

Резюмета на научните трудове на български и на английски език

на

гл.ас. д-р Надежда Тодорова Стефанова, д.м.

представени за участие в конкурс за заемане на АД „доцент“ по специалност „обща и клинична патология“, област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина към Факултет „Медицина“, Катедра „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“, съгласно обява в Държавен вестник, бр. 85/ 08.10.2024 г.

Наукометрични показатели, представени за заемане на академична длъжност „доцент“

В3. Хабилюационен труд – монография на тема „Миелопролиферативни неоплазии. Минало, настояще и бъдеще“ Медицински университет – Варна, 2023, ISBN:978-619-221-471-5 – 100 точки

Г7. Публикации и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация

Г7.1. Ina Kobakova, George Stoyanov, Hristo Popov, Snezhana Spasova-Nyagulova, **Nadezhda Stefanova**, Lyuben Stoev, Nevena Yanulova. Anorectal melanoma - a histopathological case report and a review of the literature. Folia Med (Plovdiv) 2019; 61(1):95-99

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, the pathomorphological, and mutation status finding, together with their correlation to tumor behavior and patient prognosis.

Резюме: Първичните меланоми на ануса и ректума са редки новообразувания с агресивно поведение, които представляват 0,1%-4,6% от туморите на аналния канал. Лигавичните меланоми представляват приблизително 1,2% от всички меланоми, като по-малко от 25% са аноректални. Извършването на имунохистохимична оценка с антителата HMB-45, S-100, vimentin and Melan A е необходима за поставянето на окончателната диагноза. Съществуват данни, че 5-годишната преживяемост при пациентите с аноректални меланоми (AM) е <20%, за разлика от преживяемостта при пациенти с кожни меланоми, която е около 80%.

Освен това е установено, че 67% от пациентите имат далечни метастази в момента на поставяне на диагнозата АМ. Тъй като възможностите за лечение с химиотерапия са ограничени, при пациентите обикновено се провеждат тестове за откриване на мутации, даващи възможност за целенасочена/таргетна терапия. Съобщаваме за случай на пациент с аноректален меланом, който е дианостициран във втори стадий, докладваме за патоморфологичните находки и мутационния статус и тяхната връзка с клиничното поведение на тумора и прогнозата на пациента.

Г7.2. Minka Hristova, Maria Tzaneva, Ganka Bekyarova, Dariya Chivchibashi, **Nadezhda Stefanova**, Yoana Kiselova-Kaneva. Molecular Mechanisms of Melatonin Protection from Gastric Mucosal Apoptotic Injury in Experimental Burns. *Molecules* 2018, 23(4), 749

Abstract: Melatonin, a basic secretory pineal gland product, is a non-toxic, multifunctional molecule. It has antioxidant and anti-apoptotic activities and protects tissues from injury. The objective of the present study was to determine the molecular mechanism of melatonin anti-apoptotic effect on gastric injury in a rat burn model. We hypothesized that melatonin gastric protection may be related to the activation of transcription erythroid 2-related factor 2 (Nrf2). Using a 30% total body surface area (TBSA) rat burn model, melatonin (10 mg/kg, i.p.) was injected immediately and 12 h after thermal skin injury. Via light immunohistochemistry, we determined the tissue level of 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) as a marker of lipid peroxidation, Bcl-2 and Bax as apoptosis-related proteins, and Nrf2. Results are presented as medians (interquartile range (IQR)). Thermal trauma in burned animals, compared with the controls, increased the expression of pro-apoptotic Bax protein (1.37 (0.94–1.47)), decreased anti-apoptotic Bcl-2 protein (1.16 (1.06–1.23), $p < 0.001$) in epithelial cells, and elevated Bax/Bcl-2 ratios ($p < 0.05$). Tissue 4-HNE and Nrf2 levels were increased following severe burns (1.55 (0.98–1.61) and 1.16 (1.01–1.25), $p < 0.05$, respectively). Melatonin significantly decreased 4-HNE (0.87 (0.74–0.96), $p < 0.01$) and upregulated Nrf2 (1.55 (1.52–1.65), $p < 0.001$) levels. It also augmented Bax (1.68 (1.5–1.8), $p < 0.001$) and Bcl-2 expressions (1.96 (1.89–2.01), $p < 0.0001$), but reduced Bax/Bcl-2 ratios ($p < 0.05$). Our results suggest that experimental thermal trauma induces oxidative gastric mucosal injury. Melatonin manifests a gastroprotective effect through Nrf2 activation, lipid peroxidation attenuation, and Bax/Bcl-2 ratio modification as well.

Резюме: Мелатонинът е основен секреторен продукт на епифизната жлеза и представлява нетоксична, многофункционална молекула. Той има антиоксидантни и антиапоптотични свойства и предпазва тъканите от нараняване. Целта на настоящото проучване е да се определи молекулярният механизъм на антиапоптотичния ефект на мелатонина в модел на стомашна увреда при плъхове, предизвикан от изгаряне. Ние предположихме, че стомашната защита постигната чрез използването на мелатонин може да е свързана с активирането на транскрипционния еритроиден 2-свързан фактор 2 (Nrf2). Използвайки модел на изгаряне с 30% обща телесна повърхност (TBSA) при плъх, мелатонин в доза 10 mg/kg, i.p. бе инжектиран непосредствено и 12 часа след термично нараняване на кожата. Чрез имунохистохимично изследване определихме тъканното ниво на 4-хидрокси-2-ноненал (4-HNE) като маркер за липидна пероксидация, Bcl-2 и Bax като протеини,

свързани с апоптоза, и Nrf2. Резултатите са представени като медиани (интерквартилен диапазон (IQR)). При животните с термична травма се наблюдава повишена експресия на проапоптотичен протеин Bax (1,37 (0,94–1,47)), намалена експресия на антиапоптотичен протеин Bcl-2 (1,16 (1,06–1,23), $p < 0,001$) в епителни клетки и повишено съотношение Bax/Bcl-2 ($p < 0,05$) в сравнение с животните от контролната група. Тъканните нива на 4-HNE и Nrf2 са повишени след тежки изгаряния (1,55 (0,98–1,61) и 1,16 (1,01–1,25), $p < 0,05$, съответно). Мелатонинът значително намалява експресията на 4-HNE (0,87 (0,74–0,96), $p < 0,01$) и повишава нивата на Nrf2 (1,55 (1,52–1,65), $p < 0,001$). Той също така увеличава експресията на Bax (1,68 (1,5–1,8), $p < 0,001$) и Bcl-2 (1,96 (1,89–2,01), $p < 0,0001$), но води до намалено съотношение Bax/Bcl-2 ($p < 0,05$). Нашите резултати показват, че експерименталната термична травма предизвиква оксидативно увреждане на стомашната лигавица. Мелатонинът проявява гастропротективен ефект чрез активиране на Nrf2, отслабване на липидната пероксидация и модификация на съотношението Bax/Bcl-2.

Г7.3. Stoyanov GS, Yanulova N, Stoev L, Zgurova N, Mihaylova V, Dzhankov DL, Stoeva M, **Stefanova N**, Kalchev K, Petkova L. Temporal Patterns of COVID-19-Associated Pulmonary Pathology: An Autopsy Study. Cureus. 2021 Dec 19;13(12):e20522. doi: 10.7759/cureus.20522. PMID: 35103119; PMCID: PMC8769076.

Abstract: Introduction: The novel coronavirus variant - severe acute respiratory distress syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the disease it causes clinically (novel coronavirus disease 2019 or COVID-19) have placed medical science into a frenzy due to the significant morbidity and mortality, as well as the myriad of clinical complications developing as a direct result of infection. The most notable and one of the most severe changes in COVID-19 develops in the lungs.

Materials and methods: All cases of real-time polymerase chain reaction (rtPCR)-proved COVID-19 subjected to autopsy were withdrawn from the central histopathology archive of a single tertiary medical institution - St. Marina University Hospital - Varna, Varna, Bulgaria. Pulmonary gross and histopathology changes observed on light microscopy with hematoxylin and eosin as well with other histochemical and immunohistochemical stains were compared with the time from patient-reported symptom onset to expiration, to compare the extent and type of changes based on disease duration.

