

## РЕЦЕНЗИЯ

от

доц. д-р Веселин Т. Беловеждов, дм  
Катедра по обща и клинична патология,  
Медицински университет - Пловдив

в качеството му на член на научно жури въз основа  
на заповед Ректора на МУ - Варна № Р-109-399 / 02.07.2018 г.

*относно дисертационен труд на тема*

„ПРОГНОСТИЧНИ И ПРЕДИКТИВНИ ФАКТОРИ ПРИ  
БЪБРЕЧНОКЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ”,

*за присъждане на ОНС „доктор”*

с автор д-р Снежана Стоянова Спасова-Няголова,  
научни ръководители : доц. д-р Петър Иванов Генев, дм,  
проф. д-р Валентин Христофоров Икономов, дмн

*Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология  
Факултет по медицина, МУ – Варна*

За конкурса са депозираны материали на хартиен и електронен носител - дисертационен труд, автореферат, биографични и професионални данни, административни документи, копия от публикации от д-р Снежана Стоянова Спасова-Няголова.

I. Д-р Снежана Стоянова Спасова-Няголова е родена на 20.06.1981 г. След приключване на средното си образование в гимназия с основен профил по биология тя завършва магистърска степен, специалност медицина в Медицински университет – Плевен през 2006 г. Професионалната си кариера д-р Спасова започва в МБАЛ – Тутракан, където работи едновременно като педиатър и като патоанатом. От 2009 г. и по настоящем тя работи като асистент в Катедрата по „Обща и клинична патология, Съдебна медицина и Деонтология” при МУ – Варна и като патолог в клиниката по „Обща и клинична патология”, УМБАЛ „Св. Марина”, гр. Варна. От края на 2016 г. д-р Спасова практикува паралелно и в болницата в Тутракан в отделението по патоанатомия.

Д-р Спасова води упражнения на студенти по медицина, дентална медицина и фармация на български език и е курсов ръководител на студентите от 4-ти курс, специалност медицина.

През 2013 г. тя придобива специалност по обща и клинична патология.

Д-р Спасова е изкарала курс в Европейска школа по клинична хомеопатия (2014 – 2016 г.).

Тя е член е на Българското дружеството по патология и на БЛС.

II. Дисертационният труд на д-р Снежана Спасова търси доказателства за морфологично установими прогностични и предиктивни фактори при бъбречно-клетъчния карцином (БКК). Този тумор представлява 90 % от всички неоплазми на бъбрека. В 1/3 от случаите диагнозата при него се поставя, когато вече са налице метастази. Макар и не така чест – на 14 място според световните статистики, смъртността при него е съизмерима с тази при агресивните тумори. Пет годишната преживяемост е ниска, а заболяемостта в България за периода 1980 – 2015 г. е нарастнала петкратно според информация на Националния раков регистър. Тези данни определят актуалността на дисертационния труд посветен на изследването на бъбречно-клетъчния карцином.

Както е добре известно развитието и нарастването на туморите е резултат на адекватно кръвоснабдяване, резистентност към инхибиторните сигнали, избягване на апоптозата, неограничена пролиферация. Затова и изследвания насочени към факторите посреднически на тези процеси, и осигуряващи оцеляването на неопластичните клетки биха дали възможност за евентуалното им блокирането и забавяне или спиране на туморния процес, и удължаване живота на пациентите.

В своята работа д-р Спасова е избрала да изследва Neutropilin'a и yes –асоциирания протеин (YAP).

Невропилините са трансмембранны гликопротеини. Техни рецептори се експресират от туморни и ендотелни клетки. Свързвайки се с тях те модулират неопластичната прогресия чрез ускорена ангиогенеза, лимфангиогенеза и активиране на метастазирането.

YAP-протеинът е част от Hippo-сигналния път, който съдържа над 30 компонента – кинази, транскрипционни ко-активатори и ДНК свързващи елементи. Основната му функция е да направлява растежа на тъканите и да променя клетъчната пролиферация,

диференциация и миграция. Нарушената регулация на пътя води до абнормен клетъчен и тъканен растеж и възникване на неоплазия. Установено е, че YAP-протеинът се експресира в много солидни тумори като плоскоклетъчен карцином на хранопровода, плоскоклетъчен карцином на маточната шийка, хепатоцелуларен карцином, тумори на стомаха, на яйчника, на пикочния мехур.

Няма обаче достатъчно данни за ефектите на тези два биологични фактора при бъбречно клетъчния карцином. Затова изследването им би било принос за теорията, както и за определяне на прогнозата и евентуална бъдеща терапия на този тумор, което също е в подкрепа на актуалността на работата на д-р Спасова.

