

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Радина Стефанова Иванова-Боянова, дмн
УСБАЛЕ „Ак. Иван Пенчев”, Катедра по ендокринология, МФ, МУ-София

относно дисертационния труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор” на д-р Василена Росенова Цветкова, докторант в самостоятелна форма на обучение към Катедра „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология”, Факултет по медицина при МУ-Варна „Проф. Д-р Параскев Стоянов”, на тема „Молекулярни биомаркери при тройно негативни карциноми на гърдата” с научен ръководител проф. д-р Мария Ангелова Цанева, дм.

Предложеният ми за становище дисертационен труд на тема „Молекулярни биомаркери при тройно негативни карциноми на гърдата” на д-р Василена Росенова Цветкова е актуален. Заболеваемостта и смъртността от карцином на гърдата е най-висока сред всички злокачествени заболявания при жените. Карциномът на гърдата се отличава с голямо разнообразие от хистологични видове, които се характеризират с различно биологично поведение, клинична картина и прогноза. Напредъкът в изучаването на биологията и прогнозата на отделните видове карцином на гърдата доведе до създаването на новата молекулярна класификация, която го подразделя на 5 отделни типа - луминал А, луминал В, тип със свръхекспресия на HER2, тип с ниски нива на клаудин и базален тип. Тройно негативният карцином на гърдата (TNBC) или този, при който липсва експресия за естроген, прогестерон и HER2 се включва към групата на базалния тип карциноми, докладваната честотата е около 10-15% и се отличават с агресивно биологично поведение и лоша прогноза, свързана с високия риск от поява на близки и далечни метастази и рецидив за период от 3 до 5 години от поставянето на диагнозата. С нарастване на честотата на карцинома на гърдата в световен мащаб, включително и в България, връзката между развитието и прогнозата на карцинома на гърдата и отделните молекулярни и генетични фактори е обект на усилена дискусия. През последните години е налице засилен интерес в изучаването на тумор инфилтриращите лимфоцити като част от туморната микросреда с цел

изясняване ролята им като прогностичен и предиктивен биомаркер при карцинома на гърдата. Тумор инфилтриращите лимфоцити (TILs) са хетерогенна популация от клетки, които имат различна роля в имунния отговор на организма –някои от тях стимулират имунния отговор срещу туморните клетки, а други - го инхибират. Количествената оценка и имунохистохимичното типизиране на тумор инфилтриращите лимфоцити при тройно негативните карциноми на гърдата би допринесло не само за изясняване на тяхната роля в имунния отговор, но също и за определяне на тяхната прогностичната и предиктивна стойност.

В тази насока е и дисертационният труд на д-р Василена Росенова Цветкова. Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията за структура и обем на Факултета по медицина при МУ-Варна. Написан е на 110 страници и е добре оформен в следните основни раздели: Въведение (2 страници), Литературен обзор (34 страници), Цел и задачи (1 страница), Материал и методи (12 страници), Резултати и дискусия (39 страници), Изводи (1 страница), Приноси (1 страница) и Използвана литература (15 страници). Литературният обзор е посветен на карцинома на гърдата и синтезира състоянието на научното знание към този момент. Д-р Цветкова се спира подробно на хистологичната и молекулярна класификация на карцинома на гърдата, както и на отделните системи за стадирането му. Направен е критичен анализ на литературните данни за отделните клетъчни компоненти на туморната микросреда и тяхната специфична роля в имунния отговор на организма. Особено внимание е отделено на тумор инфилтриращите лимфоцити и техните субпопулации, включващи основно CD8+ цитотоксични лимфоцити, CD4+ и FOXP3+ регулаторни Т лимфоцити. Библиографията съдържа 156 литературни източника, от които само 4 са на български език. Литературната справка е актуална като над 50% от цитатите са от последните 10 години.

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно, а именно да се проучи прогностичната роля на TILs и молекулярните биомаркери CD8 и FOXP3 , както и връзката им с клинично-патологичните показатели и общата преживяемост на пациенти с тройно негативен карцином на гърдата. Определени са 7 задачи, които отговарят напълно на поставената цел. За изпълнението на поставените задачи са проучени общо 244 пациента с диагноза тройно негативен карцином

на гърдата, диагностициран в Онкологичния Институт, Падуа, Италия за периода 2000 –2014 година. При всички пациенти е извършен хистологичен анализ на тумора върху биопсичен или хирургичен материал.

Морфологичната диагноза на тройно негативния карцином на гърдата е поставена според критериите на съвременната хистологична класификация на СЗО. При всички случаи са определени степента на диференциация на тумора според модифицираните критерии от Elston и Ellis, стадият на тумора в съответствие с 18-то издание на системата за стадиране на карцинома на гърдата на Американския раков комитет и клиничният стадий на тумора.

