

РЕЦЕНЗИЯ

ОТ ПРОФ. Д-Р НИКОЛАЙ ЕЛЕНКОВ ЛАЗАРОВ, Д.М.Н.

ОТНОСНО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД НА ГЕОРГИ СТОЯНОВ СТОЯНОВ ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНАТА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”

Д-р Георги Стоянов Стоянов е асистент в катедрата по обща и клинична патология към Медицински университет (МУ) „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. През 2019 година той е зачислен за докторант в редовна форма на обучение (Заповед № Р-109-51/01.02.2019 г.) по докторска програма „Патологоанатомия и цитопатология“ към катедрата по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология на МУ – Варна, където е провел основната част от експериментите по настоящата дисертация. След приключване на програмата за обучение и успешно положени изпити по научната специалност и английски език, той е отчислен с решение на Факултетния съвет на факултет „Медицина“ и заповед № Р-109-71/04.02.2022 г. на Ректора на МУ-Варна с право на защита пред научно жури.

Дисертационният труд на тема *„Прогностични и предиктивни фактори при мултиформен глиобластом”* е написан на 113 стандартни страници и е разпределен по раздели по следния начин: *Титулна страница, Съдържание – 3 стр., Списък на използваните съкращения – 2 стр., Увод и Литературен обзор – 23 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материал и методи – 7 стр., Резултати – 34 стр., Дискусия – 18 стр., Заключение – 1 стр., Изводи – 1 стр., Справка за приносите – 1 стр., Публикации по темата – 2 стр., Благодарности – 1 стр., Литературни източници – 18 стр.,* включващи 250 заглавия, 11 на кирилица и 239 на латиница. Трудът е онагледен с 13 таблици и 65 фигури.

Темата на дисертационния труд е много удачно подбрана. Тя е посветена на един социалнозначим и изключително актуален проблем на онкопатологията – прогноза и превенция на мултиформения глиобластом, който е най-често срещаният и най-злокачествен от глиалните тумори на централната нервна система. Въпреки че през последните 50 години средната преживяемост на пациентите с глиобластом нараства, макар и с малки темпове, прогнозата за живота на тези онкоболни пациенти като цяло е мрачна. Ето защо ранното диагностициране на този силно агресивен мозъчен тумор е от решаващо значение за по-благоприятна прогноза на лечението му. В този смисъл изясняването на прогностичните и предиктивни фактори би било

полезно с оглед на намиране на ефективен начин за забавяне на прогресията на глиобластомите. В търсене на подобен подход, докторантът си е поставил амбициозната задача да изследва хистопатологично пациенти с мултиформен глиобластом, да направи комплексен анализ на неговите възрастово-полови характеристики, размер и локализация, да отчете ролята на системния имунен отговор в прогнозата на пациентите и, не на последно място, да проследи имунохистохимично експресията на един протеин от голямото семейство на формините, Diaph3, който е свързан с прогресирането на тумора и се приема за кандидат-биомаркер за чувствителността на тумора към таксани, и надежден предиктивен фактор за неговото лечение с тях и, следователно, за общата преживяемост на пациенти с глиобластом.

Уводът е интегриран в раздела „*Литературен обзор*“. Той е кратък, стегнато написан и въвежда по подходящ начин читателя в предмета на дисертационния труд.

Литературният обзор е подробен и дава в тематично обособени подраздели обширна информация за използваните в исторически план методи за изследване на глиомите и приносите на чужди и наши учени в проучването на глиобластомите. Представена е в детайли съвременната интегрирана класификация на глиомите, вкл. генотипната класификация на мултиформения глиобластом. Приведени са изчерпателни данни за образнодиагностичните и хистопатологични критерии за диагностика на тумора, както и за най-важните фактори на молекулярната генетика с диагностично значение. Очертани са някои нови и неизследвани при мултиформения глиобластом фактори с установена прогностична и предиктивна роля при други туморни заболявания. Литературните данни са подходящо илюстрирани със собствени микрофотографии, компютъртомографски и магнитно-резонансни изображения на тумора. От цитираните литературни източници 152 (>60% от всички) са публикувани след 2015 година, вкл. 60 от 2020-2021 година, което е още едно доказателство за актуалността на разработвания проблем, пълнотата на библиографската справка и, не на последно място, за добрата литературна осведоменост на дисертанта по него. Отлично впечатление прави факта, че прегледът на литературата завършва с кратко обобщение на наличната информация и конкретни изводи от анализа на текущото състояние на разглеждания проблем в един заключителен параграф, в който в резюмиран вид са систематизирани въпросите, които очакват решение с настоящето проучване. По такъв начин е направен плавен преход към следващия раздел на дисертационния труд.

Целта е ясно и точно дефинирана. **Задачите** са правилно поставени и, както ще се разбере от последващото изложение, са реално изпълними с помощта на използваните методи. Към този раздел нямам забележки, с единствена препоръка да се обвържат поставените задачи с конкретните методи, чрез които те ще се постигнат.

