

СТАНОВИЩЕ

от **Доц. д-р Веселин Тодоров Беловеждов, дм**

Катедра по обща и клинична патология,
Медицински университет - Пловдив

в качеството ми на председател на научно жури въз основа
на заповед Ректора на МУ – Пловдив № Р- *19 10801*. 2021 г.

относно дисертационен труд на тема

„ИМУНОМОРФОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ НА УРОТЕЛНИТЕ

КАРЦИНОМИ НА ПИКОЧНИЯ МЕХУР”,

за присъждане на ОНС “Доктор”

с автор **Д-р Милена Гулинац,**

Научен ръководител: **Доц. д-р Дориян Иванчев Диков, дм,**

Катедра по обща и клинична патология,

Факултет по медицина, МУ – Пловдив

За конкурса са депозираны материали на хартиен и електронен носител - дисертационен труд, автореферат, биографични и професионални данни, административни документи, копия от публикации от Д-р Милена Гулинац.

Д-р Милена Гулинац е родена на 30.04.1986 г. След приключване на средното си образование в гимназия с медицински профил тя завършва магистърска степен, специалност - медицина в Медицински Университет – Пловдив през 2011г. Професионалната си кариера д-р Гулинац започва като специализант по патология в УМБАЛ “КАСПЕЛА“ - Пловдив, където е базата и за практично обучение, а за теоретично – Катедрата по патология на МУ - Пловдив. От 2013 г. до 2020 тя работи в отделението по патология на УМБАЛ „Св. Георги“ -Пловдив, а от 2016 г. паралелно и в болницата в Асеновград и като асистент в Катедрата по „Обща и клинична патология” при МУ – Пловдив като води упражнения на студенти по медицина, дентална медицина и фармация на български и на английски език.

През 2016 г. д-р Гулинац придобива специалност по обща и клинична патология. Тя владее сърбохърватски и английски езици и е член на Българското дружеството по

патология, на Европейското дружество по патология, на Съюза на учените в Пловдив и на БЛС.

Дисертационният труд на д-р Гулинац е посветен на уротелния карцином (УК). Този тумор заема 7-о място сред най-честите малигнени заболявания в света и същевременно представлява най-честото онкологично заболяване на отделителната система и втората по честота неоплазма на урогениталната система характеризиращо се със склонност към рецидиви и специфичен ход на развитие. Усложненията, които причинява УК влошават качеството на живот на боледуващите от този тумор. Тези данни определят актуалността на дисертационния труд посветен на изследването на имуноморфологични аспекти на УК.

Важно място в дисертацията заемат изследването на PD-L1 в тумора и на гигантските многоядрени клетки, които се откриват при него. Това са съществени иновативни изследвания, посветени на една нова методика със съществено значение за лечението и на класически морфологичен феномен, което подчертава разностранните възможности на патологията като медицинска специалност и умението на дисертантката да ги прилага.

Представеният дисертационен труд е съобразен с изискванията за структура и обем на такива разработки съпоставими със изискванията на МУ - Пловдив. Дисертацията е написана на 153 страници и включва следните основни глави: заглавие и съдържание (2 стр.), използвани съкращения (2 стр.), въведение (1 стр.), литературен обзор (28 стр.), цел и задачи (1 стр.), материали и методи (13 стр.), резултати (52 стр.), обсъждане (25 стр.), изводи (2 стр.), приноси (5 стр.) и литература - 18 стр. включваща 157 заглавия, 8 от които на български език, а останалите на английски, значителна част от които от последните 10 г. Тя е онагледена е с 37 микроскопските фотоснимки, 25 фигури и 10 таблици.

Литературният обзор е добре структуриран и изчерпателен. В него са посочени най-важните проблеми свързани с епидемиологията, честотата, етиологията, патогенезата и клиничната симптоматика на УК. Описани са видовете карциноми, морфологичните варианти и съвременните правила за стадирание и третиране на тумора.

Особено внимание е отделено на ролята и мястото на PD-L1 рецептора, който дава възможност на туморните клетки да инхибират цитотоксичните Т - лимфоцити и да

блокират ефективния противотуморен имуен отговор. За да бъде възстановен ефективният противотуморен имуен отговор се работи по синтез на чекпойнт инхибитори – медикаменти, които блокират и „разкъсват“ взаимодействието между PD-1 и PD-L1, водейки до възстановяване на пълноценния противотуморен имуен отговор.

Отделено е внимание и на един не добре изяснен феномен като наличието на моно- или многоядрени гигантски мезенхимни стромални клетки в норма и патология.

Въз основа на обзора са формирани изводи, които подчертават, че е налице липса на информация в родната литература относно експресията на PD-L1 при УК на пикочния мехур; в световната литература тези проучвания също не са многобройни и биха били интересни корелационните статистически изследвания на тази експресия, на PD-L1 при УК на пикочния мехур. Също така е оценено правилно, че много слабо е изследвано до момента наличието на гигантски многоядрени клетки в мехурната лигавица и в стромата на пикочния мехур при УК, както и техния ИХХ фенотип.

