

РЕЦЕНЗИЯ

**от проф. д-р Ангел Атанасов Ангелов, д. м. н. –
специалност “Патологоанатомия и цитопатология”, МЦ “Света Анна
ЕООД гр. Варна**

**на дисертационен труд за придобиване на
образователна и научна степен „ДОКТОР“ по област на висше
образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално
направление 7.1. Медицина по научната специалност
“Патологоанатомия и цитопатология” Шифър 03.01.03
на тема:**

„ПРОГНОСТИЧНИ И ПРЕДИКТИВНИ ФАКТОРИ ПРИ БЪБРЕЧНОКЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ”

**на д-р Снежана Стоянова Спасова - Няголова
докторант на самостоятелна подготовка
към Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и
деонтология,
Факултет „Медицина” при Медицински университет – Варна**

**Научен ръководител: доц. д-р Петър Иванов Генов, д. м.
Научен консултант: проф. д-р Валентин Христофоров Икономов,
д.м.н.**

Със заповед N: P-109-303 / 29.05.2018 г. на Ректора на МУ Варна съм избран за член на научното жури и съответно със заповед N: P-109-360 / 13.06.2018 г. съм определен за официален рецензент по процедурата за придобиване на образователната и научна степен „доктор” с кандидат д-р Снежана Стоянова Спасова – Няголова.

Кратки данни за професионалното развитие и квалификацията на докторантката:

Д-р Снежана Спасова е родена през 1981 г. Завършила е МУ – Плевен през 2006 г. От 2006 до 2008 г. е работила като педиатър и патолог в МБАЛ – Тутракан. От 2009 година до настоящия момент е асистент в Катедрата по патология – МУ - Варна. От 2013 г. има придобита специалност по обща и клинична патология. Владее английски и френски езици. Има компютърна грамотност и опит в организиране на научни форуми. В продължение на години разработва проблемите на бъбречната патология. Дисертационният ѝ труд е резултат на задълбочени

морфологични изследвания и търсения за изучаване на факторите определящи прогресията на бъбречноклетъчния карцином (БКК).

Актуалност и значимост на темата:

БКК не е между честите злокачествени тумори в човешката патология, но се наблюдава нарастване на честотата му. Той е актуален терапевтичен проблем поради неблагоприятното му протичане, често завършващо със смърт. Този най-чест злокачествен тумор на бъбреците всъщност представлява хетерогенна група от тумори с различна генетична основа, хистогенеза и диференциация, което е в основата и на различното им биологично поведение.

Дисертационният труд на д-р Снежана Стоянова Спасова – Няголова е посветен на актуален проблем с практическо значение, а именно - изучаването на връзката между морфологията и биологията на БКК. Този труд е илюстрация на новите тенденции в съвременната патология за свързване на морфологичните показатели с биологичното поведение, за търсене и определяне на различни фактори и сигнални пътища влияещи върху ангиогенезата, прогресията и метастатичния потенциал на злокачествените тумори. Известните резултати от клинично-морфологични и имунохистохимични изследвания на БКК са противоречиви. Това се отнася в още по-голяма степен за редица нови молекули, имащи отношение към процесите на ангиогенеза и пролиферативна активност.

Достатъчният по обем материал, умело подобрите прогностични морфологични белези и определянето на експресията на невропелин и Yes-асоцииран протеин (YAP), които са обект на настоящето проучване, позволяват да бъдат направени съществени приноси относно биологичното поведение и прогресията на БКК.

Структура на дисертационния труд:

Дисертационният труд на д-р Спасова е оформен според изискванията на 142 страници и е онагледен с 16 таблици и 43 фигури. Дисертацията е с добре балансирана структура и включва съдържание (3 стр.), използвани съкращения (1 стр.), въведение (2 стр.), литературен обзор (35 стр.), цел и задачи (1 стр.), материал и методи (8 стр.), собствени резултати (35), обсъждане (21 стр.), заключение (2 стр.), изводи и приноси (4 стр.) и литература (29 стр.).

Библиографията съдържа общо 221 източника, от които 3 на кирилица и останалите на латиница. От тях 23 % са публикувани през последните 5 години, а общо 60 % през последните 10 години.

