**До**

**Председателя на научното жури,**

**определено със Заповед № Р-109-229**/28.5.2019 г.

**на Ректора на Медицински университет – Варна**

**ул. М. Дринов №55, 9002, Варна**

**С Т А Н О В И Щ Е**

от **проф. д-р Добринка Демирева Радойнова, д.м.**

по процедурата за защита на дисертационен труд за присъждане на ОНС “Доктор” на **д-р Доротея Василева Малинова** по област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина и специалност “патологоанатомия и цитопатология” в Катедрата по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология, Факултет по медицина, Медицински университет – Варна, с протокол № 1/20.05.19 г. и заповед № **Р-109-167**/13.05.2019 г. на Ректора на Медицински университет – Варна, ул. М. Дринов №55, 9002 - Варна, съм определена да изготвя становище по описаната процедура.

*Приложено представям:* Становищетосипо дисертационния труд на тема „*Морфологична и имунохистохимична сравнителна характеристика на туморите на щитовидната жлеза*“ за присъждане на ОНС “Доктор” на **д-р Доротея Василева Малинова,** по научната специалност “патологоанатомия и цитопатология”, към Катедрата по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология, Факултет „Медицина“ на МУ-Варна.

Научен ръководител: проф. д-р Мария Ангелова Цанева, дм, от същата катедра.

**проф. д-р Добринка Демирева Радойнова-Ялъмова, дм**

Научна специалност „Съдебна медицина и деонтология“; Институция: Медицински университет – Варна; Адрес и контакти: Пощенски адрес: Варна - 9002, ул. „М. Дринов“, 55

Електронен адрес: [dradoinova@mail.bg](mailto:dradoinova@mail.bg); моб. тел. 0879/ 202927

**І.** **Данни за процедурата**

Д-р Доротея Малинова е лекар-асистент, зачислена е като докторант на самостоятелна подготовка на обучение за придобиване на научната и образователна степен „доктор” по научната специалност „патологоанатомия и цитопатология ” със заповед за зачисляване на Ректора на МУ-Варна № Р-109-141/9.05.2016 год. Представен е и протокола за успешно положен изпит по докторантския минимум.

На основание Протокол № 338/27.03.2019 год. от решението на Катедрения съвет на Катедрата по Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология за готовността за публична защита, д-р Доротея Малинова е отчислена с право на защита – заповед № Р-109-167/13.05.19 г. на Ректора на МУ-Варна.

Представените от кандидатката комплект материали на електронен носител са в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и на ПРАС МУ-Варна, няма да ги изброявам.

**ІI.** **Биографични данни и кариерно развитие**

Асистент д-р Доротея Малинова е родена на 26 май 1987 г. Завършила е средно образование в английската езикова гимназия през 2006 г., а през 2012 г. завършва следването си в МФ на МУ – Варна, придобивайки магистърска спепен по медицина. Веднага започва специализация по обща и клинична патология в Катедрата по „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“ на МУ-Варна, а през 2017 г. взема специалност. От 2013 г и до момента тя е асистент към Катедрата и лекар в клиниката по „Обща и клинична патология“ в МБАЛ “Св. Марина“ – Варна. От м. май 2016 г. тя е докторант на самостоятелна подготовка.

Д-р Д. Малинова свободно владее английски език.

Към момента тя има 6 години и 3 месеца трудов стаж като преподавател по специалността „обща и клинична патология“.

**ІII. Структура на дисертационния труд**

Представеният дисертационен труд на д-р Малинова е написана на 156 стандартни страници и е онагледен с 49 фигури и 25 таблици. Литературната справка включа 190 литературни източника, от които 5 са на кирилица и 185 са на латиница.

Трудът е написан на много добър български /и английски/ език, структуриран според стандартните изисквания. Представени са и статиите, свързани с дисертационния труд и списъка с използваната литература.

Технически дисертацията е оформена според изискванията, библиографията е изчерпателна и обхваща най-съвременните източници по темата.