Така обзорът логично насочва към целите и задачите на дисертационния труд.

Целта е да се изследват епидемиологичните, морфологичните и някои имуохистохимични особености на УК – със специално насоченост към експресията на PD-L1 и на имуофенотипа на гигантските клетки в туморната строма, с определяне на диагностичната и прогностичната стойност на горепосочените показатели в съпоставка с хистологичната диференциация и туморния стадий.

Във връзка с целта, която намирам за правилна, са поставени 5 задачи, формулирани точно и конкретно, като накратко те изискват да се изследват епидемиологичните особености на УК на двете групи пациенти, хистологичният вариант, туморния стадий, хистологичната диференциация, PD-L1 експресията в УК, корелация на получените резултати с пола и възрастта на пациентите, със стадия, с хистологичния вид и грейдинга, и проучване на морфологията на гигантските клетки в стромата на УК.

За решаването на поставените задачи са използвани материали от 3021 случая на пациенти, български граждани, от които 2758 (91.3%) са с нетуморна патология и 263 (8.7%) – с неопластични заболявания, и 518 случая на пациенти, френски граждани от които 386 (74.5%) са с нетуморна патология и 132 (25.5%) – с неопластични заболявания. Те са ретроспективни и текущи урологични материали от пикочен мехур

(биопсии и ГУР) от Отделението по клинична патология на УМБАЛ „Св. Георги“ ЕАД – Пловдив, и отделението по патология на Grand Hôpital de l'Est Francilien, Jossigny, Франция, за период от 4 години (2016 – 2020 година). Бройката е достатъчна и считам, че дава основание за обективност на получените данни.

Използваните методи – конвенционално хистологично изследване, хистохимия, имунохистохимия, включително за изследване за PD-L1 експресията и статистическите методи - Software, package for statistical analysis (SPSS®), IBM 2009, версия 19 (2010) – приемам за достатъчно надеждни за получаване на коректни резултати.

В раздела за резултатите се посочва, че честотата на УК в българската популация е 8,7 % , а във френската 74,5%. Най-често засяганите възрастови декади са 6-о и 7-о десетилетия. Над 70 % от пациентите са мъже. Класическият уротелен карцином е преобладаващият хистологичен вид – 86,7 %; 26,7 % са неинвазивни карциноми (pTa), 44,8 % инфилтрират лигавичния хорион, останалите инфилтрират мускулния детрузор. По отношение на диференциацията – 29,5 % са високо диференцирани УК, 35,2 % - умерено диференцирани и 35,2% - с ниска диференциация. Данните от гл. т. на класификацията от 2016 г. показват, че 40 % са нискостепенни, а 60 % високостепенни. PD-L1 позитивни са 28,8 % от случаите, по често те се наблюдават при мъже, 30 % от позитивните случаи са при класически уротелен карцином, хистологично, следва този с плоскоклетъчна диференциация; експресията нараства синхронно със стадия и инвазивността и се наблюдава главно в инфилтративни тумори. Наличие на гигантски стромални клетки съчетани с УК се установява в 35,6 % от случаите (двете популации), само в българската – 67,6 %, по-често при високостепенни УК (умерено диференцирани – 45,9 %), предимно при стадий pT1 (43,2%) . Те са негативни при оцветяване по Perls и ИХХ демонстрират мезенхимна, миофибробластна диференциация, като експресират и макрофагеален маркер (CD 68) и маркер за клетъчна дегенерация (p16).

В главата „обсъждане“ е направен коментар на резултатите в паралел с други подобни изследвания. Установява се, че карциномът на пикочния мехур е мултифакторно заболяване, характеризиращо се с агресивен ход и чести рецидиви. През последните 2 – 3 години обаче се наблюдава качествено нов етап в лечебния подход, обхващащ освен утвърдените стандартни методи като химиотерапия и хирургия, така и използването на имунотерапия. Последната се основава на ИХХ изследване на експресията на PDL-1. По отношение на епидемиологичните данни се

посочва че няма значителни отклонения от тези на други автори публикувани в българската или световната литература. Прави впечатление обаче драстичната разлика между процента на диагностицираните УК в българския контингент пациенти (8,7 %) и френския (74,5 %). Според авторите това може да се обясни с различната диагностично-терапевтична стратегия. Аз бих добавил и с нивото на профилактичните мероприятия и с постиганите резултати в доболничната помощ.