Авторефератът е с обем 48 стр. в него са включени 43 фигури и 16 таблици. Той е добре структуриран и илюстриран. Отразява достатъчно добре съдържанието на дисертационния труд.

Литературен обзор:

Литературният обзор е структуриран в 8 глави и показва много добра осведоменост на докторантката по проблема. Накратко са разгледани епидемиологията, етиологията, рисковите фактори и морфологичната характеристика на БКК. Особено внимание е обърнато на морфологичните белези с прогностично значение като степен на диференциация, туморна некроза, саркоматоидна компонента и прорастване в бъбречната вена. Накратко е разгледано съвременното състояние на антиангиогенната терапия и е аргументирана необходимостта от изясняване на механизмите на ангиогенезата при БКК.

В отделна глава подробно са разгледани структурата и функцията на VEGF и на невропилините, както и ролята им в ангиогенезата при различни солидни тумори и конкретно при БКК. Изтъква се, че преживяемостта от БКК е значително по-ниска при свръхекспресия на невропилин в туморната тъкан. Това е предпоставка за търсене на пътища и средства за потискане на невропилините и за създаване на нови противотуморни средства.

Следващата глава е посветена на Hippo-сигналния път и на ролята на Yes-асоциирания протеин (YAP за прогресията на БКК. Чрез Hippo-пътя се осъществява негативна регулация на транскрипционния ко-активатор Yes-асоцииран протеин и на транскрипционния ко-активатор свързан с PDZ (TAZ). Регулацията на активността на Hippo-пътя е комплексна и зависи, както от междуклетъчните контакти, клетъчният поляритет, състоянието на актиновия цитоскелет, така и от широк спектър от енергийни, механични и хормонални сигнали. Нарушената регулация на Hippo-пътя води до абнормен клетъчен растеж, респективно към неоплазия. Хипоксията води до изключване на Hippo-сигналния път в туморните клетки и до активиране на YAP. Изтъква се важната роля на ядрената и цитоплазмена свръхекспресия на YAP за ниската диференциация и склонността към метастазирание при различни злокачествени тумори. Ролята на YAP в прогресията на БКК все още не е напълно изяснена. Получените резултати са върху малки серии от БКК и не са еднозначни. Това е достатъчно основание за нови търсения и изследвания по проблема.

В кратко заключение са посочени съществуващите противоречия по отношение на връзката на морфологията на БКК с туморната диференциация и метастатичен му потенциал. Убедително е обоснована необходимостта от продължаване на проучванията в тази област с оглед

откриване на различни сигнални пътища на туморната прогресия и разширяване на възможностите за включване на антиангиогенна терапия.

Цел и задачи:

Д-р Спасова формулира основната цел на дисертационния си труд като логично продължение на изводите направени въз основа на литературния обзор, а именно „да се оцени ролята на определени клинично-морфологични показатели и на експресията на YAP-1 и Neuropilin-1 при пациенти с БКК с оглед значението им като прогностични и предиктивни маркери”.

За постигането на тази цел са поставени 5 основни задачи, които уточняват пътищата за реализирането ѝ. Те са правилно формулирани и изпълними.

Материал и методи:

Изследваният материал е достатъчен за постигане на целта и изпълнение на поставените задачи. Той включва две групи.

Първата група се състои от 98 болни с БКК, при които с образни изследвания не са открити метастази. При хистологичното изследване на биопсичните материали е направена оценка на редица основни морфологични показатели, за които се предполага, че имат прогностична стойност.

Втората група се състои от 50 болни с БКК в метастатичен стадий. Оценявани са същите морфологични показатели, както в първата група. Освен това в тази група е определяна експресията на YAP-1 и Neuropilin-1.

За осъществяване на проучването са използвани адекватни морфологични и имунохистохимични и статистически методи. При всеки пациент са определяни степен на диференциация по четиристепенната скала на Fuhrman, саркоматоидноклетъчна компонента в две категории, ангажиране на бъбречната вена и площ на некрози в четири категории.

Подробно са описани имунохистохимичните методи, произхода на използваните антители и визуализиращата система, както и имунохистохимичния протокол.

