

РЕЦЕНЗИЯ

От Проф. д-р Румен Йорданов Бенчев д.м.н. УМБАЛ „Софиямед“

Специалност „Ушно-носно-гърлени болести“

Относно: Дисертационен труд на Д-р Георги Николов Николов на тема:

„ПРИЛОЖЕНИЕ НА ИМУНОХИСТОХИМИЧНИТЕ МЕТОДИ - p16INK4a И Ki-67 В РАННАТА ДИАГНОСТИКА НА HPV-АСОЦИИРАНИЯ ЛАРИНГЕАЛЕН КАРЦИНОМ И ДОБРОКАЧЕСТВЕНИ ЛАРИНГЕАЛНИ ЛЕЗИИ“ за придобиване на научнообразователна степен „доктор“ по специалността „Оториноларингология“ с Шифър (03.01.35), професионално направление „7.1.Медицина“, област на висше образование „7. Здравеопазване и спорт“

Д-р Георги Николов Николов е роден през 1969 г. Завършва медицина във Висш Медицински Институт гр. Плевен през 1996 г. Започва работа в Клиниката по УНГ болести на Институтска болница гр. Плевен през 1997 г. От 2003 г. е „асистент“ , от 2008 г. „старши асистент“ и от 2010 г. „главен асистент“. През 2002 г. придобива специалност по „Ушно-носно-гърлени болести“ . Владее руски и английски език. От 2011г. е докторант към катедрата по Очни болести, УНГ болести и ЛЧХ.

Д-р Георги Николов Николов има медицински стаж 18 г. и преподава на студенти по Медицина англо- и българоезично обучение 11 г.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд на д-р Георги Николов на тема „Приложение на имунохистохимични методи – p16INK4a и Ki-67 в ранната диагностика на ларингеалния карцином и доброкачествени ларингеални лезии“ третира един много актуален, съвременен проблем от областта на туморите на главата и шията. Злокачествените новообразувания на гръкляна имат водеща позиция в онкологията на горните дихателни пътища и заема до 70 %, а от общата онкология на тялото до 2,00 %. Силни индуктори на злокачествените образувания на горните дихателни пътища са тютюнопушенето и злоупотребата с алкохола, в същото време важна роля в етиопатогенезата на рака на гръкляна играят възпалителните процеси, каквито са папилома вирусната инфекция и хроничния хиперпластичен ларингит.

Дисертационният труд на д-р Николов е насочен към разкриване на факторите за високата заболяемост от ларингеален карцином и описва

важни особености на ново сформиранията рискова група пациенти с HPV-асоциирани заболявания на ларинкса.

Връзката между HPV и патологията на горните дихателни пътища е позната и описана от почти едно столетие. Но едва през последните 15 години се появяват литературни данни за възможността, HPV инфекцията да е причина за онкологични заболявания в областта на главата и шията. Известно е също, че терапевтичния отговор и съответно преживяемостта е по-добра при HPV позитивните карциноми. Според съвременните представи за онкогенезата, между 10 % - 25% от случаите на рак в световен мащаб могат да бъдат свързани етиологично с хронични вирусни инфекции в това число и инфекцията HPV. При това според данни на различни автори от 25% до 35 % от туморите на главата и шията са етиологично свързани с HPV. Докато преди 10 години високорисковите щамове на човешкия папиломен вирус са били по-малко от 10, в момента те са близо 20. В този смисъл разработената от д-р Георги Николов дисертация е навременна и несъмнено актуална.

Трудът е разгърнат в 188 страници и съдържа: Въведение, Цел и задачи, Материал и методика, Анализ на резултати от собствено проучване, Дискусия, Изводи, Приноси и Литература.

Целта на изследването е да се проучи група от пациенти, оперирани в УНГ клиника на УМБАЛ „Д-р Г. Странски” гр. Плевен по повод на ларингеален карцином, папилом на ларинкса и хиперкератоза на ларингеалния епител, за наличието на HPV инфекция, като се приложат имунохистохимични методи за изследване – p16INK4a и Ki-67 и на базата на получените резултати да се изгради теоретично издържан и практически приложим алгоритъм за ранна диагностика и лечение на HPV-асоциираните тумори на ларинкса.

Поставени са 4 задачи, които напълно отговарят на поставената цел и дават възможност за пълно описание на проблема с HPV-асоциираните тумори на ларинкса.