Полуколичествената оценка на TILs е извършена върху препарат, оцветен с ХЕ според препоръки от Salgado и сътр., а пролиферативният индекс на тумора е оценен по ядрената експресия на Ki67. Количественият анализ на имунохистохимичната експресия на MNF-116 (анти-цитокератин антитяло, маркер за туморните епителни клетки), CD8 (маркер за цитотоксични/супресорни Т клетки) и FOXP3 (маркер за регулаторните Т-клетки) е извършен чрез съвременен дигитален софтуер (Visiopharm). Изполваните морфологичните методи на изследване, както и методите за статистически анализ на получените резултати са адекватни на поставените цел и задачи, като са спазени всички условия и правила за провеждането им.

Получени са оригинални резултати, добре онагледени с 30 фигури и 8 таблици. Извършен е подробен анализ на клинично-морфологичните особености на тройно негативния карцином на гърдата. Установено е, че TNBC се среща по-често при жени на възраст над 50 г, предимно във втори клиничен стадий и преобладаване на случаите с инвазивен дуктален карцином от неспециален тип (90%), ниска степен на диференциация на тумора (88%) и висок пролиферативен индекс (85%). Резултатите от количествените анализи на туморната микросреда показват, че висока плътност на TILs, CD8+ и FOXP3+ Т клетки според техните установените *cut off* стойности е налице в 25%, 30% и 50% от всички случаи с TNBC, съответно. Извършените статистически анализи за наличие на връзка между TILs и експресията на CD8 и FOXP3 маркери от една страна и отделните клинично-морфологични показатели от друга откриват, че високите стойности на TILs, CD8 и FOXP3 в туморната тъкан се срещат по-често при жените под 50 г., при случаите с дуктален инвазивен карцином от неспециален тип, метапластичен или медуларен карцином, както и при тези с

ниска степен на диференциация или висок пролиферативен индекс.

Установява се също, че при високи стойности на TILs, CD8 и FOXP3 в туморната тъкан, преживяемостта на пациентите с тройно негативен карцином на гърдата без прогресия е по-висока в сравнение с групата пациенти с по-ниска плътност на TILs, CD8+ и FOXP3+ клетъчни субпопулации. Получените резултати са добре интерпретирани и съпоставени с тези на други автори. В съответствие с натрупаните литературни данни, резултатите на д-р Цветкова показват, че плътността на TILs, както и на CD8+ и FOXP3+ Т клетъчни субпопулации в туморната тъкан има самостоятелната предиктивна и прогностична стойност при пациентите с TNBC. Направените 5 извода отговарят в пълна степен на получените резултати, а посочените приноси са с предимно приложен характер. Като пропуск в извършената клинично-морфологична характеристика на TNBC, бих искала да отбележа липсата на докладвани данни и анализ на нодалния статус (N стадий) на проучените пациенти с TNBC, както и на евентуалната му връзка с плътността на TILs, CD8+ и FOXP3+ Т клетки.

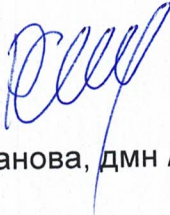
Авторефератът към дисертационния труд на д-р Василена Цветкова отговаря на изискванията на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени на МУ-Варна и отразява основните елементи от изследванията и резултатите в дисертацията.

Във връзка с дисертационния труд, дисертантката има 3 публикации, от които една в чуждестранно специализирано научно списание (Frontiers in Oncology), реферирано в световната база данни (Scopus и Web of science), както и 8 научни съобщения на национални/международни научни форуми. Д-р Цветкова е самостоятелен автор в две от представените публикации и втори автор в публикацията в чуждестранното списание, което е доказателство за водещата ѝ роля в проведените изследвания.

В заключение, дисертационният труд на д-р Василена Росенова Цветкова е напълно завършен, с ясна цел и задачи, получени са оригинални резултати и изводи относно клинично-морфологичната характеристика и предиктивната стойност на плътността на тумор инфилтриращите лимфоцити и техните CD8+ и FOXP3+ Т-клетъчни субпопулации в туморната микросреда на тройно-негативния карцином на гърдата. Той отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав у нас и на условията и реда за придобиване

на научни степени на Факултета по медицина при МУ-Варна. Затова с пълна
убеденост препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури по
провеждане на защитата да дадат положителен вот за присъждане на
образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност
„Патологоанатомия и цитопатология“ на д-р Василена Росенова Цветкова.

03.06.2020 г.


/ Проф. д-р Р. Иванова, дмн /