Представеният дисертационен труд, както и авторефератът са съобразени с изискванията за структура и обем залегнали в правилника на МУ- Варна. Дисертацията е написана на 142 страници и включва следните основни глави: заглавие и съдържание (4 стр.), използвани съкращения (1 стр.), въведение (2 стр.), литературен обзор (34 стр.), цел и задачи (1 стр.), материали и методи (13 стр.), резултати (34 стр.), обсъждане (22 стр.), изводи (2 стр.), приноси (2 стр.) и литература - 28 стр. включваща 221 заглавия, 3 от които на български език, а останалите на английски, значителна част от които от последните 10 г. Тя е онагледена е с 43 фигури, вкл. микроскопските фотоснимки и 16 таблици.

Литературният обзор е добре структуриран и изчерпателен. В него след кратки исторически данни са посочени най-важните проблеми свързани с епидемиологията, честотата, рисковите фактори и етиологията на БКК. Описани са днешните правила за стадиране и градиране на тумора. При представяне на макроскопските и хистологичните белези на тумора се подчертава значението на туморните некрози и саркоматоидната компонента като лоши прогностични фактори. Отделено е внимание на ангажирането на бъбречната вена като друг негативен прогностичен фактор и на ролята на ангиогенезата за оцеляване на туморните клетки преценена посредством въздействието на VEGF и Neutropilin'a.

Изчерпателно и подробно са описани споменатите вече два биологични фактора – Neutropilin и YAP, приемани като важни посредници за развитието на БКК. Изяснено е, че YAP-1 протеина е важен ген в клетъчния растеж и апоптозата и като такъв би могъл да бъде онкоген или онкосупресорен фактор. Посочено е, че и за YAP-1 протеина, и за Neutropilin'a няма достатъчно изследвания по отношение на БКК и

правилно е преценено, че намирането на доказателства за въздействието им с тумора би било предпоставка за по-добра прогноза и предикция .

Така обзорът логично насочва към целите и задачите на дисертационния труд.

Целта на работата е да се изследват експресията на маркерите – YAP-1 и Neutropilin-1 при пациенти с БКК и значението им като прогностични и предиктивни маркери.

Във връзка с нея са поставени 5 задачи, формулирани точно и конкретно.

Те включват оценка на значението на морфологичните показатели – стадий, грейдинг, наличие на некрози, на саркоматоидна компонента, на ангажиране на бъбречната вена, изследване на експресията на YAP-1 и Neutropilin-1 в първичния тумор при пациенти с метастази от БКК, анализ на корелациите между експресиите на двата маркера и преценка на прогностичната и предиктивната им стойност.

За решаването на поставените задачи са използвани материали от 148 пациенти от УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна. Те са разделени в две групи : *първата* включва 98 болни за периода 2009 – 2017 г. с диагноза БКК без установени морфологично или образно метастази; във *втората* са събрани данните на 50 пациента (2005 – 2015 г.) с метастази. И при двете групи са изследване идентични параметри – хистологичен тип, степен на диференциация, инфилтрация в бъбречната вена, наличие на саркоматоидна компонента, на туморни некрози, което е правилно с оглед необходимостта от сравнение. В допълнение при втората група са изследвани и хистохимичната експресия на YAP-1 и Neutropilin-1.

Използваните методи – рутинна биопсия, принципи на оценка на саркоматоидната компонента, на площта на туморните некрози, на ангажирането на бъбречната вена са надлежно представени. Описани са процедурите на ИХХ съгласно протоколите и начина на оценка на имуоекспресията. Приложени са и редица статистически методи – дискриптивен анализ, корелационен анализ, анализ на преживяемостта, сравнителен t-test, които обективизират преценката и интерпретацията на резултатите.

В раздела за резултатите се посочва, че БКК е най-чест приблизително във възрастта между 50 и 70 г. Мъжкият пол е засегнат в много по-голяма степен – 74,49 %. Най-честият хистологичен вид е светлоклетъчният (80, 6 %), следван от папиларният (7, 14 %), хромофобният (7, 14 %), уротелният (4, 09 %) и др. Най-голямата група е на туморите в стадий T1 – 49, 5 %, а най-малко са тези в ст. T4 – 1, 03 %. Останалите са почти равномерно разпределени между стадиите T2 и T3.

на тумора определя по-лошата прогноза защото нарастването на последния е предпоставка за развитие на метастази. Допълнителни фактори – клинично-лабораторни и придружаващи заболявания се приема, че определят изненадващо установената по-висока преживяемост при T2 отколкото при T1. При коментарите за връзката между по-ниската преживяемост установена при по-висок грейдинг по Fuhrman при метастатичен БКК уместно се препоръчва тази ядрена оценка да бъде максимално прецизна, като е вмъкната и идеята на мнозина автори за опростяване на грейдинга от четири- на двустепенен. Негативният ефект на саркоматоидната компонента се обяснява със съчетанието и с висок грейдинг по Fuhrman. Обяснението за корелацията между наличието на некрози и появата на метастази се свързва с разрушаването на съдове, което улеснява навлизането и разпространението на тумора. В обсъждането за метастазирането на БКК и изтъкване на предпочитания хематогенен път за дисеминация, се отчита, че все още няма единодушно мнение за биологичните механизми на този процес.

