

СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Минко Господинов Минков, ръководител на Катедрата по анатомия, хистология и ембриология, патология при Медицински факултет към Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, Бургас

Относно: Дисертационен труд за присъждане на ОНС „Доктор“ на д-р Калин Петров Калчев, асистент в катедрата по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология при Медицински университет – Варна на тема: Експресия на маркер за некроптоза RIP3 в случаи на простатен карцином.

С решение от заседание на факултетния съвет при факултет „Медицина“ към Медицински университет – Варна по Протокол № 23/29.05.2020 г. и със Заповед № Р-109-204/05.06.2020 г. на Ректора на Медицински университет – Варна съм избран за член на Научното жури, а на основание на Протокол № 1/10.06.2020 г. съм определен да изготвя становище по процедура за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ с кандидат д-р Калин Петров Калчев, Медицински университет – Варна.

Дисертационният труд е отпечатан на 119 текстови страници и е онагледен с 49 фигури и 25 таблици. Част от фигурите са табла от по няколко графики, така че реалният брой на фигурите е по-голям. Цитирани са 162 литературни източника, от които 138 са публикувани след 2000 г. Трудът е структуриран според изискванията за оформяне на дисертация: Съдържание; Използвани съкращения; Увод – 1 стр.; Литературен обзор – 32 стр.; Цели и задачи – 1 стр.; Материал и методи – 10 стр.; Резултати и обсъждане – 51 стр.; Заключение – 1 стр.; Изводи – 1 стр.; Приноси – 1 стр.; Публикации, свързани с дисертационния труд – 1 стр.; Книгопис – 14 стр.

Въведението разисква актуалността на простатния карцином, който е второто по честота злокачествено заболяване и четвъртата най-честа причина за смърт от малигнени неоплазии при мъжете. Въпреки възможността за ранна диагностика на карцинома чрез определяне на PSA и дебелоиглена биопсия, не са редки случаите, когато той се открива късно и възможностите за хирургическо лечение са ограничени. Освен основните форми на клетъчна смърт, като апоптоза, некроза и автофагия, в туморните клетки се среща и друг път на клетъчна смърт като некроптозата. Тя може да бъде задействана от същите лиганди и рецептори, които активират външния път на апоптозата, при инхибиране на каскадите и активиране на рецептор взаимодействията серин/треонин – протеин киназа 1 и 3 (RIP1 и RIP3). Проучването на експресията на RIP3 при простатен карцином би допринесло не само за изясняване на прогностичната и предиктивна роля на протеина, но и до разкриване на нови сигнални пътища и създаване на нови терапевтични подходи.

В главата „Литературен обзор“ е направен анализ на литературните данни, като е обърнато специално внимание на:

1. Епидемиологията на простатния карцином.
2. Етиологията и рисковите фактори.
3. Морфологичната характеристика, стадирането, прогностичните и предиктивни хистологични параметри.
4. Хистологичният строеж на простатния карцином.

5. Оценката на степента на диференциация на простатния карцином по Gleason.
6. Имунохистохимична характеристика.
7. Хистологичните варианти.
8. Стадирането на простатния карцином.
9. Допълнителна характеристика на простатния карцином, важна за оценка на риска от прогресия.
10. Лечението.
11. Клетъчната смърт – некроптоза.

Данните от литературния обзор са включени в осем таблици и девет фигури. В края на обзора е отделено внимание на лечението на простатния карцином, определено от стадия на туморния процес и оценката на риска за прогресия.

Целта и задачите за изпълнението ѝ са ясно формулирани.

Главата „Материал и методи“ се простира на 10 страници. В нея е описан богатият методологичен набор, използван за решаване на поставените задачи; пациентите и характеристиката на проучваните групи, рутинните изследвания, критериите за категоризиране на всеки клинично-морфологичен параметър, специфичните методи на изследване, подготовката на биопсичните материали, определяне на степента на експресия на RIP3 и интерпретацията на резултатите, статистическите методи, използвани за анализ на получените резултати.

