences, but its role in tumorigenesis has not been yet sufficiently elucidated. Authors such as (Gulbinas et al. 2006, Engelsen et al. 2008), monitoring the expression of GATA3 in some tumours (pancreatic and endometrial carcinoma, etc.), concluded that increased expression levels of GATA3 have a negative role in terms of the degree of differentiation, stage and prognosis of tumour development. However, some authors associate the more favourable biological course of tumours (e.g. neuroblastoma) with high expression levels of GATA3 (Hoene et al. 2009).

Immunohistochemical expression of GATA3 is widely applied as a useful marker for urothelial differentiation. In the present study, we determined the levels of nuclear expression of GATA3 in tumour cells, which vary significantly in patients with papillary urothelial carcinoma of the bladder. No relationship was found between the expression of GATA3 and the studied clinical and pathological parameters (sex, age, differentiation and stage) at a statistically significant $p < 0.05$. However, ROC curve analysis showed that high levels of GATA3 expression were reduced or absent in non-recurrent carcinomas, whereas in recurrent carcinomas, the expression was intense at statistically significant values ($p < 0.001$). Zheng et al. 2012 and McConkey et al. 2009 discuss the possibility that GATA3 expression is also associated with epithelial-mesenchymal transformation, suggesting a higher propensity of the urothelial carcinoma to invade and metastasise. This mechanism may also explain the role of GATA3 in local recurrence. According to other authors (Li et al. 2014), lower GATA3 expression levels have been associated with urothelial carcinomas with a high grade of differentiation and a higher propensity to invade. Our results do not prove such a connection. These results can be explained by the different histogenesis and regulatory mechanisms of tumours associated with the expression of GATA3 by tumour cells and its involvement in the epithelial-mesenchymal transformation of the tumour microenvironment.

Our attention was also focused on cytokeratins, which are intermediate filaments characteristic of the cytoplasm of epithelial cells. The transitional epithelium or urothelium of the urinary tract shows changes in the expression and configuration of CK20 associated with stratification and differentiation.

Positive expression of CK20 was observed in the cytoplasm of urothelial cancer cells. No relationship was found between the expression of CK20 and the studied clinical and pathological parameters (sex, age, stage and occurrence of local recurrence) at a statistically significant $p < 0.05$. ROC curve analysis showed a statistically significant difference between a low and high grade of urothelial carcinoma differentiation. In high-grade tumours, CK20 expression is significantly reduced both in intensity and area; there is a tendency to be completely absent. Studies by other authors show that CK20 expression is largely related to the time to relapse (Bertz et al. 2012). Our results did not show a statistically significant relationship between CK20 expression levels and the time to relapse. Authors such as Desai et al., evaluating the expression of CK20 on 42 low grade and 62 high-grade urothelial carcinomas, found that it was associated with high-grade carcinomas and tumour stage. In contrast, we found a relationship between high expression levels and low-grade differentiation of urothelial carcinoma, while there is no such relationship between CK20 expression and tumour stage.

Despite extensive studies on the role of CK20 expression in urothelial carcinomas, it is clear that there are many discrepancies and differences in interpretation. This gives us the reason to assume that it varies in urothelial carcinomas and CK20 cannot be a definite diagnostic, prognostic and predictive marker for tumours of urothelial origin.

The role of gp130 in urothelial bladder cancer is not well understood. According to Omokehinde et al. 2020, gp130 regulates a wide range of processes, including tumour pathogenesis and

metastasis. Authors such as Xu et al. 2013 hypothesise that gp130 may play a role in the initiation of urothelial carcinoma through coexpression with genes that stimulate tumour cell proliferation. Martin et al. 2019, evaluating the expression of gp130, Bcl-xL and VEGFR2 on 11 urothelial carcinomas proved that it is associated with tumour aggressiveness. In particular, gp130 expression significantly correlated with tumour differentiation, nodal status, and patient survival. The same authors noted low gp130 expression in non-aggressive papillary bladder tumours, while high levels correlated with malignant tumours with a poor prognosis. In the present study, we did not establish such a relationship, which can be explained by the fact that the number of patients studied by us is higher. The established positive expression of gp130 in the cytoplasm of tumour cell carcinomas did not show a connection with the clinical and pathological parameters (sex, age, differentiation, stage and occurrence of local recurrence) at a statistically significant $p < 0.05$. A better understanding of tumour cells' signalling pathways and behaviour, the surrounding microenvironment, and the interaction between them would provide knowledge of the mechanisms responsible for stimulating and/or inhibiting tumorigenesis. The elucidation of these mechanisms may lead to the development of new therapeutic targets to prevent tumour initiation and progression and their recurrence.

In summary, the results obtained in this study of 163 patients with urothelial bladder carcinoma in stage pTa and pT1, provided data confirming the established facts in the literature, and on the other hand, revealed some new circumstances related to the progression of urothelial cancer. We have shown that the increased number of eosinophils and mast cells in the stroma and the positive expression of GATA3 are traits in the primary tumour, which statistically predetermine a higher risk of earlier local recurrence. A statistically significant association was also found between FGF2 expression and carcinoma invasiveness.

Based on these patterns, we could offer a general profile of the recurrent urothelial bladder carcinoma. Considering the above criteria, the morphological assessment of every individual case in the future will allow the high risk of recurrence to be included in the final biopsy report. This will be another criterion in the pursuit of maximum individualisation of therapy in the cancer patient and will affect his clinical follow-up and timely detection of the new recurrence.

The conclusions we can draw are the following:

1. The local recurrence in urothelial carcinomas in stage pT1 comes much earlier than those in stage pTa.
2. The probability of local recurrence is statistically proven to be higher in urothelial carcinomas with high-grade differentiation.
3. The time to local recurrence is much shorter in patients with urothelial carcinoma with high-grade differentiation.
4. The presence and density of TATE and the number of mast cells in the stroma of urothelial carcinoma correlate positively, with a higher rate of statistical significance ($p < 0.001$) with the increased risk of local recurrence, but cannot determine the time to its onset.
5. High levels of cytoplasmic expression of FGF2 from the tumour stroma are prerequisites for a reduced risk of infiltrative growth in the submucosa.
6. High levels of nuclear GATA3 expression in tumour cells correlate with a higher risk of local recurrence, but cannot determine the time to onset.
7. Cytoplasmic expression levels of CK20 in tumour cells correlate with low-grade differentiation of urothelial carcinomas.
8. Gp130 expression levels do not correlate with clinical morphological parameters.

Contributions of original character:

1. The study provides a morphological evaluation of a large group of urothelial carcinomas, interpolated according to the tendency to local recurrence.
2. The relationship between TATE density, mast cells and the occurrence of local recurrence has been proven.
3. An exemplary morphological profile of recurrent urothelial carcinoma is proposed.

Confirmatory contributions:

1. The relationship between stage (pT), high grade of differentiation and earlier onset of local

recurrence has been confirmed.

2. The significance of FGF2 expression and stage (pT) / invasiveness was confirmed.

Scientific and applied contributions:

1. CK20 positive expression cannot be used as a definite, convincing histogenetic marker.

2. The relationship between CK20 expression and low-grade differentiation has been confirmed.

3. GATA3 expression by urothelial tumours is associated with local recurrence, but cannot be a definite histogenetic marker of urothelial origin of the tumour.

I. Резюмета на публикации, свързани с придобиването на степен ОНС „ДОКТОР“

1. Попов Н, Ghenev P.

Comparative analysis of relapsing bladder urothelial cancer.

Резюме:

Карциномът на пикочния мехур е проблем в практиката, защото има висок процент рецидиви. На микроскопско ниво няма обективни критерии за оценка на склонността към настъпване на локален рецидив. В това отношение възможни признаци могат да бъдат някои особености на туморната стромата. Стромната реакция, проявяваща се чрез възпалителна инфилтрация в тумора, има отношение към биологичното поведение на туморите и по-специално към еозинофилните левкоцити в нея. Настоящото проучване се базира на 156 случая на първичен карцином на пикочния мехур. Тумор-асоциираната тъканна еозинофилия (ТАТЕ) е проследена в първичните огнища на 78 случая с рецидивиращ карцином и е сравнена със същия брой случаи без настъпил рецидив, съпоставени по пол и възраст. В случаите, при които има настъпил рецидив, има по-голям брой еозинофили в първичния тумор при статистически значимо „ $p < 0,05$ “. Тези резултати предполагат, че ТАТЕ може да бъде един от вероятните прогностични фактори за настъпването на локален рецидив при уротелните карциноми.

Abstract:

Bladder cancer is a problem in the practice with the high percentage of relapsing. At microscopic level, there are no objective criteria for evaluation of the tendency for local relapsing. In this regard, possible signs could be derived from the peculiarities of the stroma. Stromal reaction, manifested by inflammatory infiltration in the tumor is referred to the biological behaviour of the cancer, with special attention to the presence of eosinophil leukocytes. The present study was carried over 156 cases of primary cancers. Tumor-associated tissue eosinophilia (TATE) was traced at the initial foci of 78 case with recurrent cancer and compared to the same number of cases without relapsing, matched for gender and age. The cases that relapsed in the future contained statistically significant greater numbers of eosinophils in the primary cancer. These results suggest that TATE may be one of the probable prognostic signs for local relapsing of urothelial cancer.

2. Попов Н, Ghenev P.

Expression of CD10 as a prognostic and predictive factor in urothelial carcinomas.

Резюме:

Цел: Целта на изследването е да се сравни експресията на CD10 при инвазивни и неинвазивни уротелни карциноми.

Методи: Първичните тумори на 40 случая на уротелни карциноми са изследвани върху H&E оцветени срезове от оригинални биопсични парафинови блокове, от които 20 – с инвазия в гладката мускулатура и 20 - без инвазия в гладката мускулатура. За експресия на CD 10 беше приложена рутинна имунохистохимична процедура, с използвана DAKO FLEX моноклонално мише антитяло клон 56C6.

Резултати: Две групи - инвазивни и неинвазивни уротелни карциноми бяха сравнени по отношение на CD10 експресията. Резултатите определено показват, че повечето от туморните клетки във всички инвазивни ракови заболявания експресират CD10, докато при неинвазивни карциноми CD10 експресията липсва.

Заклучение: Резултатите представят убедителни доказателства за ролята на CD10 в инвазивността на уротелния карцином в подлежащата гладка мускулатура.

Abstract:

Purpose: The aim of the study is to compare the expression of CD10 in invasive and non-invasive urothelial carcinomas.

Methods: Primary sites of 40 cases of urothelial carcinomas were studied on H&E stained sections from the original biopsy paraffin block, out of them, 20 - with and another 20 – without smooth muscle invasion. For CD 10 expression routine immunohistochemical procedure was applied, using DAKO FLEX monoclonal mouse antihuman clon 56C6.

Results: Two groups - invasive and non-invasive urothelial cancers were compared in regard to CD10 expression. The results definitely reveal that most of the cells in all invasive cancers express CD10, while in non-invasive cancers CD10 expression was absent.

Conclusion: The results provide convincing evidence for CD10 role in urothelial cancer invasiveness in underlying smooth muscle.

3. Попов Н, Donev IS, Ghenev P.

Quantitative analysis of tumor-associated tissue eosinophilia in recurring bladder cancer.