Results: A total of 27 autopsy cases fit the established criteria. All cases clinically manifested with severe COVID-19. From the selected 27 cases, $n=14$ were male and $n=13$ were female. The mean age in the cohort was 67.44 years (range 18-91 years), with the mean age for males being 68.29 (range 38-80 years) and the mean age for females being 66.54 (range 18-91 years). Gross changes in patients who expired in the first 10 days after disease onset showed a significantly increased mean weight - 1050g, compared to a relatively lower weight in patients expiring more than 10 days after symptom onset - 940g. Histopathology changes were identified as intermittent (developing independent from symptom onset and persisting) - diffuse alveolar damage with hyaline membranes - acute respiratory distress syndrome, endothelitis with vascular degeneration and fibrin thrombi; early (developing within the first week, but persisting) - type II pneumocyte

hyperplasia, alveolar cell multinucleation and scant interstitial mononuclear inflammation; intermediate (developing within the late first and second weeks) - Clara cell hyperplasia and late (developing after the second week of symptom onset) - respiratory tract and alveolar squamous cell metaplasia and fibrosis. Conclusion: COVID-19-associated pulmonary pathology, both gross and histopathology, show a time-related dynamic with persistent early and a myriad of later developing dynamic changes in patients with severe disease. These changes underline both the severity of the condition, as well as the mechanisms and the probability of long-lasting severe complications in patients with post-COVID syndrome.

Резюме: Увод: Новият коронавирусен вариант – тежък остър респираторен дистрес синдром коронавирус 2 (SARS-CoV-2) и заболяването, което причинява клинично (нова коронавирусна болест 2019 или COVID-19) обезпокоиха медицинската научна общественост поради значителната заболяемост и смъртност, както и безбройните клинични усложнения, развиващи се като пряк резултат от инфекцията. Най- забележимите и едни от най-тежките промени при COVID-19 се развиват в белите дробове.

Материали и методи: Всички случаи на аутопсирани пациенти с COVID-19, доказани с полимеразна верижна реакция в реално време (rtPCR), са извадени от централния хистопатологичен архив на УМБАЛ „Света Марина“ – Варна. Макроскопските и хистологичните белодробни промени (оценени със светлинна микроскопия, оцветени с хематоксилин и еозин, както и с други хистохимични и имунохистохимични оцветявания) са сравнени с времето от началото на симптомите, съобщени от пациента, за да се сравнят степента и вида на промените спрямо продължителността на заболяването.

Резултати: Общо 27 аутопсионни случая отговарят на установените критерии. Всички случаи са с тежко изявен клинично COVID-19. От избраните 27 случая n=14 са мъже и n=13 са жени. Средната възраст в кохортата е 67,44 години (диапазон 18-91 години), като средната възраст за мъжете е 68, 29 (диапазон 38-80 години), а средната възраст за жените е 66, 54 (диапазон 18-91 години). Макроскопските промени при пациентите, починали през първите 10 дни след началото на заболяването, показват значително увеличено средно тегло – 1050 г, в сравнение с относително по-ниско тегло при пациенти, починали повече от 10 дни след началото на симптомите – 940 г. Хистологичните промени са определени като интермитентни - развили се независимо от появата и персистиране на симптомите (дифузна алвеоларна увреда с хиалинни мембрани - синдром на остър респираторен дистрес, ендотелит със съдова дегенерация и фибринови тромби); ранни - развили се през първата седмица, но персистиращи (пневмоцитна хиперплазия тип II, многоядрени алвеолоцити и оскъдно интерстициално мононуклеарно възпаление); междинни - развили се в края на първата и втората седмица (хиперплазия на клетките на Клара) и късни - развили се след втората седмица от началото на симптомите (плоскоклетъчна метаплазия и фиброза на респираторния тракт и алвеолите).

Г7.4. Zlatarov A, **Stefanova N**, Mihaylov S, Malinova D. Rare Finding of Inflammatory Fibroid Polyp of the Duodenum: A Complete Diagnostic and Pathological Workup.. *Cureus*. 2021;13(7):e16745. Published 2021 Jul 30. doi:10.7759/cureus.16745

Abstract: Inflammatory fibroid polyps (IFP) are solitary benign tumors rarely found in the gastrointestinal (GI) tract. Additionally, duodenal polyps are diagnosed incidentally. We present a case of a 51-year-old female admitted to the department with an initial diagnosis of duodenal polyp on gastroscopy, CT, and positron-emission tomography (PET). COVID-19 pandemics was the reason for delayed treatment which allowed the lesion to progress and almost double its size in an eight-month period. We performed conventional duodenotomy and excision of the polyp. Diseases like gastrointestinal stromal tumor (GIST), inflammatory myofibroblastic tumor, and inflammatory polyp of Crohn's disease must be considered in the differential diagnosis of IFP because they could be observed in the same location.

Резюме: Възпалителните фиброидни полипи (ВФП) са единични доброкачествени тумори, които рядко се срещат в стомашно-чревния (СЧТ) тракт. Освен това полипите на дванадесетопръстника се диагностицират случайно. Представяме случай на 51-годишна жена, приета в отделението с първоначална диагноза полип на дванадесетопръстника при гастроскопия, КТ и позитронно-емисионна томография (PET). Пандемията от COVID-19 беше причината за забавено лечение, което позволи на лезията да прогресира и почти да удвои размера си за период от осем месеца. Извършихме конвенционална дуоденотомия и ексцизия на полипа. Заболявания като гастроинтестинален стромален тумор (GIST), възпалителен миофибробластен тумор и възпалителен полип на болестта на Crohn трябва да се имат предвид при диференциалната диагноза на ВФП, тъй като те могат да се наблюдават на едно и също място.

Г7.5. Dimaras P, Tasinov O, Ivanova D, Kiselova-Kaneva Y, **Stefanova N**, Tzaneva M, Ivanova D. Improving gene expression analysis efficacy from formalin-fixed paraffin embedded tissues. *Folia Med (Plovdiv)*. 2022 Aug 31;64(4):602-608. doi: 10.3897/folmed.64.e63599. PMID: 36045457.

Abstract: Introduction: Improving RNA isolation and cDNA synthesis techniques has emerged due to advancements in the knowledge of molecular basis of most diseases. This in turn increased the need of higher quantity and quality of the extracted genetic material to be used for a variety of diagnostic tests and experiments.

Aim: The aim of the study was to compare three modified methods for RNA extraction from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) biopsied tissue and different cDNA synthesis strategies to facilitate study of gene expression.

Materials and methods: Compared RNA extraction methods were: lysis buffer, phenol-based extraction, and combination of both with concomitant use of silica-based spin columns. RNA quantity and purity were estimated spectrophotometrically. Different priming strategies for cDNA synthesis were applied: oligo dT, combination of oligo dT and random hexamer, and gene specific

primer. Two-step RT-qPCR of ribosomal protein L37A on preamplified and non-preamplified cDNA templates was performed.

Results: The combination of lysis buffer with phenol based extraction gave higher RNA yield. By doing cDNA preamplification, the confidence of detection by qPCR was raised, and efficiency was improved. The preamplified template increased the sensitivity of analysis. Conclusions: Together, the combination of approaches improved substantially the reproducibility and validity of quantitative gene expression analyses from FFPE tissues.

Резюме: Въведение: Нуждата от подобряването на техниките за изолиране на РНК и кДНК синтез се появи със задълбочаващите се познанията за молекулярната основа на повечето заболявания. Това от своя страна увеличи необходимостта от по-високо количество и качество на извлечения генетичен материал, който да се използва за различни диагностични тестове и експерименти.

Цел: Целта на изследването беше да се сравнят три модифицирани метода за екстракция на РНК от биопсична тъкан, фиксирана във формалин, включена в парафин (FFPE) и обработена чрез различни стратегии за синтез на кДНК, за да се улесни изследването на генната експресия.

Материали и методи: Сравнените методи за екстракция на РНК бяха: лизисен буфер, фенол базирана екстракция и комбинация от двете с едновременно употреба на колони за изолация на РНК на основата на силициев диоксид. Количеството и чистотата на РНК се оценяват спектрофотометрично. Бяха приложени различни стратегии за праймиране за синтез на кДНК: олиго dT; комбинация от олиго dT и произволен хексамерен ген специфичен праймер. Беше извършена двустъпков RT-qPCR на рибозомален протеин L37A върху предварително амплифицирани и неамплифицирани кДНК матрици.

Резултати: Комбинацията от лизисен буфер с фенол базирана екстракция дава по-висок добив на РНК. Чрез извършване на предварително амплификация на кДНК, конфиденцията на откриване, чрез qPCR беше повишена и ефективността беше подобрена. Предварително амплифициране на матрицата увеличи чувствителността на анализа.

Заклучения: Комбинацията от подходи подобри значително възпроизводимостта и валидността на qPCR анализа на FFPE тъкани.

