

ДО:
ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНОТО ЖУРИ
ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД
№РД-38-310/13.05.2016 година.
НА РЕКТОРА НА СУ "Климент Охридски",
гр. София

СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Маргарита Любенова Генова, дм
Началник Лаборатория по хематопатология и имунология,
Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания - София

Относно:
ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД НА ТЕМА
„ПОДХОД ПРИ ХИРУРГИЧНО ЛЕЧЕНИЕ НА ПАЦИЕНТИ С ПЪРВИЧЕН ХЕПАТОЦЕЛУЛАРЕН
КАРЦИНОМ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ)”,

за придобиване на образователната и научната степен „ДОКТОР” по направление 7.
Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина и научна специалност
„Обща Хирургия” с шифър 03.01.37.

Научни ръководители – Доц. д-р Здравко Йорданов Лазаров, дм проф. д-р Спиро Михаилов
Константинов, дм

Д-р Станислав Минчев Филип

докторант на самостоятелна подготовка към
Катедрата по Хирургични болести, акушерство и гинекология при МФ на СУ

УВАЖАЕМИ Г-Н ПРЕДСЕДАТЕЛ НА НАУЧНО ЖУРИ,

Предоставям на Вашето внимание становище относно дисертационния труд за получаване на образователната и научна степен „доктор” от докторант д-р Станислав Минчев Филип съгласно изискванията на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски” - София във връзка със заповед РД 38-310 от 13.5.2016 год. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“:

I. Кратки биографични данни за докторанта:

Д-р Станислав Минчев Филип е завършил МЕДИЦИНА в Медицински факултет на Медицински Университет–София през 1991 г. и придобива медицинска специалност по обща и клинична патология през 2004 год. В кариерното си развитие заема последователно следните академични позиции: в Лаборатория по експериментална патология и токсикология при Националния център по хигиена, медицинска екология и хранене към МЗ (1992-2000); УМБАЛ „Александровска” (2000-2004), хоноруван асистент при Катедра по обща и клинична патология на МУ- София (2004-2007); асистент (2007-2008), старши асистент (2008-2011) и главен асистент (от 2011) Катедра „Анатомия, хистология, патология и съдебна медицина” и УБ „Лозенец” към Медицински факултет на Софийски университет „Климент Охридски“, а към

настоящия момент - докторант на самостоятелна подготовка към катедрата по Хирургични болести, Акушерство и Гинекология при МФ на СУ.

Участник е в международни проекти, финансирани по програма „Коперник“, Фонд „Научни изследвания“, Софийски Университет „Св. Климент Охридски“. Интересите му са насочени в областта на дерматохирургия, дерматопатология, дерматоонкология, минимално-инвазивна урологична микрохирургия и урологична патология, чернодробна патология и метаболитни модели.

II. Обща оценка на дисертационния труд:

Представеният дисертационен труд е посветен на **актуален научно-медицински проблем** – хепатоцелуларния карцином, който все още заема едно от водещите места като причина за смърт поради малигнено заболяване и представлява изпитание пред медицинските екипи. Лечението на хепатоцелуларния карцином (HCC) е мултидисциплинарен проблем. Решенията за терапевтично поведение трябва да бъдат взети съвместно от хепатолози, трансплантационни и чернодробно-жлъчни хирурзи, медицински онколози, интервенционални рентгенолози и не на последно място патолози и лабораторни специалисти.

Пълното отстраняване на тумора представлява единствената възможност за дългосрочно лечение, но има съществени ограничения. От една страна, резекцията чрез частична хепатектомия е осъществима в ограничен брой пациенти (обикновено <15-30%) поради високата честота на подлежаща цироза. От друга, в рамките на 5 години при около 75% от пациентите настъпва рецидив на базата на *de novo* HCC или поради локално разпространение. Известни са редица клинично-патологични показатели, свързани с по-висок риск от рецидив (резекционни линии, наличие на цироза, съдова инвазия, напреднала степен, брой на туморните нодули, портална венозна микроваскуларна тромбоза, високи нива на алфа-фетопротеин (AFP) и предоперативна аспартат аминотрансфераза (AST), хепатит С.

В сравнение с резекция на HCC, чернодробната трансплантация (LT) предлага известни потенциални предимства. Пълната хепатектомия премахва възможността за локален рецидив в резекционните линии, премахва циротичния черен дроб, който представлява ясно канцерогенно предразположение, елиминира опасенията относно способността на резидуалния паренхим да осигури адекватен чернодробен обем. Основните ограничения обаче са свързани както с недостатъчния брой донори, така и с рискът от рецидиви в алографта или в екстрахепатални тъкани. Разработването на високо-информативни критерии за адекватна селекция на пациенти, подлежащи на LT (Milano criteria) е в основата на съществените успехи на технологията, като интересът към идентифицирането на допълнителни предиктивни фактори (в т.ч. билобарно разпространение на тумора, съдова инвазия, хистологични параметри и др.) е насочен към предотвратяване на рецидиви и индивидуализиране на терапевтичния подход.