Друг интересна тема от обсъждането е хипотезата свързана с позитивния ефект на стромната реакция представена от наличието на неутрофили и удачното предложение, във връзка с това, да се изследва за в бъдеще ролята на PD-1 и PDL-1.

Въз основа на дифузната експресията в клетките на БКК на Neutropilin-1 и YAP-1 при метастатични тумори правилно е обсъдено, че тези два маркера имат важна роля при развитието на БКК, което предполага, че те могат да имат и диагностична стойност и терапевтично значение, като обещаваща мишена на антитуморно лечение, особено по отношение на Neutropilin-1.

На финала на работата са оформени 7 извода отговарящи на поставената цел и задачи на дисертацията и основаващи се на получените резултати. Те, накратко, са :

Факторите увеличаващи вероятността за метастазиране са големината, степента на диференциация, площта на некрозите, наличието на саркоматоидна компонента, ангажирането на туморната вена. Големината на тумора и саркоматоидната компонента, и степента на диференциация определят по ниска преживяемост. Туморните некрози имат лошо прогностично значение, особено при неметастазирани неоплазми. Белодробните метастази означават лоша прогноза и по-ниска преживяемост. Експресията на Neutropilin-1 не корелира с клинично-морфологичните показатели при метастатични БКК, а YAP-1 корелира със саркоматоидна компонента. Налице е корелация между експресията на двата маркера в повечето случаи; високата

им експресия също така определя по-висок риск за смъртност и по-ниска преживяемост, но въпреки прогностичното им значение, предиктивната стойност на двата маркера засега остава непотвърдена.

Представеният научен труд съдържа три научно-оригинални приноса, които в резюме са свързани с извършването на :

1. Сравнителен анализ на морфологичните показатели при пациенти с метастатичен и неметастатичен БКК в региона.
2. ИХХ анализ на експресията на Neutropilin-1 и на YAP-1 при метастатичен БКК.

Други пет приноса имат практическо-приложен характер, а именно :

1. Потвърдено е значението на морфологичните прояви на БКК – големина, степен на диференциация, площ на некрозите, саркоматоидна компонента - като негативни прогностични фактори.
2. Това е първото у нас изследване на експресията на Neutropilin-1 и на YAP-1 в туморните клетки при метастатичен БКК, като интензивната имуноекспресия корелира с ниска преживяемост.
3. За първи път е анализирана паралелната експресия на маркерите Neutropilin-и YAP при метастазирал БКК.

Данните от дисертацията са представени в четири научни публикации, едната от които под печат и в три научни съобщения.

Представената ми за рецензиране дисертация е добре оформен труд написан на добър и разбираем стил. Тя е прилежно изготвен научен труд, който свидетелства за добро познаване на материята и за вложен упорит труд от дисертантката. В нея се съдържа достатъчно качествена информация, която дава основание за позитивно отношение. Без да подценявам достойнствата и обаче си позволявам да добавя и някои критични бележки. 1. Струва ми се, че в една морфологична работа следва да има повече нагледна документация. Снимките и на конвенционалните оцветени с ХЕ препарати и на ИХХ изследвания биха могли да бъдат повече. Преобладаването на таблици и графики, което е безусловно необходимо защото отразява данните от задължителните обективизиращи резултатите съвременните статистически изследвания, като че ли отдалечава работата от истинската морфология. Мисля, че

образите, въз основа на които в ежедневието диагностицираме или осъществяваме научни изследвания, са същинската морфология и те трябва да присъстват в научните разработки. 2. Представените в дисертацията резултати дават почва за по-обстойно обсъждане, не само защото са много, но и защото в тях има важни и интересни факти. Разбира се, краткостта може да се дължи на липсата на достатъчно литературни данни с които да бъдат съпоставени резултатите и, ако е така, това трябва изрично да бъде подчертано, защото то само би повишило стойността на разработката. 3. Интересно би било да се изследва експресията на двата ИХХ маркера -Neutropilin-1 и YAP-1 – и в туморни клетки при неметастазирани БКК. Това биха били допълнителни данни, даващи основание за още констатации и обсъждане.

Разбира се, тези забележки ни най-малко не подценяват качествата на дисертационния труд и затова въз основа на по-горе изложеното считам, че работата на д-р Спасова е завършена, съдържа оригинални резултати и такива с практическа значимост. Тя отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в България и на условията и реда за придобиване на научни степени в МУ - Варна.

**Затова давам своята позитивна оценка, ще гласувам за, а и си позволявам да препоръчам и на членовете на уважаемото Научното жури да подкрепят присъждането на образователната и научната степен „доктор” на д-р Снежана Спасова.**

20.08. 2018 г.

доц. д-р Беловеждов