Г7.6. Stefanova N, Enchev Y, Dzhenkov D, Hachmeryan A. Paranglioma in the spinal cord histologically mimicking ependymoma - a case report. *Folia Med (Plovdiv)*. 2022;64(6):1007-1011. doi:10.3897/folmed.64.e71407

Abstract: Paranglioma is a tumor lesion of neuroectodermal origin that occurs at various places in the human body, but is rarely observed in the spinal cord. Usually, it presents in the lumbar region (cauda equine and filum terminal) as a slow-growing painless tumor mass that causes local compression.

We present a 53-year-old man with chronic low back pain, difficulty in walking, and impotence. The magnetic resonance study showed a tumor lesion suspicious for ependymoma. Surgical excision was performed and the result from the intraoperative frozen section was ependymoma due to the presence of pseudorosettes structures. After the surgery, a thorough histological examination of the specimen revealed an encapsulated formation composed of ovoid and spindle-shaped cells with eosinophilic to light cytoplasm, with rounded nuclei with finely dispersed chromatin. An arrangement of cells in the form of pseudorosettes – ependymoma-like features was found in a large area of the tumor. Immunohistochemically, it was proved that the tumor was paraganglioma, not ependymoma.

Paraganglioma is a rare tumor in the spinal cord and it should be distinguished from other tumors normally observed in this area like ependymomas by using immunohistochemical stains.

Резюме: Параганглиомът е туморна лезия с невроектодермален произход, която се среща на различни места в човешкото тяло, но рядко се наблюдава в гръбначния мозък. Обикновено се открива в лумбалната област (кауда еквина и филум терминалис) като бавно растяща, безболезнена туморна маса, която причинява локална компресия. Представяме случай на 53 годишен мъж с хронична болка в кръста, затруднено ходене и импотентност. Изследването с магнитен резонанс показва наличието на туморна лезия, която е подозрителна за епендимом. Извършена бе хирургична ексцизия и резултатът от гефрирното изследване бе епендимом поради наличието на псевдорозетни структури. След операцията при щателно хистологично изследване на препарата се установи капсулирана формация, съставена от овоидни и вретеновидни клетки с еозинофилна до светла цитоплазма, с окръглени ядра и с фино диспергиран хроматин. В голяма площ от тумора се установява подреждане на клетки под формата на псевдорозетки – епендимомоподобни характеристики. Имунохистохимично бе доказано, че туморът е параганглиом, а не епендимом. Параганглиомът е рядък тумор в гръбначния мозък, който трябва да се разграничи, чрез използване на имунохистохимични маркери от други тумори, които обикновено се наблюдават в тази област каквито са например епендимомите.

Г7.7. Stefanova N, Kalinov T, Kolev N, Kalchev E. Frantz Tumor: A Case Report of Solid Pseudopapillary Tumor of Pancreas. *Cureus*. 2023;15(7):e41698. Published 2023 Jul 11. doi:10.7759/cureus.41698

Abstract: The solid pseudopapillary tumor (SPT) is a rare pancreatic lesion that usually affects young and middle-aged patients and has a female predominance and low malignant potential. The exact histogenesis of this tumor is still unclear.

We present the case of a 60-year-old female patient with occasional abdominal pain. Positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) and magnetic resonance imaging (MRI) revealed a tumor mass in the pancreatic tail. Distal pancreatectomy and splenectomy were performed. The result from the pathology report was solid pseudopapillary neoplasm (SPN). The patient underwent four cycles of adjuvant chemotherapy with gemcitabine, which she tolerated well without complaints. A control computed tomography (CT) scan and PET/CT of the abdomen

(five months after the operation) showed a cystic lesion suspicious for local recurrence in the pancreatic tail during the follow-up period. The patient underwent a second surgery operation. Subsequent histological examination showed chronic indurative pancreatitis, areas with steatonecrosis, lipogranulomas, and fibrosis without evidence of relapse.

SPT is a rare pancreatic tumor that most commonly affects young women. Although the tumor has locally aggressive characteristics, the prognosis is excellent after surgical excision. Our case emphasizes that this tumor can occur not only in young women but also in older patients. Chronic granulomatous inflammation and indurative pancreatitis can sometimes mimic a relapse on CT and PET/CT image tests.

Резюме: Солидният псевдопапиларен тумор (СПТ) е рядка лезия на панкреаса, която обикновено засяга пациенти в млада и средна възраст с преобладаване на женския пол и която има нисък злокачествен потенциал. Точната хистогенеза на този тумор все още не е изяснена. Представяме случай на 60-годишна пациентка с периодични болки в корема. Позитронно-емисионна томография/компютърна томография (PET/CT) и ядрено-магнитен резонанс (MRI) разкриват туморна маса в опашката на панкреаса. Извършени са дистална панкреатектомия и спленектомия. Резултатът от хистопатологичното изследване е солиден псевдопапиларен тумор (СПТ). Пациентката претърпя четири цикъла адювантна химиотерапия с гемцитабин, която понесе добре без оплаквания. Контролна компютърна томография (CT) и PET/CT на корема (пет месеца след операцията) показаха кистозна лезия, подозрителна за локален рецидив в опашката на панкреаса по време на периода на проследяване. Пациентката претърпя втора операция. Последващото хистологично изследване показва хроничен индуративен панкреатит, области със стеатонекроза, липогрануломи и фиброза без данни за рецидив. СПТ е рядък тумор на панкреаса, който най-често засяга млади жени. Въпреки че туморът има локално агресивни характеристики, прогнозата е отлична след хирургично отстраняване. Нашият случай подчертава, че този тумор може да се появи не само при млади жени, но и при по-възрастни пациенти. Хроничното грануломатозно възпаление и индуративният панкреатит понякога могат да имитират рецидив при CT и PET/CT образни изследвания.

Г7. 8. Hristozov K, Dimitrova R, Shishkov S, **Stefanova N**, Gercheva S. Primary Intrathyroidal Non-Hodgkin Lymphoma: A Case Report. *Cureus*. 2023;15(10):e47096. Published 2023 Oct 16. doi:10.7759/cureus.47096

Abstract: Primary thyroid lymphoma (PTL) is a rare disease characterized by the appearance of a rapidly growing solid mass in the cervical region. A major risk factor is chronic autoimmune thyroiditis with lymphocytes infiltrating the thyroid gland. The lymphoproliferative disease is seen more frequently in the females. PTL usually develops in the sixth and seventh decades of life. We present a case of a 66-year-old woman with diffuse primary B-cell thyroid lymphoma with no prior evidence of underlying autoimmune thyroid pathology. The initial localization of the lymphoproliferative disease was in the thyroid gland, but the involvement of regional cervical lymph nodes was also found at the time of diagnosis. After histological verification with

immunohistochemistry and staging by imaging, chemotherapy was initiated according to the R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, hydroxydaunorubicin hydrochloride, Oncovin® (vincristine), prednisone) protocol. An excellent therapeutic response was achieved with lymphoma remission after six cycles under the mentioned protocol. Thyroid autoantibodies became positive 18 months after rituximab treatment, possibly reflecting the transient suppressive effects of the immunotherapy. The patient was subsequently kept followed up by a multidisciplinary team in the light of possible lymphoma recurrence and/or development of thyroid dysfunction. This case report demonstrates possible challenges for the diagnosis, treatment, and follow-up of this rare thyroid lesion. At the time of diagnosis, the clinical presentation of the disease, the ultrasound image, and the cytological result may be similar to other low-grade thyroid carcinomas or secondary metastatic involvement of the gland. The initial lack of underlying thyroid autoimmunity makes this distinction even more challenging. Furthermore, despite the rapid resolution, regular long-term monitoring for recurrence is required.