По отношение на хисто-епидемиологичното проучване резултатите не се различават от други научни проучвания - най-висока е честотата на класически вариант на УК, преобладаваща част от първично диагностицираните УК на пикочен мехур заемат туморите с инвазия в ламина проприя (pT1) – 44.8%, следвани от неинвазивни УК (pTa) –26.7%, преобладаващата част от пациентите и за двата пола (45.2%) са диагностицирани за първи път в T1 стадий, случаите с умерено и ниско диференцирани карциноми (G2 и G3) преобладават поравно над високо диференцираните (G1). Високостепенните (HG) УК на пикочния мехур са по-чести в сравнение с нискостепенните (LG) УК и за двата контингента пациенти, експресията за PD-L1 в туморни клетки не се различава значимо от тази при други изследвания (28.8%), което подсказва, че методиката и оценката се прилагат адекватно. Стромалните клетъчни промени са неспецифични. Гигантските клетки в стромата на УК на пикочния мехур и в околната ламина проприя се намират по-често при френския контингент пациенти; в преобладаващия част от случаите се установяват при УК с висока степен на малигненост; между стадия на УК на пикочния мехур и наличието на гигантски многоядрени клетки няма статистически значима разлика. PD-L1 се експресира в 28.8% от случаите с УК на пикочния мехур по-често у мъжете на възраст между 50 и 80 години. Експресията на PD-L1 е по-честа при инвазивните високостепенни (HG) УК на пикочния мехур.

На финала на работата са оформени 7 извода отговарящи и основаващи се на получените резултати. По-съществените от тях са: УК на пикочния мехур е относително често срещано злокачествено туморно заболяване, засягащо по-често мъжете около 70-годишна възраст, най-често е от класически (конвенционален) тип; останалите хистологични варианти имат по-агресивен ход на развитие. Хистологичният **грейдинг на УК на пикочния мехур в момента на първоначалното му диагностициране** от патолога е по-често с висок (G2-G3 по СЗО 1973; висока степен на малигненост по СЗО, 2016). Гигантските клетки в стромата на УК на пикочния мехур се установяват в

35.6% от случаите, по-често при УК с висока степен на малигненост (HG). Те показват едновременно мезенхимен, миофибробластен и макрофагеален имунофенотип. Морфогенезата им отразява феномен на клетъчно сливане в условията на хроничен тъкънен стрес.

Представеният научен труд съдържа приноси с оригинална и потвърдителна стойност, като бих искал да подчертая тези, които считам, че са особено важни :

За първи път се прави: системно количествено проучване със статистически анализ на основните епидемиологични показатели на УК на пикочния мехур с елементи на географска патология, системно количествено хисто-епидемиологично проучване със статистически анализ на основните морфологични показатели на УК на пикочния мехур: хистологичен вариант и туморен стадий, съпоставени в контекста на последните редакции на хистологичната класификация и на TNM системата; на хистологичния грейдинг на УК на пикочния мехур в сравнителен аспект (съгласно двете използвани системи – СЗО 1973 и СЗО 2016).

За първи път в родната литература се прави системно ИХХ проучване със статистически анализ на експресията на PD-L1 в УК на пикочния мехур в корелация с хистологичния грейдинг и с хистологичния вариант на УК на пикочния мехур, както и статистически анализ на експресията на PD-L1 в корелация с TNM стадия.

За първи път в литературата се прави системно хисто-епидемиологично проучване със статистически анализ на гигантските клетки в стромата на УК, ИХХ проучване на същите и детайлизиран и комплексен диагностичен и диференциално-диагностичен алгоритъм за гигантските клетки в туморен и нетуморен контекст и отдиференциране на пато- от морфогенезата на тези клетки в стромата на УК.

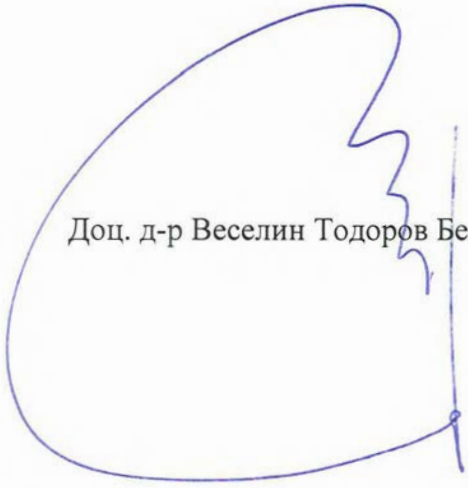
Данните от дисертацията са представени в три научни публикации, двете в чуждоезични списания, и в две научни съобщения. Във всички д-р Гулинац е първи автор, а в две и единствен, което показва ангажираността и при изготвянето на работата.

Представената ми за становище дисертация е много добре оформена работа **написана на добър и разбираем стил**. Тя е прилежно изготвен научен труд, който свидетелства за добро познаване на материята и за вложен упорит труд от дисертантката. В нея се съдържа достатъчно качествена информация, която дава

основание за позитивна преценка. Считам, че работата на д-р Гулинац е напълно завършена, съдържа оригинални резултати и такива с практическа значимост. Тя отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в България и на условията и реда за придобиване на научни степени в МУ - Пловдив.

Затова давам своята позитивна оценка, ще гласувам за, а и си позволявам да препоръчам и на членовете на уважаемото Научното жури да подкрепят присъждането на образователната и научната степен “Доктор” на д-р Милена Гулинац.

15.01.2021 г.



Доц. д-р Веселин Тодоров Беловеждов, дм