

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Емил Иванов Сапунджиев, д-р - по научната специалност „Морфология“ (01.06.26.) при Лесотехнически университет, Факултет “Ветеринарна медицина”, Катедра “Анатомия, физиология и животновъдни науки”

Относно: Разработената дисертация от задочния докторант Росен Александров Спасов, към Секция „Патология“ на ИЕМПАМ- БАН на тема: “Проучване върху експресията на PD-L1 при уротелен карцином на пикочния мехур като основа за терапевтична стратегия“, с ръководител проф. д-р Радостина Ивайлова Александрова, за присъждане на научната и образователна степен “ДОКТОР”, в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, по научната специалност “Морфология” (01.06.26.).

Със заповед на Директора на ИЕМПАМ-БАН № НО-05-05-2/21.01.2025 г. съм определен за член на Научното жури и на проведеното негово първо заседание на 04.02.2025 г. съм избран за рецензент по провежданата процедура за защита на посочената Дисертация.

1. Съответствие на процедурата.

Предоставеният ми комплект с материали е в съответствие със списъка от изискващи се документи при защита на дисертация за ОНС „Доктор“, съгласно Закона РАСРБ - чл. 5 (1), и Правилника за прилагането му - чл. 33 (1), и е в корелация с Правилника на ИЕМПАМ-БАН. В заявлението се съдържат общо 9 точки със съответните документи, от които 1т. - отпечатаният дисертационен труд, 2 и 3 т. библиография на публикуваните научни статии по темата на дисертацията, както и копия от самите публикации, 4 т. - списък на участията с научни съобщения в научни форуми, 5 т. - справка за успешно положените изпити и получените кредити от тях, съгласно оценъчната система на Центъра за обучение - БАН, 6 т. - справка за изпълнението на минималните изисквания за придобиването на ОНС „Доктор“ на ИЕМПАМ-БАН, 7т. - протоколи и сертификати за успешно положените изпити по индивидуалния план за обучение по специалността, допълнителни специализирани учебни курсове, езикова подготовка и компютърни умения, в т.8 - мнения на хабилитирани лица, обаче не намирам приложения, което отдавам както на технически пропуск, така и на занижен контрол на научния ръководител и комисията по прием на документите, и в последната 9 т. - означена други материали, са комплектовани автобиографията по образец,

дипломата за завършено висше образование по медицина от МУ София № 01560 и дипломата за придобита медицинска специалност по „Обща и клинична патология“ с № 012395/2009 г. от МУ София.

В наличната документация няма никакви сигнали и възражения по сроковете на процедурните стъпки, по темата на дисертацията или по какъвто и да е повод за нейното разработване и ход на защита, поради което се налага становището, че документите отговарят на законовата база, както и на моралните и етичните норми за изпълнение на процедурата по защита на разработения дисертационен труд.

2. Кратки биографични и кариерни данни за докторанта.

Хуманният лекар Росен Александров Спасов е следвал в Медицинския университет в София и е завършил висшето си образование като магистър през 1996 г. Работил е като лекар ординатор в Отделението по клинична патология на МБАЛ „Д-р Н. Василиев“ в гр. Кюстендил почти 10 години (1997-2008 г.). Едновременно с придобиването на специалност по „Обща и клинична патология“ от началото на 2009 г. става и началник на отделението по „Клинична патология“ на същото работно място и досега. Той се реализира и на второ работно място в Специализираната болница за активно лечение и онкология (СБАЛО) „Проф. И. Черноеземски“ в София от 2012 до 2019 г., като основните дейности са профилирано свързани с биопсичната, гефрирната, цитологичната и аутопсионната диагностика. Същевременно, за периода 2016-2019 г., участва и като преподавател - асистент по „Обща и клинична патология“, в Медицинския факултет на УБ „Лозенец“ в София. След това от 2019 г. и досега е едновременно лекар-консултант в Отделението по клинична патология, биопсична, гефрирна и цитологична диагностика на същата болница, както и Началник отделение по клинична патология, биопсична, гефрирна и цитологична диагностика в СБАЛО „Св.Мина“ в гр.Благоевград.

Съгласно справката за кредитната система в БАН той е натрупал общо 338 кредита от взети изпити, участия в научни изяви и отпечатани публикации при научното му развитие.