Резюме: Първичният лимфом на щитовидната жлеза (ПЛЩ) е рядко заболяване, характеризиращо се с появата на бързо нарастваща солидна маса в шийната област. Основен рисков фактор е хроничният автоимунен тиреоидит с лимфоцити, инфилтриращи щитовидната жлеза. Лимфопрролиферативното заболяване се наблюдава по-често при жените. ПЛЩ обикновено се развива през шестото и седмото десетилетие от живота. Представяме случай на 66-годишна жена с дифузен първичен В-клетъчен лимфом на щитовидната жлеза без предишни данни за подлежаща автоимунна патология на щитовидната жлеза. Първоначалната локализация на лимфопрролиферативното заболяване е в щитовидната жлеза, но при диагностицирането е установено засягане и на регионалните шийни лимфни възли. След хистологична верификация с имунохистохимично изследване и стадиране чрез образна диагностика, беше започната химиотерапия съгласно протокола R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, хидроксиданурубицин хидрохлорид, Oncovin® (винкристин), преднизон). Беше постигнат отличен терапевтичен отговор с ремисия на лимфома след провеждане на шест цикъла по споменатия протокол. Тироидните автоантитела станаха положителни 18 месеца след лечението с ритуксимаб, което вероятно отразява преходните супресивни ефекти на имунотерапията. Впоследствие пациентката беше проследена от мултидисциплинарен екип в светлината на възможен рецидив на лимфома и/или развитие на тиреоидна дисфункция. Този доклад показва възможни предизвикателства за диагностицирането, лечението и проследяването на тази рядка тиреоидна лезия. В периода на диагностициране на заболяването клиничната изява, ултразвуковото образно изследване и цитологичният резултат могат да наподобяват други нискостепенни карциноми на щитовидната жлеза или вторично метастатично засягане на жлезата. Първоначалната липса на подлежащ автоимунно заболяване на щитовидната жлеза прави това разграничение още по-предизвикателно. Освен това, въпреки бързото повлияване, е необходимо редовно дългосрочно проследяване за рецидив.

Г7.9. Antonio Antonov, Liana Gercheva, **Nadezhda Stefanova**, Maria Tzaneva, Trifon Chervenkov. Evaluation of the correlation between JAK2V617F, leukocytosis and thrombogenic risk in patients with Polycythemia Vera and Essential thrombocythaemia. J of IMAB. 2018 Jul-Sep;24(3):2085-2090

Abstract: Thrombotic events (TE) are the most common, debilitating and fatal complications in Polycythemia Vera (PV) and Essential Thrombocythemia (ET). Approximately 20% of patients have experienced TE at the time of diagnosis. The subsequent cumulative incidence of non-fatal thrombosis is 3.8 incidents/100 patients / year [1, 2]. The risk stratification divides patients by age and a history of thrombosis. There is controversy in the literature about the impact of JAK2 V617F allele burden and changes in peripheral blood counts on the TE frequency. **Aim:** The aim of this study is to evaluate the influence of JAK2 V617F allele burden and changes in leukocyte count on the development of thrombotic events in patients with PV and ET. **Methods:** We performed a retrospective analysis of the data of 96 patients with PV and 43 patients with ET diagnosed according to the WHO criteria. JAK2 mutational burden was determined by RealTime-PCR. The statistical analysis was performed with SPSS 19.0 software. **Results:** In the group of PV patients, thrombotic events were recorded in 46 patients. We did not find a correlation between higher levels of JAK2 V617F allele burden and frequency of TE. Clinically, patients with a higher mutational burden had more pronounced splenomegaly. There was no correlation between leukocytosis at the diagnosis and the number of TE, but there was a significant correlation between leukocytosis and the presence of splenomegaly. In the group of ET patients (43) we established TE in 13 of them, and 54% were carriers of JAK2 V617F. There was no relationship between the frequency of TE and the increased leukocyte count. Unlike PV patients, the presence of JAK2 V617F $\geq 50\%$ was associated with pronounced leukocytosis in the group with ET patients. **Conclusions:** The JAK2 V617F allele burden and leukocytosis level are prothrombogenic, but are not a predetermining factor for thrombosis. The current risk stratification criteria for PV and ET, although common, reflect the complexity of thrombotic complications. Clotting mechanisms are different not only in both diseases but also in different parts of the vascular system. More studies are needed involving the functional state of the vascular system to help differentiate individual arterial and venous thrombotic index for each disease.

Резюме: Тромботичните събития (ТС) са най-честите, инвалидизиращи и фатални усложнения при полицитемия вера (ПВ) и есенциалната тромбоцитемия (ЕТ). Приблизително 20% от пациентите са имали история за ТС при поставянето на диагнозата. Последващата кумулативна честота на нефатална тромбоза е 3,8 инцидента/100 пациенти/година. Рисковата стратификация разделя пациентите по възраст и анамнеза за тромбоза. В литературата има противоречиви данни относно въздействието на алелното натоварване на JAK2 V617F и промените в периферната кръв върху честотата на ТС. Цел: Целта на това проучване е да се оцени влиянието на JAK2 V617F алелното натоварване и промените в броя на левкоцитите върху развитието на тромботични събития при пациенти с ПВ и ЕТ. Методи: Направихме ретроспективен анализ на данните на 96 пациенти с ПВ и 43 пациенти с ЕТ, диагностицирани по критериите на СЗО. JAK2 мутационното

натоварване се определи чрез RealTime-PCR. Статистическият анализ беше извършен със софтуер SPSS 19.0. Резултати: В групата на ПБ пациенти, тромботични събития са регистрирани при 46 пациенти. Не открихме корелация между по-високите нива на алелно натоварване JAK2 V617F и честотата на ТС. Клинично пациентите с по-високо мутационно натоварване имат по-изразена спленомегалия. Не бе установена корелация между левкоцитозата установена в момента на диагностицирането и броя на ТС, но се установи значима корелация между левкоцитозата и наличието на спленомегалия. В групата на пациентите с ЕТ (43) установихме ТС при 13 от тях, като 54% са носители на JAK2 V617F. Не се откри връзка между честотата на ТС и повишения брой на левкоцитите. За разлика от пациентите с ПБ, наличието на JAK2 V617F $\geq$ 50% се свързва с изразена левкоцитоза в групата с пациенти с ЕТ. Заключение: Алелното натоварване на JAK2 V617F и нивото на левкоцитоза са протромбогенни, но не са предопределящ фактор за тромбоза. Настоящите критерии за стратификация на риска за ПБ и ЕТ, макар и общи, отразяват сложността на тромботичните усложнения. Механизмите на съсирване са различни не само при двете заболявания, но и в различните части на съдовата система. Необходими са повече изследвания, включващи функционалното състояние на съдовата система, за да се помогне за диференцирането на индивидуалния артериален и венозен тромботичен индекс за всяко заболяване.

Г7.10. M Eftimov, A Georgieva, D Pavlov, M Todorova, M Reyzov, M Nikolova, N **Stefanova**, M Tsaneva, M Novakovic, V Tesevic and S Valcheva-Kuzmanova. (2024, February). Ameliorative effects of the flavonoid fustin in a rat model of trinitrobenzensulfonic acid-induced colitis. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1305, No. 1, p. 012018). IOP Publishing.

Abstract: Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis is a widely used animal model that mimics the signs and symptoms of inflammatory bowel disease. Fustin is a flavonoid found in *Cotinus coggygia*.

The aim of the present study was to investigate the effect of fustin isolated from *Cotinus coggygia* heartwood in a rat model of TNBS-induced colitis.

In this experiment, 30 male Wistar rats were used, allocated to three groups: Control, TNBS and TNBS+F10. Colitis was induced by rectal application of TNBS. After the induction of colitis, fustin at a dose of 10 mg/kg was administered orally to TNBS+F10 group in the course of 8 days. Severity of colitis, oxidative stress and inflammation were assessed by macroscopic, histopathological, immunohistochemical and biochemical analyses.

Rats from TNBS group demonstrated severe colonic damage. Fustin treatment ameliorated most of the macroscopic and some of the histopathological indices of colonic damage, and restored the activity of the endogenous antioxidant superoxide dismutase in tissue homogenate but did not affect the signs of inflammation measured by the activity of alkaline phosphatase in serum and tissue homogenate, as well as the expression of NF-kB in the colon. In conclusion, the ameliorative

effects of fustin in the experimental TNBS-induced colitis might be the result of its antioxidant properties.

Резюме: Индуцираният от тринитробензен сулфонова киселина (TNBS) колит е широко използван животински модел, който имитира признаците и симптомите на възпалително заболяване на червата. Фустинът е флавоноид, открит в растението *Cotinus coggygia*.

Целта на настоящото изследване е да се изследва ефектът на фустин, изолиран от дървесината на *Cotinus coggygia* в модел на TNBS-индуциран колит при плъхове.

В този експеримент бяха използвани 30 мъжки плъха Wistar, разпределени в три групи: контролна, TNBS и TNBS+F10. Колитът се предизвиква чрез ректално приложение на TNBS. След индуцирането на колит, фустин в доза от 10 mg/kg се прилага перорално на групата TNBS+F10 в продължение на 8 дни. Тежестта на колита, оксидативния стрес и възпалението се оценяват чрез макроскопски, хистопатологични, имунохистохимични и биохимични анализи.

