

РЕЦЕНЗИЯ

**От: Проф д-р Мирослава Иванова Кадурин, д.м.н.
УМБАЛ „Аджибадем Сити Клиник“ София, България**

Относно: Дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор“ на тема „ Съвременни епидемиологични, хистологични и имунохистохимични характеристики на спиноцелуларния карцином на кожата ”

На Д-р Преслав Пламенов Василев - редовен докторант към катедрата по „Дерматология, венерология и алергология“ към Медицински факултет, МУ – Плевен

Научни ръководители:

Проф. д-р Петранка Троянова, д.м.; Проф. д-р Добромир Димитров, д.м.

Предоставеният ми Дисертационен труд и документация отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за приложението му и Правилника за развитие на академичния състав в Медицински университет – Плевен. Трудът съдържа 120 стандартни машинописни страници, от които: Съдържание и съкращения – 5 стр. Въведение – 2 стр, Литературен обзор – 29 стр., Цел и задачи на проучването – 2 стр., Материал и методи – 5 стр., Резултати от собствени проучвания – 43 стр., Обсъждане на резултатите – 9 стр., Изводи и приноси – 8 стр., Книгопис – 15 стр. с 228 заглавия от които 3 на кирилица и 225 на латиница, Приложения – 35 стр., Научна продукция по темата на дисертацията – 1 стр. Резултатите и анализът на данните са изложени върху 52 страници, обработени и онагледени с 57 таблици и 45 фигури. Декларирам, че нямам общи научни трудове с дисертанта Д-р Преслав Пламенов Василев.

Немеланоцитните карциноми на кожата са едни от най-често диагностицираните малигнени заболявания в човешкия организъм. Главен представител на тази група заболявания е Базоцелуларният карцином на кожата (БЦК), поради което десетилетия наред той е проучван и до голяма степен са открити особеностите в неговото клинично протичане, патологично поведение, диагностициране и лечение. Още през 2013 година е одобрена първата таргетна терапия за лечение на БЦК с Hedgehog инхибитор Erivedge, като в момента се разработват и други нови терапевтични възможности. От друга страна, спиноцелуларният карцином на кожата (СЦК) е значително по-малко проучван. Едва през 2019 година е одобрена имунотерапия с PD-1 инхибитор Cemiplimab за лечение на СЦК и тепърва стартира разработка на други нови медикаменти. Клиничните проучвания и научните разработки върху СЦК изостават с около 1 десетилетие след тези при БЦК, което води до заключението, че научните разработки в сферата на СЦК са важни и необходими. Смъртните случаи при СЦК не са много, но СЦК с голям макроскопски диаметър, авансиралите и метастатичните СЦК са трудни за повлияване и лечение – истинско предизвикателство пред дерматолога, онкодерматолога, лъчетерапевта и онколога. Ето защо темата на дисертационния труд е актуална и дисертабилна. Целта е формулирана конкретно, ясно и точно. За нейното изпълнение са поставени 7 задачи, които произлизат от целта на проучването и позволяват да бъдат направени достоверни изводи.

В дисертационния си труд д-р Преслав Василев проучва заболяемостта от немеланоцитни кожни карциноми на територията на обл. Плевен за значителен времеви

период – 24 години (01.01.2000г.-31.12.2023г.), като установява 5748 пациента с горепосочените диагнози. Обследвани са пол, възраст, тип на немеланоцитния кожен карцином, патологично стадиране, заболяемост през годините. Най-висок е относителният дял на пациентите с БЦК – 66,6%, последван от тези с СЦК – 28,5%, Базо-сквамозен карцином – 2,1%, Първичен кожен Аденокарцином – 1,3%, Дерматофибросарком – 0,6%, Бластом – 0,5% и Меркел-клетъчен карцином – 0,4%.

За периода 2016-2023 година, в ретро- и проспективен план са проучени 355 пациента, диагностицирани със Спиноцелуларен карцином на кожата. При всички пациенти за целите на анализа е попълван регистрационен фиш.