**ІV.** **Актуалност на темата**

Дисертацонният труд на д-р Доротея Малинова е посветен на актуален проблем - туморите на щитовидната жлеза. Точната диагноза на тези тумори е определяща за лечението, тя изисква познаване на специфичните морфологични особености на всеки тиреоиден тумор, както и на критериите за поставяне на съответната диагноза. Идентифицирането на нови молекулярни биомаркери при тиреоиден карцином, в комбинация с морфологичните характеристики, гарантира подобряване точността на диагнозата и определяне прогнозата при пациентите. Обърнато е внимание и на апоптотичните протеини, които са слабо проучени при туморите на щитовидната жлеза, както и връзката им с други имунохистохимични маркери.

Значение имат и фоновите заболявания при различните хистологични видове неоплазми на щитовидната жлеза и морфологичните промени в туморната и околната нетуморна тъкан. При наличие на изчерпателна информация и с помощта на съответен панел от биомаркери биха могли да се намерят критерии за разграничаване на доброкачествените от злокачествени неоплазми, за верифициране на отделните хистологични варианти на тиреоиден карцином и, в резултат на това, да се подобри диагнозата и лечението на пациентите.

**V. Литературен обзор**

Литературният обзор на д-р Малинова e добре структуриран и изчерпателен. В него са описани последователно характеристиките на доброкочествените и злокачествени епителни тумори на щитовидната жлеза, изтъкнати са диагностичните критерии и класификационните принципи според СЗО от 2017 г., правилата за градиране и стадиране. Обяснени са мястото и ролята на имунохистохимията за диференциалната диагноза и прогнозата на тиреодните тумори. Подчертано е, чеидентифицирането на нови молекулярни биомаркери при тиреоиден карцином в комбинация с морфологичните характеристики подобрява точността на диагнозата и определя прогнозата. Посочено е, че маркерът СК19 се експресира при папиларeн карцином. Отделено е мястото и на CD34, който дава информация за туморната ангиогенеза, която е от съществено значение за развитието на туморите. Обърнато е внимание на апоптозата, която има роля за оцеляването на неоплазмите. Апоптотичните протеини, каквито са Bаx – проапоптотичен и Bcl-2 – антиапоптотичен, са слабо проучени при тумори на щитовидната жлеза, вкл. и връзката им с други имунохистохимични маркери. Следователно тяхното изследване може да хвърли допълнителна светлина за преценка на биологичния характер и прогнозата на тиреоидните тумори.

От обзора става ясно, че не по-малко съществени са и фоновите заболявания при различните епителни видове неоплазми на щитовидната жлеза - хроничен лимфоцитарен тиреоидит и нодозна струма.

В края на литературния обзор правилное преценено, че: • адекватната диагноза на щитовидните тумори стои в основата на подбиране на подходяща терапия за съответните пациенти; • цитологичната и хистологичната диагноза на добре диференцираните тумори, особено тези с фоликуларен строеж, понякога е много трудна и спорна; • правилно подбраните имунохистохимични изследвания биха могли да подобрят диагностичния процес, като не бива да се разчита на един единствен маркер; • авторката пояснява, че тези изследвания обикновено са икономически по-изгоден вариант от молекулярните и генетичните анализи; • имунохистохимията позволява и търсене на определени протеини в туморните клетки, отговорни за туморната прогресия и метастазиране, което би могло да допринесе за разработване на прицелна терапия при някои пациенти.

**VІ. Цел и задачи на дисертационния труд**

Д-р Малинова си е поставила следната цел: да се проучи диагностичната и прогностичната стойност на морфологичните характеристики и имунохистохимичната експресия на цитоскелетния протеин СК19, съдовия ендотелен маркер CD34, проапоптотичния Bax протеин и антиапоптотичния Bcl-2 протеин при доброкачествени и злокачествени тумори на щитовидната жлеза. За изпълнението на целта са формулирани 6 конкретни задачи.