Плъхове от групата TNBS демонстрират тежко увреждане на дебелото черво. Лечението с Fustin подобрява повечето от макроскопските и някои от хистопатологичните показатели на увреждане на дебелото черво и възстановява активността на ендогенния антиоксидант супероксид дисмутаза в тъканния хомогенат, но не повлиява признаците на възпаление, измерени чрез активността на алкалната фосфатаза в серума и тъканния хомогенат, както и експресията на NF- κ B в дебелото черво. В заключение, подобряващите ефекти на фустин при експерименталния колит, индуциран от TNBS, може да са резултат от неговите антиоксидантни свойства.

Г7.11. M Salbashian, N **Stefanova**, M Tzaneva, D Pavlov, M Novakovic, V Tesevic, A Georgieva, M Eftimov, M Reyzov, M Nikolova and S Valcheva-Kuzmanova (2024, February). Hepatoprotective effect of the flavonoid fustin in a rat model of paracetamol-induced acute liver damage. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1305, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.

Abstract: Paracetamol (PCM)-induced toxicity is a well-established pharmacological model. *Cotinus coggygia* is a medicinal plant rich in polyphenols, including the flavonoid fustin. The aim of the present study was to evaluate the effects of the flavonoid fustin isolated from *Cotinus coggygia* heartwood in a model of PCM-induced liver damage. Male Wistar rats (n=48) were allocated to four groups: Control, PCM, F5+PCM, F10+PCM. The rodents were treated daily orally for nine consecutive days as follows: groups F5+PCM and F10+PCM – with fustin (suspended in a vehicle) at doses of 5 and 10 mg/kg, respectively; groups Control and PCM – with the vehicle. PCM was injected intraperitoneally (1.0 g/kg) on day 7. At the end of the experiment, serum and liver samples were prepared. PCM caused a severe liver damage confirmed by histopathological, immunohistochemical and biochemical indices. Compared to PCM group, in F5+PCM and F10+PCM groups, the hepatic necrosis, steatosis, ballooning degeneration, inflammation and expression of NF- κ B were significantly reduced. Fustin treatment resulted in a significant reduction of serum activities of alanine aminotransferase and gamma-glutamyl

transferase to levels that did not differ from the control values. The present study demonstrated a hepatoprotective effect of the flavonoid fustin in a rat model of acute paracetamol-induced toxicity.

Резюме: Индуцираната от парацетамол токсичност (PCM) е добре известен фармакологичен модел. *Cotinus coggygia* е лечебно растение, богато на полифеноли, включително и флавоноида фустин. Целта на настоящото изследване е да се оценят ефектите на флавоноида фустин, изолиран от дървесината на *Cotinus coggygia* в модел на PCM-индуцирано увреждане на черния дроб. Мъжки плъхове Wistar (n=48) бяха разпределени в четири групи: контрола, PCM, F5+PCM, F10+PCM. Гризачите са третирани ежедневно перорално в продължение на девет последователни дни, както следва: групи F5+PCM и F10+PCM – с фустин (разтворен в носител) в дози съответно 5 и 10 mg/kg; групи Control и PCM – с носител. PCM се инжектира интраперитонеално (1.0 g/kg) на 7-ми ден. В края на експеримента се приготвят серумни и чернодробни проби. PCM причинява тежко увреждане на черния дроб, потвърдено от хистопатологични, имунохистохимични и биохимични показатели. В сравнение с PCM групата, в F5+PCM и F10+PCM групите, чернодробната некроза, стеатозата, балонната дегенерация, възпалението и експресията на NF-κB са значително намалени. Лечението с фустин води до значително намаляване на серумните активности на аланин аминотрансферазата и гама-глутамил трансферазата до нива, които не се различават от контролните стойности. Настоящото проучване демонстрира хепатопротективен ефект на флавоноида фустин в модел на плъх с остра индуцирана от парацетамол токсичност.

Г8. Публикации и доклади, публикувани в нереперирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове

Г8.1. Yuzeir, S., **Stefanova, N.**, & Micheva, I. (2022). VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION IN ADULT NEWLY DIAGNOSED NON-HODGKINS'S LYMPHOMA PATIENTS. *KNOWLEDGE - International Journal*, 50(4), 533–537. Retrieved from <https://ikm.mk/ojs/index.php/kij/article/view/4963>

Abstract: Non-Hodgkin's lymphoma (NHL) is a highly heterogeneous group of lymphoproliferative malignancies characterized by clonal abnormal proliferation and/or accumulation of B- or T-lymphocytes. Angiogenesis is a crucial process in the growth, development, and metastasis of many tumor types, including NHL VEGF is an important proangiogenic factor in many malignancies. The prognostic role of angiogenic factors in lymphomas is still debatable because of the heterogeneity of the nosological unit, the presence of different classification systems and methods of analysis. Aims: We aimed to investigate vascular endothelial growth factor expression in newly diagnosed non-Hodgkin's lymphoma (NHL) patients and their relationship with clinicopathological characteristics and prognostic parameters. Methods: VEGF expression was detected by immunohistochemistry in 60 patients with pathologically verified NHL before chemotherapy, and in 20 healthy controls. Results: A total of 60 patients with NHL, 32 men and 28 women. 24 were with Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), 8 with Mantel cell lymphoma(MCL), 2 with Peripheral T-cell lymphoma (PTCL), 9

with Marginal zone lymphoma (MZL), 10 with Follicular lymphoma (FL), 1 patient with Plasmoblastic lymphoma (PBL) and 6 with Small-cell lymphoma (SCL). There were significant differences in the expression of VEGF between NHL patients and controls ($p < 0.001$). VEGF expression were significantly different in the group of patients with indolent NHL compared with the group of patients with aggressive NHL (respectively $p = 0.016$). Also, VEGF expression was elevated in the group of patients with high level LDH ($p = 0.015$) compared with the group of patients with a normal level. No correlation was found with hemoglobin, leukocyte count, platelet count, B symptoms and $\beta 2$ -microglobulin. Multivariate analysis showed a significant difference between the two study groups in terms of IPI ($p = 0.005$), with a moderate correlation between the type of lymphoma and the risk profile of patients ($r = 0.399$; $p = 0.002$). In the group of patients with intermediate and high IPI risk and high VEGF expression have an unfavorable prognosis and short overall survival. Conclusion: Vascular endothelial growth factor (VEGF) plays a vital role in the development and progression of Non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Our data suggest that overexpression of VEGF in lymphoma tissue represents a promising potential prognostic factor in NHL.

Резюме: Неходжкиновият лимфом (НХЛ) е силно хетерогенна група от лимфопролиферативни злокачествени заболявания, характеризиращи се с клонална абнормална пролиферация и/или натрупване на В- или Т-лимфоцити. Ангиогенезата е решаващ процес в растежа, развитието и метастазирането на много видове тумори, включително и на НХЛ. VEGF е важен проангиогенен фактор при много злокачествени заболявания. Прогностичната роля на ангиогенните фактори при лимфомите все още е спорна поради хетерогенността на нозологичната единица, наличието на различни системи за класификация и методи за анализ. Цел: Целта е да изследваме експресията на васкуларен ендотелен растежен фактор при новодиагностицирани пациенти с НХЛ и тяхната връзка с клинично-патологичните характеристики и прогностичните параметри. Методи: Експресията на VEGF е установена чрез имунохистохимично изследване при 60 пациенти с патологично потвърдена диагноза НХЛ преди започването на химиотерапия и при 20 здрави контроли. Резултати: Пациентите с НХЛ са общо 60, 32 мъже и 28 жени. 24 от тях са били с диагноза дифузен едроклетъчен В-клетъчен лимфом (DLBCL), 8 с мантелноклетъчен лимфом (MCL), 2 с периферен Т-клетъчен лимфом (PTCL), 9 с маргиналнозонов лимфом (MZL), 10 с фоликуларен лимфом (FL), 1 пациент с плазмобластен лимфом (PBL) и 6 с дребноклетъчен лимфом (SCL). Установяват се значителни разлики в експресията на VEGF между пациентите с НХЛ и контролите ($p < 0.001$). Експресията на VEGF е значително различна в групата на пациентите с индолентен НХЛ в сравнение с групата на пациентите с агресивен НХЛ (съответно $p = 0.016$). Също така, експресията на VEGF е повишена в групата пациенти с високо ниво на LDH ($p = 0.015$) в сравнение с групата пациенти с нормално ниво. Не е открита корелация с хемоглобина, броя на левкоцитите, броя на тромбоцитите, В-симптомите и $\beta 2$ -микроглобулина. Мултивариантният анализ показва значителна разлика между двете проучвани групи по отношение на IPI ($p = 0,005$), с умерена корелация между вида на лимфома и рисковия профил на пациентите ($r = 0,399$; $p = 0,002$). В групата пациенти с междинен и висок IPI риск и висока експресия на VEGF имат неблагоприятна прогноза и кратка обща преживяемост. Заключение: Васкуларният ендотелен растежен фактор (VEGF)

играе жизненоважна роля в развитието и прогресията на неходжкиновия лимфом (НХЛ). Нашите данни предполагат, че свръхекспресията на VEGF в лимфомна тъкан представлява обещаващ потенциален прогностичен фактор при НХЛ.

