

# Становище

от

**Доц. д-р Илко Георгиев Бакърджиев, дм**

Ръководител УС „ Медицински Козметик “, Медицински колеж, Медицински  
Университет- Варна

върху дисертационния труд на д-р Лиляна Николова Петкова, на тема ”Експресия на Cyclin D1, BCL2, p53 и други меланоцитни маркери в малигнени меланоми на кожата и меланоцитни невуси- срвнителен анализ на имунохистохимичната експресия, морфологичен профили значимостта им за диагностиката и туморната прогресия”, за присъждане на научно- образователната степен „доктор“, по научната специалност патологоанатомия и цитопатология.

С решение от заседание на факултетния съвет при факултет ”Медицина” към МУ- Варна по протокол № 57/21.12.2021 и със заповед № Р- 109-594 / 31.12.2021 на Ректора на МУ-Варна съм избран за вътрешен член на научното жури, а на основание протокол №1/07.01.2022 г. съм определен да изготвя становище, по процедура за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ на д-р Лиляна Николова Петкова, докторант в редовна форма на обучение, МУ- Варна. Представеният комплект документи е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, правилника за приложението му и правилника за развитие на академичния състав в Медицински Университет Варна.

Представеният дисертационен труд е написан на 148 стандартни машинописни страници разпределени както следва: съдържание и съкращения 6 стр., въведение 2 стр., литературен обзор- 41 стр.,закл.(обзор) - 2 стр., цел и задачи- 1 стр., материал и методи- 8 стр., резултати 57 , обсъждане - 14 стр., заключение 2 стр., изводи – 2 стр. , приноси- 1 стр. Онагледен е с 41 фигури и 30 таблици. Библиографския списък съдържа 126 литературни източници, 10 на кирилица и 116 на латиница.

Малигненият меланом е злокачествен тумор от меланоцитен произход , неблагоприятна прогноза, като честота му световен мащаб непрекъснато нараства. В България епидемиологичната характеристика на кожата меланом се представя с ниска заболеваемост , неблагоприятна тенденция на нарастване, бърз темп на увеличение и при двата пола и с най ниска преживяемост на пациентите сред държавите в източна Европа. Диагнозата на малигнения меланом, въпреки прогреса на диагностичните методи, големият брой пигментни неоплазми и дискретните морфологични разлики с атипичните меланоцитни лезии имитиращи този злокачествен тумор, понякога я правят изключително трудна. С оглед прецизната диагноза и определяне поведението на тумора все повече се търсят нови маркери за изясняване биологията на новообразованието. Освен клиничните и хистологични критерии за прецизната диагностика на новообразуванията все повече се използват маркери който още повече са от значение за ранната диагнозата и успеха от лечението и прогнозата на



заболяването. Предвид лошата прогноза, повишената смъртност и неголемият брой имунохистохимични изследвания на кожни меланоми и меланоцитни невуси в България, всички проучвания посредством съвременни методи са актуални, напълно научна обоснована необходимост за нашата страна.

**Целта** на дисертационния труд е ясно и точно дефинирана. За нейното изпълнение са поставени 5 правилно формулирани задачи.

**Материал и методи** са методологично правилно разработени върху достатъчен клиничен контингент. Обект на настоящото изследване са 91 пигментни неоплазми, включващи 57 (петдесет и седем) доброкачествени меланоцитни невуси, 10 (десет) атипични невуса и 24 (двадесет и четири) малигнени меланом, за периода 2014-2019 г. с анализ на клиничко-анамнестични данни от придружаващия материалите биопсичен фиш. Методите на изследване са подбрани съобразно поставените задачи и са много добре прегледно описани и информативни. От целия биопсичен материал са изготвени трансверзални последователни топографски срези с дебелина 2 до 3 мм, включващи лезията с нейните ръбове - периферни и дълбоки за последваща хистологична обработка. Така изготвените материали са изследвани хистологично и имунохистохимично. Микроскопската оценка на всяка една лезия следва изискуемите за морфологична диагноза на пигментните лезии параметри, изследвани морфологично, морфометрично и с полуколичествени методи. Оценена е микроскопската симетричност на лезията, клетъчен атипизъм с определяне степента на изразеност, локализация и разпределение в тумора, дебелина на лезията по четиристепената скала на Breslow, митотичната активност с отчитане на митозите по метода "hot spot," микроинвазия по Clark, оценка на улцерация и регресия в меланомите, наличие на тумор инфилтриращи лимфоцити. За изпълнение на имунохистохимичното изследване са използвани Анти S100 protein, Анти Melanosome, clone HMB 45 (Human Melanoma Black), Ki 67 antigen clone MIB - 1, Антияло p53 protein, Антияло BCL2 онкопротеин, Антияло Cyclin D1. Оценката на експресията на различните използвани антитела е извършвана светлинномикроскопски, на базата на полуколичествен анализ, като въз основа на основните изисквания за оценка на имунохистохимичните реакции въз основа на натрупания опит, е разработено детайлизирано отчитане на експресията по интензитет и разпространение в единадесет групи. Приложени са следните методи на статистически анализ: дескриптивни, непараметричен, корелационен анализ, t-test анализ, вариационен анализ, корелационен анализ на Spearman(rho). Използвани са и програми за статистически анализ- IBM, SPSS v. 23. Резултатите са представени таблично чрез програма Microsoft Excel v. 2010.