3. Актуалност на темата на дисертацията и целесъобразност на целите и задачите на разработката.

Разработеният дисертационен труд е тематично свързан с карцинома на пикочния мехур (КПМ), който е значителен проблем за общественото здраве и една от водещите причини за висока смъртност при онкологичните

заболявания на уринарния апарат не само в нашата страна, но и в световен мащаб. Чрез неговите резултати се дава допълнителна светлина на онкологичната проблематиката, за установяване на морфологичните и имунохистохимичните характеристики на експресията на лигандата инхибитор - PD-L1, която се свързва с трансмембрания протеин на програмираната клетъчна смърт PD-1, при уротелни карциноми на пикочния мехур и установяването на тяхната зависимост от степента на диференциране при антитуморната терапия, както и прогнозата за рационални решения, при третирания с антитела в комбинация с други методи на лечение, и с различни прогностични маркери.

Във връзка с това изборът на темата е актуален и придава висока теоретико-приложна стойност не само за морфологичното направление на науката, но също така и за клиничната медицинска, патологична, и особено онкологична практика. Актуалността на разработения дисертационен труд произтича и от налагащото се в последното десетилетие метод за имунотерапия на малигнените неоплазии, използващ инхибитори на имунните контролни точки и съответно лечението на карцинома на пикочния мехур, при което уротелният карцином, явяващ се като хетерогенно заболяване, с характерните му хистологични типове и съответни различни молекулярни характеристики, води до разнопоставени специфично произтичащи клинични резултати.

4. Общо представяне на темата на дисертацията, познаване и владееене на проблематиката.

Структурата на представения ръкопис е съобразена с възприетите норми за тази категория научни трудове, има добър баланс между отделните раздели, и е представен разбираемо на достъпен и литературно издържан език, дори и за по-широк кръг от специалисти. Темата е точно формулирана и насочваща към същността на изследвания научен проблем. Отделните части на дисертацията са уместно обособени и озаглавени. Теоретичната част на дисертацията преобладава над емпиричната по обем, което е свързано с необходимостта от анализ на голям брой литературни източници и преглед на широк кръг въпроси с теоретично и с практико-приложно значение. Текстът заедно с 49 фигури и 8 таблици е представен на 136 компютърно-оформени страници и включва основните раздели на съдържанието: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, обобщение, изводи, приноси, списък на цитираните

източници, списък с публикациите по темата на дисертацията, и участия в научни форуми.

Литературният преглед е добре конструиран и оформен, и включва общо 224 източника, като първият от тях е нормативен документ представен на кирилица, а всичките други са чуждестранни научни публикации и са представени на латиница. От тях 92 (41,2%) са от последните 5 г., а другите са преди това, но тези данни показват, че проблематиката на темата на дисертацията е особено актуална, и същевременно непреходна с времето на морфологичните проучвания в норма и в патология. Нямам информация, че са използвани некоректно данни от посочените и други източници, които да са обект на чуждо авторско право. Констатирах обаче, и десетина цитации, които са с непълна библиография и съм ги отбелязал за сверка в предоставения ми екземпляр. Обзорът целенасочено въвежда в същността и значимостта на разработвания проблем, след което се осветляват свързаните с него въпроси за апоптозата, канцерогенезата и антитуморната терапия и туморните антигени, антитуморния имунен отговор, видовете имунотерапия, експресията, биологичната функция, сигналния път и ролята на комбинацията PD-1 и PD-L1 при неоплазиите, както и инхибиторите на контролните точки, патоморфологичната класификация и хетерогенност на туморите на пикочния мехур, епидемиологичните и клинко-морфологичните характеристики, прогнозата и рецидивите, съвременните терапевтични стратегии и инхибитори на имунните контролни точки при карцинома на пикочния мехур. С данните се борави свободно и компетентно, като интерпретацията им е във връзка с морфо-функционалната същност на проблема и имат съответното клинко-диагностично значение.

Тази част на дисертацията е плод на добросъвестен труд и показва широката професионална и теоретична култура на докторанта, който оперира адекватно с научната литература, умее да цитира източниците и да излага и анализира различните авторски становища. Литературните данни са разгледани обективно, с разбиране и вникване в тях, при което стилът на изложението е напълно подчинен на логиката на теоретичното проучване.