Резюме:

Относително високата честота на рецидиви при карциноми на пикочния мехур е сериозен проблем в клиничната практика. Към момента няма обективни микроскопски критерии за оценка на склонността към локален рецидив. Освен фенотипните свойства на туморните паренхимни клетки, възможни признаци за настъпване на рецидив могат също да бъдат проучени от особеностите на туморната строма. Смята се, че стромната реакция, проявяваща се чрез възпалителна инфилтрация в тумора, влияе върху биологичното поведение на туморите. Също така се съобщава за връзка между броя на еозинофилиите и преживяемостта на пациентите. Целта на настоящото изследване е да се анализира тумор-асоциираната тъканна еозинофилия (ТАТЕ) и да се сравни плътността на ТАТЕ в първоначалните огнища на съвпадащи по възраст и пол 156 случая на рецидивиращи и нередидивиращи карциноми на пикочния мехур. Туморите, които са рецидивирали в рамките на шест месеца след отстраняването на първичния тумор, са имали статистически значимо по-голям брой еозинофили в стромата на първичния тумор. Тези резултати водят до

предположението, че TATE може да бъде един от вероятните прогностични фактори за настъпване на локален рецидив на уротелния карцином.

Abstract:

The relatively high incidence of recurrence of bladder cancer is a serious problem in clinical practice. At present, there are no objective microscopic criteria for evaluation of the tendency for local relapse. Besides the phenotypic properties of the tumor parenchymal cells, possible signs in regard to recurrence could also be derived from the peculiarities of the tumor stroma. The stromal reaction, manifested by inflammatory infiltration in the tumor is considered to influence the biological behavior of tumors. Also, a relationship has been reported between the number of eosinophils and the survival of patients. The aim of the present study is to analyze tumor-associated tissue eosinophilia (TATE) and to compare TATE density in the initial foci of age and gender-matched 156 cases of recurrent and non-recurrent bladder cancers; the tumors that have relapsed within six months after removal and contained statistically significant greater numbers of eosinophils in primary cancer sites. These results suggest that TATE may be one of the probable prognostic signs for local relapse of urothelial cancer.

II. B4 - Резюмета на публикации равностойни на монографичен/хабилитационен труд:

B4 - 1. Stoyanov GS, Kobakova I, Petkova L, Dzhenkov DL, **Попов Н.**

Balkan endemic nephropathy: an autopsy case report.

Резюме:

Балканската ендемична нефропатия (БЕН) е форма на интерстициален нефрит, която се среща само в определени географски райони на Балканския полуостров. Тук описваме макроскопските и хистологични промени при 42-годишен мъж от бяла раса с БЕН. Всички промени отговарят на класически описаните промени, с медно оцветяване на кожата на торса и оранжево оцветяване на стъпалата и дланите. Като цяло бъбреците са атрофични, като левият е с тегло 31 грама, а десният - 32 грама. Повърхността им е предимно гладка с участъци от фини грануляции и кистозни трансформации. Хистологичната картина показва хиалинизация на гломерулите, предимно във външната част на кората, тежки съдови промени, интерстициална фиброза и оскъден възпалителен инфилтрат. Бъбречното легенче и уретерите са с множество уротелни папиломи и атипична уротелна хиперплазия. БЕН е само един географски вариант на интерстициален нефрит, причинен от излагане на аристолохинова киселина. Други форми на това състояние включват нефропатия на китайските билки/нефропатия на аристолоховата киселина, както и няколко подобни ендемични състояния с още неустановена връзка с аристолохиновата киселина.

Abstract:

Balkan endemic nephropathy (BEN) is a form of interstitial nephritis seen only in certain geographical areas in the Balkan peninsula. Herein we describe the gross and histological changes in a diseased 42-year-old male Caucasian patient with BEN. All the changes fit the classically described alterations, with copper hue discoloration of the skin of the torso and orange discoloration of the soles and palms. Grossly, the kidneys were atrophic, with the left one weighing 31 grams and the right one 32 grams. Their surface was predominantly smooth with areas of fine granulations and cystic transformations. Histology revealed hyalinization of the glomeruli, predominantly in the external part of the cortex, severe vascular changes, interstitial fibrosis, and scant inflammatory cell infiltrate. The renal pelvis and ureters revealed multiple urothelial papillomas and atypical urothelial hyperplasia. BEN is only one geographical variant of interstitial nephritis caused by exposure to aristolochic

acid. Other forms of this condition include Chinese herb nephropathy/aristolochic acid nephropathy, as well as several similar endemic conditions with a yet unestablished link to aristolochic acid.

B4 - 2. Dimitrova EG, Chaushev BG, Conev NV, Kashlov JK, Zlatarov AK, Petrov DP, **Попов HB**, Stefanova NT, Klisarova AD, Bratoeva KZ, Donev IS.

Role of the pretreatment 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography maximal standardized uptake value in predicting outcomes of colon liver metastases and that value's association with Beclin-1 expression.

Резюме:

Настоящото проучване се стреми да оцени предиктивното и прогностично значение на максимална стандартизирана стойност на поемане (SUVmax) преди лечението при 43 пациенти с карцином на дебелото черво и неоперабилни чернодробни метастази. Пациенти с карциноми на дебелото черво, претърпели 18F-FDG-PET/компютърна томография (СТ) сканиране за стадиране преди началото на първа линия химиотерапия, базирана на 5-флуороурацил, беше анализирана ретроспективно. Експресия на Beclin-1 в туморните клетки се оценява в първични тумори с помощта на имунохистохимично оцветяване. SUVmax за чернодробните метастази преди лечението не е в състояние да предвиди преживяемост без прогресия, но е значително свързано с по-лоша обща преживяемост, с коефициент на риск от 2,05 (95 % CI, 1.016-4.155). Освен това беше отбелязана отрицателна корелация между SUVmax и експресия на маркер за автофагия – Beclin-1 ($\rho = -0.42$, $p = 0.006$). Същите изводи се потвърждават от експресията за Beclin-1, където ниските стойности имат същото предиктивно значение.

Abstract:

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

B4 - 3. Kobakova I, Stoyanov G, **Попов H**, Spasova-Nyagulova S, Stefanova N, Stoev L, Yanulova N.

Anorectal melanoma-a histopathological case report and a review of the literature.

Резюме:

Първичните меланоми на ануса и ректума са редки неоплазми с агресивен характер и поведение, представляващи около 0,1%-4,6% от туморите на аналния канал.

Мукозните меланоми представляват приблизително 1,2% от всички меланоми, от които по-малко от 25% са в аноректалната област. Хистологичната оценка с имунохистохимични маркери като HMB-45, S-100, Vimentin и Melan-A са необходими за окончателната диагноза. Съобщава се, че 5-годишната преживяемост за аноректалните меланоми (АМ) е по-малко от 20%, докато кожните меланоми с приблизителна 5-годишна преживяемост са около 80%. Освен това се установява, че до 67% от пациентите имат далечни метастази по време на първоначалната им диагноза с АМ. Тъй като възможностите за лечение с химиотерапия са ограничени, пациентите обикновено се подлагат на тестове за откриване на мутации, даващи възможност за таргетна терапия. Тук докладваме случай на пациент с аноректален меланом, диагностициран в стадий II, както и находките за патоморфологичен и мутационен статус. Представена е тяхната корелация с поведението на тумора и прогнозата за пациента.

Abstract:

Primary melanomas of the anus and rectum are rare neoplasms with aggressive behavior, accounting for 0.1%-4.6% of anal canal tumors. Mucosal melanomas account for approximately 1.2% of all melanomas, of which fewer than 25% are anorectal. Histological evaluation with immunohistochemical stains like HMB-45, S-100, vimentin and Melan A is required for definitive diagnosis. The 5-year survival rate for anorectal melanomas (AM) was reported to be as low as < 20%, in contrast to the value of approximately 80% for cutaneous melanomas. Furthermore, up to 67% of patients are found to have distant metastases at the time of their initial diagnosis with AM. Since the chemotherapy treatment possibilities are limited, patients usually undergo mutation detection tests giving the opportunity of targeted therapy. Herein we report a case of a patient with anorectal melanoma, diagnosed in stage II and the pathomorphological and mutation status finding, together with their correlation to tumor behavior and patient prognosis.

B5-4. Stoyanov GS, Kobakova I, Stoev L, **Popov H**, Shishkov SR, Bratoeva K.

Histological Changes in Severe Diabetic Fetopathy: An Autopsy Case Report.

Резюме:

Диабетът на майката е един от най-често срещаните и опасни рискови фактори по време на бременност, тъй като често има/няма генерализирани признаци. Диабетната фетопатия е тежко неясно дефинирано усложнение на гестационния диабет или предшестваш захарен диабет при майката с неясно дефиниран хистологичен спектър от промени. Тук ние съобщаваме за случай на тежка диабетна фетопатия, диагностицирана при аутопсия на спонтанен аборт. Хистологичното изследване на черния дроб показва тежка генерализирана макровезикуларна стеатоза и множество малки кисти. В панкреаса се наблюдава не само хиперплазия на Лангерхансовите острови, но и амилоидоза в тях, развила се от тежкия диабет на майката и феталната хипергликемия. Надбъбречните жлези показват хиперплазия в зона гломерулоза, дължаща се на свръхпроизводството на алдостерон и феталната хипертония. Настоящият случай е показателен пример за недиагностициран и нелекуван гестационен захарен диабет. Тежестта на хистологичните промени в този случай изисква по-нататъшно разширяване на диагностичните критерии за диабетна фетопатия, които да включват по-фини промени, наблюдаващи се клинично, както и комбинацията от фактори майка-новородено.

Abstract:

Maternal diabetes is one of the most common and dangerous risk factors during pregnancy, as often there are no generalized signs. Diabetic fetopathy is a severe, poorly defined complication of gestational diabetes or preexisting maternal diabetes mellitus, with an ill-defined histological spectrum of changes. Herein we report a case of severe diabetic fetopathy diagnosed upon autopsy of a recently miscarried fetus. On histology, the liver revealed severe generalized macrovesicular steatosis and number of small cysts. The pancreas revealed not only Langerhans isle hyperplasia, but also Langerhans amyloidosis, evident of the severity of maternal diabetes and fetal hyperglycemia. The adrenal glands revealed hyperplasia in zona glomerulosa, due to aldosterone overproduction, evident of fetal hypertension. The current case is an extreme example of an undiagnosed and untreated gestational diabetes mellitus. The severity of histological changes, in this case, is suggestive of further extension of the diagnostic criteria of diabetic fetopathy to include more subtle changes that can be observed clinically and even a combination of maternal-newborn factors.

B4 -5. Conev N, Kashlov Y, Dimitrova E, Kashlov Y, Bogdanova M, Kashlov Y, Kashlov Y, Chaushev B, Radanova M, Petrov D, Georgiev K, Bachvarov C, Todorov G, Kalchev K, **Попов Н**, Manev R, Donev I.

RIPK3 expression as a potential predictive and prognostic marker in metastatic colon cancer.