В тази връзка разработването на оптимизирани функционални алгоритми за оценка и селекция на пациенти с първичен хепатоцелуларен карцином, подлежащи на хирургично лечение е актуален медицински проблем. В допълнение, разработването и валидирането на експериментални *in vitro* модели за оценка на настъпващите промени в чернодробни клетки при определени физиологични и патологични условия дават възможност за дефиниране на капацитета на следоперативния регенераторен процес и толеранса на съхранените зони от паренхима към по-големи по обем чернодробни резекции и биха създали сериозни предпоставки за оптимизиране на терапевтичните резултати при пациентите с хепатоцелуларен карцином, което прави дисертационния труд безспорно актуален и перспективен.

Дисертационният труд, представен от докторант д-р Станислав Минчев Филипov **съответства на основните изисквания** на чл. 27 от Правилника за прилагане на закона за развитието на академичния състав в Република България (Обн. ДВ. бр.75/24.09.2010г., изм. ДВ. бр.19/8.03.2011):

1. Дисертационният труд е представен във вид и обем от общо 216 страници, като съдържа: съдържание (общо 4 страници); изложение, структурирано в следните раздели - I. литературен обзор (109 страници); II. цел и задачи (1 страници); III. материали и методи (25 страници); IV. резултати (28 страници); V. дискусия (14 страници); основни изводи от проведените изследвания и приноси (4 страници); библиографска справка. Дисертационният труд е онагледен с 37 фигури (графики и микроскопски снимки), онагледявайки изложението. Библиографията включва 461 печатни източника на латиница, 42% от които са от последните десет години. В текста се приложени и 18 таблици, които не са номерирани.

Приложен е автореферат, който адекватно отразява основните моменти и в допълнение съдържа списък на публикациите във връзка с дисертационния труд, който включва 3 публикации на английски език, една от които в чуждестранно научно издание с импакт фактор (общо IF=2,406) и едно научно съобщение в пълен текст в сборник от международен научен форум в САЩ.

2. Дисертационният труд показва, че кандидатът притежава задълбочени теоретични знания по своята специалност и способности за провеждане на научни изследвания. Представени са резултати, които представляват оригинален принос в науката.

2.1. Дисертационният труд съдържа **Литературен обзор**, който ясно показва добрата информираност на докторанта по проблемите на хепатоцелуларния карцином. В обем от 109 страници докторантът представя обстоен преглед на клетъчната, анатомичната и функционална характеристика на черния дроб, както на основните патологични процеси и нозологични категории. Анализът на данните относно хепатоцелуларния карцином и основните хирургични, медикаментозни и алтернативни методи на лечение позволяват на докторанта да формулира съществени нерешени и спорни проблеми, които да залегнат в настоящия дисертационен труд.

Докторантът показва умения за критичен анализ и обобщение на цитираните научни факти, въз основа на което формулира амбициозна **цел** на дисертационния труд – да бъде разработен оптимизиран функционален алгоритъм за оценка и селекция на пациенти с първичен хепатоцелуларен карцином, подлежащи на хирургично лечение, като в допълнение се направи опит за разширяване на възможностите за оценка на настъпващите промени в чернодробни клетки при определени физиологични и патологични условия чрез експериментален *in vitro* модел за структурно-функционален анализ и определяне на възможностите на следоперативния регенераторен процес и толеранса на съхранени зони от паренхима към по-големи по обем чернодробни резекции.

2.2. Докторантът е представил прецизно използваните в научната разработка **Материали и методи**, които са подбрани в съответствие с поставената цел и основни задачи. Разработката се основава на изследването както на клиничен материал от пациенти, така и подбрани клетъчни линии HEP-G2 (човешка клетъчна линия от хепатален карцином) и EOL-1 (човешка левкемична клетъчна линия), подложени на широк набор от лабораторни методи, подробно описани и обяснени в раздела по начин, който позволява ясно разбиране на същността на извършените изследвания, като на практика предоставя добро практическо ръководство за работата на последващи докторанти и изследователи. Използвани са:

- широк набор от хистопатологични методи (светлинно-микроскопски, хистохимични, имунохистохимични, имунофлуоресцентни)
- методи на клетъчно култивиране и оценка на клетъчна виталност и пролиферация при *in vitro* условия
- молекулярно-биологични методи за анализ на гена и протеинна експресия
- статистически методи за анализ.

2.3. Дисертационният труд представя **Научни резултати**, описани коректно, онагледени с фигури, снимков материал и таблици, както следва:

- Детайлно е характеризирана група от 16 пациенти, покриващи трансплантационни критерии „Милано“, преминала през клиничната база “Лозенец” за 10-годишен период, по отношение на основните клинично-патологични показатели, стадийни системи и извършените хирургични интервенции;

- Оптимизиран е *in vitro* модел на хепатоцитно възпаление, разработен чрез ко-култивиране на човешка хепатоцитна клетъчна линия HEP-G2 със стимулирани еозинофили. Предложеният модел е в унисон с тенденцията за разработване и въвеждане на нови *in vitro* тестове за токсичност, които ще намалят броя на необходимите опитни животни и ще допринесат за практическото реализиране на принципите на т. нар. тройно R – „Replacement, Reduction and Refinement of animal experiments” (заместване, намаляване и усъвършенстване на опитите с животни).