Обзорът завършва с логичното заключение и надежда, че установената първоначално блокадна терапия на PD-1/PD-L1 при злокачествени онкологични заболявания на уринарния тракт, ще се наложи като основен метод за имунотерапия през следващите години. Това определя необходимостта от задълбочени проучвания на този сигнален път, което обяснява и необходимостта от перманентно проучване на онкологичните

заболявания и респективно персонализирането на терапевтичните стратегии, и е безупречен принос към морфологичната специалност и клиничната медицинска практика.

5. Методика на изследването.

Целта на разработвания дисертационен труд е понятно и конкретно формулирана, свързана е с проучването на морфологичните и имунохистохимичните характеристики на експресията на PD-L1 при уротелни карциноми на пикочния мехур и установяването на тяхната зависимост от степента на диференциране. Във връзка с нейното постигане логично са поставени седем основни задачи. Те са изпълнени последователно, с необходимата научна прецизност, и дават допълнително изясняване на разработвания проблем.

Подборът на използваните в изследванията биопсични и резекционни хирургични туморни тъканни проби е подходящо направен, като общо са включени 110 диагностицирани уротелни карцинома на пикочния мехур, 1 саркоматоиден вариант на карцином на пикочния мехур, 5 метастатични лимфни възела и 9 костни и мекотъканни метастази. Те са разпределени за съответните хистологични и клинични изследвания и са съобразени със задачите и възможностите за статистическа обработка и достоверност на данните. Използваните класически методи, като рутинна хистология и оцветяване с хематоксилин и еозин, както и иновативни подходи за инвертна и флуоресцентна микроскопия, имунохистохимия, култивиране на клетъчни линии, изолиране на ДНК, са адекватни за извеждането на задачите по темата. Описанието на използваните методи е коректно и последователно и дава представа, че докторантът ги владее и може да работи самостоятелно чрез тях, както и да обработва получените данни и да ги включва в публикации. Не установявам обаче данни, за какъв период от време са събирани и обработени хистологичните проби, което би имало важно информативно значение, особено при статистическия анализ.

6. Преценка на резултатите от дисертацията.

Традиционно в секция „Патология“ на ИЕМПАМ се работи в областта на човешката патология, и в частност на онкогенезата и антитуморните проучвания, чрез научния ръководител и съответните сътрудници. И с тази тема се доразвива наличния капацитет, като се добавят и данни за рационална диагностика и терапия на уротелния карцином на пикочния

мехур при хората, което дава допълнителна тежест и значение на дисертационния труд.

Собствените резултати в него са представени прегледно и разбираемо на 37 страници, като едновременно с тяхното интерпретиране се води и обсъждането. Научната материя е представена на разбираем български език и данните от получените резултати са валидирани с богат снимков материал, при което сполучливо се демонстрира фактологията на изследователския процес и може да се използва за онагледяване на обучителни процедури. Добро впечатление прави представителното качество на приложените фигури и атрактивно подготвените графики. Изследването е осъществено според изискуемите регламенти и получените резултати са подложени на статистически анализ. Намирам в представената фактология, че качественият анализ на данните за морфологичните находки при разчитането на хистологичните препарати е по-пълноценен от количествения. Резултатите показват, че тъй като опитите за прилагането на антитуморна терапия с антитела в комбинация PD-1/PD-L1 е все още скъпоструваща и с експериментален характер, то трябва да има сигурен и точен придружаващ диагностичен критерий и протокол, чрез които може цялостно да се отчете имунологичното взаимодействие между тумора и организма на пациента, включително и морфологичната находка за инфилтриращите тумора имунни клетки и степента на инвазия на стената на пикочния мехур. Това затвърждава значението на задълбочената патоморфологична оценка на туморите, като основа на успешна персонализирана лечебна стратегия и перспективата за нейното по-нататъшното развитие. Получените резултати и тяхното значение от дисертационния труд са в съответствие между поставената тема, целите и задачите, и методиката на изпълнението.

Смятам да споделя в критичен контекст, че означените увеличения на някои кадри според мен са поставени неадекватно и озадачават внимателния читател за отбелязаната стойност, особено при сравняване на съседни обекти. Също така прави впечатление, че на места дискусията е слабо застъпена и дори липсва, при което не се използва възможността за съпоставимост на резултатите с известните в литературата факти по разглеждания проблем, като така се губи връзката за съвпадение, или различие с получените данни. Препоръчвам също така термините от *Nomina histologica* да се използват адекватно и по предназначение. Обикновено в края на всеки разработен дисертационен труд се представя синтезирано резюме от неговата същност и реализация, което аз не намирам в предоставения ми ръкописен вариант.