Резюме:

Въведение: Колоректалният карцином е една от основните причини за смъртни случаи и терапията с 5-флуороурацил (5-FU) остава крайъгълният камък в лечението при тези пациенти. Тъй като резистентността към 5-FU представлява основна пречка, намирането на нови предиктивни и прогностични маркери е от решаващо значение за подобряването на резултатите за пациентите. Наскоро се появи нов тип програмирана клетъчна смърт, наречена некроптоза, която зависи от рецепторно взаимодействащ протеин 3 (RIPK3). Предклиничните данни показват, че некроптозата като вид клетъчна смърт е важен ефекторен механизъм на 5-FU-медирана противотуморна активност.

Цел: Да се проучи предиктивното и прогностично значение на RIPK3 експресията в първични тумори.

Методи: Включени са пациенти с карцином на дебелото черво (n=74) в метастатичен стадий. В това ретроспективно проучване всички пациенти са лекувани с първа линия на базата на 5-FU химиотерапия. Извършено е имунохистохимично изследване за RIPK3.

Резултати: Преживяемост без прогресия за групата с ниска експресия на RIPK3 е 5,6 месеца (95% CI, 4,4-6,8) срещу 8,4 месеца (95% CI, 6,4-10,3) от група с висока експресия (p=0.02). Освен това пациенти с висока експресия на RIPK3 са свързани с по-нисък риск от прогресия на заболяването HR 0,61 (95% CI, 0,38-0,97; p=0,044). Пациенти с високи нива на експресия на RIPK3 също са имали значително по-дълга средна обща преживяемост (OS) от 29,3 месеца (95% CI, 20,8-37,8) в сравнение с тези с ниска експресия: 18,5 месеца (95% CI, 15,06-21,9) (p=0.036). В допълнение: унивариантният анализ показва, че високото ниво на експресията на RIPK3 се свързва с по-дълъг OS HR 0,59 (95% CI, 0,35-0,98; p=0,044).

Заклучение: Това проучване предполага, че експресията на RIPK3 в първичните тумори на пациентите с метастатичен карцином на дебелото черво трябва да бъде допълнително изследвана, за да може да се прецени потенциала на RIPK3 като обещаващ предиктивен и прогностичен маркер.

Abstract:

Background: Colorectal cancer is one of the primary causes of cancer-related deaths and 5-fluorouracil (5-FU) therapy remains the cornerstone of treatment in these patients. Resistance to 5-FU represents a major obstacle; therefore, finding new predictive and prognostic markers is crucial for improvement of patient outcomes. Recently a new type of programmed cell death was discovered—necroptosis, which depends on receptor interacting protein 3 (RIPK3). Preclinical data showed that necroptotic cell death is an important effector mechanism of 5-FU-mediated anticancer activity.

Purpose: To investigate the predictive and prognostic performance of RIPK3 expression in primary tumors.

Methods: Colon cancer patients (n=74) with metastatic stage were included in this retrospective study and all were treated with first-line 5-FU based chemotherapy. Immunohistochemical staining was performed.

Results: The progression free survival for the low expression group of RIPK3 was 5.6 months (95% CI, 4.4-6.8) vs 8.4 months (95% CI, 6.4-10.3) of the group with high expression (p=0.02). Moreover, patients with high expression of RIPK3 were associated with lower risk of disease progression HR 0.61 (95% CI, 0.38-0.97; p=0.044). Patients with high expression levels of RIPK3 also had significantly longer mean overall survival (OS) of 29.3 months (95% CI, 20.8-37.8) as compared with those with low expression: 18.5 months (95% CI, 15.06-21.9) (p= 0.036). In addition, univariate analysis showed that high level of RIPK3 expression was associated with a longer OS HR 0.59 (95% CI, 0.35-0.98; p=0.044).

Conclusions: This study suggests that expression of RIPK3 in primary tumors of metastatic colon cancer patients should be further investigated for its potential as a promising predictive and prognostic marker.

B4-6. Попов Н, Kobakova I, Stoyanov GS, Softova E, Ghenev P.

Quantitative Analysis of Tumor-Associated Mast Cells in Recurrent and Non-recurrent Urothelial Bladder Cancer in Stage pTa and pT1.

Резюме:

Въведение: Уротелният карцином на пикочния мехур е често срещано злокачествено заболяване и при двата пола, с много висок процент на рецидиви. Има все повече доказателства за корелация между тумор-асоциираните мастоцити (ТАМС) и туморния растеж, както и честотата на рецидиви. В настоящото проучване се заехме да установим връзка между ТАМС и клиничните морфологични характеристики на уротелния карцином в стадий pTa и pT1.

Методика: Използван е ретроспективен неклиничен подход с две групи пациенти с уротелен карцином. Включени са общо 163 пациенти, 95 в нередицивиращата група и 68 в рецидивиращата група на уротелния карцином. Оценката на ТАМС се извършва върху хистологични слайдове от първичния биопсичен материал, като се използва оцветяване с Giemsa и Toluidine blue за визуализация на мастоцитите. Събраните данни са статистически анализирани с помощта на кривата на Каплан-Майер, тест на Ман-Уитни, „receiver operating characteristic curve“ и анализ χ^2 -квадрат.

Резултати: Статистическият анализ показва, че ТАМС в туморната строма има положителна корелация с настъпването на локалния рецидив, без статистическа значимост за времето до настъпване на рецидива. Няма корелация, която показва статистическа значимост с pT стадий, диференциация, пол и възраст.

Изводи: Количеството на ТАМС при уротелните карциноми корелира положително с честотата на локалните рецидиви. Изобразените корелации са подобни на тези, установени при карцином на млечната жлеза, някои лимфопрлиферативни заболявания и злокачествени заболявания на панкреаса и простатната жлеза.

Abstract:

Background

Urothelial carcinoma of the urinary bladder (UCUB) is a common malignancy in both genders with a very high recurrence rate. There has been increasing evidence for a correlation between tumor-associated mast cells (TAMC) and tumor growth and recurrence rates. In the present study, we set out to establish a link between TAMC and the clinical morphological characteristics of UCUB in stages pTa and pT1.

Methodology

A retrospective non-clinical approach was used, with two groups of patients with UCUB. A total of 163 patients were included, 95 in the non-recurrent group and 68 in the recurrent UCUB group. Estimation of TAMC was performed on histological slides from the initial biopsy material using Giemsa and Toluidine blue staining. The collected data were statistically analyzed using the Kaplan-Meier curve, Mann-Whitney test, receiver operating characteristic curve, and chi-square analysis.

Results

Statistical analysis revealed that TAMC in the tumor stroma shows a positive correlation with local recurrence, with no statistical significance to the time of recurrence. No correlation showed statistical significance with pT stage, grade, gender, and age.

Conclusions

The amount of TAMC in UCUB correlates positively with the rate of local recurrence. The depicted correlations are similar to those established in mammary carcinoma, some lymphoproliferative disorders, and pancreatic and prostate malignancies.

B4-7. Stoyanov GS, Dzhenkov DL, **Popov H**, Lyutfi E, Petkova L.

Cerebral Palsy, COVID-19, and Neurolipidosis in an 18-Year-Old Female.

Резюме:

Откакто започна пандемията от новия коронавирус (COVID-19), децата и младите хора рядко са били поставяни във високорискови групи, въпреки съобщенията, че те са изложени на повишен риск от тежки форми на заболяването и смърт при наличие на съпътстващи заболявания. Тук докладваме случай на аутопсия на 18-годишна жена с анамнеза за церебрална парализа (ЦП), повтарящи се респираторни инфекции и новодиагностициран COVID-19, който е преминал 22 дни след проява на симптомите на заболяването. Макроскопската находка е съвпадаща с ЦП-значителна хипотрофия, с дълбоки и широки мозъчни бразди. Белите дробове са силно увеличени и пълни с кръв. Хистологичната находка на дихателната система показва алвеоларни многоядрени клетки, свързани с COVID-19, пневмоцитна хиперплазия тип II и съдови промени. Освен това огнища на групи от уголемени клетки с пенеста цитоплазма са идентифицирани в белодробния интерстициум. Подобни промени се наблюдават и в далака, черния дроб и централната нервна система, което е изява на неразпознато заболяване от натрупване на липиди. Клинично неразпознатата невролипидоза, съответстваща морфологично и клинично на Болестта на Ниман-Пик тип В, води до интерстициална белодробна болест и повтарящи се респираторни инфекции. Това неизбежно играе роля в тежестта и прогресията на COVID-19 в нашия случай, въпреки възрастта на пациента.

Abstract:

Since the novel coronavirus (COVID-19) pandemic started, children and young adults have seldom been placed in high-risk groups, despite reports that they are at increased risk of severe forms of the disease and death in the presence of comorbidities. Herein we report an

autopsy case of an 18-year-old female with a history of cerebral palsy (CP), recurrent respiratory infections, and newly diagnosed COVID-19, and who expired 22 days after presenting with symptoms of the disease. Gross findings were concurrent with CP significant hypotrophy, with deep and wide brain sulci. The lungs grossly were with increased weight and blood-filled. Histopathology of the respiratory system showed the well-established COVID-19-associated alveolar multinucleated cells, type two pneumocyte hyperplasia, and vascular changes. Furthermore, foci of groups of enlarged cells with foamy cytoplasm were identified in the pulmonary interstitium. Similar changes were also seen in the spleen, liver, and central nervous system, concurrent with an unrecognized lipid storage disease. The clinically unrecognized neurolipidosis, corresponding morphologically and clinically to Niemann-Pick disease type B, leading to interstitial lung disease and recurrent respiratory infections, inevitably played a role in the severity and progression of COVID-19 in our case, despite the age.

B4-8. Stoyanov GS, Stoev L, **Popov H**, Kobakova I, Dzhernkov DL.

The Final Diagnosis: Colorectal Carcinoma, In the Context of Attenuated Familial Adenomatous Polyposis, Mimicking Pulmonary Carcinoma.

Резюме:

Белодробният карцином е едно от най-честите злокачествени заболявания в света. Настоящият случай представя пациент с белодробни лезии, клинично и рентгенологично диагностицирани като карцином на белия дроб, който не е биопсиран поради отказ на пациента. Пациентът е бил упорит пушач и преди белодробните лезии е бил диагностициран с хронична обструктивна белодробна болест. След редица хоспитализации пациентът е починал и е насочен за аутопсия. При аутопсията се установяват шест лезии в белия дроб, една в черния дроб, една в главния мозък и множество полипи на дебелото черво, два от които с видим инвазивен растеж. Хистологичната находка показва, че белите дробове, черният дроб и церебралните лезии са представени от атипични жлези с прекомерно производство на слуз. Колоректалните проби показват доброкачествени полипи и колоректален аденокарцином. Диагнозата напреднал колоректален аденокарцином с множество метастази в контекста на фамилна аденоматозна полипоза е установена поради комбинираните хистологични находки, възрастта на пациента и броя на доброкачествените полипи в дебелото черво.

