

РЕЦЕНЗИЯ

От: проф. д-р Ренета Александрова Гошкова, доктор, от секция „Патология”, ИЕМПАМ-БАН, определена за член на Научно жури, назначено със заповед №НО-05-05-2 от 21.01.2025 г на Директора на ИЕМПАМ – БАН, и избрана за официален рецензент на първото заседание на Научното жури, проведено на 04.02.2025г.

Относно: Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” в научна Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. "Биологически науки" и Научна специалност „Морфология“ (01.06.26)

Тема на дисертационния труд: „Проучване върху експресията на PD-L1 при уротелен карцином на пикочния мехур като основа за терапевтична стратегия“

Автор на дисертационния труд: д-р РОСЕН АЛЕКСАНДРОВ СПАСОВ, задочен докторант в секция “Патология“, при Институт по Експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН

Научен ръководител: проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор

Рецензията е изготвена в съответствие с изискванията на закона за развитие на академичния състав на Република България (ЗРАСРБ), на Правилника за неговото прилагане (ППЗРАСРБ), и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности (ПУРПНСЗАД) в МУ-София. Декларирам, че не съм в конфликт на интереси с кандидата в настоящата процедура.

Материали по процедурата. Представените материали на хартиен и електронен носител отговарят на изискванията на Закона за Развитие на Академичния Състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение и вътрешните правилници на БАН и ИЕМПАМ-БАН, и включват задължителните за процедурата материали.

Дисертационният труд е обсъден, одобрен и насочен за защита пред Научно жури на разширено заседание на секция „Патология”, проведено със заповед №РД 09-70/17.12.2024г на Директора на ИЕМПАМ-БАН.

Биографични данни. д-р Росен Александров Спасов е роден в град София. Завършва висше образование медицина през 1996г в Медицински университет-София. През 2009г придобива специалност по Обща и клинична патология. В периода 1997-2008 работи като лекар ординатор, а от 2009 г – началник Отделение по клинична патология, МБАЛ „Д-р Н. Василиев“ гр. Кюстендил. Работи последователно като Лекар ординатор в Отделение

„Клинична патология“ УСБАЛ по Онкология гр.София (2012-2019); Асистент в УМБАЛ „Лозенец“ (2016 – 2019 г). От 2019 г до момента работи като лекар-патолог и Началник отделение по Клинична патология СБАЛ по онкология „Св. Мина“ гр. Благоевград, а също и като консултант в в УМБАЛ „Лозенец“, с основни дейности биопсична, цитологична и експресна интраоперативна диагностика. От 2019 г е задочен докторант към секция „Патология“, ИЕМПАМ-БАН. Положил е изпити за докторантски минимум по специализиран базов предмет „Морфология“, език и компютърни технологии и е преминал допълнителни специализирани курсове по темата на дисертацията. Успешно е изпълнил образователната програма и е надвишил изискуемите количествени критерии - събрал е 338 кредита при изискуеми 250. Общата научна продукция на д-р Спасов включва 9 научни публикации, от които 6 в издания, индексирани в WoS/Scopus, 42 участия в национални и международни научни форуми с постери и доклади, участие в 7 проекта (1 по Европейска програма COST, 1 двустранен между ИЕМПАМ-БАН и Литовската академия на науките 2 двустранни между ИЕМПАМ-БАН и Румънска академия на науките, 1 по Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“). Справката в скопус показва h индекс 3 и 26 цитирания. Д-р Спасов е член на Българския лекарски съюз, Българско дружество по патология и Българско анатомично дружество.

Актуалност и значимост на дисертационния труд. Дисертационният труд на д-р Росен Александров Спасов е посветен на проблем от съществено значение за човешкото здраве – терапия на злокачествените заболявания и в частност - имунотерапия на уротелен карцином чрез инхибитори на имунни контролни точки. Вниманието е насочено към проучване експресията на биомаркера PD-L1 като индикатор на степента на злокачественост на уротелни карциноми и като мишена за персонализирана терапевтична стратегия. Акцентът е върху персонализиране на терапевтичната стратегия съобразно индивидуалния антитуморен отговор на пациента, което отличава дисертационния труд не само с висока актуалност, но и с висока иновативна перспектива.

Структура на дисертационния труд. Дисертационният труд е написан на 136 нестандартни страници и съдържа обичайните раздели - Заглавна страница, съдържание - 3 стр, използвани съкращения - 1 стр, въведение - 2 стр, литературен обзор – 48 стр, цел и задачи 1 - стр, материали и методи - 11 стр, резултати и обсъждане - 40 стр, обобщение – 3 стр, изводи – 1 стр и приноси -1 стр, и списък на цитирана литература – 18 стр. Библиографската справка включва 224 заглавия, от които 1 на кирилица и 223 на латиница. Онагледен е с 8 таблици и 49 фигури. Всички раздели са написани граматически правилно, при отлична компютърна грамотност, което доказва

сериозно и отговорно отношение на докторанта към цялостното оформяне на дисертационния труд.