Литературният обзор се основава на 205 литературни източници, от които 17 на български език. Материалите са от последните 10 години, с което е изпълнено изискването за използване на актуална информация по проблема. В раздела „Молекулярни основи на HPV-индуцираната онкогенеза” от литературния обзор, д-р Николов разглежда механизмите за трансформацията на заразената епителна клетка в туморна. Описва се начина на вмешателство на вирусните онкогени в клетъчните регулаторни механизми, което води до обезсмъртяване на раковите клетки, подтискане на апоптозата, и в крайна сметка до генетична нестабилност и натрупване на мутации. Тези процеси са добре онагледени с цветни фигури и снимки собствени снимки на хистологични препарати. В „Епидемиология на HPV – асоциирания ларингеален карцином”, е съпоставена честотата на карцинома на шийката на матката с тази на ларингеалния карцином, както

и нагледни материали по данни на СЗО за честотата на тези две тежки заболявания в Европа и евентуалната им връзка на базата на HPV инфекция.

Д-р Николов аргументира избора на имунохистохимичния метод 16INK4a за търсене на причината за онкогенезата на основата на добре онагледената и логично обяснена патогенеза на вирус-обусловената онкогенеза.

В нашата страна ларингеалния карцином обикновено се диагностицира в късен стадий и това рефлектира в неговото лечение – максимално инвазивно хирургично и лъчелечение. Според данни на Националния Онкологичен Център - НОЦ 2008г. 40,7% от случаите се диагностицират в IV-ти стадий и едва 8,7 % в I-ви стадий. Този факт аргументира усилията за разработване и внедряване на методи за ранна диагностика и съответстващо правилно и своевременно лечение на това тежко заболяване. Ето защо, диагностицирането на HPV инфекция, причинена от онкогенни типове на вируса е от голяма важност за профилактиката, ранното откриване и правилното лечение на засегнатите пациенти. Това ми дава основание да считам, че дисертационния труд на д-р Георги Николов има съществен принос за ранната диагноза и терапевтично поведение на пациентите с ларингеален карцином.

Положително оценявам и обстойно представената симптоматика на ларингеалния карцином, както и стегнато и точно описаните методи за лечението му.

Материалът на изследването на д-р Николов се състои от 73 пациенти. От тях 43 -58,9 % са с ларингеален карцином, 15 - 20,55 % са с доброкачествени лезии - ларингеален папилом или хиперкератоза и 15 - 20,55 % са с контролна група. Всички пациенти са оперирани в Клиниката по УНГ болести на УМБАЛ „Д-р Георги Странски” за периода 2012-2013г. 39,5% от болните с ларингеален карцином се оказват етиологично свързани с HPV инфекцията. При всички е направено ИХХ изследване за установяване на участие на HPV в патогенезата на лезиите и наличие на онкогенеза. Пациентите са изследвани за p16 INK 4^a чрез имунохистохимичен (ИХХ) метод за доказване наличието на транскрипционно активен HPV в туморните клетки. Чрез ИХХ се доказва, че онкогенезата в епитела вече е настъпила, започва натрупване на мутации и е въпрос на време HPV заразените клетки да се превърнат в карциномни. Предимство на метода е, че още при доброкачествени лезии, каквито са папиломите, може да се предскаже заплашващата онкогенеза при позитивиране на p16INK4a оцветяване на препарата. При тези пациенти следва да се приложи оперативно лечение – МЛХ, последвано от неспецифична имунопрофилактика. Специфичната имунопрофилактика се прилага, когато в препарата се открият щамове, включени във ваксините. Не по-малко важен е и факта, че имунохистохимичното изследване е в

пъти по-евтино от PCR тестовете, което го прави лесно приложим в рутинната практика на оториноларинголога и онколога.

Получените данни са статистически обработени с програмата САТГРАФ, което обуславя достоверността на направените наблюдения.

Установени са следните резултати: 39,5% от пациентите с ларингеален карцином са позитивни по p16 INK 4^a, което означава, че ларингеалния карцином при тях е етиологично свързан с папиломавирусната инфекция. 60,5 % от изследваните пациенти с ларингеален карцином са отчетени като негативни по отношение на p16 INK 4^a. При тях няма папилома вирусна инфекция. В групата с доброкачествени лезии на ларингеалната мукоза n=15 са открити 20% позитивни по p16 INK 4^a и 80 % – негативен резултат. Контролната група n=15 няма пациенти с p16 INK 4^a позитивно оцветяване на имунохистохимичния препарат. Широкото разпространение на вируса дава основание на д-р Николов да предположи, че сексуално-трансмисивния път на предаване, все по често се съпътства и от контактно-битов и дори въздушно-капков механизъм.