Abstract:

Pulmonary carcinoma is one of the most common malignant conditions worldwide. The current case presents a patient with lung lesions clinically and radiologically diagnosed as lung cancer, which was not biopsied due to patient's refusal. The patient was a heavy smoker and prior to the lung lesions, he was diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease. Following recurrent hospitalizations, the patient died and he was referred for an autopsy. The autopsy established six lesions in the lung, one in the liver, one in the cerebrum and multiple polyps of the colon, two of which were with a visible invasive growth. The histological sections revealed that the lung, liver, and cerebral lesions were composed of the atypical gland with excessive mucus production. The colorectal specimens revealed benign polyps and colorectal adenocarcinoma. The diagnosis of advanced colorectal adenocarcinoma with multiple metastases in the context of attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP) was established due to the combined histological findings, the age of the patient, and the number of benign polyps in the colon.

B4-9. Illiev G, Ivanova PP, Nedev P, **Popov H**.

Rare manifestation of gout: gouty tophi in the nose.

Резюме:

Подагратата е заболяване, характеризиращо се с нарушен метаболизъм на пикочната киселина, което води до натрупване на уратни кристали, засягащи главно първата метатарзално-фалангеална става на стъпалото и по-рядко други стави или меки тъкани на тялото. Разпространението на заболяването нараства с възрастта, като статистически се наблюдава по-често при мъжете, отколкото при жените. Представяме случай на 62-годишен мъж, диагностициран с подагра преди 20 години. Той дойде в клиниката с носна гърбица и образуване, нарастващо в носа му през последните 3 години, довело до назална обструкция и деформация на лицето. Въпреки че пациентът е лекуван с алопуринол и нестероидни противовъзпалителни лекарства, хирургичното лечение се счита за необходимо и на пациента бе извършена хирургична резекция на назалната маса. Хистопатологичното изследване показва отлагания на уратни кристали, заобиколени от грануломатозно възпаление. Това потвърди диагнозата - подагрозни тофи в носа. В периода на проследяване след операцията пациентът съобщава за общо подобрене на дишането. Налице са и естетични резултати. Тофи могат да бъдат открити на нетипични места, което води до множество деформации. Докладваме за този особен случай на подагра, който е рядка проява на заболяването с тофи, разположени в областта на носа.

Abstract:

Gout is a disease characterized by abnormal metabolism of the uric acid, leading to undesired buildup of monosodium urate crystals affecting mainly the first metatarsal-phalangeal joint of the foot and less commonly other joints or the soft tissues of the body. The prevalence of the disease increases with age, and it is statistically more observed in men than in women. We present the case of a 62-year-old male patient diagnosed as having gout 20 years ago. He came to the clinic with a nasal hump and a mass growing in his nose for the last 3 years, presenting as a nasal obstruction and facial deformity. Although the patient was treated with allopurinol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs, surgical treatment was deemed necessary, and the patient was taken to receive a surgical resection of the nasal mass. The follow-up histopathology observation revealed deposits of urate crystals surrounded by a granulomatous inflammation. This confirmed the diagnosis—gouty tophi in the nose. In the follow-up period after the surgery, the patient reported overall improved breathing and aesthetic results. Tophi can be found in atypical locations, which increases morbidities and deformities caused by the disease. We report on this peculiar case of tophaceous gout as it is—a rare manifestation of the disease with tophi located in the nasal region.

B4-10. Stoyanov GS, Popov H, Petkova L, Dzhenkov DL.

The Sixty-five Roses of Cystic Fibrosis: A Report of Two Autopsy Cases with Kidney Involvement.

Резюме:

Кистичната фиброза (често наричана муковисцидоза) е мултигенно свързано разстройство, включващо дефект в трансмембрания регулаторен протеин на проводимостта, с над 1500 гена. Най-често засегнатите органи, описани в литературата, са белите дробове, панкреасът, червата и кожата, която е обект за ранно

диагностично изследване. Тук докладваме два случая на аутопсии на кистична фиброза с мултиорганно засягане и някои рядко наблюдавани и докладвани промени. Два педиатрични случая с клинично потвърдена муковисцидоза са насочени за аутопсия в Клиниката по обща и клинична патология на УМБАЛ "Св. Марина", Варна, България. Първият случай е на момиче на една година, а вторият на момиче на шест месеца. И двата случая са имали класически свързани промени в белите дробове, черния дроб, панкреаса и тънките черва. Въпреки, че бъбреците бяха нормални при макроскопското изследване, хистологично се установиха тежки промени, представени от уплътнена материя в лумена на дисталните тубули. Някои от тях бяха с дистрофична калциноза. Тези хистологични бъбречни промени са недобре проучени и докладвани в литературата, поради което ние подчертаваме уплътнената материя в лумена и калциевите депозити като първичен хистологичен белег в бъбреците на пациенти с кистична фиброза.

Abstract:

Cystic fibrosis (CF), also commonly referred to as mucoviscidosis, is a multigene related disorder, involving a defect in the CF transmembrane conductance regulator protein, with over 1,500 genes, being identified with the condition. The most commonly affected organs, often described in the literature, are the lungs, pancreas, intestines, and skin, which is one of the sites for early diagnostic testing. Herein we report two autopsy cases of CF, with multiorgan involvement and some rarely observed and reported changes. Two pediatric cases of clinically confirmed CF were referred for autopsy at the Department of General and Clinical Pathology, St. Marina University Hospital, Varna, Bulgaria. The first case was of a one-year-old female and the second of a six-month-old female. Both cases had classical CF-associated changes in the lungs, liver, pancreas, and small intestine. The kidneys although normal on gross inspection also had severe changes on histology with a compacted matter in the lumen of the distal tubules, some of which had undergone calcification. These histological renal changes are under-reported in literature, thus unlike the classical reported cystic changes we highlight lumen compaction and calcification as the primary histological hallmark in kidneys of patients with CF.

II Г7 – Резюмета на публикации в индексирани бази данни свързани с доцентурата:

Г7-1. Попов Н, Kobakova I, Stoyanov GS.

Primary small lymphocytic lymphoma of the renal capsule: a histopathological case report.

Резюме:

Лимфомите, произхождащи от лимфните възли, са едни от най-честите злокачествени образувания сред всички популации. Екстранодалните лимфоми и тези, произхождащи от съединително-тъканните капсули на вътрешните органи, са изключително редки. Тук представяме случай на 78-годишен пациент от мъжки пол с голяма туморна маса в областта на левия бъбрек. Ултразвуково и компютър-томографски се визуализира туморна маса, обхващаща бъбрека. Извършена е нефректомия, като хистопатологичното изследване показва неходжкинов лимфом с произход от бъбречната капсула, с инфилтрация в меките тъкани. Пациентът е насочен към хематолог за лечение и година и половина по-късно, след две отрицателни биопсии на костен мозък, пациентът е жив и без рецидив на заболяването.

Abstract:

Lymphomas are one of the most common malignant entries across all populations. Originating most commonly from the lymph nodes, extranodal lymphomas, including those originating

from the connective tissue capsule of the internal organs, are rare entities. Herein we present a case report of a 78-year-old male patient presenting with a palpable mass in the region of the left kidney. Ultrasound and computer tomography revealed a mass engulfing the kidney. Nephrectomy was performed, with the histopathological investigation revealing a non-Hodgkin lymphoma originating from the renal capsule, with infiltration into the adjacent tissues. The patient was referred to a hematologist for treatment and one and a half years later, following two negative bone marrow biopsies, the patient is alive and disease-free.

Г7-2. Попов Н, Petkova L, Stoyanov GS.

Spindle Cell Renal Neoplasms: A Pathological Case Report on Primary Renal Leiomyosarcoma and Sarcomatoid Renal Cell Carcinoma.

Резюме:

Бъбречната онкопатология при възрастни е доминирана от светлоклетъчен бъбречноклетъчен карцином, както и от уротелния карцином на бъбречното легенче. Ангиосаркома и другите тумори са изключително редки. Тук докладваме два хистопатологични случая с диференциална диагноза на вретеновидноклетъчни бъбречни неоплазми. Първият пациент, 42-годишен мъж, е с новопоявила се болка в десния корем и образните изследвания показват 12 cm бъбречен тумор. Хистологично се открива вретеноклетъчна неоплазма със значителна митотична активност и гигантски клетки, като имунохистохимията е положителна за калдесмон и виментин и фокално за гладкомускулен актин (SMA). Негативна реакция за пан-цитокератин (CK AE1/AE3), епителен мембранен антиген (EMA), цитокератин 7 (CK7), CD117, S100, HMB45, Мелан А, CD10 и дезмин. Поради спецификата на хистоморфология и имунофенотипа, туморът се интерпретира като първичен бъбречен лейомиосарком. Поради непрекъснати амбулаторни консултации, започването на лечението е забавено и три месеца по-късно пациентът вече е развил 87mm локален рецидив и чернодробни метастази. Вторият пациент, 53-годишен мъж, постъпва за консултация с вече изваден бъбречен тумор, диагностициран случайно при профилактична абдоминална ехография. Представеният за консултация тумор хистологично расте като преплитачи се снопове от вретеновидни клетки с полиморфни хиперхромни ядра с проминентни нуклеоли и има обширни зони с некроза. Имунохистохимично, туморът дифузно експресира CK AE1/AE3 и калдесмон и има фокална експресия за EMA и CD10. Реакциите SMA, desmin, CD117 и CK7 са негативни. На тази база туморът се интерпретира като вретеновидно клетъчен бъбречноклетъчен карцином.

Abstract:

Renal oncopathology in adults, as a field of pathology, is dominated by a single entity - clear cell renal cell carcinoma (RCC) with other entities, such as urothelial carcinoma of the renal pelvis, angiosarcoma, and others being extremely rare. Herein, we report two histopathological cases with differential diagnoses of spindle cell renal neoplasms. The first patient, a 42-year-old male, presented with new-onset right-sided abdominal flank pain, and imaging showed a 12 cm renal tumor. Histopathology showed a spindle cell neoplasm, with significant mitotic activity and giant cell, with immunohistochemistry being positive for caldesmon and vimentin, focally for smooth muscle actin (SMA). No reaction was noted for pan-cytokeratin (CK AE1/AE3), epithelial membrane antigen (EMA), cytokeratin (CK) 7, cluster of differentiation (CD) 117, soluble 100 protein (S100), human melanoma black (HMB) 45, Melan A, CD10, and desmin. Due to peculiar histomorphology and the immunophenotype, the tumor was interpreted as primary renal leiomyosarcoma. Due to continuous outpatient consultations, treatment initiation was delayed, and three months later, the patient had already developed an 87 mm local recurrence and liver metastasis. The second patient, a 53-year-old male, presented to our institution for consultation of an already excised renal tumor, diagnosed as an incidental finding

on a prophylactic abdominal ultrasound. The tumor presented for consultation histologically grew as intertwining bundles of spindle cells with polymorphic hyperchromic nuclei with prominent nucleoli and had extensive areas with necrosis. Immunohistochemically, the tumor diffusely expressed CK AE1/AE3 and caldesmon and had a patchy reaction for EMA and CD10. The SMA, desmin, CD117, and CK7 reactions were negative; hence, the tumor was interpreted as a spindle cell variety (subtype) of clear RCC.

Г7-3. Попов Н, Stoyanov GS, Ghenev P.

Intestinal-Type Adenocarcinoma of the Urinary Bladder With Coexisting Cystitis Cystica et Glandularis and Intestinal Metaplasia: A Histopathological Case Report.

