

Становище

от

Доц. д-р Илко Георгиев Бакърджиев, дм

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

върху дисертационния труд на д-р Ина Георгиева Кобакова, на тема ”Клинико-морфологични характеристики, хистотипизация и корелацията им с някои молекулярни маркери при кожен меланом”, 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 № 40/09.10.2017 и 41/30.10.2017 и със заповед № Р- 109-385/09.11.2017 на Ректора на МУ-Варна съм избран за член на научното жури, а със заповед № Р-109-414/ 30.11.2017 съм определен да изготвя становище, по процедура за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ на д-р Ина Георгиева Кобакова, докторант в самостоятелна 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 164 стандартни машинописни страници разпределени както следва: съдържание и съкращения 6 стр., въведение 2 стр., литературен обзор- 45 стр.,закл. (обзор) - 2 стр., цел и задачи- 1 стр., материал и методи- 10 стр., резултати и обсъждане - 60 стр., изводи – 2 стр. , приноси- 2 стр. Онагледен е с 49 цветни фигури и 36 таблици. Библиографския списък съдържа 240 литературни източници, 7 на кирилица и 233 на латиница.

Малигненият меланом е злокачествен тумор от меланоцитен произход с изключително неблагоприятна прогноза, като честота му в световен мащаб непрекъснато нараства. С оглед определяне поведението на тумора все повече се търсят нови маркери за изясняване биологията на новообразованието. Литературните данни относно корелацията между резултатите относно имунохистохимичното изследване, молекулярния статус и прогностичните параметри при кожен меланом са противоречиви, като съпоставимостта им получена от отделните автори е затруднена. Предвид противоречията в проблемния кръг, неяснотата относно заболяемостта, влошеното качество на живот и смъртността от кожен меланом и неголемият брой клинико-морфологични изскедвания в България върху това заболяване, 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 9 правилно формулирани задачи.

Материал и методи са методологично правилно разработени върху достатъчен клиничен контингент. Обект на настоящото проучване са три групи болни. Първата група се състои от регистрираните болни на територията на страната в интервала 1980-2013г., като е извършен ретроспективен анализ. Данните за стандартизирана заболяемост и смъртност (световен стандарт) от меланом на кожата на 100 000 души за някои от годините през периода 1980-2013г. са снети от съответните таблици в „Заболяемост от рак в България, 2013“ (София, 2015) , ежегодно издание на Националната болница по онкология, София. Втората група се състои от 452 пациента с кожен меланом, представляващи всички болни отразени в базата-данни на СБАЛОЗ „Д-р М. Марков“- Варна през периода 2007-2016 г., за които са анализирани основните статистически показатели за заболяемост и смъртност.

Третата група се състои от 50 пациента с кожен меланом. От тях при 27 пациенти е извършен BRAF-мутационен тест в Лабораторията по молекулярна патология към Клиниката по обща и клинична патология, УМБАЛ „Св. Марина“-Варна. Лезиите при тези пациенти са определени като първични, метастатични или рецидивиращи. Останалите 23 пациента са без извършен мутационен тест и представляват еднородна група с първичен кожен меланом. Диагностицирани са в СБАЛОЗ „Д-р Марко Марков“-Варна през периода 1.1.2016 г. - 1.2.2017 г. Материалите от всеки от пациентите са изследвани и обработени по стандартния парафинов метод. При пациентите с неизвестна първична локализация на тумора е взет за изследване материал от метастаза. Всеки от материалите е фиксиран в 10% неутрален буфериран формалин за 18-24 часа и включен в парафин с точка на топене 52 - 54 градуса с цел изготвяне на парафиново блокче. Така изготвените материали са изследвани хистологично (наличие на некроза, улцерации, брой митози на поле с най-високо увеличение x 400, тумор инфилтриращи лимфоцити, дебелина на лезията измерена чрез вертикален туморен растеж по скала на Breslow) и имунохистохимично (пет вида моноклонални антитела – анти-BRAF антитяло, анти- CD117 антитяло, анти- CD3 антитяло, анти-HMB45 антитяло, анти-VEGF антитяло. Методите на изследване са подбрани съобразно поставените задачи и са много добре прегледно описани и информативни. Използвани са клинични данни, хистологично, имунохистохимично и молекулярно изследване. Молекулярно профилиране на туморите е извършено чрез екстракция на ДНК изолирана от парафинови блокчета. Приложени са следните методи на статистически анализ: дескриптивни, непараметричен и параметричен анализ, мултифакторен регресионен анализ, t-test анализ. Използвани са и програми за статистически анализ- IBM, SPSS v. 23. Резултатите са представени таблично чрез програма Microsoft Excel v. 2010.