Обследвани са редица характеристики на пациентите, като пол, възраст, професия, хоби свързано с фотоекспозиция, местоживее, съпътстващи заболявания и имunosупресираща терапия, времето за правилно поставена диагноза и лечение. Обследвана е специфичната локализация на тумора, неговият диаметър, хистопатологични характеристики, патологично стадиране. Установени са: превалиране на мъжкия пол, най-висока честотата на СЦК на 75 – годишна възраст, всички пациенти са от бялата раса, с кожен Фототип I-III. Резултатите потвърждават връзката на кожните неопластични заболявания с интензитета на слънчевата експозиция и приема на имunosупресираща терапия. Данните доказват, че колкото е по-дълго времето до диагностициране, толкова е по-голям туморът. Установена е и статистически зависима връзка между диаметъра на СЦК и вероятността за рецидивирание или метастазирание. Установена е най-висока честота на СЦК в областта на главата и шията, последвани от карциноми на торса, горния крайник и пениса. Проучена е и специфичната лицева локализация. Проучена е преживяемостта на пациентите и е установена статистически значима връзка между туморния диаметър и общата преживяемост. Колкото е по-голям туморния диаметър, толкова е по-ниска преживяемостта на пациентите. Анализирани са смъртността от заболяването и е установено, че при 1,97% от пациентите причината за смърт е авансирал или метастатичен СЦК.

Извършено е подробно хистопатологично изследване на 100 първични инвазивни СЦК. Последните са разделени в две групи според макроскопския диаметър - <20мм и >20мм. Установена е статистически значима връзка между макроскопския диаметър на първичния тумор и честотата на поява на рецидиви и метастази в лимфни възли и вътрешни органи. Установена е статистически значима връзка на диаметъра на СЦК с локализацията, хистологичната дебелина по Breslow, туморната диференциация, наличието на периневрална и лимфоваскуларна инвазия и честотата на тумора. За целта на това проучване е попълван подробен хистопатологичен фиш.

Извършено е имунохистохимично изследване на експресията на PD-L1, PD-1 и CD8 върху случаите, използвани в хистопатологичното проучване. Използваните антитела за изследването (мише моноклонално [NAT105] анти-PD1, рекомбинантно заешко анти-PD-L1 антитяло [SP142] - C-terminal, Dako FLEX Mono Mo a Hu CD8, cl C8/144B, RTU), както и работната методика са добре подбрани и описани. Използван е специално разработен и приложен имунохистохимичен фиш. При анализа на резултатите от имунохистохимичното изследване, не се установява статистически значима връзка между PD-1, PD-L1 и CD8 – IXX експресията и високо-рисковите хистопатологични характеристики при обследваните СЦК на кожата. Въз основа на резултатите и данните от литературата, става ясно, че изследването на PD-1, PD-L1 и CD8 е по-информативно и дава информация относно преживяемост на пациента и

отговор към имунотерапия с „checkpoint“ инхибитори, когато се извършва върху метастатични тъкани.

След забележката по време на вътрешната защита, изследванията са разширени и при 70 от туморите е извършено имунохистохимично изследване на маркерите CD4, Ki67, както и съотношението CD4:CD8. Установена е статистически значима разлика в експресията на CD4 и Ki67 между групата на ниско-рисковите и групата на високо-рисковите СЦК. Статистически е установен е cut-off от 1,3 за съотношението CD4:CD8. Туморите с по-висока стойност са с по-благоприятно протичане, докато по-агресивните се характеризират с ниво на CD4:CD8 под 1,3. Съотношението CD4:CD8 е модерно изследване, което в момента се извършва при различни видове солидни тумори, като при всеки стойността на cut-off е различна. Изследването се извършва за първи път при пациенти страдащи от СЦК в България

В приложенията към дисертационния труд са представени клинични случаи на СЦК, асоциирани с хронични възпалителни заболявания на кожата, както и медикаментозно индуцирани тумори. За първи път у нас д-р Преслав Василев описва случай на локално авансирал СЦК на кожата при пациент, страдащ от Epidermolysis bullosa hereditaria dystrophica, успешно лекуван с имунотерапия – Cemiplimab. За първи път у нас е описан случай на локално авансирал СЦК на кожата, индуциран от дългогодишен прием на Hydroxyurea при пациент, страдащ от Есенциална тромбоцитемия, лекуван с имунотерапия – Cemiplimab. По темата на дисертационния труд д-р Василев представя 4 научни публикации в национални периодични издания, от които две на английски език, като във всички от тях той е първи автор. Докторантът има 11 научни участия с орални презентации и постери, от които 7 – в национални научни форуми и 4 - в международни научни форуми.

В заключение:

В настоящата работа са събрани резултатите от проучвания върху една актуалната тема – спиноцелуларния карцином на кожата. На фона на новоразработените системни терапии за заболяването, проучванията върху СЦК се очаква да се умножават. Поставената цел и задачи са изпълнени и направените изводи са мотивирани. Изводите и приносите логично следват резултатите от осъществените проучвания. С оригинален характер са данните получени относно епидемиологията, хистопатологичните и имунохистохимичните характеристики на спиноцелуларен карцином на кожата. За България това е първият дисертационен труд, посветен на проблема - спиноцелуларен карцином на кожата.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на д-р Преслав Пламенов Василев в докторска програма по „Дерматология и венерология“.