Литературният обзор е съвременен и изчерпателен. Написан е ясно и стегнато, и представя систематизирана информация за рак на пикочния мехур, който със застаряването на населението има все по-голямо социално-икономическо значение и за необходимостта от нов персонализиран подход на имунотерапия, базиран на валидирани диагностични и предиктивни биомаркери. В обособени раздели са представени данни свързани с апоптозата като един от основните видове програмирана клетъчна смърт, от значение както при физиологични, така и при патологични състояния; с механизми на апоптозата и значението им за разработване на лекарства, насочени към определени апоптотични гени или пътища; видове антигени и антитуморен имуен отговор; имунотерапия и видове имунотерапия при неоплазии. Особено внимание е отделено върху експресията и биологичната функция на мембранните протеинови рецептори PD-1 и PD-L1; сигнален път PD-1/PD-L1 и ролята му като имунна контролно-пропускателна сигнална система за избягване на имунния отговор при неоплазии, и като основа за развитието на ново поколение имунотерапевтични средства (така наречените инхибитори на контролните имунни точки) насочени към блокиране на свързването на рецептора за програмирана клетъчна смърт-1 (PD-1) и неговият лиганд-1 (PD-L1). В пълнота е отразена информацията относно съвременната класификация на туморите на пикочния мехур, епидемиологична характеристика, рискови фактори, прогноза, рецидиви и прогресия на карцинома на пикочния мехур, патоморфологична класификация и хетерогенност на туморите. Докторантът е успял да предаде най-важните постижения на съвременните терапевтични стратегии и инхибитори на имунните контролни точки при лечението на злокачествени уротелни карциноми, както и да очертае нови научни предизвикателства.

Като логично следствие от анализа на литературните данни аргументирано е формулирана **основната цел** и са набелязани **7 конкретни задачи** за постигането и.

Оценка на използваните материали и методи. Дисертацията е професионално изпълнена като е приложен адекватен експериментален дизайн. Умело са съчетани съвременни и класически методи за реализиране на целта и поставените задачи - хистопатологични, цитоморфологични, имунохистохимични, светлинно-микроскопски, молекулярно-биологични, клетъчно-културални, флуоресцентни. Методите са подробно описани, което дава възможност да бъдат приложени и в други научни лаборатории. Изследванията са проведени върху проби от 110 пациенти с клинично уточнена диагноза на уротелен карцином, 1 саркоматоиден вариант на

карцином на пикочния мехур, 5 метастатични лимфни възела, 9 костни и мекотъканни метастази, и в лабораторни условия върху моделни експериментални системи на постоянни клетъчни туморни линии - колоректален карцином при човек (HT29), цервикален аденокарцином при човек (HeLa) и трансплантируем сарком у плъх, предизвикан с Rous sarcoma virus (RST). Приложени са подходящи статистически програми. Експерименталният материал е добре структуриран и напълно достатъчен за дисертация за научната и образователна степен „Доктор“.

Експерименталната работа е извършена в лабораториите на Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН и в Лабораторията по обща и клинична патология и съдебна медицина на УМБАЛ ”Лозенец”.

Оценка на получените резултати: Раздел „Резултати“ включва собствени данни на докторанта, които са представени прегледно, в последователност следваща на бележаните задачи в дисертацията. В резултат на проведените изследвания е направен патоморфологичен и клиничен анализ на 111 случаи с уротелни карциноми на пикочен мехур по отношение пол, възраст, наличие на локален рецидив, диференция и стадий, и получените данни са статистически обработени. Извършено е класифициране на туморите според степента на инфилтрация в мускулните слоеве. В хистологични препарати от уротелен карцином е доказана експресията на PD-L1 чрез имунохистохимично изследване с моноклонално антитяло срещу PD-L1 (clone 73-10). Експресията на PD-L1 се визуализира като мембранно и/или интрацитоплазмено позитивно оцветяване на туморната клетъчна популация и на имунните (стромни) клетки – лимфоцити и тъканни макрофаги инфилтриращи тумора. Установена е зависимост между степента на туморна инвазия и нивата на експресия на PD-L1. Уточнен е PD-L1 статус на уротелни карциноми (хистологични препарати) чрез имунохистохимично изследване с моноклонално антитяло срещу PD-L1.

В сравнителен аспект е изследвана цитостатик-индуцирана апоптоза при туморни клетъчни линии чрез двойно флуорохромиране с акридиноранж и пропидиев йодид, рутинно оцветяване с хематоксилин и еозин, и имунохистохимично изследване на експресията на PD L1. Екстрахирана е туморна ДНК от представителни и редки хистологични варианти на злокачествени тумори на пикочния мехур, за бъдещи генетични и молекулярно-биологични проучвания.

Проведените проучвания, както и получените резултати са логично систематизирани и онагледени с 3 таблици и 40 фигури, от които 17 фиг са дву- и многокомпонентни. Много добрата илюстрация позволява да се даде положителна оценка на проведените изследвания и получените резултати.