Резултатите и обсъждане

Резултатите от проучването на заболяемостта и смъртността от кожен меланом в България показва неблагоприятна тенденция за нарастване през последните години, особено при мъжете. Докторантката установява, че броя на смъртни случаи с кожен меланом, регистрирани в СБАЛОЗ „Д-р М. Марков“-Варна през 2007- 2016 г. показват статистически значима разлика ($t=3,847$; $p=0,004$), т.е. постепенното нарастване на смъртността през годините е прогресивна тенденция. Проведеното проучване на заболяемостта и смъртността от кожен меланом във Варненска област за периода 2007-2016 г. е първото по рода си в България. Тези данни напълно съвпадат със световните тенденции и с тези за страната, като засвидетелстват още веднъж агресивния характер и неблагоприятната прогноза на тумора. При разпределение на изследваните пациенти според клинично-морфологичния субтип на лезията се установява, че най-често срещаният вариант е нодуларен меланом (40%, $n=20$), следван от суперфициално разпространяващия се меланом (22%, $n=11$) и от метастатичния меланом с неясна първична локализация (20%, $n=10$). Интересно е определянето на връзката между експресията на анти-BRAF антитяло и туморната дебелина, измерена според скалата на Breslow, с оглед използване на антитялото при диагностиката на кожния меланом. Резултатите от изследването показват, че е налице положителна корелация между анти-BRAF антитяло и дебелината на лезията по Breslow ($r=0,433$, $p=0,005$). Високата експресия на анти-BRAF антитяло, корелира с III-та и IV-та степен на вертикален туморен растеж по Breslow. По-голямата дебелина корелира с по-висока експресия на анти-BRAF антитяло. Тези данни съвпадат с тези на L. Schirosi и съавт. (2016). Този факт сугестира за по-задълбочено проучване на анти-BRAF антитяло с цел потенциалното му приложение в диагностиката и прогнозирането на поведението на меланоцитните лезии. По отношение на молекулярното изследване за BRAF V600 мутации спрямо отделните възрастови категории, резултатите от кростабулационното разпределение на данните показват, че по-голямата част от пациентите са с установена мутация (70,4%), като най-много са в групата пациенти на възраст 61-70 години (29,6%). Резултатите от корелационния анализ установяват обратна асоциация между възрастта и мутационния статус на пациентите ($r=-0,495$; $p=0,009$). Интерес в изследването представлява процентното съотношение между болните с и без мутация в рамките на един и същи възрастов интервал. С напредване на възрастта вероятността да се открие мутация значително намалява. Приоритетни за нашата страна са изследваните от дисертантката мултифакторен регресионен модел на параметрите митози, улцерации, некрози и ТИЛ спрямо експресията на анти-BRAF антитяло, както и мултифакторен регресионен модел на параметрите субтип, пол и възраст спрямо експресията на същото анти-BRAF антитяло, които могат да бъдат приложени в клиничната практика. В настоящата работа са анализирани и взаимовръзките между анти-BRAF антитяло с анти-CD 117 антитяло, което показва значима обратна корелационна връзка ($r=-0,311$; $p=0,028$). Резултатът потвърждава наблюденията, че експресията на анти-BRAF антитялото се увеличава с намаляване на експресията на анти-CD 117 антитялото. От друга страна, при силно позитивна реакция на анти-CD 117 антитяло има малък процент на пациенти със силно позитивна реакция на анти-

BRAF анти тяло (6%), докато при отрицателна и слаба експресия на анти-CD 117 анти тяло се наблюдава голям брой пациенти с силно позитивна реакция на анти-BRAF анти тяло (56%). Имунохистохимичната реакция с маркер анти-CD 117 анти тяло би могла да служи като предиктор за мутационен статус относно BRAF V600E мутация. В достъпната литература не е изследвана такъв тип взаимовръзка, която би била полезна и лесно приложима в рутинната практика. Резултатите от собствените проучвания са систематизирани, добре представени, онагледени прецизно и статистически потвърдени. Отлично впечатление създава разработеният алгоритъм за диагностициране на кожен меланом, който може да послужи за подобряване на ефективността на патологоанатомичните звена. 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 10 на брой **изводи**, които дават представа за извършената научна и изследователска работа във всички етапи на проведените проучвания. **Приносите** са разделени на оригинални (5 бр.) потвърдителни (4 бр.) и научно-приложни (2 бр.). Във връзка с дисертационния труд са представени четири публикации и три участия в научни форуми. Авторефератът отговаря на изискванията на закона за развитие на академичните кадри.

Заклучение:

Представеният дисертационен труд на д-р Ина Георгиева Кубакова е оригинален и актуален по своето съдържание и интерпретация, правилно разработен, с голям брой проведени изследвания. Проведените проучвания дават отговор на поставените задачи. 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“ . 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, 05.02.2018 г.

Доц. д-р Илко Бакърджиев, дм