Резюме:

Аденокарциномите на пикочния мехур са изключително редки и се представят в различни морфологични форми. На практика всички те са идентични с жлезистата диференциация, произхождащи от топографски съседни органи, където случаите на аденокарцином също са много по-чести, както при дебелото черво. Следователно случаите на злокачествени заболявания от жлезист произход на пикочния мехур изискват не само подробна хистопатологична оценка и интерпретация, но и подробна клинична, ендоскопска и образна диагностика. Те трябва да се извършват с цел да се докаже произходът на тумора като първичен на пикочния мехур, а не произхождащ от друг орган, който инфилтрира мехурната стена или метастазира в нея. Противоречива е етиопатогенната връзка на аденокарцинома на пикочния мехур и тази на *cystitis cystica et glandularis*. Тук представяме доклад за случай на немускулно-инвазивен аденокарцином на пикочния мехур при мъж на четиридесет години с известна анамнеза за *cystitis cystica et glandularis*. Пациентът е с макроскопска хематурия и въз основа на известното му урологично състояние е извършена цистоскопия с биопсия, показваща субмукозна пролиферация на атипични жлези. Подробната клинична и образна оценка не показва данни за злокачествено заболяване на други места. Тъй като злокачественото заболяване не е мускулно-инвазивно, е приложена интравезикална доза от ваксината Bacillus Calmette-Guérin. Пациентът е проследен с цистоскопии и биопсии, като не показва данни за остатъчен тумор, но персистират *cystitis cystica et glandularis*. Година след диагностицирането пациентът все още е под активно наблюдение, без да е настъпил рецидив.

Abstract:

Adenocarcinomas of the urinary bladder are exceedingly rare and present in various morphological forms. Virtually all of these are identical to glandular malignant neoplasia native to topographically neighboring organs, where the incidence of adenocarcinoma is also much more common, such as the large intestine. Cases of glandular malignancies of the urinary bladder, therefore, require not only a detailed histopathological evaluation and interpretation but also a detailed clinical and radiological one. These should be performed with the goal of proving the origin of the tumor as one arising from the urinary bladder and not an entry originating from another organ and invading or producing metastasis to it. A controversial etiopathogenic link to urinary bladder adenocarcinoma is that of cystitis cystica et glandularis, which often coexists with the condition. Herein, we present a case report of non-muscle-invasive urinary bladder adenocarcinoma in a previously healthy male patient in his forties with a known history of cystitis cystica et glandularis. The patient presented with gross hematuria, and based on his known urological condition, a cystoscopy with biopsy was performed, showing submucosal proliferation of atypical glands. The detailed clinical and radiological evaluation showed no evidence of malignancy at other sites. As the malignancy was non-muscle-invasive, an intravesical dose of the Bacillus Calmette-Guérin vaccine was

administered. The patient was followed up with cystoscopy, and a biopsy showed no evidence of residual malignancy, with cystitis cystica et glandularis persisting. A year following the diagnosis, the patient is still actively monitored, and no recurrence is noted.

Г7-4. Konsoulova A, Donev I, Conev N, Draganova S, Petrova N, Dimitrova E, **Popov H**, Bratoeva K, Ghenev P.

FIRST LINE 5-FU-BASED CHEMOTHERAPY WITH/WITHOUT BEVACIZUMAB FOR METASTATIC COLORECTAL CANCER: TISSUE BIOMARKER CANDIDATES.

Резюме:

Цел: Колоректалният карцином е втората водеща причина за смъртност от злокачествени тумори в САЩ. Според българския Национален статистически институт през 2012 год. са диагностицирани 2370 случая на карцином на колона и 1664 случая на карцином на ректума от общ брой пациенти 29995. Добавянето на бевацизумаб към химиотерапията при пациенти с метастатично заболяване подобрява преживяемостта без прогресия (PFS), но не са доказани предиктивни маркери в клиничната практика. В нашето проучване са изследвани два тъканни биомаркера, които могат да корелират с отговора на химиотерапия, съдържаща бевацизумаб, при болни с метастатичен колоректален карцином.

Пациенти и методи: 54 пациенти с метастатичен колоректален карцином са с назначени на първа линия 5-Fu-базирана химиотерапия с/без бевацизумаб. Първичната крайна точка е PFS, с допълнително определяне на терапевтичния отговор и токсичността. От всички 54 пациента са събрани тъкани, които са включени в парафинови блокове. Нивата на експресия на двата туморни биомаркера VEGFR-2 и Neuropilin 1 (NP-1) са оценени с имунохистохимия.

Резултати: Медианата на PFS за групата, лекувана с CT/Bev, е 8,8 месеца, в сравнение с 5,4 месеца за групата само с химиотерапия (95% CI, log-rank тест $p=0,003$). Съответните общи нива на отговор са съответно 19,3% и 10,2% ($p < 0,05$ за CT/Bev спрямо CT).

Пациентите с нисък NP-1 имат статистически значимо удължаване на PFS в сравнение с тези с висок NP-1 (95% CI, log rank тест $p=0,017$). Изглежда, че пациентите с нисък NP-1 имат по-голям ефект от лечението с бевацизумаб по отношение на PFS ($p=0,049$, HR 0,333, 95% CI, 0,111 до 0,995), отколкото пациентите с висок NP-1.

Заключение: Добавянето на бевацизумаб към базирана на 5-Fu химиотерапия подобрява PFS при пациенти с метастатичен колоректален карцином. Експресията на NP-1 в тумора е потенциален биомаркер за прогнозиране на клиничния изход при пациенти с метастатичен колоректален карцином, лекувани с първа линия химиотерапия плюс бевацизумаб.

Abstract:

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

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

Results: The median PFS for the group treated with CT/Bev was 8.8 months, compared with 5.4 months for the group with chemotherapy alone (95% CI, log-rank test $P=0.003$). The corresponding overall response rates were 19.3% and 10.2% respectively ($P < 0.05$ for CT/Bev vs CT). Patients with low NP-1 had statistically significant prolongation

of PFS as compared to those with high NP-1 (95% CI, log rank test $p=0.017$). Patients with low NP-1 appeared to experience a larger bevacizumab treatment effect in terms of PFS ($p=0.049$, HR 0.333, 95% CI, 0.111 to 0.995) than patients with high NP-1.

Conclusion: The addition of bevacizumab to 5-Fu based chemotherapy improves PFS for patients with metastatic colorectal cancer. Expression of tumor NP-1 is a potential biomarker candidate for prediction of clinical outcome in patients with metastatic colorectal cancer, treated with first line chemotherapy plus bevacizumab.

Г7-5. Попов Н, Stoyanov GS, Ghenev P.

Fibroblast Growth Factor-2 and the Invasive Potential in Urothelial Malignancies of the Bladder.

Резюме:

Въведение: Уротелните карциноми представляват отделна група злокачествени заболявания с висок потенциал за рецидив. Множество проучвания са установили набор от взаимодействия между туморните клетки на уротелните неоплазми и извънклетъчния матрикс по отношение на инвазията и прогресията на тумора. Настоящото проучване оценява експресията на фибробластен растежен фактор-2 (FGF2) в ранен стадий на уротелните карциноми на пикочния мехур (pTa и pT1) по отношение на инвазивния потенциал на тези тумори.

Материали и методи: За проучването е използван ретроспективен анализ. Срезове от туморна тъкан са оцветени с имунохистохимични средства - анти-FGF2 антитяло. Експресията в екстрацелуларния матрикс е оценена с помощта на H-score. Параметрите по отношение на туморната инвазия, модел и нива на експресия на FGF2, пол и възраст на пациента, както и рецидив на заболяването, са обработени статистически.

Резултати: Анализирани са общо 163 случая, с H-score като за *cut-off* е приета стойността 110, която е оптимална гранична стойност, показваща инвазивния потенциал по отношение на експресията на FGF2 с чувствителност - 75,4% и специфичност - 78,9%. Не е установена статистическа корелация между пол и възраст на пациентите и появата на рецидив.

Заклучение: Въз основа на нашите резултати, изследването на взаимодействията между тумора и екстрацелуларния матрикс по отношение на експресията на FGF2 е обещаващо при уротелните злокачествени заболявания на пикочния мехур, по отношение на туморния инвазивен потенциал. Остава неустановено как тези взаимодействия влияят на метастатичния потенциал на туморите.

Abstract:

Introduction

Urothelial carcinomas represent a distinct group of malignancies with a high recurrence potential. Multiple studies have established a set of interactions between the tumor cells of urothelial neoplasms and the extracellular matrix regarding invasion and tumor progression. In the present study, we evaluated the expression of fibroblast growth factor-2 (FGF2) in early-stage urothelial carcinomas of the urinary bladder (pTa and pT1) regarding the invasive potential of these tumors.

Materials and methods

A retrospective non-clinical approach was utilized for the study. Tumor tissue sections used for the initial diagnosis were stained by immunohistochemical means with an anti-FGF2 antibody and the expression within the extracellular matrix was evaluated using a histo-score (h-score). Statistical parameters regarding tumor invasion, FGF2 expression pattern and levels, patient demographic characteristics, and disease recurrence were analyzed for significance.

Results

A total of 163 cases were analyzed, with an h-score of 110 determined as the optimal cut-off value for invasive potential regarding FGF2 expression, with a sensitivity of 75.4% and a specificity of 78.9%. No statistical correlation was established between the demographic profile of the patients and the occurrence of disease recurrence.

Conclusion

Based on our results, the study of tumor-extracellular matrix interactions in regards to FGF2 expression is a promising field, at least in urothelial malignancies of the urinary bladder, in regards to tumor invasive potential, while it remains unestablished how these interactions affect metastatic potential.

Г7-6. Попов Н, Stoyanov GS, Ghenev P.

Role of Cytokeratin 20 as a Predictive and Prognostic Marker in Urothelial Neoplasms.

Резюме:

Въведение: Няколко клинични особености маркират уротелните карциноми и тяхното биологично поведение. Ключови са относително бавният ход преди изявата на тумора и високият процент на рецидиви. Досега не е идентифициран биомаркер като предиктор на тези техни особености. Настоящото проучване има за цел да оцени ролята на цитокератин 20 (СК20) в неинвазивните уротелни карциноми (pTa и pT1) на пикочния мехур, както неговата диагностично-предиктивна роля при стадирането и рецидивирането на тумора.

Материали и методи: В проучването се използва ретроспективен анализ и чрез имунохистохимично маркиране с анти-СК20 антитяло на срези с туморна тъкан са оценени нивата на експресията. Моделите на експресията са сравнени с диференциацията и стадия на тумора, както и с честотата на рецидивиране в рамките на петгодишен период на проследяване.

Резултати: Установена е силна статистическа корелация между експресията и диференциацията на тумора, като високостепенните тумори показват слаба до умерена експресия за СК20, а нискостепенните тумори показват интензивна експресия. Не е установена корелация между модела на експресията, възрастта и пола на пациента, стадия на тумора и вероятността от локален рецидив.

Заклучение: СК20 е надежден диагностичен маркер, когато се използва заедно с други

маркери, но неговият модел на експресия в нашето изследване корелира само с диференциацията на уротелните карциноми на пикочния мехур.