### **Резултатите и обсъждане**

От разпределението на лезиите по хистологичен вид, бенигнените меланоцитни лезии съставляват 62.63% (57 сл.), атипичните невуси са 11% (10 сл.), а случаите с малигнен меланом - 26.37% (24 сл.). В целия, изследван от докторанта материал доминира женският пол, почти 2:1 превес на жените с пигментни тумори спрямо



мъжете, като при атипичните невуси и случаите на малигнен меланом се наблюдава равнопоставеност и на двата пола. По-голямата част от случаите с меланом са диагностицирани при пациенти над 40 години, като разликата спрямо останалите възрастови групи в който също се открива (с изключение на групата 11- 20 г.) е статистически значима. От това следва, че възрастта при пациентите с меланом може да се разглежда като независим прогностичен фактор, като с увеличаването на възрастта към момента на диагностицирането, прогнозата за преживяемост се влошава. Резултатите от топографското разпределение на лезите в таргетните групи, показват че най-голяма част от беннигнените невуси са в областта на главата и шията, най-много атипични невуси са диагностицирани в кожа от корема, следвани от тези на главата и шията. Случаи с малигнен меланом са установени, най-вече в кожата на долните крайници, гърба и гърдите, като според литературни данни локализацията на тумора по долните крайници е с по-добра прогноза в сравнение с локализацията по трункуса, главата и шията. Докторанта изследва дебелината на туморите по Breslow като установява че най-голям относителен дял имат туморите с дебелина - Breslow 4 (58,33%), следвани от Breslow 3 (33,33%). Това изследване е специфичен независим прогностичен фактор с висока значимост, основен критерий за pT-стадирането на кожния меланом. Отлично впечатление създава и проведените комплексни изследвания относно други хистологични показатели неразделна част за правилната диагноза и прогноза, като митотична активност, ниво на инвазия определена по Clark, тумор инфилтриращи лимфоцити. Специално внимание е обърнато на улцерациите, наличие на микросателитни лезии в дермата и хиподермата и регресията на туморите. Приоритетни за нашата страна са и имунохистохимично изследваната експресия на Cyclin D1, p53 protein, BCL2, S100 protein, Ki-67 Melanosime clone HMB45, имащи важно значение в деления цикъл, туморната прогресия, меланоцитната диференциация и туморния произход на пигментните клетки. Доктор Петкова установява, че имунохистохимичните маркери, предсказващи малигнен потенциал при пигментните тумори, изисква използването им в комбинация, като най-добрата комбинация, според резултатите е изследване на трите маркера - Cyclin D1, p53 protein и HMB 45, при които е налице най-висока статистическа достоверност в посока на малигненост. Въведена е и 11-моделна схема за детайлно отчитане на интензитета на експресия и топографското разпределение на експресиращите клетки в тумора, която осигурява точност в интерпретацията и определянето на имунореактивността на всеки един маркер, важен детайл за повишаване сигурността на морфологичната диагноза и диференциалната диагноза, особено при граничните лезии. Резултатите от собствените проучвания са систематизирани, добре представени, онагледени прецизно и статистически потвърдени. Обсъждането на резултатите е изчерпателно. Отлично са съпоставени получените данни, с известните от използваните литературни източници. Подробно са цитирани по-големи проучвания и опита на други изследователи, като резултатите им са сравнени със собствените резултати. Формулирани са 12 **на брой изводи**, които дават представа за извършената научна и изследователска работа във всички етапи на проведените проучвания. **Приносителите** са разделени на оригинални научно-приложни (2бр.) и потвърдителни (4бр.). Принципно приемам посочените от кандидата приноси. Във връзка с дисертационния труд са представени четири

публикации в български научни списания. Авторефератът отговаря на изискванията на закона за развитие на академичните кадри.

### **Заклучение:**

Представеният дисертационен труд на д-р Лиляна Николова Петкова е оригинален и актуален по своето съдържание и интерпретация, методологично правилно разработен, с голям брой проведени изследвания. Проведените проучвания са с научна и практическа насоченост и дават отговор на поставените задачи. Елементи на компилация и плагиатство няма. Той напълно покрива критериите на Закона за развитие на академичния състав в Р. България, правилника за приложението му и правилника за развитие на академичния състав в Медицински Университет Варна, за получаване на научно-образователната степен „доктор“ по научната специалност *патологоанатомия и цитопатология*, шифър 03.01.03. Изтъкнатите достойнства и приноси ми дават основание да дам моята положителна оценка и убедено да го препоръчам за позитивна оценка на уважаемите членове на специализираното научно жури.

Гр. Варна, 24. 01.2022 г.

Доц. д-р Илко Бакърджиев, дм