Разделът **Материал и методи** е сравнително кратък, но достатъчно информативен. Коректно са посочени източниците на финансиране на проучването. Спазени са необходимите етични изисквания при работа с човешки материал, налице е разрешение от Комисията по етика на научните изследвания към МУ-Варна. Общият брой на взетите проби (от 62 случая) и този на изследваните (50) тъканни проби от тях, вкл. от контролната група, е напълно достатъчен за постигане на статистически достоверни резултати. За имунохистохимичните реакции е използван биопсичен материал, който своевременно е фиксиран, включен в парафинови блокчета, и нарязан преди употреба. Описанието на следвания имунохистохимичен протокол с автоматизирана система за маркиране, анализът на дигитализираните снимки и проведения статистически анализ на данните са дадени с акуратност и стъпка-по-стъпка изчерпателност, позволяваща тяхната повторяемост от други изследователи. По мое мнение, далеч по-прегледно за читателя би било, ако необходимата информация за използваните в изследванията първични и вторични антители, гостоприемника, работните разреждания и тяхното предназначение, бяха дадени в една прегледна таблица. Освен това, в текста липсва задължителното описание на приложените контролни оцветявания, които са от критична важност за специфичността на всяка имунохистохимична реакция.

Разделът **Резултати** е изложен в обем от над една трета от целия текст и включва отделни, описателно формулирани подраздели в последователност, следваща хронологично поставените експериментални задачи. В началото на описанието е представена честотата и процентното разпределение на изследваната кохорта, разпределена по възрастов и полов признак, и унифицирана съгласно най-новата класификация на СЗО за тумори на ЦНС. Отчетена е честотата на туморно разположение с левостранна доминантност и темпорална топографска локализация. Не са установени статистически значими различия в туморния размер спрямо латералността на процеса, макар че такава е налице в средния туморен размер в слепоочния дял спрямо цялата кохорта. В същото време е установено, че преобладаващата част (60%) от туморите, локализирани в лява голямомозъчна хемисфера се срещат при жени,

докато в дясното голямомозъчно полукълбо те доминират при мъжете в съотношение 3:1. Достоверността на тези находки е потвърдена статистически. От друга страна, не са намерени достоверни различия във възрастовата характеристика между левостранна и десностранна туморна локализация. Наличните данни не са позволили на дисертанта да направи анализ на динамиката на туморния растеж. С помощта на авторски модел Стоянов е успял да създаде триизмерна компютърна възстановка на първичния тумор, върху която той е осъществил обемен анализ на генерираните изображения с акцент върху туморния обем и пространствените му взаимоотношения със съседните мозъчни структури. Изчислената средна преживяемост между двата пола в кохортата показва по-висока стойност от около 1.5 месеца при мъжете. В хода на изследването чрез диференциално броене на левкоцитите е установено състоянието на системния имунен отговор при заболялите с отчитане на основния му показател – броят на лимфоцитите. При отчитане на комбинирания индекс на повишените съотношения на другите левкоцити спрямо лимфоцитите е намерена статистическа сигнификантност с отчетливо снижаване на преживяемостта при пациенти с повишен брой циркулиращи моноцити и/или друг от изследваните маркери. Прилагайки имунохистохимично оцветяване към биомаркера Diaph3, Стоянов е установил неговата умерена до силно изразена експресия в туморните клетки на мултиформения глиобластом, с вариращ интензитет в различните зони на тумора, а също и негативно имунооцветяване в бялото мозъчно вещество в нормален мозъчен паренхим и в контролната група от пациенти с реактивна глиоза, с изключение на слабо фоново оцветяване и ядрена експресия в единични лимфоцити. Интересна находка е отчетената силна имунореактивност в ангиоцентричните макророзети, за която се предполага че е тясно свързана с васкуларната сателиоза. Чрез статистически анализ с подходящ софтуер той е документирал сигнификантна хетерогенност на експресирания биомаркер в туморните клетки, докато посредством корелационен анализ не се установяват статистически зависимости между експресионните нива спрямо възрастта, пола, туморната локализация и неврорадиологично установения туморен обем.

Специално отбелязване заслужава факта, че всички авторски находки са подкрепени от достатъчен и с добро качество илюстративен материал. В същото време, статистическите данни, представени в таблици, графики и диаграми, дават богата и прегледна информация за установените количествени показатели.