Експресията на Neuropilin-1 е определяна на 10 полета. Същите са сканирани с последващ анализ на сканираните образи. Оценката е полуколичествена чрез използване на histo-score, като мембранната интензивност е определяна в четиристепенна скала (от 0 до 3). Накрая H-score е изчислен по формула, в която тежестта на всяка група нараства с увеличаване на интензивността на експресията. Така тежестта на пула от клетки с 1+ има три пъти по-малка тежест от пула от клетки с 3+. Крайният скор е разделен според медианата на пробите.

Експресията на YAP-1 е отчитана полуколичествено, като са оценявани по отделно броя на позитивните клетки (респ. ядра) и интензивността на оцветяването, които са сумирани в общ скор.

За интерпретация на данните е проведен статистически анализ с използване програмен продукт MS Excel 2016 и статистическа програма MedCalc Version 18.2.1 за Windows. Приложени са дескриптивен анализ, корелационен анализ, анализ на преживяемостта, сравнителен анализ за оценка на хипотези при допустимо ниво на значимост $p < 0,05$. Приложените статистически методи са адекватни за използваните цели. Графичното и таблично изобразяване на статистическите данни е осъществено с помощта на Microsoft Office 2016.

Резултати и обсъждане:

Разделът „Резултати” е представен в две основни глави съответстващи на двете изследвани групи пациенти. всяка от тези глави съдържа по 6 раздела. Двете основни глави са адекватно структурирани и следват логическата последователност определена от поставената цел и задачи за изпълнение.

Обсъждането на резултатите следва същия ред по който те са първоначално представени. То включва три основни раздела: сравнителен анализ на клинично-морфологичните показатели с определяне на прогностичното им значение, особености на метастатичното разпространение на БКК и прогностично значение на Neuropilin-1 и YAP-1 при метастатичен БКК.

Най-съществените резултати могат да бъдат резюмирани по следният начин:

Проучени и анализирани са основните клинично-морфологични показатели при БКК без метастази. Потърсена е корелация между големината на тумора, степента на диференциация, наличието на саркоматоидна компонента и на прорастване на бъбречните вени от една страна с честота на развитие на туморни некрози от друга. Доказва се, че статистически значима връзка има единствено между големината на тумора и наличието на некрози.

Анализът на същите показатели при метастатичен БКК показва, че при него по-често се наблюдава висок ядрен грейд, некрозите не само са по-чести, но и са по-обширни, туморни емболи в бъбречните вени се откриват значително по-често и саркоматоидна компонента е налице при почти в половината от изследваните случаи.

Потърсена е кростабулационна зависимост между ядрения грейд по Fuhrman и другите морфологични показатели, при което такава зависимост се установява само с големината на тумора и наличието на саркоматоидна компонента.

Интересно и от практическа важност е съпоставянето на основните морфологични параметри при неметастатичен и метастатичен БКК. Установява се статистически достоверна зависимост между големината на тумора, степента на диференциация, наличието на туморни емболи в бъбречните вени и наличието на метастази.

Специално внимание е отделено на определянето на факторите определящи преживяемостта на болните с БКК. Ниската преживяемост е свързана с по-големи размери на тумора (TNM), ниска степен на диференциация и наличие на саркоматоидна компонента. Тази зависимост е логична, но трябва да се приеме с известна предпазливост поради сравнително малкият брой случаи (N = 50).

При непараметричният анализ се намира, че пациенти с високи нива на NP-1 и YAP-1 имат статистически значима по кратка обща преживяемост, от тези с ниска експресия в тумора (съответно $p = 0,03$ и $p < 0,05$). От друга страна не се установява, статистически значима корелация между експресията на NP-1 и TNM-стадия, туморните некрози, ядрения грейд, саркоматоидната компонента и наличието на белодробни метастази. За YAP-1 такава връзка има само с наличието на саркоматоидна компонента. Съпоставянето на експресията на NP-1 и YAP-1 в туморните клетки показва, че в 46 % се наблюдава ниска и в 36 % висока експресия едновременно на двете антители. Не се интерпретира малката група от 9 пациенти (18 %) при която явно няма съответствие в експресията на двете антители. При внимателен анализ и сравняване на всички тези резултати е видимо вътрешно противоречие. Очевидно е, че проблемът за определяне прогностичната тежест на всеки отделен показател е твърде сложен, за да бъде решен с едно единствено изследване. Тази констатация се потвърждава и от задълбоченият анализ направен от докторантката в обсъждането, където тя изтъква различията и противоречията между получените резултати и тези на други изследователи. Това е основание за продължаване и разширяване на проучването с изследване на по-големи групи и включване на група с определяне на NP-1 и YAP-1 при неметастатичен БКК, както и прилагане на многофакторен анализ.