Г8.2. HACHMERIYAN, Antoniya; PASHALIEVA, Irina; **STEFANOVA, Nadezhda**. Influence of the thymus and pineal gland on immunity and aging. Scripta Scientifica Medica, [S.l.], may. 2022. ISSN 1314-6408

Abstract: The thymus and pineal gland (epiphysis) are endocrine glands with pivotal role in the maintenance of normal physiological processes. Their hormonal activity has been the subject of many studies, but on most occasions, each gland has been considered separately. Surveys that identify the link between these two glands, as well as the connection between their hormones, appeared only recently. The growing body of data about the morphology and the functions of the thymus and epiphysis reveals not only the bi-directional links between these glands but also common involutionary mechanisms. The immune activity of the thymus is well-known, and the results indicate that melatonin has significant immunomodulatory potential as well. The hormones of both glands play a role in the antioxidant and antitumor defense of the organism, as well as in the hemostasis processes. Some studies confirm the existence of a functional relationship between the endocrine, immune, and nervous systems and the contribution of thymic and pineal hormones to its establishment. The association between thymus and epiphysis is important not only for the normal immune response but also for the regulation of aging and the occurrence of age-related conditions and diseases.

Резюме: Тимусът и пинеалната жлеза (еипифизата) са ендокринни жлези с основна роля в поддържането на нормалните физиологични процеси. Тяхната хормонална активност е обект на много изследвания, но в повечето случаи всяка жлеза се разглежда поотделно. Съвсем наскоро се появиха проучвания, които идентифицират връзката между тези две жлези, както и връзката между продуцираните от тях хормони. Нарастващото количество данни за морфологията и функциите на тимуса и еипифизата разкрива не само двупосочните връзки между тези жлези, но и общи инволюционни механизми. Иmunната активност на тимуса е добре известна и резултатите показват, че мелатонинът има и значителен имуномодулиращ потенциал. Хормоните на двете жлези играят роля в антиоксидантната и противотуморната защита на организма, както и в процесите на хемостаза. Някои изследвания потвърждават съществуването на функционална връзка между ендокринната, имунната и нервната система и приноса на тимусните и еипифизните хормони за нейното установяване. Връзката между тимуса и еипифизата е важна не само за нормалния имуноен отговор, но и за регулирането на стареенето и появата на свързани с възрастта състояния и заболявания.

Г8.3. Е.Димитрова, И.Донев, Н.Цонев, С.Драганова, Р.Манев, М.Богданова, Хр.Попов, **Н.Стефанова**, Д.Стоянов, Я.Кашлов, А.Янчев. BECLIN-1 като потенциален предиктивен маркер за 5-ФУ базирана химиотерапия при болни с метастатичен карцином на колон. Българско онкологично дружество / Bulgarian Cancer Society, 2017; 12-16

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

Abstract: We present a retrospective study which includes 98 patients diagnosed with colon cancer – metastatic stage, who underwent first line of 5-FU based chemotherapy in UMHAT “St. Marina”, Varna. An immunohistochemistry staining for Beclin-1 expression, marker for autophagy in the primary tumor, was made. The progression free survival (PFS) for the low expression group of Beclin-1 was 7.7 months (95% CI, 4,6-6,4) vs 5.5 months (95% CI, 5,6-9,9) of the group with high expression (log rank test $p=0,04$). The Cox regression analysis showed that the patients with high expression of Beclin-1 have a trend for higher risk of disease progression HR-1,44 (95% CI, 0,9-2,2; $p=0,09$).

Г8.4. Nadezhda Stefanova, Maria Tzaneva, Antonio Antonov, Trifon Chervenkov, Antoniya Hachmeryan, Snezhana Spasova, Doroteya Malinova and Ina Kobakova. Analysis of the incidence and the prevalence of JAK2 mutation in Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms. Collection of articles from the National Scientific Conference “15 Years of Pharmacy in Medical University – Plovdiv”. 2018; 139-143

Abstract: Myeloproliferative neoplasm (MPN) are heterogeneous group of hematological tumors, which affect the pluripotent hematopoietic stem cell leading to proliferation of myeloid lineages. Philadelphia negative MPNs (PN MPNs) include polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF). The discovery of Janus kinase 2 (JAK2) V617F mutation in 2005 provides the first evidence that a fraction of patients with PN-MPNs have a common molecular pathogenesis. Aim: The aim of the present study is to examine the frequency and distribution of JAK2 mutation in PN-MPN patients among the Bulgarian population. Material and methods: The data of 318 PN-MPN patients, diagnosed according to the World Health Organization criteria (2008 and revised in 2016) for 10-year period (2008-2017) have been studied. JAK2 mutation was evaluated by Real-time PCR. Results: From the total 318 PN-MPN patients 111 were with ET, 104 with PV and 103 with PMF. The distribution of PN-MPN patients by gender showed that there is a male predominance - male 54% ($n=172$) and female 46% ($n=146$). Forty-six percent of the tested patients were positive for JAK2 mutation. The estimated prevalence of JAK2 mutation in PV was 61%, in PMF was 45%, and in ET - 32%.

Conclusion: The data from our study may provide better information for the frequency of JAK2 mutation in patients with PN-MPNs among the Bulgarian population.

Резюме: Миелопролиферативните неоплазии (МПН) е хетерогенна група от хематологични тумори, които засягат плурипотентните хематопоеични стволови клетки, което води до пролиферация на миелоидните клетки. Филадельфия отрицателните МПН (PN-MPN) включват полицитемия вера (ПВ), есенциална тромбоцитемия (ЕТ) и първична миелофиброза (ПМФ). Откриването на мутация Janus kinase 2(JAK2)V617F през 2005 г. дава първото доказателство, че част от пациентите с PN-MPN имат обща молекулярна патогенеза. Цел: Целта на настоящото изследване е да се проучи честотата и разпространението на JAK2 мутация при пациенти с PN-MPN сред българската популация. Материал и методи: Проучени са данните на 318 пациенти с PN-MPN, диагностицирани по критериите на Световната здравна организация (от 2008 г. и ревизираните през 2016 г.) за 10-годишен период (2008-2017). JAK2 мутацията беше оценена чрез Real-time PCR. Резултати: От общо 318 пациенти с PN-MPN 111 са с ЕТ, 104 с ПВ и 103 с ПМФ. Разпределението на пациентите с PN-MPN по пол показва, че има преобладаване на мъжкия пол - мъже 54% (n=172) и жени 46% (n=146). Четиридесет и шест процента от тестваните пациенти са положителни за JAK2 мутация. Изчисленото разпространение на JAK2 мутация сред групата с ПВ е 61%, в ПМФ е 45%, а в ЕТ - 32%. Заключение: Данните от нашето проучване могат да предоставят по-добра информация за честотата на JAK2 мутация при пациенти с PN-MPNs сред българското население.

Г8.5. Doroteya Malinova, Maria Tzaneva, Dariya Chivchibashi, **Nadezhda Stefanova**, Snezhana Spasova and Mira Siderova. Angiogenesis and CK19 expression in follicular thyroid adenoma. Collection of articles from the National Scientific Conference “15 Years of Pharmacy in Medical University – Plovdiv”.2018; 119-123

Abstract: Aim of the present study is to evaluate immunohistochemically the diagnostic value of CK19 in follicular thyroid adenoma and to determine the microvascular density (MDV) in tumor tissue by CD34. Methods: We compared expression of CK19 in both: tumor tissue and adjacent non-tumor tissue of ten patients that had undergone surgical resection for follicular adenoma. We evaluated the MVD by CD34 in the same zones. Results: Six follicular adenomas were negative for CK19, three had a focal and moderate expression and only one shows a diffuse and strong cytoplasmic content. In most cases, the adjacent non-tumor tissue was negative for CK19 or focal and moderate staining occurred in oncocytic cells and in areas of inflammation. The MVD in tumor tissue was 31.95 ± 4.43 , and it was no different from MVD in non-tumor tissue (32.01 ± 3.70). Conclusions: Negative or focal and moderate cytoplasmic expression of CK19 combined with the lack of changes in microvascular density are found in follicular thyroid adenoma.