Abstract:

Introduction

Several clinical peculiarities mark urothelial carcinomas and their biological behavior. Key in these are its relatively indolent course before manifestation and its high recurrence rate. So far, no biomarker has been identified as a predictor for these factors. The current study aims to evaluate the role of cytokeratin 20 (CK20) in non-invasive urothelial carcinomas (pTa and pT1) of the urinary bladder and its diagnostic and predictive role in tumor staging and recurrence.

Materials and methods

The study utilizes a retrospective, non-clinical approach via immunohistochemical marking of the paraffinembedded tumor tissues for the initial diagnosis. Expression patterns were compared with tumor grade and stage, as well as the incidence of recurrence within a five-year follow-up period.

Results

A strong statistical correlation was established between expression and tumor grade, with high-grade tumors showing weak to moderate expression of CK20 while low-grade tumors showed an intensive expression pattern. No correlation was noted between the expression pattern, patient age and gender, tumor stage, and the likelihood of local recurrence.

Conclusion

While CK 20 is a reliable diagnostic marker when used together with other markers, its expression pattern in our study correlated only with bladder urothelial carcinoma grade.

Г7-7. Попов Н, Petkova L, Stoyanov GS.

Lingual Leiomyosarcoma: A Histopathological Case Report.

Резюме:

Лейомиосаркомите са редки злокачествени мезенхимни неоплазми, произхождащи от гладкомускулните клетки. Въпреки че лейомиосаркомът обикновено се развива най-често в матката, стомашно-чревния тракт и подкожните тъкани, той се среща рядко в областта на главата и шията, вероятно поради по-малкото количество на гладкомускулна тъкан в тази област. Тук представяме случай на 60-годишен мъж с бавно нарастваща безболезнена маса в средната трета на десния страничен езиков ръб, с фокална язва с размери 1x1,5 cm. След хирургично изрязване хистологично се представя с плеоморфни вретеновидни клетки, някои с причудливи ядра и висока митотична активност, като клетките растат под формата на преплитаци се снопове. Тъй като пациентът е с рискови фактори за развитието на плоскоклетъчен карцином на устната кухина, в диференциално диагностичен план се обсъди и източеноклетъчният (саркоматоиден) плоскоклетъчен карцином. Наложи се да се направи имунохистохимия с широк набор от антитела за доказване на хистогенезата на тумора. Тъй като туморът беше панцитокератин и дезмин отрицателен, фокално положителен за калдезмон и положителен за гладкомускулен актин, беше потвърдена диагнозата плеоморфен лейомиосарком на езика.

Abstract:

Leiomyosarcomas are rare malignant mesenchymal neoplasms originating from smooth muscle cells. Although leiomyosarcoma is commonly located in the female reproductive system, gastrointestinal tract, and subcutaneous tissues, it is a rare entry in the head and neck area,

probably due to the scarcity of smooth muscle tissue in this topographical region. Herein we present a histopathological case report of a 60-year-old male with a slow-growing painless mass on the middle third of the right lateral lingual margin, with focal ulceration measuring 1x1.5cm. After gross excision, histopathology revealed pleomorphic spindle cells, some with bizarre nuclei and abundant pathological mitotic activity with a tendency to grow in a fascicular pattern. As the patient had the demographic characteristic and risk factors for oral cavity squamous cell carcinoma, a spindle-shaped variety (sarcomatoid) variety was suspected, and immunohistochemistry with a broad set of antibodies was used to prove the histogenetic group of the tumor. As the tumor was pancytokeratin and desmin negative, focally positive for caldesmon, and positive for smooth muscle actin, the diagnosis of pleomorphic leiomyosarcoma of the tongue was established.

Г7-8. Попов Н, Ghenev P, Stoyanov GS.

Role of GATA3 in early-stage urothelial bladder carcinoma local recurrence.

Резюме:

Въведение: Една от характеристиките на неинвазивния уротелен карцином (УК) е високата честота на рецидиви. Гуанин-аденин-тимин-аденин нуклеотидна последователност-свързващ протеин 3 (GATA3), като транскрипционен фактор, корелира с уротелната диференциация и се свързва с лоша прогноза при високостепенните УК и рецидив при злокачествени заболявания на гърдата. Поставихме си за цел да проучим спецификата на GATA3 при неинвазивен УК, наблягайки на прогнозата за рецидив.

Методи: Кохортата се състои от 163 пациенти с период на проследяване от пет години, включително 109 pTa случая и 54 pT1 случая. Имунохистохимичната експресия на GATA3 се оценява с помощта на H-score. Тестът на Kaplan-Meier е проведен за времето до рецидив, според нивото на експресия на GATA3 и изследваните показатели. Направен е статистически анализ (ROC-curve), за да се определи ролята на точността и специфичността на предсказуемостта на индикаторите.

Резултати: Рецидив в рамките на периода на проследяване е отбелязан в 41,72% от случаите. Не е установена връзка на склонността към рецидив с възрастта и пола на пациентите. Експресията на GATA3 показва различен H-score резултат. Използвайки ROC кривата, гранична стойност (*cut off*) от 155 разделя нивата на експресия на УК на ниски и високи, с чувствителност от 72,7% и специфичност от 78,7% (area under the curve=0.800, 95% confidence interval: 0.696-0.904, $p<0.001$), което допълнително показва връзка между високите нива на ядрена експресия и риска от локален рецидив ($p<0,0001$).

Заклучение: Тук е описана чувствителността на високата експресия на GATA3 при неинвазивен УК на пикочния мехур и връзката ѝ с локалния рецидив, независимо от пола, възрастта, туморната диференциация и стадия.

Abstract:

Background

One of the most characteristic features of non-invasive urothelial carcinoma (UC) is its high recurrence rate. Guanine-adenine-thymine-adenine nucleotide sequence-binding protein 3 (GATA3), as a transcription factor, correlates with urothelial differentiation and has been reported with poor prognosis in high-grade UC and recurrence in breast malignancies. As such, we set out to study the specifics of GATA3 in noninvasive UC, emphasizing on prediction for recurrence.

Methods

The cohort comprised 163 patients, with a follow-up period of five years, including 109 pTa cases and 54 pT1 cases. Immunohistochemical expression of GATA3 was assessed using a histo score (H-score). Kaplan-Meier test was conducted for the time to recurrence, according to the level of expression of GATA3 and the indicators studied. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was done to determine the role of accuracy and specificity of predictability of the indicators.

Results

Recurrence within the follow-up period was noted in 41.72% of cases. No recurrence relationship was established for age and gender. GATA3 expression showed a varying H-score. Using ROC curve analysis, a cut-off value of 155 divided UC expression levels into low and high, with a sensitivity of 72.7% and specificity of 78.7% (area under the curve=0.800, 95% confidence interval: 0.696-0.904, $p<0.001$), further showing an association between high levels of nuclear expression and risk of local recurrence ($p<0.0001$).

Conclusion

Herein we have described the sensitivity of high GATA3 expression in non-invasive UC of the urinary bladder and its relation to local recurrence, independent of gender, age, tumor differentiation, and stage.

Г7-9. Попов Н, Koleva T, Stoyanov GS.

Bullous Henoch-Schönlein Purpura and Associated Nephritis: A Pathological Case Report.

Резюме:

Пурпурата на Henoch-Schönlein (HSP) е най-честият васкулит в детската възраст, проявяващ се с пурпура, предимно на долните крайници и понякога със засягане на бъбреците. Въпреки че се свързва с детството, HSP, макар и рядко, може да се развие и при възрастни. Тук представяме пациент на шестдесет години, представящ се с безброй обривни единици по долните крайници, включително булозни лезии и прояви на хронична бъбречна недостатъчност. Кожните и бъбречни биопсии показаха морфологични промени и имунни отлагания, характерни за HSP. Въпреки лечението, бъбречната недостатъчност на пациента бавно прогресира и той почина осем месеца след представянето си поради свързаните усложнения. Макар и рядко, булозната форма на HSP може да се разглежда като по-агресивна форма на заболяването, както се вижда от констелацията на представяне и бързата прогресия в нашия случай.

Abstract:

Henoch-Schönlein purpura (HSP) is the most common vasculitis in childhood, presenting with purpura, predominantly of the lower extremities and occasionally with renal involvement as well. Although associated with childhood, HSP, although rarely, can also develop in adults as well. Here we present a patient in his sixties, presenting with a myriad of rash units on his lower extremities, including bullous ones, and a constellation of chronic kidney failure. Skin and renal biopsy specimens revealed morphological changes and immune depositions representative of HSP. Despite treatment, the patient's kidney failure slowly progressed, and he expired eight months after his presentation due to associated complications. Although rare, the bullous form of HSP can be viewed as a more aggressive form of the disease, as seen by the presentation constellation and rapid progression in our case.

III Г8 – Резюмета на публикации в неиндексирани бази данни свързани с доцентурата:

Г8-1. Pavlov S, Ivanova I, Попов Н, Tzaneva M, Ghenev P.

A rare comorbidity: dermatitis herpetiformis and sarcoidosis - a case report.

Резюме:

Саркоидозата е мултисистемно грануломатозно заболяване с неизвестна етиология и широк спектър от клинични прояви. Представяме случай на жена на 54 години с обрив по лицето: полиморфни, кръгли, инфилтрирани еритематозни плаки, с размери 1 - 3 cm, разпространени в няколко области. Медицинската история сочи, че жената е боледувала от дерматитис херпетиформис и персистираща интрахепатална холестаза. Резултатите от лабораторните тестове предполагат цьолиакия (силна положителна реакция на IgA анти-тъканни трансглутаминазни антитела), но горна ендоскопия не е извършена, за да се потвърди. Кожната биопсия показва неказеифициращи епителоидно-клетъчни грануломи, а директната имунофлуоресценция показва IgA отлагания в дермата. Саркоидоза с кожно и чернодробно засягане е установена на базата на клиничните находки и хистологията. Периодът между проявите на болестта на Дюринг и кожните прояви на саркоидоза е 20 години.

Заклучение: Проследеният клиничен случай подкрепя хипотезата за общи имунни патогенни фактори при чувствителни към глутена заболявания и саркоидоза. Едновременното проявление на цьолиакия и саркоидоза е рядко срещано в медицинската практика, но не трябва да се подценява.

Abstract:

Sarcoidosis is an enigmatic, multisystem granulomatous disease of unknown etiology and wide range of clinical presentations. Case report: A 54-year-old female presented with facial rash: polymorphic, round, infiltrated erythematous plaques, 1 - 3 cm in size, disseminated on several areas of the face. The medical history was consistent with dermatitis herpetiformis and persistent intrahepatic cholestasis. The laboratory test results suggested celiac disease (strong positivity of IgA anti-tissue transglutaminase antibodies) but upper endoscopy was not performed to confirm it. The skin biopsy revealed noncaseating epithelioid-cell granulomas, and negative direct immunofluorescence showed IgA deposits in the dermis. Sarcoidosis with cutaneous and hepatic involvement was established based on compatible clinical findings and supportive histology. The period between manifestations of Dühring disease and skin manifestations of sarcoidosis was 20 years. Conclusion: Our clinical case supports the hypothesis for common immune pathogenic factors in gluten-sensitive diseases and sarcoidosis. The simultaneous occurrence of celiac disease and sarcoidosis is rare, but should not be under recognized.