Дискусията е стегната и е направена едновременно с представяне на получените резултати, в светлината на литературните данни, и възможностите за потенциалното им използване в практиката. Направеното обобщение е реален анализ на всички получени експериментални данни и ясно очертават оригиналността и значимостта на научната разработка.

Рецензираният дисертационен труд е оригинално научно изследване, проведено на съвременно ниво, довело до **7 извода**, които приемам напълно. Те отразяват най-съществените постижения и закономерности по отношение наблюдаваните ефекти.

Изведени са **6 приноса** с оригинален, потвърдителен и приложен характер, и могат да бъдат описани както следва

Оригинални приноси: 1. Създадена е колекция от туморни тъкани от 110 уротелни карцинома на пикочния мехур с различна степен на диференциация и дълбочина на инфилтративен растеж в мускулните слоеве, метастази в лимфни възли и костни метастази. 2. Получени са статистически данни за разпределението по възраст, пол, степен на диференциация (G), степен на туморна инвазия (T) и стадий на заболяването на първичните и рецидивиралите карциноми на пикочния мехур, диагностицирани в Отделението по клинична патология за периода 2016-2020 година

Потвърдителни приноси: 3. Потвърден е огнищният характер на експресията на PD-L1 в туморната компонента и инфилтриращите имунни клетки. 4. Потвърдена е висока експресия на PD-L1 при ниско диференцирани уротелни карциноми. 5. Потвърдена е висока експресия на PD-L1 при метастични лимфни възли и далечни (костни) метастази

Приложни приноси: 6. От стратифицираните според степента на диференциация, стадий и дълбочина на инфилтрацията туморни тъкани от уротелни карциноми на пикочния мехур са екстрахирани ДНК елуати, които са готови за провеждане на цялостно екзомно (WES) и геномно (WGS) секвениране на ДНК при бъдещи проучвания в тази област.

Приносите са безспорни, обогатяват науката с нови данни и са с потенциално значение за медицинската практиката.

Публикации във връзка с дисертационния труд. Във връзка с дисертацията са представени **3** научни публикации отпечатани на английски език. В една от тях докторантът е водещ автор, а в другите две е в колектив. Приложен е списък с участия в три научни форума. Две от публикациите са отпечатани в списания реферирани и индексирани в световна база данни, включващи „Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research“, с квартил Q4 (12 точки) и Farmacia с квартил Q2 (20 точки) и съответно общ сбор от 32 точки. 1 статия е публикувана в Сборник с резюмета (Proceedings, of the XIV workshop on biological activity of metals, synthetic compounds and natural

products) с ISSN. От представената „Справка“ за изпълнение на минималните национални изисквания и изискванията на правилника на ИЕМПАМ-БАН за придобиване на ОНС „Доктор“ е видно, че докторантът покрива изискуемите показатели.

Критични бележки. Нямам критични бележки по същество по дисертацията. Бих отбелязала дребни технически грешки и непълно цитирани литературни източници (№ 115 от 2020, №134 от 2019, №138 от 2019, №139 от 2022, №147 от 2020, №148 от 2020, изписан без заглавие на статията, но с DOI, №196 от 2018, №204 от 2020). Дисертационният труд като цяло е написан на много добър научен и литературен език.

Оценка на Автореферата. Авторефератът е в обем от 68 страници. Оформен е много добре графично. Създава ясна и точна представа за цялостния дисертационен труд, постигнатите резултати, изводи и приноси

Придобрита компетентност съобразно изискванията на образователната и научна степен „Доктор“. Задочен докторант д-р Росен Александров Спасов демонстрира основни теоритични познания по темата на дисертацията, умения за правилен подбор на подходящи методи и практически умения за изследователска дейност. Придобил е опит да анализира, обобщава, и презентира научни резултати, и да оформя научни статии, които напълно съответстват на изискванията на образователната и научна степен „Доктор“.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ - Обемът и качеството на проведеното изследване определят дисертационния труд на Росен Александров Спасов, като завършена научна разработка с изразена иновативност и значение за терапията на уротелен карцином в клиничната медицинска практика. Обемът и качеството на дисертационния труд и успешното изпълнение на образователната и научна програма покриват качествените и количествените критерии на ЗРАС в РБ и правилника за неговото приложение, и вътрешните правилници на БАН и ИЕМПАМ-БАН. Докторантът Росен Александров Спасов притежава знания и умения за самостоятелна научно-изследователска работа.

Въз основа на горе-изложеното давам положителна оценка на дисертационния труд. Гласувам "Да" с убеденост и препоръчвам на членовете на уважаемото Научно жури да присъдят Образователната и научна степен „Доктор“ на задочен докторант д-р Росен Александров Спасов в Професионално направление 4.3."Биологически науки", и научна специалност "Морфология" (01.06.26).

20. март. 2025г
гр.София

Рецензент:


Проф. д-р Ренета Тошкова,