**VІІ. Материал и методи на изследване**

За решаването на поставените задачи д-р Малинова използва материали от биопсичния архив на Клиниката по обща и клинична патология при УМБАЛ „Св. Марина“, като пациентите са разделени в три групи: 1/ Първата група са 607 неселектирани пациенти с хемитиреоидектомия или радикална тиреоидектомия с нетуморни и туморни заболявания на щитовидната жлеза за петгодишен период (2013-2017г.); 2/ Втората група са 122 селектирани пациента с доброкачествени и злокачествени тиреоидни тумори – 41 фоликуларни аденома, 9 онкоцитарни аденома, 55 папиларни карцинома, 4 фоликуларни карцинома, 3 медуларни карцинома и 6 онкоцитарни карцинома, при които са определени: големина на тумора, наличие на калцификати, наличие на капсула, наличие на тиреоидит, некроза, фиброза, кръвоизливи; 3/ Третата група материали са за имунохистохимично изследване - 40 парафинови блокчета с тиреоидни карциноми (25 папиларни карцинома, 10 фоликуларни карцинома и 5 онкоцитарни карцинома), 25 блокчета с аденоми (15 фоликуларни и 10 онкоцитарни), и 10 блокчета с нетуморни лезии за контрола от пациенти без тумори. Количеството на използваните материали предопределят адекватни резултати.

Подбраните методи са правилни - стандартна хистологична техника и оцветяване с оценка на следните морфологични параметри - размер на тумора, като големината се определя спрямонай-големия измерен диаметър на формацията в сантиметри, наличие на капсула, на калцификати, определяне на хистологичния типна тумора,присъствието или липсатана ХЛТ**,** нафиброза в стромата и на некрози и кръвоизливи.

За имунохистохимичното изследване на материалите от третата група е използван индиректен имунопероксидазен метод, чрез който са оценени експресията на Bcl-2, Bax , CD34, CK19 на фирма „Dako“ и Bax на “Skytex” и с помощта на mini KIT high Ph DAKO K8024 при стандартни протоколи.

Получените резултатите са обработени с подходящите статистически методи.

**VІІІ. Резултати и обсъждане**

Докторантката представя резултатите си съвместно с обсъждането, като прави сравнение между тях и информацията от литературата. Става ясно, че относителният дял на пациентите с туморни заболявания е 49.60% от общия брой пациенти с хемитиреоидектомия и радикална тиреоидектомия. Женският пол преобладава при всички групи заболявания. Карциномите се срещат по-често при млади жени на възраст между 31 и 40 години, докато аденомите са предимно във възрастта между 41 и 50 години. Доброкачествените и злокачествени тумори често са асоциирани с ХЛТ. Тиреоидитът на Хашимото е рисков фактор само за карцином на щитовидната жлеза. T - стадият на карциномите показва зависимост от фоновото заболяване. При ХЛТ повечето тумори са в Т1а стадий, докато при пациентите без ХЛТ, мнозинството от туморите са над 1 см и са в Т1b или T2 стадий. N-стадият показва зависимост от фоновото заболяване. При наличие на ХЛТ липсват метастази в РЛВ, а при пациенти без ХЛТ, обикновено има метастази в РЛВ. Това, според дисертантката, е възможно да се дължи на протективната роля на лимфоцитарните инфилтрати в паренхима на жлезата при тези заболявания.

Резултатите показват, че женският пол и фертилната възраст са рискови фактори за развитие на карцином на щитовидната жлеза. Аденомите на щитовидната жлеза имат по-големи размери в сравнение с карциномите (обикновено над 2 см. в диаметър), интактна съединително-тъканна капсула, често с калцификати в нея, съдържат колоид и рядко в тях се откриват фиброзни промени. Карциномите се развиват често на фона на ХЛТ, могат да са частично капсулирани, колоид липсва или е оскъден, в стромата се откриват калцификати и фиброзни промени. Карциномите с малки размери – под 2 см в диаметър, обикновено са папиларни, докато с най-големи размери са онкоцитарните карциноми. Присъствието на фиброзни промени и калцификати в туморната строма повишава риска от поява на лимфни метастази, което прави наложително клиничното проследяване.

ИХХ изследване показва, че CK19 се експресира по-често при малигнени тумори на щитовидната жлеза, отколкото при бенигнени лезии. Експресията на антитялото при папиларния карцином е значително по-висока от тази при фоликуларен карцином. С помощта на СК19 може да се разграничи фоликуларният вариант на папиларен карцином от фоликуларен аденом и от фоликуларен карцином. Маркерът не допринася за отдиференциране на фоликуларния аденом от фоликуларен карцином.