Резюме: Целта на настоящото изследване е да се оцени имунохистохимично диагностичната стойност на CK19 при фоликуларен аденом на щитовидната жлеза и да се определи микроваскуларната плътност (MDV) в туморната тъкан чрез CD34. Методи: Сравнихме експресията на CK19 както в туморна тъкан, така и в съседна нетуморна тъкан на десет пациенти, които са претърпели хирургична резекция за фоликуларен аденом.

Оценихме MVD чрез използването на CD34 в същите зони. Резултати: Шест от фоликуларните аденома са отрицателни за CK19, три имат фокална и умерена изразена експресия и само един показва дифузно и изразена цитоплазмена експресия. В повечето случаи съседната нетуморна тъкан е отрицателна за CK19 или се наблюдава фокално и умерено изразено оцветяване в онкоцити и в участъци с възпаление. MVD в туморна тъкан е $31,95 \pm 4,43$ и не се различава от MVD в нетуморна тъкан ($32,01 \pm 3,70$). Заключение: При фоликуларен аденом на щитовидната жлеза се наблюдава липсваща или фокална и умерено изразена цитоплазмена експресия на CK19, съчетана с липсата на промени в микроваскуларната плътност.

Г8.6. Snezhana Spasova, Peter Ghenev, Ivan Donev, Assia Konsoulova, **Nadezhda Stefanova**, Doroteya Malinova, Ina Kobakova and Liliya Stoyanova. Expression of Neuropilin-1 in renal cell carcinoma. Collection of articles from the National Scientific Conference “15 Years of Pharmacy in Medical University – Plovdiv”.2018; 149-153.

Abstract: Introduction and objectives: Approximately 30% of patients affected by RCC have metastatic disease at diagnosis. The recent development of drugs that target vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathways has revolutionized the management of metastatic RCC. Neutropilins are transmembrane glycoproteins that acts as a co-receptor for a number of extracellular ligands including certain isoforms of VEGF. The aim of the present study is to evaluate the expression and the predictive value of Neutropilin-1 in patients with metastatic renal cell carcinomas (mRCC). Material and methods: we analyzed the FFPE(formalin fixed paraffin embedded) samples of fifty patients with nephrectomy. Expression levels of Neutropilin-1 (NP-1) were evaluated by immunohistochemistry testing. The correlation between NP-1 expression and clinical-pathological parameters was analyzed. The Kaplan-Meier analysis and Cox proportional hazard model were used to analyze the survival rate. Results: the median overall survival (OS) for the whole cohort was 24 months. Patients with high expression of NP-1 demonstrated shorter OS than those of low expression (log rank test $p < 0,05$). Our results suggested that high expression of NP-1 was considered an independent factor for the prediction of unfavorable prognosis in MRCC patients. Conclusions: Our findings provide evidence that overexpression of NP-1 in RCC may be important according with the correlation with the aggressive phenotype, and it is an independent marker for poor prognosis of patients with mRCC.

Резюме: Въведение и цели: Приблизително 30% от пациентите, засегнати от бъбречноклетъчен карцином (RCC), имат метастатично заболяване в момента на диагностицирането. Скорошно разработване на лекарства, които са насочени към сигналните пътища на васкуларен ендотелен растежен фактор (VEGF), направи революция в лечението на метастатичен RCC. Неутропилините са трансмембранни гликопротеини, които действат като корецептор за редица извънклетъчни лиганди, включително определени изоформи на VEGF. Целта на настоящото изследване е да се оцени експресията и прогнозната стойност на неутропилин-1 при пациенти с метастатичен бъбречноклетъчен карцином (mRCC). Материали и методи: Анализирахме FFPE (фиксиран в формалин и включени в парафинови блокчета) проби на петдесет пациенти с нефректомия. Нивата на

експресия на неутропилин-1 (NP-1) бяха оценени чрез имунохистохимично изследване. Анализирани бяха корелацията между експресията на NP-1 и клинично-патологичните параметри. Kaplan-Meier-анализът и моделът на пропорционалния риск на Cox бяха използвани за анализиране на процента на преживяемост. Резултати: Средната обща преживяемост (OS) за цялата кохорта е 24 месеца. Пациентите с висока експресия на NP-1 демонстрират по-кратка OS от тези с ниска експресия (logrank тест $p < 0,05$). Нашите резултати предполагат, че високата експресия на NP-1 се счита за независим фактор за прогнозиране на неблагоприятна прогноза при пациенти с mRCC. Заключение: Нашите резултати предоставят доказателство, че свръхекспресията на NP-1 при RCC може да бъде важна при корелацията с агресивния фенотип и е независим маркер за лоша прогноза на пациенти с mRCC.

Г8.7. М. Богданова, И. Донеv, Е.Димитрова, Р.Манев, Д.Стойнов, Ч.Бъчваров, Г.Тодоров, Т.Радева, **Н.Стефанова**, К.Калчев, М.Таушанова - Некроптоза. *Studia Oncologica*, год VII, бр.1,2017,стр. 60-66

Резюме: Некроптозата е наскоро открита, каспаза-независима форма на програмирана клетъчна смърт, която изисква наличие на взаимодействащи с рецептора протеин киназа 1(RIP1), RIP3 и протеина с киназоподобен домейн от смесен произход (MLKL). Натрупват се все повече доказателства, които показват, че некроптозата участва не само в регулирането на нормалното развитие и физиологични процеси, но и при различни заболявания, включително злокачествени тумори. Наскоро тази нова форма на програмирана клетъчна смърт се прояви като потенциално нова стратегия за антитуморно лечение, която може да преодолее резистентността на апоптозата. В тази статия обобщихме досега проучените механизми на некроптозата в нормални и ракови клетки.

Abstract: Necroptosis is a newly discovered caspase-independent regulated form of cell death that requires the receptor-interacting protein kinase 1(RIP1), RIP3 and mixed lineage kinase domain-like protein (MLKL). Accumulating evidence has shown that necroptosis has been implicated in the regulation not only of a variety of normal development and physiological processes but also in a various human diseases including cancer. This new programmed form of a cell death has recently emerged as a potential novel strategy for antitumor treatment that could overcome apoptosis resistance. In this article, we summarized the known mechanism of necroptosis in normal and cancer cells.

Г8.8. К.Братоева, Е.Димитрова, А.Консулова, Ч.Бъчваров, Г.Тодоров, **Н.Стефанова**, И.Донеv. Beclin-1 – регулаторен протеин на автофагията. Варненски медицински форум. 2017;6(2):114-123

Резюме: Изучаването на пропатогенните ефекти на автофагията е сравнително нова област на изследване, показваща, че тя може да упражни многофункционални патогенетични роли, свързани с клетъчното оцеляване или смърт. Нарушенията в процесите на автофагия предизвикват чувствителност към метаболитен стрес, геномно увреждане, неконтролирана клетъчна пролиферация, резистентност към химиотерапия и оцеляване на ракови клетки.

Beclin 1 бе първият открит инициращ протеин с доказана роля в регулиране на процесите на автофагия, която обаче проявява функционална двойственост при селективното взаимодействие на Beclin 1 с регулатори на клетъчната хомеостаза, смърт, растеж, имунен отговор, вкл. вируси и др. Това прави проучванията на Beclin 1 значими не само като специфичен маркер в идентифицирането на регулаторните механизми, участващи в тези процеси, но и като прицелна молекула за фармакологично модулиране на клиничното протичане при различни заболявания.

Abstract: The study of the pro-pathogenic effects of autophagy is relatively new era of study, demonstrating that it can exert multifunctional pathogenic roles associated with cell survival or death. Disturbances in autophagy processes cause sensitivity to metabolic stress, genome damage, uncontrolled cell proliferation, chemotherapy resistance, and survival of cancer cells. Beclin 1 was the first discovered initiating protein with a proven role in regulating autophagy processes, however, demonstrating functional duality in the selective interaction of Beclin 1 with cell homeostasis regulators, death, growth, immune response, viruses, etc. This makes studies of Beclin 1 not only as a specific marker in identifying the regulatory mechanisms involved in these processes, but also as a target molecule for the pharmacological modulation of the clinical course of various disease.