В резултатите метастатичното разпространение на БКК е представено в табл. 13 като се обръща внимание на белодробните метастази като неблагоприятен по отношение преживяемостта фактор. В обсъждането проблемът за метастазирането на БКК е подробно анализиран с акцент на изучаване биологията им и възможностите за индивидуален терапевтичен подход. Безспорно се доказва, че повишената активност, респ. високата експресия на NP-1 и YAP-1 в туморната тъкан увеличава риска за неблагоприятен изход (табл. 16). Тези резултати могат да бъдат отправна точка при търсене на нови възможности при таргетната антитуморна терапия.

В заключението д-р Спасова в синтетичен вид формулира основните рискови профили на пациентите с неметастатичен и метастатичен БКК. Същевременно тя има критично отношение към получените резултати и изтъква, че въпреки сериозният напредък в изясняване на сложните взаимодействия на участващите в ангиогенезата и клетъчната пролиферация молекули, все още има много неизвестни, което е и предпоставка за продължаване на проучванията в тази насока.

Изводи:

Изводите отговарят на поставената цел и задачи. Добре са формулирани и логично изведени от получените резултати. Приемам ги така, както са представени.

Приноси:

Приемам научните приноси с оригинален характер, а именно:

Направен е сравнителен анализ на морфологичните показатели при неметастатичен и метастатичен БКК.

Осъществени са изследване и задълбочен анализ на експресията на NP-1 и YAP-1 при метастатичен БКК и връзката им с другите морфологични показатели.

Считам, че приносите с научноприложен характер след допълнителни изследвания и адекватно тестване могат да намерят приложение в практиката.

Критични бележки:

1. На места в текста се намират лексически неточности или се употребяват стилово неподходящи термини и чуждици, които имат еквивалент в българския език. Например „интензивност на туморните некрози” „интензивни”, вместо правилния израз „разпространени” некрози (стр. 56); cut off – стойност – български еквивалент „гранична стойност” (стр. 50). В последния случай английската дума (cut off value) може да се даде в скоби.
2. Не е посочен източникът на използваната формула при изчисляване на H-score за определяне експресията на NP-1, както и критериите, според които тя позволява адекватна оценка.

Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд:

Във връзка с дисертационния труд д-р Спасова представя три пълнотекстови публикации в български списания и сборници и три участия в научни форуми. Във всички тях докторантката е първи автор. Научната активност е достатъчна според изискванията, но считам, че дисертантката има непубликуван материал по темата, който позволява нови публикации и съобщения на научни форуми.

Заключение:

Дисертационният труд на д-р Снежана Стоянова Спасова - Няголова представлява завършена научно изследователска разработка посветена на един от актуалните проблеми от туморната патология – определяне на прогностичните и предиктивни фактори при бъбречноклетъчния карцином. Той е резултат на добре планирано и задълбочено проучване. Оригинален е като замисъл и отлично изпълнен. Той е нейно лично дело и демонстрира много добра литературна осведоменост и умение за критична интерпретация на резултатите. Направени са оригинални приноси, които са основа за по-нататъшно проучване на проблема. Отправените забележки не намаляват стойността на работата, те са по-скоро насочени към изпълнението на бъдещи научно изследователски проекти на докторантката.

Дисертационният труд отговаря на напълно изискванията на Закона за развитие на Академичния състав на Република България и Правилника за развитие на Академичния състав на МУ – Варна за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”. Това ми дава основание да дам моята положителна оценка и убедено да предложа на уважаемото научно жури да гласува положително за присъждане на образователната и научната степен „Доктор” на д-р Снежана Стоянова Спасова - Няголова.

03 септември 2018 г.

Рецензент:

Варна

проф. д-р Ангел Атанасов Ангелов, д. м. н.