Ендотелният маркер CD34 може да се използва като допълнителен критерий при диференциалната диагноза на туморите на щитовидната жлеза.

Д-р Малинова установява, че експресията на проапаптоточния маркер Bax е висока при папиларни карциноми. Експресията на Bcl-2 в туморите на щитовидната жлеза е дифузна или фокална, като интензивността на реакцията е умерена или липсва позитивност, както сочат резултатите на дисертационния труд. Папиларните карциноми показват умерена и дифузна реакция. Фоликуларните карциноми и онкоцитарите тумори (аденоми и карциноми) имат умерена експресия на Bcl-2, която е предимно дифузна.

**ІХ. Изводи и приноси на дисертационния труд**

Д-р Малинова извежда 9 добре формулирани извода, които отговарят на целта и задачите на дисертацията: 1/ Хроничният лимфоцитарен тиреоидит корелира с малък размер на карциномите и с липса на лимфни метастази. 2/ Фиброзните промени и калцификатите в стромата на карциномите се асоциират с метастази в регионалните лимфни възли. 3/ CK19 се експресира интензивно и дифузнопри класическия и фоликуларен папиларен карцином, докато при фоликуларния и онкоцитарен карцином липсва експресия или тя е фокална. 4/ МВП е най-ниска при класическия и фоликуларен папиларен карцином и съдовата мрежа е тип „сито“. Васкуларната плътност при фоликуларния и онкоцитарен карцином е по-голяма в сравнение с папиларния карцином и в стромата присъстват и големи дебелостенни съдове. При фоликуларния и онкоцитарен аденом МВП е по-изразена в сравнение с папиларния карцином и съдовата мрежа е тип „цвете“. 5/ Bax се експресира дифузно с умерен интензитет при класическия и фоликуларен папиларен карцином и в зони с онкоцитарна метаплазия. Фоликуларните и онкоцитарни аденоми и карциноми показват фокална експресия на Bax протеин или са негативни. 6/ Bax протеин не се открива в тиреоцитите при нодозна струма и в нормална щитовидна тъкан. 7/ Всички тумори, независимо от хистологичния им вариант експресират Bcl-2 умерено и дифузно. Нетуморните заболявания на щитовидната жлеза показват интензивна и дифузна експресия на Bcl-2 със слаба позитивност в зоните с онкоцитна метаплазия**.** 8/ Онкоцитите при тиреоидит на Хашимотосе различават имунофенотипно от неопластичните клетки при онкоцитарните тумори и наподобяват повече на туморните клетки при папиларен карцином. 9/ Намаляването на МВП в туморите се свързва с повишена експресия на проапоптотичния протеин Вах. Промените в апоптотичните протеини в туморните клетки (Вах/Bcl-2) се променят заедно с нивата на СК19.

**Препоръки** към докторантката: да продължи да задълбава в съвременни морфологични и хистохимични проучвания с голяма клинична значимост.

Докторантката извежда и два научно-оригинални приносаи пет с приложен характер.

Резултати от дисертациятаса представени в три научни публикации и на три научни форума.

**Авторефератът** отразява съдържанието на дисертационния труд. Подготвен е в достатъчен обем и е съставен от части, които представят структурата и съдържанието, изложението, приносите и публикациите по дисертационния труд.

**Х. Заключение**

Дисертационният труд е представен в завършен и добре структуриран вид, отговарящ на изискванията на ЗРАСРБ, ПРАС и Правилника на МУ – Варна. Отчитайки актуалността и значимостта на темата, обемът и начинът на провеждане на проучването, обработката на материала, постигнатите резултати като изводи и препоръки, приносите, както и професионалното развитие и научните изяви, убедено заявявам на членовете на НЖ, че гласувам „за“ (положително) за присъждането на **ОНС „доктор“ по научната специалност “патологоанатомия и цитопатология**” **на** **д-р Доротея Василева Малинова**.

30.5.2019 год.

Гр. Варна Изготвил становището: ..................

Проф. д-р Добринка Радойнова, дм