

СТАНОВИЩЕ

от
доц. д-р Веселин Т. Беловеждов, дм
Катедра по обща и клинична патология, Медицински университет - Пловдив

*в качеството му на член на научно жури въз основа
на заповед Ректора на МУ - Варна № Р-109-136 / 30.03. 2020 г.*

относно дисертационен труд на тема

„МОЛЕКУЛЯРНИ БИОМАРКЕРИ ПРИ ТРОЙНО НЕГАТИВНИ КАРЦИНОМИ НА ГЪРДАТА“

с автор

д-р Василена Росенова Цветкова

и

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

проф. д-р Мария Ангелова Цанева, дмн

Карциномът на гърдата (КГ) е най-разпространеното злокачествено заболяване и е първата причина за смърт от малигнени тумори при жените. Относителният му дял е 25.2% от всички злокачествени неоплазми. През 2018 г. година от КГ са заболели 2.1 милиона жени и са починали от същото заболяване приблизително 522 000. От ново-диагностицираните случаи 23.4% са на територията на Европа, а смъртните случаи са 20.3% от общата смъртност за света. Смъртността от КГ в България е приблизително три пъти по-висока (35.6/100 000), отколкото световната – 12.9/100 000. Тези обезпокоителни данни показват, че е необходимо да се търсят пътища за своевременна диагностика и адекватно лечение основано на вникване в детайлите на механизмите, по които се развива този тумор. Това би било възможно при достатъчно натрупани научно обосновани данни. Затова и изследванията в тази насока са не само оправдани но и наложителни. Това определя и актуалността на работата на д-р Цветкова.

КГ е хетерогенно заболяване. Един от факторите, за които е установено че определят развитието на този тумор е влияние на хормоните, както и различни гени. Въз основа на това е изградена и молекулярна класификация на КГ, която на съвременния етап различава 5 отделни субтипа - луминал А, луминал В, тип, показващ

свърхекспресия на HER2, тип, характеризиращ се с ниски нива на клаудин и базален тип, включващ и тройно негативния субтип (TNBC), при който не се експресират рецептори за естроген, прогестерон и HER2. В сравнение с останалите субтипове, TNBC се характеризира с най-агресивното биологично поведение и се асоциира с най-лошата прогноза - висок риск от поява на близки и далечни метастази и рецидив в рамките на 3 до 5 години от поставянето на диагнозата. Именно на този субтип е посветена работата на д-р Цветкова, което още веднъж подчертава актуалността и.

Дисертационният труд е разпределен по следния начин : съдържание, опис на съкращенията – 2 стр., 2 стр. увод, обзор, 27 стр., цел и задачи - 1стр., материали и методи - 1 стр., резултати - 31 стр., дискусия 8 стр., изводи и приноси – по 1 стр. и литература – 156 източника, от които 4 на бълг. език, останалите на латиница. Работата е онагледена с 13 табл. и 36 фиг., като последните включват и 24 хистологични микроснимки с добро качество.

В литературния обзор е направен задълбочен преглед на епидемиологията, етиологията и рисковите фактори за развитие на РГ. Представени са класификационните принципи за разграничаване на видовете карциноми, техните хистологични особености, правилата за стадиране, прогностичните фактори. Особено внимание е обърнато на молекулярните субтипове, вкл. на вариантите наблюдавани при тройно негативния тип. Отделен раздел е посветен на методите за лечение. Подчертано е че при тройно негативните карциноми на гърдата се неприложими системните терапевтични методи. Така е направен преход към същността на работата, а именно изследването на туморната микросреда с цел очертаване на насоки определящи търсене на специфични нови ефикасни методи за лечение или такива даващи възможности за ранна диагностика на РГ.

Туморната микросреда е изградена от различни имунни клетки, които имат специфична роля в имунния отговор на организма срещу туморните клетки. Тази група се състои от моно и полинуклеарни имунни клетки. Има такива от тях, които потискат туморния растеж - CD8+ цитотоксични клетки, CD4+ T1 клетки (Th1), NK клетки, M1 макрофаги и дендритни клетки (DCs); има и клетки, които подпомагат туморния растеж - CD4+ forkhead box P3 (FOXP3+), CD4+ Th2 клетки, M2 макрофаги, и миелоидни супресорни клетки (MDSCs). FOXP3 се свързва със специфични участъци от ДНК и упражнява контрол над активността на гени, отговорни за имунния отговор.

Този протеин е от изключително голямо значение за производството и нормалната функция на определени имунни клетки – Т регулаторни клетки. FOXP3 протеинът е локализиран главно в тимуса, където се осъществява формирането на свързани с него клетки. Този транскрипционен фактор е най-надеждният маркер за Т reg клетки. Въпреки това, ролята му в имунния отговор на организма не е напълно изяснена.

Много учени от десетилетия се занимават с изучаването на ролята на CD8+ и FOXP3+ лимфоцити в туморното микроокръжение. Някои от тях са установили, че CD8+ лимфоцити могат да се използват като прогностичен маркер при голям брой КГ. Високата им експресия корелира с по-добрата преживяемост и по-добър отговор на приложената ХТ.

От така изложените факти произтича напълно логично и поставената цел на дисертационния труд - изследване на прогностичната роля на TILs и конкретно на молекулярните биомаркери CD8 и FOXP3 във връзка с клинично-патологичните показатели и общата преживяемост при пациенти с тройно негативни карциноми на гърдата. За нейното изпълнение са набелязани, което считам за правилно, 6 задачи, които, представени в резюме, налагат да се извърши определяне на клинично-морфологичните параметри на пациентите с тройно-негативни карциноми, анализиране на експресията на TILs, на CD8, на FOXP3, извършване на сравнителен анализ между тях и изработване на интегриран клинично-морфологичен и имунохистохимичен профил за стратификация на риска на пациентите с тройно негативен КГ.