В проучването са включени биопсиите на 83 пациента, от които основната група от 73 пациента с диагноза простатен карцином, а 10 са контролна група без карцином. От 73-мата пациенти от основната група, 36 са с ранен простатен карцином, а 37 са с авансирал карцином с далечни метастази. Диагнозата и стадия на тумора са определени според 8-то издание на АУСС, на базата на хистологичното изследване. За целите на това проучване са определени следните клинично-морфологични параметри: хистологичен тип на тумора, степента на диференциация по Gleason и Gleason score, перинеурална инвазия, туморна некроза, високостепенна простатна интраепителна неоплазия, простатит, TNM-стадий, витален статус. За специфичните методи на изследване е използван индиректен имунопероксидазен метод за имунохистохимичен анализ с помощта на mini KIT high Ph DAKO K 8024. Антителата, реактивите за оцветяване и използваните работни концентрации са представени в таблици №№ 9 и 10. Използвани са следните антитела: Anti-RIPK3, с каталожен № ab 56 164. Имунохистохимичната експресия на RIP3 е оценена чрез използване на H-score. За всяка епителна клетка от различни типове жлези (туморни, с PIN и нетуморни) е определен интензитета на ядрената експресия. За обработка на данните е използван статистически софтуерен пакет – IBM SPSS for Windows, v.20.0.

Резултатите и обсъждането са описани подробно на 51 стр., като са обобщени в 15 таблици и са онагледени с 16 микроснимки и графики, организирани в 24 фигури.

Средната възраст на проучените 73 пациенти с простатен карцином е 68,57, като минималната възраст е 45 г., а максималната – 87 г. От тях 36 от случаите са с ранен карцином, а 37 са с авансирал (метастатичен) карцином. Резултатите показват, че най-голям е броят на пациентите с простатен карцином във възрастовата група между 61-70 г. – 30 случая, следвани от възрастовата група между 71-80 г. – 25 случая.

От изследваните 73 случая, 38 биопсии са с конвенционален ацинарен аденокарцином, без невроендокринна или служна компонента, 22 са със служообразуваща компонента, а останалите 13 случая са с невроендокринна компонента.

В 9 от карциномите Gleason score е 6, в 18 е 7, в 11 е 8, в 32 е 9 и в останалите 3 е 10.

Перинеурална инвазия е намерена в 54 от карциномите, а в 19 от тях липсва.

Туморна некроза се установява в 9 от случаите, като тя е дискретна от комедо тип.

Високостепенна простатна интраепителна неоплазия (PIN) се открива в 47 от изследваните карциноми.

Възпалителни промени в перитуморната тъкан са открити при 58 от биопсиите.

Относно TNM стадии при 31 от пациентите има само костни метастази, в 1 има костни и белодробни метастази, при 2 има костни и лимфни, в 1 има костни, чернодробни и лимфни метастази, при 1 има костни, белодробни, чернодробни и лимфни метастази и при 1 има само белодробни метастази.

Анализът на разпределението на морфологичните показатели при ранен и авансирал простатен карцином показва, че при авансирания карцином преобладават високият Gleason score > 7, по-често има перинеурална инвазия и туморна некроза, в сравнение с ранния карцином, а в 97% от случаите има костни метастази.

Анализът на преживяемостта на пациентите с простатен карцином във връзка с клинично-морфологичните параметри показва, че преживяемостта намалява с нарастване на Gleason score, както и при появата на перинеурална инвазия в далечни метастази, особено в костите.

Експресията на RIP3 според хистологичния тип показва, че тя е най-висока в ядрата на туморните клетки при простатните карциноми със служообразуване. Установена е статистически значима разлика между експресията на RIP3 при пациенти със служообразуващите карциноми и класическите ацинарни карциноми, както и между служообразуващите карциноми и невроендокринните карциноми.

Високата експресия на RIP3 преобладава при Gleason score повече над 7, при всички хистологични варианти на простатния карцином: конвенционален ацинарен, с муцинозна или с невроендокринна компонента и при перинеурална инвазия. Ниската експресия на RIP3 преобладава при пациенти с Gleason score ≤ 7, без метастази в лимфни възли и органни метастази.