Съпоставянето на хистологичния резултат с p16INK4a биомаркер за HPV позитивност, показва, че 82,3% от HPV-асоциираните карциноми на ларинкса са с хистология на високо-диференциран кератинизиращ плоскоклетъчен карцином. 17,7% от HPV позитивните карциноми са с картина на умеренодиференциран плоскоклетъчин карцином. От нискодиференцираните карциноми не са установени p16INK4a положителни.

Широкото разпространение на вируса дава основание на д-р Николов да предположи, че сексуално-трансмисивния път на предаване, все по често се съпътства и от контактно-битов и дори въздушно-капков механизъм.

На базата от получените резултати е съставен диагностично-терапевтичен алгоритъм за поведение при пациенти с HPV асоцииран ларингеален карцином. В случаите, в които при хистологичното изследване се диагностицира карцином или ларингеален папилом, от фиксирания препарат се обработват срезове с ИХХ методи – p16INK4a и Ki-67.

Подобен алгоритъм до момента не е предлаган в световната литература, което е безспорен принос на дисертанта.

Изводите са 5 на брой и напълно корелират с поставените задачи. По важни от тях са: Пациентите с p16INK4a позитивен ларингеален карцином оформят нова рискова група за развитието на това заболяване. Нейни важни характеристики са: пациентите с HPV позитивен ларингеален карцином са по-млади от останалите в групата (средно с осем години), обикновено тези пациенти не злоупотребяват с алкохол и тютюнопушене.

важен фактор за развитие на HPV-асоциирания ларингеален карцином е по-големия брой сексуални партньори и практикуването на орален секс, често при пациентите с HPV-асоцииран ларингеален карцином откриваме данни за т.нар. семейна онкогенеза, вероятността от предхождаща или последваща лечението проява на втори първичен карцином и/или рецидив е по-голяма при HPV позитивните ларингеални карцином. Приложението на разработения алгоритъм за ранна диагностика и лечение на HPV-асоциирания ларингеален карцином осигурява на пациентите съвременно, адекватно, ефективно и икономически съобразено лечение. Въвежда се логичен порядък в последователността на изследванията. В зависимост от резултатите на всеки етап се определят методите на лечение.

Приноси:

Приносите на дисертационния труд са от научно-приложен характер, най-важните, от които са: за първи път в България се прилага имунохистохимичния метод p16INK4a за диагностиката на HPV-асоциирания ларингеален карцином; за първи път в България се прилага ИХХ метод за изследване на пациенти с хиперкератоза и ларингеален папилом; за първи път в България е създаден научно обоснован и практически приложим алгоритъм за диагностика и лечение на HPV асоциирания ларингеален карцином и доброкачествени тумори на ларинкса; свързана е множествената карциногенеза с HPV инфекцията с високорискови щамове.

Други приноси са: за първи път в у нас се прилага ИХХ метод за изследване на пациенти с хиперкератоза и ларингеален папилом и предлага p16INK4a да бъде използван като биомаркер, прогнозиращ настъпващата малигнизация на някои доброкачествени тумори на ларинкса; въвежда се понятието „семейна онкогенеза“ и си предлагат профилактични мерки по отношение на болния и близките му.

По дисертационния труд са представени общо 14 публикации, от тях 6 са публикувани в наши списания, като д-р Николов е първи автор в 5 от тях. 8 са изнесени на конференции, симпозиуми като презентации, а една от тях е представена като постер на Балкански конгрес по оториноларингология – гр Будва р.Черна гора 2014г. Те отразяват различни аспекти на проблема за HPV инфекцията и ларингеалния карцином и спомагат за популяризиране на методите за неговата диагностика и лечение. Броят на публикациите във връзка с дисертационния труд е напълно достатъчен и надхвърля изискуемия минимум от ЗРАСРБ.

Авторефератът отговаря на изискванията и отразява най-важните моменти от дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Считам, че представения ми за рецензия дисертационен труд „ПРИЛОЖЕНИЕ НА ИМУНОХИСТОХИМИЧНИТЕ МЕТОДИ - p16INK4a И Ki-67 В РАННАТА ДИАГНОСТИКА НА HPV-АСОЦИИРАНИЯ ЛАРИНГЕАЛЕН КАРЦИНОМ И ДОБРОКАЧЕСТВЕНИ ЛАРИНГЕАЛНИ ЛЕЗИИ” разработва актуален и значим медико-социален проблем и като научна стойност отговаря на установените критерии за дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор”. Изхождайки от посочените по-горе наукометрични данни, които покриват изцяло изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Правилника за устройство и дейността на МУ-Плевен, препоръчвам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждане на образователната и научна степен „доктор” на дисертанта към МУ-Плевен **д-р Георги Николов Николов**.

София, 28.10.2014 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:
(проф. Румен Бенчев, д.м.н.)