7. Обсъждане на изводите и приносите на дисертацията.

От получените резултати са формулирани и 7 изводи, които приемам по същество, тъй като те са в пряка връзка с хипотезите на изследването. Установява се разделно-полова и възрастова корелация на пациенти с КПМ, като е използвана и унифицирана методична класификация. При онкологичната находка преобладават умерено диференцираните уротелни карциноми с дълбока инвазия на субепителната съединително-тъканна пластина на лигавицата - *lamina propria mucosae*, както и лигавичната мускулна пластина - *lamina muscularis mucosae*. Констатира се имунохистохимично, че експресията на PD-L1 е до 25% от туморите, като високите нива на експресия на PD-L1 се отчитат предимно при нискодиференцираните уротелни карциноми, при метастатични лимфни възли и най-отчетливо при остеолитични костни метастази. При туморни клетъчни линии от колоректален карцином при човек (HT29), цервикален аденокарцином при човек (HeLa) и трансплантируем сарком у плъх, предизвикан с Rous sarcoma virus (RST), не се открива експресия на лигандата на рецептора на PD-L1, при индуцираната програмирана клетъчна смърт и третиране с цитостатика - cisplatin.

Изведените приноси имат определена научна и приложна стойност, като 2 са с оригинален, а 3 са и с потвърдителен и 1 има приложен характер. Те са свързани и надграждат досегашната рамка на познанията по темата на дисертацията и може да се използват за бъдещи научни разработки и рутинна морфологична работа.

8. Лични впечатления.

Не съм познавал лично досега колегата д-р Росен Спасов. От краткия контакт, който имах с него при представянето на материалите прави впечатление, че докторантът е открита, комуникативна, информирана съвременна личност с изградени социални умения, коректна в отношенията си с околните и посветена на професионалното си развитие. Също така се представя като притежаващ много добри сръчностни умения и с подчертан интерес към техническите средства и апаратура за работа в биологична среда. В резултат на кариерното си развитие и след реализация в практиката, показва мотивация и стремеж за научно-изследователска и преподавателска работа, при това по една от най-тежките медицински дисциплини - „Патология“, и съпътстващите я клинично-диагностични методи свързани с морфологията на организма.

9. Оценка на автореферата и публикациите към дисертацията.


Авторефератът на дисертационния труд е оформен според изискванията в структурен, съдържателен и технически аспект, но липсва резюмето, което вече установих и в ръкописа. Той представя основните компоненти на дисертацията и най-важните резултати от изследването в достатъчно изчерпателен вид. Авторефератът отразява адекватно дисертационното съдържание и позволява научната общност да се запознае накратко с най-важното в разработения научен труд, макар че в него също липсва резюме съответно на български и на английски език.

Докторантът има посочени в дисертационния труд три публикации, свързани с неговата тема, от които две са от квадрилите Q2 и Q4 и носят съответно 32 точки. В справката за изпълнение на образователната програма са посочени осем броя отпечатани съобщения и два доклада в пълен текст, като тази публикационна активност удовлетворява необходимостта от начални научни изяви на д-р Росен Спасов и отговаря на изискванията към докторантското обучение за трета степен.

10. Заключение:

Предоставеният ми за рецензиране дисертационен научен труд на тема: "Проучване върху експресията на PD-L1 при уротелен карцином на пикочния мехур като основа за терапевтична стратегия", от задочния докторант Росен Александров Спасов, с ръководител проф. д-р Радостина Ивайлова Александрова, от Секция „Патология“ на ИЕМПАМ- БАН е актуално и комплексно научно проучване, и отговаря напълно на критериите на ЗРАСРБ и Правилниците за неговото приложение. В тази връзка и с представената цялостна преценка убедено давам положително мнение по процедурата за защита на дисертацията и присъждането на хуманния лекар - магистър Росен Александров Спасов, на образователната и научна степен "ДОКТОР", в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, по научната специалност "Морфология" (01.06.26.).

14. 03. 2025 г., София

Изготвил рецензията: 
/проф. д-р Емил Сапунджиев, двмн/