15.04.2025 г., гр. София.

Изготвил становището: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Проф. д-р Мирослава Иванова Кадурина, д.м.н.

REVIEW

From: Prof. Dr. Miroslava Ivanova Kadurina, MD, PhD

University Acibadem City Clinic, Sofia, Bulgaria

Subject: Dissertation for the Medical Sciences degree „Doctor“ on the topic "Modern epidemiological, histological and immunohistochemical characteristics of squamous cell carcinoma of the skin"

To Dr. Preslav Plamenov Vasilev - doctoral student at Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Faculty of Medicine, Medical University - Pleven

Scientific supervisors:

Prof. Dr. Petranka Troyanova, MD, PhD; Prof. Dr. Dobromir Dimitrov, MD, PhD

The dissertation and documents provided to me meet the requirements of the Act on the Development of Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for its implementation and the Regulations for the Development of Academic Staff at the Medical University - Pleven. The manuscript contains 120 standard typewritten pages, of which: Table of Contents and Abbreviations – 5 pages. Introduction – 2 pages, Literature Review – 29 pages, Aim and Objectives of the Study – 2 pages, Material and Methods – 5 pages, Results of Own Research – 43 pages, Discussion of Results – 9 pages, Conclusions and Contributions – 8 pages, Bibliography – 15 pages with 228 titles, of which 3 in Cyrillic and 225 in Latin, Appendices – 35 pages, Scientific Production on the Topic of the Dissertation – 1 page. The results and analysis of the data are presented on 52 pages, illustrated with 57 tables and 45 figures. I declare that I have no scientific works in common with the dissertation candidate Dr. Preslav Plamenov Vasilev.

Non-melanocytic skin carcinomas are the most frequently diagnosed malignant diseases in the human body. The main representative of this group of diseases is Basal Cell Carcinoma of the Skin (BCC), which is why it has been studied for decades and the features of its clinical course, pathological behavior, diagnosis and treatment have been largely discovered. As early as 2013, the first targeted therapy for the treatment of BCC with the Hedgehog inhibitor Erivedge was approved, and other new therapeutic options are currently being developed. On the other hand, Squamous Cell Carcinoma of the skin (SCC) has been studied significantly less. It was only in 2019 that immunotherapy with the PD-1 inhibitor Cemiplimab was approved for the treatment of SCC, and the development of other new medications has only just begun. Clinical trials and scientific developments on SCC lag behind those on BCC by about 1 decade, which leads to the conclusion that scientific developments in the field of SCC are important and necessary. Deaths from SCC are not many, but SCCs with large macroscopic diameter, advanced and metastatic SCCs are difficult to treat - a real challenge for the dermatologists, oncodermatologists, radiation therapists and oncologists. That is why the topic of the dissertation is relevant and dissertable. The goal is formulated specifically, clearly and precisely. For its implementation, 7 tasks have been set, which allow reliable conclusions to be drawn.

In the dissertation, Dr. Preslav Vasilev studies the incidence of non-melanocytic skin carcinomas in the Pleven region for a significant period of time - 24 years (01.01.2000-31.12.2023), identifying 5748 patients with the above-mentioned diagnosis. Gender, age, type of non-melanocytic skin carcinoma, pathological staging, and incidence over the years were examined. The highest relative proportion of patients with BCC is 66.6%, followed by those with SCC – 28.5%, Basal-squamous carcinoma – 2.1%, Primary cutaneous adenocarcinoma – 1.3%, Dermatofibrosarcoma – 0.6%, Blastoma – 0.5% and Merkel cell carcinoma – 0.4%.

For the period 2016-2023, 355 patients diagnosed with Squamous Cell Carcinoma of the skin were studied in a retrospective and prospective manner. A registration form was filled out for all patients for the purposes of the analysis.