Г8-2. Kitanova M, **Popov H**, Gancheva S, Zhelyazkova-Savova M, Galunska B, Ghenev P.

EFFECTS OF VITAMIN K ON LIVER STEATOSIS AND PANCREATIC LIPOMATOSIS IN EXPERIMENTAL MODEL OF METABOLIC SYNDROME.

Резюме:

Цел: Наскоро бяха предложени нови роли на витамин К, различни от тези в коагулацията, включващи превенция на кардиометаболитните заболявания. Целта на настоящата работа е да се оцени въздействието на лечението с витамин К върху промените в черния дроб и панкреаса на плъхове с експериментално индуциран метаболитен синдром.

Методи: Използвани са четири групи плъхове, както следва: една контролна група е хранена с обикновена храна за плъхове; една група е била хранена с диета с високо съдържание на мазнини и фруктоза в продължение на 12 седмици, за да предизвика

метаболически синдром, а две групи с метаболически синдром са лекувани съответно с витамин К1 и К2. В края на експеримента чернодробната тъкан и панкреасът са морфологично изследвани.

Резултати: Всички групи плъхове, хранени с високо съдържание на мазнини и фруктоза, показват чернодробни хистологични промени, съответстващи на стеатоза. Тези промени са по-изразени в групите, лекувани с витамин К2 и К1. Тъканта на панкреаса на животните, хранени с високо съдържание на мазнини и фруктоза, показва наличие на липоматоза, независимо от лечението.

Заклучение: При плъховете с индуциран от диета метаболически синдром, лечението с витамин К1 и К2 не е довело до очакваните морфологични доказателства за подобрение, дори има тенденция към влошаване на чернодробните промени. Тези резултати не са в съответствие с други вече установени ефекти от лечение с витамин К.

Abstract:

Purpose: Recently new roles for vitamin K, different from that in coagulation, have been proposed, including prevention of cardiometabolic diseases. It was the aim of the present work to evaluate the impact of vitamin K treatment on the changes in liver and pancreas of rats with experimentally induced metabolic syndrome.

Methods: Four groups of rats were used, as follows: one control group fed regular rat chow; one group fed high fat, high fructose (HFHF) diet for 12 weeks to induce a metabolic syndrome (MS) and two groups with MS treated with vitamin K1 and K2 respectively. At the end of the experiment, liver tissue and pancreas were dissected out for morphological examination.

Results: All groups of rats fed HFHF diet expressed liver histological changes consistent with steatosis. These alterations were more pronounced in the groups treated with vitamin K2 and K1. The pancreatic tissue of the HFHF fed animals showed similar degree of lipomatosis irrespective of treatment.

Conclusions: In rats with diet-induced MS, treatment with vitamin K1 and K2 did not produce the expected morphological evidence of improvement, even tended to aggravate the liver changes. These results disagreed with other effects of vitamin K that were established.

Г8-3. Kasimova Z, Попов Н, Tsaneva M.

Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Kidney: a Case Report.

Резюме:

Въведение: Смесен епителен и стромален тумор (MEST) на бъбречното легенче, известен в миналото като кистозен хамартом, е рядък доброкачествен тумор, наскоро обособен като отделна клинична и патологична единица. Тази сложна неоплазма е съставена от смес от стромални и епителни елементи. Жените са засегнати по-често (съотношение жени към мъже 6:1), особено жени в перименопаузата. Първоначално е описан през 1973 год. от Block като вродена мезобластна нефрома. Терминът MEST е даден от Michal и Sygusek през 1998 год.

Методи и материали: Жена на 54 години е подложена на лапаротомия поради феохромоцитом. Освен това е открит още един тумор в левия бъбрек - частично кистична и частично плътна маса в бъбречното легенче, поради което е извършена левостранна нефректомия.

Резултати: Макроскопски лезията в бъбречното легенче е с овална форма с размери 15/8cm, добре отграничена от околния паренхим и с мастна тъкан по периферията; срезната повърхност показва множество кисти с различен размер и папиларни издатини от вътрешната страна. При хистологичното изследване се вижда добре очертан тумор, съставен от кисти с различна големина, тапицирани с коломнарен и кубоидален епител. Заобикалящата строма показва смес от яйчников тип строма и еозинофилни фокуси,

наподобяващи бели тела и много калцификати.

Заклучение: В литературата са описани само около 200 случая на MEST. Смесеният епителен и стромален тумор на бъбрека обикновено се проявява при жени в перименопауза като частично кистична маса и растежът му може да бъде повлиян от хормони. В литературата няма друго описание на едновременното съществуване на MEST и феохромоцитом.

Abstract:

Introduction: Mixed epithelial and stromal tumor (MEST) of the renal pelvis, also known in the past as cystic hamartoma is a rare benign tumor, recently recognized as a distinct clinical and pathological entity. This complex neoplasm is composed of a mixture of stromal and epithelial elements. Women are more often involved (ratio of women to men 6:1), especially perimenopausal women. It was originally described in 1973 by Block as a congenital mesoblastic nephroma. The term MEST was credited to Michal and Syrucek in 1998.

Methods and Materials: A 54-year-old woman underwent laparotomy because of pheochromocytoma. In addition, another tumor was found in the left kidney - a partly cystic and partly solid mass in the renal pelvis, so left-sided nephrectomy was carried out.

Results: Macroscopically, the lesion in the renal pelvis had an oval form, measuring 15/8 cm, well circumscribed from the surrounding parenchyma, and with fatty tissue at the periphery; the cut surface revealed multiple cysts of varying size, showing papillary projections on the inner side. On histological examination, a well-delineated tumor was seen, composed of cysts of varying size lined by columnar and cuboidal epithelium. Surrounding stroma showed a mixture of an ovarian type of stroma and eosinophilic loci resembling white bodies and a lot of calcifications.

Conclusion: Only about 200 cases of MEST have been described in the literature. Mixed epithelial and stromal tumor of the kidney usually presents in perimenopausal women as a partially cystic mass, and its growth may be influenced by hormones. In the literature, there is no other description of coexisting MEST and pheochromocytoma.

Г8-4. Ghenev PI, Kitanova MG, **Popov HB**, Evtimov N, Stoev SV, Tonchev AB, Chaldakov GN.

Neuroadipobiology of arrhythmogenic right ventricular dysplasia. An immunohistochemical study of neurotrophins.

Резюме:

Аритмогенната дяснокамерна дисплазия (ARVD) е наследствено нарушение на адхезионните протеини между кардиомиоцит към кардиомиоцит, свързано с камерни аритмии и внезапна сърдечна смърт. Характеризира се с прогресивно фибро-мастно заместване на миокарда на дясната камера. Наличието на мастна тъкан с или без фиброзна тъкан, разпръсната сред кардиомиоцитите, е хистологичният отличителен белег на заболяването. Намирайки се в миокарда, адипоцитите предизвикват увреждане на кардиомиоцитите, като по този начин причиняват електрическа нестабилност на миокарда на дясната камера, но молекулярната патогенеза на такава електрическа нестабилност при ARVD все още е неясна. Заместването на кардиомиоцитите от мастната тъкан е най-съществената хистологична находка при ARVD. Nerve growth factor (NGF) упражнява аритмогенен ефект, който е свързан с внезапната сърдечна смърт. Целта на настоящото изследване е да анализира имунохистохимично ARVD-свързани адипоцити със специално внимание към експресията на NGF и свързани невротрофини, BDNF и невротрофин-3 (NT-3) и техните съответни TrkA, TrkB и TrkC рецептори. Осем случая с ARVD бяха доказани при аутопсии. Настоящите резултати показват, че интрамиокардните адипоцити и кардиомиоцити при ARVD експресират NGF/TrkA и NT-3/TrkC, което предполага, че те могат да играят съществена роля в

животозастрашаващата електрическа нестабилност на миокарда.

Abstract:

Arrhythmogenic right ventricular dysplasia (ARVD) is an inherited disorder of cardiomyocyte-to-cardiomyocyte adhesion proteins associated with ventricular arrhythmias and sudden cardiac death. It is characterized by progressive fibrofatty replacement of right ventricular myocardium. The presence of adipose tissue either with or without fibrous tissue, scattered among cardiomyocytes is the histological hallmark of the disease. Being in the myocardium, adipocytes trigger damage to cardiomyocytes, thus causing electrical instability of the right ventricular myocardium, but the molecular pathogenesis of such an electrical instability in ARVD is still unclear. Since (i) adipose tissue replacement of cardiomyocytes is the most essential histological finding in ARVD, (ii) nerve growth factor (NGF) exerts an arrhythmogenic effect related to sudden cardiac death, and (iii) adipose tissue produces NGF and brain-derived neurotrophic factor (BDNF), the aim of the present study is to analyze immunohistochemically ARVD-related adipocytes with special attention to the expression of NGF and related neurotrophins, BDNF and neurotrophin-3 (NT-3) and their respective TrkA, TrkB and TrkC receptors. Eight cases with ARVD were autopsy proven. The present results demonstrate that the intramyocardial adipocytes and cardiomyocytes in ARVD express NGF/TrkA and NT-3/TrkC, suggesting that they may play a substantial part in life-threatening myocardial electrical instability.

Г8-5. Dzhenkov D, Stoyanov G, **Popov H**, Stoev L, Kobakova I, Ali N.

Morphological hallmarks in early stage retinopathy in premature babies (retrolental fibroplasia).

Резюме:

Ретинопатията на недоносеното, наричана още ретролентална фиброплазия, е една от водещите причини за нарушения в зрението в педиатричната популация. Патологичните механизми за развитието ѝ се дължат на цялостната незрялост на организма, в частност дихателната система. Необходимостта от отглеждане във висококислородна среда на фона на пантканната хипоксия води до пролиферация на съдове в ретината, прорастващи впоследствие в задна очна камера. При съзряване на дихателната система съдовете дегенерират и се заместват със съединителна тъкан, което може да доведе до множество усложнения. С цел установяване на ранните съдови промени в ретината е изследван зрителният анализатор на педиатричен аутопсионен случай с ранни промени, асоциирани с ретинопатия на недоносеното и една контролна педиатрична аутопсия без клинични данни за ретинален патологичен процес. И двамата пациенти са на съпоставима възраст – 3 месеца. При пациента с клинични прояви на ретролентална фиброплазия във външните слоеве на ретината се наблюдава обилна пролиферация на кръвоносни съдове, включително и дебелостенни, с нарушаване на хистоархитектониката на ретината. Вторият пациент без клинични данни презентира с конвенционална ретинална морфология без съдова пролиферация. Състоянието не изисква морфологична диагноза. Обсервационната находка на фундоскопия, заедно с клиничната информация, често са достатъчно специфични, като при добри лечебни мероприятия – максимално бързо рехабилитиране на белия дроб, контрол на кислородната среда, е възможно промените да регресират без патологична прогресия. Морфологична диагностика е показана само в случаи с липсваща медицинска документация, клинични данни за зрителни нарушения и необходимост от диференциална диагностика с други нарушения в ретината, някои от които могат да бъдат с генетична етиология и да представляват потенциален риск за други родственици.