На базата на комплексния анализ на експресията на RIP3 и влиянието му върху преживяемостта във връзка с клинично-патологични показатели е определен рисковият профил на пациентите. Пациенти с повишен риск за ниска преживяемост имат следните клинично-морфологични и имунохистохимични характеристики: Възраст > 65 г.; Gleason score > 7; Присъствие на перинеурална инвазия; Присъствие на туморна некроза; Присъствие на метастази; хистологичен тип – със служна и с невроендокринна компонента. Рискови фактори за ниска преживяемост са високата експресия на RIP3, муцинозната и невроендокринната компонента на карцинома, Gleason score > 7 и перинеуралната инвазия.

Резултатите от това изследване показват, че експресията на RIP3 не може да бъде използвана като самостоятелен прогностичен маркер. Най-добри резултати за прогнозиране на преживяемостта на болните се получават при комбинацията на Gleason score и експресията на RIP3.

В края на дисертационния труд авторът прави следните изводи:

Заболеваемостта и смъртността при простатен карцином показват тенденция към нарастване, както на световно и европейско, така и на национално ниво.

При авансирания простатен карцином преобладават високият Gleason score > 7 , по-често има перинеурална инвазия и туморна некроза, в сравнение с ранния карцином, а в почти всички случаи има костни метастази.

Преживяемостта на болните намалява с нарастване на Gleason score, както при появата на перинеурална инвазия и далечни метастази, особено в костите.

В сравнение с нетуморната тъкан и PIN, експресията на RIP3 в туморната тъкан се повишава.

Високата експресия на RIP3 преобладава при Gleason score повече над 7, при всички хистологични варианти на простатен карцином: конвенционален ацинарен, с муциозна или невроендокринна компонента и при перинеурална инвазия.

Ниска експресия на RIP3 преобладава при пациенти с простатен карцином с Gleason score ≤ 7 , без метастази в лимфни възли и органни метастази.

Рискови фактори за ниска преживяемост на пациентите с простатен карцином са високата експресия на RIP3, муциозната и невроендокринна компонента на простатния карцином, Gleason score > 7 и перинеуралната инвазия.

В приложената справка за приносите на дисертационния труд д-р Калчев коректно отразява получените резултати.

Научни приноси с оригинален характер:

Направена е комплексна клиничко-морфологична и имунохистохимична характеристика на некроптозата при пациенти с простатен карцином.

Оценена е полуколичествено експресията на RIP3, маркер за некроптоза, с оглед изясняване на прогностичната ѝ и предиктивна роля при карцинома на простатната жлеза.

Научни приноси с практическо-приложен характер:

Определен е профилът на пациентите с карцином на простатната жлеза.

Оценена е експресията на RIP3 в туморната и нетуморна тъкан при простатен карцином.

Определена е преживяемостта на пациентите във връзка с клиничко-морфологичните параметри и експресията на RIP3 при пациенти с простатен карцином.

Оценена е прогностичната стойност на високата и ниска експресия на RIP3 в туморна тъкан на простатен карцином.

Определени са рисковите фактори за ниска преживяемост на пациентите с простатен карцином.

Анализирана е честотата на разпространение, заболеваемост и смъртност от простатен карцином в света, Европа и България.

Представени са три публикации, на които се основава дисертационният труд.

В заключение, считам, че дисертационният труд на д-р Калчев представлява завършено морфологично проучване, което има приносен характер за решаване на клинично-морфологични проблеми, свързани с диагнозата, лечението и прогнозата при пациенти с простатен карцином.

Оригиналните приноси на дисертационния труд, както и достойнствата и приносите в цялостната научно-изследователска дейност на д-р Калчев, които са пряко свързани със съвременните методи, които той прилага, ми дават основание убедително да препоръчам моя положителен вот на уважаемото Научно жури за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Калин Петров Калчев.

07.08.2020 г.

Изготвил становището:



/Проф. д-р М. Минков, дм/