A number of patient's characteristics were examined, such as gender, age, profession, hobby related to photoexposure, place of residence, concomitant diseases and immunosuppressive therapy, the time for correct diagnosis and treatment. The specific localization of the tumor, its diameter, histopathological characteristics, pathological staging were examined. The following were found: male predominance, the highest incidence of SCC at the age of 75, all patients were Caucasian, with skin Phototype I-III. The results confirm the relationship of skin neoplastic diseases with the intensity of sun exposure and the intake of immunosuppressive therapy. The data prove that the longer the time to diagnosis, the larger the tumor. A statistically dependent relationship was also found between the diameter of the SCC and the probability of recurrence or metastasis. The highest incidence of SCC was found in the head and neck region, followed by carcinomas of the torso, upper limb and penis. The specific facial localization was also studied. The survival of the patients was studied and a statistically significant relationship was found between the tumor diameter and overall survival. The larger the tumor diameter, the lower the survival. The mortality rate of patients was analyzed and it was found that in 1.97% of patients the cause of death was advanced or metastatic SCC.

A detailed histopathological study of 100 primary invasive SCCs was performed. They were divided into two groups according to the macroscopic diameter - <20mm and >20mm. A statistically significant relationship was established between the macroscopic diameter of the primary tumor and the frequency of recurrence and metastasis in lymph nodes and internal organs. A statistically significant relationship was established between the diameter of the SCC with localization, histological thickness according to Breslow, tumor differentiation, the presence of perineural and lymphovascular invasion and the frequency of the tumor. For the purpose of this study, a detailed histopathological sheet was filled in.

An immunohistochemical study of the expression of PD-L1, PD-1 and CD8 was performed on the cases used in the histopathological study. The antibodies used for the study (mouse monoclonal [NAT105] anti-PD1, recombinant rabbit anti-PD-L1 antibody [SP142] - C-terminal, Dako FLEX Mono Mo a Hu CD8, cl C8/144B, RTU), as well as the methodology are well selected and described. A specially developed and implemented immunohistochemical questionnaire was used. When analyzing the results of the immunohistochemical study, no statistically significant relationship was established between PD-1, PD-L1 and CD8 - IHC expression and high-risk histopathological characteristics in the examined skin SCCs. Based on the results and data from the literature, it is clear that the study of PD-1, PD-L1 and CD8 is more informative and provides information about patient survival

and response to immunotherapy with "checkpoint" inhibitors, when performed on metastatic tissues.

After the observation during the preliminary hearing, the studies were expanded and in 70 of the tumors, immunohistochemical examination of the markers CD4, Ki67, as well as the CD4:CD8 ratio was performed. A statistically significant difference in the expression of CD4 and Ki67 was established between the group of low-risk and the group of high-risk SCC. A cut-off of 1.3 was statistically established for the CD4:CD8 ratio. Tumors with a higher value have a more favorable course, while more aggressive ones are characterized by a CD4:CD8 level below 1.3. The CD4:CD8 ratio is a modern study that is currently performed in different types of solid tumors, with each having a different cut-off value. The study is being conducted for the first time in patients suffering from SCC in Bulgaria

The appendices to the dissertation present clinical cases of SCC associated with chronic inflammatory skin diseases, as well as drug-induced tumors. For the first time in our country, Dr. Preslav Vasilev describes a case of locally advanced SCC of the skin in a patient suffering from Epidermolysis bullosa hereditaria dystrophica, successfully treated with immunotherapy – Cemiplimab. For the first time in our country, a case of locally advanced SCC of the skin, induced by long-term intake of Hydroxyurea, in a patient suffering from Essential Thrombocythemia, treated with immunotherapy – Cemiplimab has been described. On the topic of the dissertation, Dr. Vasilev has presented 4 scientific publications in national periodicals, two of which in English, and in all of them he is the first author. The doctoral student has 11 scientific participations with oral presentations and posters, 7 of which – in national scientific forums and 4 – in international scientific forums.

In conclusion:

This work has collected the results of studies on a current topic – Squamous cell carcinoma of the skin. Against the background of newly developed systemic therapies for the disease, studies on SCC are expected to multiply. The set goal and tasks have been met and the conclusions drawn are motivated. The conclusions and contributions logically follow the results of the studies carried out. The data obtained regarding the epidemiology, histopathological and immunohistochemical characteristics of Squamous cell carcinoma of the skin are of an original nature. For Bulgaria, this is the first dissertation work dedicated to the problem of Squamous cell carcinoma of the skin.

Due to the above, I confidently give my positive assessment of the conducted research, presented by the above-reviewed dissertation, abstract, achieved results and contributions, and I propose to the esteemed scientific jury to award the educational and scientific degree "Doctor" to Dr. Preslav Plamenov Vasilev in the doctoral program in "Dermatology and Venereology".

15 APR 2025

Signature **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Prof. Dr. Miroslava Ivanova Kadurina, MD, PhD