Abstract:

Retinopathy in premature babies, also called retrolental fibroplasia, is one of the leading causes of visual impairment in the pediatric population. The condition occurs in developed countries and the pathophysiological mechanisms for its development are due to the overall immaturity of the body, in particular the respiratory system. The need for the baby to be kept in a highly oxygenated environment, against the background of pantissue hypoxia, results in the proliferation of retinal vessels subsequently sprouting into the posterior ocular chamber. As the respiratory system matures, the vessels degenerate and are replaced by connective tissue, which can lead to many complications. In order to detect early vascular changes in the retina, the ocular bulb of a pediatric autopsy case was examined, associated with early changes of premature retinopathy and a single control pediatric autopsy without clinical data on retinal pathology. Both patients were of comparable age - 3 months. In the patient with clinical manifestations of retrolental fibroplasia in the outer layers of the retina, there was profound proliferation of blood vessels, including thickwalled ones, with impaired histoarchitectonics of the retina. The second patient presented with no clinical data and conventional retinal morphology without vascular proliferation. The condition does not require morphological diagnosis. The observational findings of fundoscopy, together with the clinical information, are often specific enough and with good therapeutic interventions - lung rehabilitation, control of the oxygen environment, it is possible for the changes to regress without pathological progression. Morphological diagnosis is indicated only in cases with missing medical records, clinical evidence of visual impairment and the need for differential diagnosis with other disorders in the retina, some of which may have a genetic etiology and pose a potential risk to other relatives.

Г8-6. Kobakova I, **Попов Н**, Softova E, Spasova S, Stoyanov GS.

Pleomorphic adenoma of the palpebra: a histopathological case report.

Резюме:

Плеоморфният аденом (ПА) е доброкачествен жлезист тумор, произхождащ най-често от паротидната жлеза. Други редки места за ПА са млечната жлеза, белите дробове, слъзните жлези и други. ПА произлизащ от други екзокринни жлези, като жлезите на Молл в клепача, са изключително редки. Тук докладваме случай на 66-годишна пациентка с ПА, изрязан поради нарушение на зрението, с дискусия върху хистологичните аспекти, подходите за диагностика и лечение на ПА в тази локализация.

Abstract:

Pleomorphic adenoma (PA) is a benign glandular tumor, originating most commonly from the parotid gland. Other rare locations for PA are the breast, lung, lacrimal glands, etc. PA originating from other exocrine glands such as the glands of Moll in the palpebra are extremely rare. Herein we report a case report of a 66-year-old female patient with such PA, excised due to vision impediment, with a discussion on the histological aspects and diagnostic and management approaches of PA in this rare location.

Г8-7. Попов Х.

Прогностични и предиктивни фактори при уротелните карциноми – туморен паренхим: II.

Резюме:

Злокачествените тумори са заболявания, които със своята характеристика и биологично поведение, включително и неблагоприятен завършек на болестта, представляват сериозен социално-икономически и психологически проблем за значителна част от населението в света. Леталният изход най-често е свързан с рецидив или туморни метастази. С диагностична цел и на базата на определените задължителни морфологични прогностични и предиктивни параметри все по-често вниманието е насочено към търсене на нови маркери, участващи в процеса на ангиогенеза, клетъчна пролиферация и диференциация, които биха могли да помогнат при разгадаването на туморната биология. Тези маркери са обект на интерес при различните типове карциноми, включително и при уротелния карцином, който, макар в ранните стадии от развитието си да протича благоприятно, крие висок риск от развитие на рецидиви и прогресия. Маркерите могат да произхождат от туморния паренхим и туморната строма. Идентифицирането и използването в практиката на по-прецизни имунохистохимични маркери, произхождащи от туморния паренхим при уротелния карцином, в комбинация с морфологичните характеристики на тумора, диференциацията и стадирането на туморния процес, дава възможност за прецизиране на диагнозата и по възможност определяне на прогнозата при болните. CK20 е широко дискутиран в литературата, но въпреки това има противоречиви данни за експресията на CK20 по отношението на диференциацията, стадирането и настъпването на рецидив при уротелните неоплазми. Необходими са по-задълбочени изследвания за определянето на CK20 като предиктивен и прогностичен маркер при уротелните неоплазми. Прегледът на литературата показва различия в изследванията за CD10 във връзка с диференциацията, стадий и прогноза. В литературата не е описано отношението на CD10 експресията за развитието на туморен рецидив. През 2007 год. GATA3 е предложена да бъде нов маркер за уротелна диференциация, който помага за разграничаване на метастатичните лезии. Надежден маркер, дискутиран в литература, е gp130, който може да се яви като предиктивен и прогностичен маркер и при уротелния карцином.

Abstract:

Malignant tumors are diseases that, with their characteristics and biological behavior, including an unfavorable outcome of the disease, represent a serious social, economic, and psychological problem for a significant part of the population in the world. The fatal outcome is most often associated with recurrence or tumor metastases. With a diagnostic purpose and based on the defined mandatory morphological prognostic and predictive parameters, attention is increasingly focused on the search for new markers involved in the processes of angiogenesis, cell proliferation, and differentiation, which could help unravel tumor biology. These markers are of interest in different types of carcinomas, including urothelial cancer, which, although favorable in the early stages of its development, carries a high risk of recurrence and progression. Markers can originate either from the tumor parenchyma or from the tumor stroma. The identification and practical use of more precise immunohistochemical markers originating from the tumor parenchyma in urothelial cancer, in combination with the morphological characteristics of the tumor and the differentiation and staging of the tumor process, makes it possible to refine the diagnosis and, if possible, to determine the prognosis of the patients. CK20 has been widely discussed in the literature, yet there are conflicting data on CK20 expression in relation to differentiation, staging, and recurrence in urothelial neoplasms. Further studies are needed to determine CK20 as a predictive and prognostic marker in urothelial neoplasms. A review of the literature shows differences in studies on CD10 in terms of differentiation, stage, and prognosis. The relation of CD10 expression to the development of tumor recurrence has not been described in medical literature. In 2007, GATA3 was proposed to be a novel marker of urothelial differentiation, which helps to distinguish metastatic lesions. A reliable marker discussed in the literature is gp130, which may appear as a reliable predictive and prognostic marker in urothelial

carcinoma.

Г8-8. Stoyanov GS, **Попов Н**, Petkova L, Stoyanov D, Ivanov M, Tonchev AB.

SARS-CoV-2 Associated Pulmonary Pathology.

Резюме:

Тежък остър респираторен синдром коронавирус 2 (SARS-CoV-2) е нов член на групата на *betacoronaviridae*. Това е вторият член на тази група и третият от семейството на коронавирусите, появил се през последните 20 години, който предизвика значителни затруднения в здравеопазването поради тежестта на протичане и разпространението на идентифицираната през 2019 год. COVID -19 вирусна инфекция. Въпреки че първоначално се появява като респираторно заболяване, SARS-CoV-2 се очертава като мултисистемен патоген. От патоморфологична гледна точка тежестта на промените в дихателната система може да се обобщят като дифузно алвеоларно увреждане - десквамация на алвеоларния епител с ексудативни и пролиферативни промени - белодробни хиалинни мембрани, хиперплазия на Clara клетките, плоскоклетъчна метаплазия и фиброза. Вторият най-важен начин, по който заболяването засяга белите дробове, е чрез ендотелиит - увреждане на ендотелните клетки на белодробната съдова мрежа, засягащо предимно кръвоносните съдове със среден и голям калибър, което причинява добре установения клиничен феномен на тромбоза/тромбоемболия в белодробната циркулация. Разпространението на болестта продължава с появата на нови варианти и броят на случаите продължава да расте. Важно е да се запомни, че заболяването не протича само остро, а поради пролиферативни явления може да доведе до хронични промени. Следователно на фона на намаляващия интерес към публикациите по тази тема, от решаващо значение е съсредоточването върху хистопатологичните аспекти на белодробното заболяване с цел по-добро проучване на въздействието на вируса върху организма и идентифицирането на вероятни бъдещи усложнения след инфекция.

Abstract:

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a novel entry in the betacoronaviridae group of coronaviruses. This is the second member of this group, and the third of the family overall to emerge in the last 20 years, which has caused significant health concerns due to the clinical severity and spread of the disease it causes—coronavirus disease identified in 2019 (COVID-19). While initially emerging as a respiratory disease, and while most cases experience symptoms predominantly from this system, SARS-CoV-2 has emerged as a multisystem pathogen.

From a pathomorphological point of view, the severity of changes in the respiratory system can be summed up as diffuse alveolar damage—desquamation of the alveolar epithelium with exudative and proliferative changes—pulmonary hyaline membranes, Clara cell hyperplasia, squamous cell metaplasia, and fibrosis. The second most prominent way the disease affects the lung is through endoeliitis—damage to the endothelial cells of the pulmonary vasculature, predominantly affecting the medium and large caliber blood vessels that cause the well-established clinical phenomenon of thrombosis/thromboembolism of the pulmonary vasculature. As the spread of the disease continues with the emergence of new variants and the number of cases continues to grow, including a large percentage of recurrent cases, it is essential to remember that the viral effects are not only acute but, due to the proliferative phenomena, can produce chronic sequelae. Therefore, in the background of dwindling publication interest, it is critical to focus on the histopathological aspects of the pulmonary disease, with the goal of better understanding the effects of the virus on the organism and identifying probable future complications after infection.

IV Резюмета на публикации извън минималните наукометрични изисквания

1. Stoyanov GS, Stoyanov D, Ivanov M, Tonchev AB, **Popov H**, Petkova L.

COVID-19-associated encephalopathy (COVEP): basic aspects of neuropathology.

Резюме

SARS-CoV-2 е член на групата на бетакоронавирусите и причинител на COVID-19, засягащ множество системи, а не само дихателната. Една от системите, засегнати от вируса, е централната нервна система, като невропатологичните изследвания съобщават за широк набор от морфологични явления - възпаление, промени на съдовата и кръвно-мозъчната бариера, невродегенерация и ускорено стареене. Противоречиви са данните за директния невроинвазивен потенциал на вируса и активната вирусна репликация в невроните. Изобразените промени, различни от остър ефект (който може да допринесе за смъртта на пациента), също имат хронични последици в контекста на пост-COVID синдром когнитивни нарушения, нарушения на съня и настроението. Следващата глава описва основните невропатологични аспекти на SARS-CoV-2 въз основа на настоящите доказателства в научната литература и предлага термина COVER —COVID асоциирана енцефалопатия — за обединяване на безспорните ефекти на инфекцията върху морфологията и функцията на нервната система.

Abstract

SARS-CoV-2, a member of the betacoronavirus group and causative agent of COVID-19, is a virus affecting multiple systems, not only the respiratory. One of the systems affected by the virus is the central nervous system, with neuropathological studies reporting a wide set of morphological phenomena—neuroinflammation, vascular and blood-brain barrier alterations, neurodegeneration, and accelerated aging, while contradicting data is present on the direct neuroinvasive potential of the virus and active viral replication within neurons. The depicted changes, other than an acute effect (which may contribute to the death of the patient) also have chronic sequelae in the context of post-COVID syndrome cognitive impediments, sleep, and mood disorders. The following chapter describes the basic neuropathological aspects of SARS-CoV-2 as based on the present evidence in scientific literature and propose the term COVER—COVID-associated encephalopathy—to unite the undisputed effects of the infection on nervous system morphology and function.