Подбраните материали са от 244 пациента с диагноза тройно негативен карцином на гърдата, диагностициран в периода 2000 – 2014 година в Онкологичен Институт Венето (IRCCS Istituto Oncologico Veneto - IOV), Падуа, Италия - бройка достатъчна за последващ анализ. За определяне на вида на КГ са приложени стандартните хистологични методи и ИХХ за ER, PR, HER-2 и Ki-67; за нуждите на изследването допълнително са включени и антитела на Abcam използващи индиректна имунопероксидазна методика за оценяване на наличието на MNF 116, CD8 и FOXP3. За обективизиране на експресията са използвани дигитален софтуер подпомагащ обозначаване на зоната на интерес, използвани са полуколичествени, софтуерни и статистически методи, което считам за предимство и което определя съвременния характер на работата.

Намерените резултати показват следното - повече от половината , 56 % от пациентите са над 50 г. възраст, най-много от тях са диагностицирани във II стадий на заболяването, преобладаващият хистологичен вариант е дукталният инвазивен карцином от неспецифичен тип, при 87,7 % от пациентите туморите са с ниска степен на диференциация и с висок пролиферативен индекс (над 30 %). По отношение на получената средна стойност на TILs – тя е 10% . Установява се статистическа зависимост между високите стойности на TILs и възрастта на пациентите. Високите стойности на TILs са асоциирани с по-млада възраст. Установява се и статистическа зависимост между високите нива на TILs и хистологичния вариант на КГ (дуктален, медуларен и метапластичен КГ), както и с високи нива на Ki67 (Ki67>30%). При анализа на CD8, се установява, че високите нива са асоциирани с по-млада възраст. Обратна е корелацията между високата плътност на CD8 и ниската степен на диференциация на КГ. При анализа на клинично-патологичните показатели и плътността на FOXP3 се установява, че високите стойности на FOXP3 са асоциирани с по-млада възраст на пациентите, както и с хистологичния вариант на КГ (дуктален, медуларен и метапластичен) и с високи нива на Ki67 (Ki67>30%).

Като обобщение може да се каже, че високите нива на TILs, CD8 и FOXP3 се асоциират с по – млада възраст, <50 години, с карциноми с ниска степен на диференциация и с висок пролиферативен индекс. Освен това високите нива на всички изследвани параметри показват статистически значима корелация и с някои специфични хистологични варианти на КГ – дуктален инвазивен карцином от неспециален тип, метапластичен карцином и медуларен карцином.

Освен това се установява, че TILs демонстрират силна позитивна корелация с високата плътност на CD8 и умерена такава с плътността на FOXP3. Установява се корелация и между плътността на CD8 и FOXP3. При високи стойности на TILs се наблюдават високи стойности и на CD8 и FOXP3.

Статистическа значима е намерената зависимост между клиничния стадий на болестта и наличието на заболяване без преживяемост. Установява се, че пациентите, при които се наблюдават високи нива на експресия на CD8 и висока експресия на FOXP3 имат статистически значимо по-висока 5 годишна преживяемост.

В раздела за дискусията резултатите са съпоставени с изследвания на други автори посветени на същите и сходни проблеми при РГ, при което се установява съответствие между получените данни представени в дисертацията и тези на останалите автори.

На финала са представени и изводите на дисертационният труд, а именно, че TNBC се срещат по-често след 50 годишна възраст, предимно във втори клиничен стадий, най-често са инвазивни дуктални карциноми от неспециален тип, с ниска диференциация и висока пролиферативна активност. С по-млада възраст - <50 г. – корелират и високите стойности на TILs, CD8 и FOXP3, както и, отново, ниска степен на диференциация, висок пролиферативен индекс и някои наблюдавани хистологични варианти: дуктален инвазивен карцином от неспециален тип, метапластичен и медуларен карцином. Пациентите, диагностицирани в I и II клиничен стадий имат добра преживяемост без прогресия, каквато е налице и при наличие на високи стойности на TILs, CD8 и FOXP3 в туморната тъкан на тройно негативните карциноми на гърдата.

Дисертацията на д-р Цветкова е добре оформен труд посветен на проблемите на тройно негативните карциноми на гърдата. В него се очертават приноси, които напълно приемам. Оригиналните са свързани с осъществената комплексна клиничко-морфологична и имунохистохимична характеристика, и характеристика на имунната реакция при тези карциноми, и на извършения количествен софтуерен анализ на TILs, CD8 и FOXP3 с оглед изясняване на прогностичната им стойност. Налице са и приноси с практическо-приложен характер като определянето на профила на пациентите с тройно негативен карцином и едновременното анализиране на експресията на TILs, CD8 и FOXP3 във връзка с клиничко-морфологичните параметри.

Мисля, че би било плюс за дисертацията ако в нея бяха споменати и съпоставени изследвания и на колеги от страната посветени на РГ. Тази липса обаче ни най-малко не намалява актуалността на разработката. Части от нея са предмет на три публикации, едната от които в чуждо научно списание.

В заключение считам, че дисертационният труд на д-р Цветкова има достатъчно качества и отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в България и на условията и реда за придобиване на научни степени в МУ - Варна.

Затога давам позитивна оценка на работата, ще гласувам за, а и си позволявам да препоръчам на членовете на уважаемото Научното жури да подкрепят присъждането на образователната и научната степен „доктор” на д-р Василена Росенова Цветкова.

03.06. 2020 г.



доц. д-р Беловеждов