Дискусията, макар и не особено пространна, е много добре написана и показва завидното умение на дисертанта за обсъждане на собствените резултати, съпоставяйки ги с известните факти в релевантната литература, и интерпретирайки ги адекватно да направи важни изводи за установените находки и тяхното значение за клиничната практика. На аргументирано обсъждане са подложени промените в туморната таксономия на ЦНС, предложени в най-новата класификация на СЗО от 2021 година и, по-конкретно, идентифицираните и в това проучване мутантен фенотип на глиобластомите. Релевантни с тези таксономични изменения са и свързаните с тях промени в отчитане на честотата на срещане на мултиформен глиобластом, на средната възраст, на която започва заболяването и средната продължителност на преживяване след неговото откриване. Ето защо, анализът на морфологично верифицираните пациенти с мултиформен глиобластом е важен не само за морфологичната диагностика, но е и особено ценен в демографски аспект. Всичко това дава основание на дисертанта да заключи, че глиобластомът е тумор, характерен за старческата възраст, който засяга по-често мъжете и е с изключително лоша прогноза. В този смисъл, определен практически интерес има също така подсказания в това изследване предиктивен потенциал на *Diaph3*, не само за селекцията на подходящи за фармакологично повлияване на тумора пациенти, но също и за идентифициране на туморни пролиферации от невропатолога. Като краен резултат, получените в проучването нови данни за този агресивен мозъчен тумор са позволили да се очертаят насоките на бъдещи нововъведения в невроонкологичните методи за диагностика и лечение, като например комбинирането на триизмерни реконструкции на тумора с невронавигация. Важно практическо значение би имало също проучване на корелационната зависимост между системния имунен отговор и инфилтрацията на тумора от циркулиращи имунни клетки. Изясняването на ролята на *Diaph3* като потенциален биомаркер за предикция на химиотерапия с таксани и рапамицин е също от съществено значение за практиката. Независимо от ограничените цели и обективни недостатъци на настоящото проучване, коректно посочени в края на текста, получените данни са послужили на докторанта за добра основа за прецизно формулиране на **изводите** от него. Те са конкретни, написани са много стегнато, макар и не номерирани, и точно отразяват авторските заключения, произтичащи от натрупаните нови данни. Като цяло приемам без забележки тяхната формулировка и научна стойност. Научните постижения на дисертанта в настоящето изследване са изведени в отделен раздел под формата на кратка справка и са

разделени на приноси с клинично-диагностичен и терапевтичен характер. Основните **приноси** на дисертационния труд, които имат определен оригинален характер, биха могли да се резюмират както следва:

1. Настоящото проучване прави цялостен анализ на честотата, тежестта, клинично-морфологичната и демографска характеристика на мултиформения глиобластом, съгласно наскоро ревизираната от СЗО класификация на туморите на ЦНС.
2. Установени са предилекционните места на туморна локализация с оглед пол и възраст на пациента, и латерализация на процеса.
3. Потвърдена е ролята на системния имунен отговор за прогнозата и ключовото значение на мутационния статус при пациенти с мултиформен глиобластом.
4. За пръв път експериментално се демонстрира имунохистохимична експресия на Diaph3 в нормален мозъчен паренхим, в мозъчна тъкан с реактивна глиоза и в туморни клетки от мултиформен глиобластом.
5. Приведени са оригинални данни за потенциалната прогностична роля на Diaph3 за лечението на този тумор с таксани и рапамицин.

В приложената документация е налице декларация за оригиналност на разработката, което ми дава основание да приема, че настоящият дисертационен труд е лично дело на д-р Георги Стоянов. Допълнителен аргумент за тази констатация са представените научни публикации и съобщения по темата с негово участие. Резултатите от изследването са отразени в 12 публикации, в 11 от които Стоянов е първи съавтор. Две от статиите са публикувани в реферирани специализирани списания с импакт фактор, 6 от тях са отпечатани в реферирани списания без импакт фактор, две – в международни, нереферирани журналы и две в наши научни списания. Приложен е и списък с един доклад на научен форум у нас, отново с водещо участие на дисертанта. На рецензента не са известни цитирания на тези научни трудове в трудовете на други автори и/или в други литературни източници.

Дисертацията е написана разбираемо, на добър научен език и стил, забелязват се само единични правописни грешки. Използвани са сравнително голям брой съкращения и специфични термини, някои от тях общоизвестни, което не затруднява читателя при нейния прочит. Авторефератът на дисертационния труд е изготвен съгласно изискванията; той отразява адекватно и в достатъчен обем състоянието на изучавания проблем, поставените цел

и експериментални задачи, използваните методи за тяхната практическа реализация, получените резултати, тяхното аналитично описание и интерпретиране на собствените данни, както и направените авторски изводи и приноси.

В заключение считам, че дисертационният труд на д-р Георги Стоянов е едно комплексно и задълбочено проучване върху интересен и актуален проблем на съвременната онкопатология. То е добре замислено и прецизно методично обосновано изследване, което е проведено много акуратно и е илюстрирано отлично. Получените данни са ясно и добросъвестно дискутирани и допринасят за разширяване на наличното познание за мозъчните неоплазми. Резултатите от изследването внасят оригинален и значим теоретично-приложен принос за изясняване на прогностичните и предиктивни фактори при мултиформен глиобластом, в частност на $Diaph3$ и връзката му с общата преживяемост при онкоболните с глиобластом. Представеният труд отговаря на законовите изискванията за придобиване на научно-образователната степен и условията, критериите и показателите за присъждането ѝ в Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Варна. Въз основа на всичко гореизложено, като рецензент убедено изказвам положително мнение за разработения дисертационен труд и в качеството ми на член на Научното жури по процедурата давам своя положителен вот за присъждане на образователната и научна степен “доктор” в професионално направление 7.1. Медицина по научна специалност „Патологоанатомия и цитопатология“ на Георги Стоянов Стоянов.

Рецензент:



(проф. д-р Николай Лазаров, д.м.н.)

18.03.2022 год.
гр. София