Г8.9. Мария Цанева, **Надежда Стефанова.** Диагностични критерии и морфологична характеристика на костния мозък при класическите Ph(-) миелопролиферативни неоплазми съгласно последната ревизия на СЗО от 2016 г. Варненски медицински форум.2017;6(1):52-62

Резюме: Миелопролиферативните неоплазми (MPN) представляват хетерогенна група от хематологични моноклонални заболявания, характеризиращи се с първично нарушение на кръвотворните стволови клетки с последваща експесивна продукция на зрели клетки от еритроидния, гранулоцитния и мегакариоцитния ред. Честотата на MPN е сравнително ниска, средно на година заболяват около шест човека на 100 000 население. Засягат се предимно по-възрастни индивиди, като средната възраст на пациентите е между 65 и 70 години. Съгласно последната ревизия на СЗО на класификацията на тумори от хемопоеични и лимфни тъкани (2016) MPN се разделят на хронична миелогенна левкемия, носеща Philadelphia(Ph+) хромозома, която е резултат от транслокация t(9;22) с образуване на BCR-ABL1 фузионен ген, хронична неутрофилна левкемия, хронична еозинофилна левкемия от неспециален тип, миелопролиферативни неоплазии от неклаифицируем тип и класически Ph(-) MPN: полицитемия вера, есенциална тромбоцитемия и първична миелофиброза в префибротичен/ранен стадий и фибротичен стадий. В последната ревизия на СЗО от 2016 г. са актуализирани някои от диагностичните критерии на Ph(-)MPN, а други са детайлизирани. Конкретизирани са случаите, при които се изисква костномозъчна биопсия.

Abstract: Myeloproliferative neoplasms (MPN) are a heterogeneous group of hematologic monoclonal diseases, characterized by a primary disorder of the pluripotent hematopoietic stem

cell leading to overproduction of mature cells from erythroid, myeloid and megakaryocytic lineages. The incidence of MPN is relatively low, every sixth per 100 000 people gets ill annually. Affected patients are usually older individuals, with an average age between 65 and 70 years. According to the last revision of WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues (2016), MPN are divided into chronic myeloid leukemia, carrying Philadelphia (Ph+) chromosome, which is a result from translocation t(9,22) with formation of BCR-ABL1 fusion gene, chronic neutrophilic leukemia, chronic eosinophilic leukemia not-otherwise specified, chronic myeloproliferative neoplasms unclassifiable, classical type Ph (-) MPN: polycythemia vera, essential thrombocytemia, prefibrotic/early primary myelofibrosis, overt primary myelofibrosis. In the last revision of WHO (2016) some of the diagnostic criteria for MPN are revised and others are slightly modified. There is a stress on the cases that require bone marrow biopsy.

Г8.10. Antoaneta Georgieva, Danail Pavlov, Maria Tzaneva, Miroslav Novakovic, Vele Tesevic, Mehmed Reysov, Miroslav Eftimov, Milena Todorova, Miglena Nikolova, **Nadezhda Stefanova**, Stefka Valcheva-Kuzmanov (2023). Gastroprotective effect of the flavonoid fustin isolated from heartwood in a rat model of indomethacin-induced gastric ulceration. *Acta Scientifica Naturalis*, 10(2), 25-38

Abstract: Gastric ulcer is a common health issue. *Cotinus coggygia* heartwood extracts rich in the flavonoids fustin and sulfuretin have shown protective effects in a rat model of indomethacin-induced gastric ulceration. Fustin itself has been protective in a rat model of ethanol-induced gastric ulcer. In the present study, we aimed to reveal the effect of the flavonoid fustin isolated from *Cotinus coggygia* heartwood in a rat model of indomethacin-induced gastric ulceration.

Fustin was isolated from *Cotinus coggygia* heartwood and purified. The experiment was performed on 30 male Wistar rats allocated to three groups – Control, Indo and F10. F10 group was pretreated with fustin (10 mg/kg b.w. for 7 days). Rats were sacrificed and macroscopic, histopathological and immunohistochemical investigations of the stomachs were performed.

Indomethacin caused severe mucosal damage, proven by the macroscopic, microscopic and immunohistochemical gastric mucosa investigation. Fustin pretreatment slightly reduced the macroscopic indices for gastric damage (ulcer number, area, score and index), and significantly alleviated the severity of the microscopic indices (mucosal erosions, necrosis, hemorrhages and inflammation). In fustin-pretreated rats, the expression of NF- κ B was reduced in comparison with indomethacin-treated animals.

In conclusion, fustin exerted a gastroprotective action in an indomethacin-induced gastric ulceration model, probably due to its anti-inflammatory activity.

Резюме: Стомашната язва е често срещан здравен проблем. Екстрактите от дървесината на *Cotinus coggygia*, богати на флавоноидите фустин и сулфуретин, са показали защитни ефекти в модел на индометацин-индуцирана стомашна язва при плъхове. Самият фустин се явява като защитен фактор в модел на индуцирана от етанол стомашна язва при плъхове. В настоящото изследване имахме за цел да изследваме ефекта на флавоноида фустин, изолиран

от дървесината на *Cotinus coggygia* в модел на индометацин-индуцирана стомашна язва. Фустинът беше изолиран от дървесината на *Cotinus coggygia* и пречистен. Експериментът е проведен върху 30 мъжки плъха Wistar, разпределени в три групи – контролна, индо и F10. Група F10 беше предварително третирана с фустин (10 mg/kg телесно тегло за 7 дни). Плъховете се умъртвяват и се извършват макроскопски, хистопатологични и имунохистохимични изследвания на стомасите им. Индометацинът причинява тежко увреждане на лигавицата, доказано чрез макроскопско, микроскопско и имунохистохимично изследване на стомашната лигавица. Предварителното лечение с фустин леко намалява макроскопските показатели за стомашно увреждане (брой на язва, площ, оценка и индекс) и значително облекчава тежестта на хистологичните показатели (мукозни ерозии, некроза, кръвоизливи и възпаление). При плъховете, предварително третирани с фустин, експресията на NF-κB е намалена в сравнение с животни, третирани с индометацин. В заключение, фустинът упражнява гастропротективно действие в модел на индометацин-индуцирана стомашна язва, вероятно поради неговата противовъзпалителна активност.

Г8.11. Надежда Стефанова. Сигнални пътища в патогенезата на миелопролиферативните неоплазии. Варненски медицински форум. 2024;13(1), 23-29

Резюме: Миелопролиферативните заболявания, или миелопролиферативните неоплазии (МПН), представляват хетерогенна група от хематологични моноклонални заболявания, характеризиращи се с първично нарушение на кръвотворните стволови клетки с последваща ексцесивна продукция на зрели клетки от еритроидния, гранулоцитния и мегакариоцитния ред. Централна роля в патогенезата на МПН имат активиращите, или още наричани драйверни мутации, които са основен „двигател“, активиращ JAK-STAT сигналният път. Освен това фосфатидил-инозитол 3-киназният (PI3K) и сигналният път на митоген-активирана протеин киназа (МАРК) също играят роля в патогенезата на МПН. Изясняването на сложната регулация на вътреклетъчното сигнализиране при пациенти с МПН може да помогне да се разберат по-добре патофизиологията на заболяването и възможностите за лечение.

Abstract: Myeloproliferative diseases, or myeloproliferative neoplasms (MPNs), represent a heterogeneous group of hematological monoclonal diseases characterized by a primary disorder of hematopoietic stem cells, leading to excessive production of mature cells of the erythroid, granulocytic, and megakaryocytic lineages. A central role in the pathogenesis of MPNs is played by activating or driver mutations, which act as the main “motor” activating the JAK-STAT signaling pathway. Additionally, the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways also contribute to the pathogenesis of MPNs. Studying the complex regulation of intracellular signaling in MPN patients may provide insights into the pathophysiology of the disease and potential treatment options.

Пълнотекстови публикации в научни списания и сборници, извън минималните наукометрични изисквания за заемане на АД „доцент“

Е.Димитрова, И.донев, Н.Цонев, С.Драганова, Р. Манев, М. Богданова, Х.Попов, Н.Стефанова, Д.стоянов, Я. Кашлов, А. Янчев, М. Георгиева. Автофагия при солидни тумори. *Studia oncologica*(2016).48-56

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

Abstract: Autophagy is a homeostatic and evolutionary saved process, which clears cell organelles and proteins and maintains the cell biosynthesis in case of nutrition disorders or metabolic stress. Autophagy is important in all cells to remove the damaged “old” proteins and organelles. Dysregulations in the processes of autophagy are related to sensitivity to metabolic stress, genomic damage and tumorigenesis. Although autophagy plays a role in the tumor suppression, it also ensures tolerance in case of cellular stress, allowing the tumor cell to survive under unfavorable conditions. Stress-induced autophagy in the tumor cells can lead to resistance in case of treatment and tumor latency, with possible repeated tumor growth and progression. Clarification of the role of autophagy in cancer treatment is crucial, because many anticancer therapies are related to its activation.