- Установено е, че ко-култивирането с миелоидни EOL-1 клетки не е асоциирано с директен цитотоксичен или апоптогенен ефект и може да се разглежда като моделна експериментална система.

- Проучена е експресията на клетъчни маркери за индукция на автофагия и възпаление, както и за супресия на апоптоза при ко-култивиране на хепатоцитната клетъчна линия HEP-G2 и EOL-1, стимулирана с 50 и 100 nM PMA (форболов естер). Установено е повишаване на експресията на маркери за индуциране на автофагия (LC3BII и Beclin 1), както и морфологични белези на автофагия, като броят на автофагозомите кореспондира с белезите на малигнена трансформация.

- Установява се индукция на анти-апоптотичния фактор Bcl-2, експресия и активация на пролиферационния фактор PKB/Akt, особено след ко-култивиране с еозинофили, предварително стимулирани към секреция на про-инфламаторни протеини.

- Активираната автофагия при инхибирана апоптоза може да се приеме за показател за адаптация на хепатоцитите в условия на стрес и повишена способност на туморните клетки за дългосрочно оцеляване.

- Резултатите позволяват да се формулират асоциации между *in vitro* данните и клиничните наблюдения за ролята на продължителните про-инфламаторни стимули върху органичния паренхим за настъпване на клетъчни загуби, фиброза и формиране на регенераторни възли, в които може да се реализира процес на туморна трансформация, както и за последващите про-митогенни и антиапоптотични ефекти върху туморните клетки.

- Разработеният *in vitro* клетъчен модел на чернодробно възпаление е използван за изследване на противовъзпалителния потенциал на два продукта от растителен произход – куркумин и екстракт от корените на кръвен здравец - *Geranium sanguineum* (който се използва за производството на хранителната добавка Gerisan). Установено е стационариране на процеса на автофагия и генериране на клетъчни загуби при инкубиране на хепатоцити с изследваните

продукти, които са значимо по-изразени при куркумин. Резултатите показват че куркумин и екстракт от *Geranium sanguineum* притежават потенциал за благоприятно модулиране на патогенетичните промени при хепатоцелуларния карцином и притежават потенциал да допринесат за увеличаване на функционалния резерв на чернодробната тъкан.

2.4. В представената **Дискусия** докторантът прави анализ на данните от собствените изследвания и тези на други изследователски групи, намерени в литературните източници, което му позволява да формулира обобщения и **Изводи и Приноси**, както (1) по отношение на възможностите за оценка на клинично-патологични параметри при вземане на клинични решения за терапевтично поведение и мониториране; така и (2) по отношение на подлежащите патогенетични механизми и потенциални възможности за модулиране на чернодробните увреждания, които да бъдат транслирани в клиничната практика.

Препоръчвам на докторанта и научните му ръководители да продължат проучванията си с включване на допълнителен клиничен материал и проспективна оценка на клиничните резултати, както и продължаване на *in vitro* проучванията върху ко-култури от хепатоцити добити от клиничен материал и активирани миелоидни клетъчни линии, които да бъдат публикувани.

III. Заключение.

В заключение, представеният дисертационен труд на д-р Станислав Минчев Филипов, докторант на самостоятелна подготовка към Катедрата по Хирургични болести, Акушерство и Гинекология при МФ на СУ "Св. Климент Охридски", на тема „ПОДХОД ПРИ ХИРУРГИЧНО ЛЕЧЕНИЕ НА ПАЦИЕНТИ С ПЪРВИЧЕН ХЕПАТОЦЕЛУЛАРЕН КАРЦИНОМ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ)“ представлява собствена разработка на докторанта по актуален научно-медицински проблем, структуриран, оформен и онагледен съгласно изискванията. Дисертационният труд, с приложените към него научни публикации, отговаря на критериите на чл.6 от Закона за развитието на академичния състав в Република България (ДВ. бр.38 от 21 Май 2010г., посл. изм. ДВ. бр.68 от 2 Август 2013г.) и правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ (Изменен на 28 октомври 2015 г. с решение на Академическия съвет).

На базата на гореизложеното, давам положителна оценка на дисертационния труд и предлагам на почитаемото Научното жури да присъди образователната и научна степен "ДОКТОР" по направление 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина и научна специалност „Обща Хирургия“ с шифър 03.01.37. на докторант **д-р Станислав Минчев Филипов.**

Изготвил становище:

04.07.2017 год.



проф. д-р Маргарита Любенова Генова, дм

Началник Лаборатория по хематопатология и имунология
СБАЛХЗ - София