

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на

Бодан Русев Хаджиев

Докторант в катедра „Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика“,
Факултет по фармация, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов” –
Варна

на тема:

„ВРЪЗКА МЕЖДУ ВИТАМИН D И АНДРОГЕНЕН СТАТУС ПРИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ПРОСТАТАТА”

представен за присъждане на научна степен „ДОКТОР”
по научна специалност „Биохимия”, в област на висшето образование
4. „Природни науки, математика, и информатика”,
професионално направление 4.3. Биологически науки

изготвена от

*професор Диана Георгиева Иванова, доктор на биологическите науки,
Декан на Факултета по фармация
при Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов” – Варна*

1. Биографични данни за кандидата

Бодан Русев Хаджиев е завършил образователни степени „Магистър“ по биология в Университет Валенсия, Испания през 2004 г. През същата година е зачислен за специализация по „Клинична химия“ към Медицински Университет – Пловдив, която завършва успешно през 2009 г. От 2004 до 2011 г. работи като асистент по биохимия към Катедрата по химия и биохимия на Факултета по фармация на Медицински университет Пловдив. Успоредно с това (2006 – 2011 г.) и отново по-късно (2012 – 2013 г.) той работи като биолог със специалност „Клинична химия“ към УМБАЛ „Св. Георги“. В периода 2011-2012 г. заема същата длъжност в Университетска болница „Д-р Песет Александре“,

гр. Валенсия, Испания. От 2014 г. до момента е асистент в Катедра „Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика“ на Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна. През м. август 2015 г. е зачислен за докторант на самостоятелна подготовка по „Биохимия“ към Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика при МУ – Варна. Владее испански и английски езици и активно участва в англоезиковото обучение в МУ Варна, води упражнения и семинари на студенти по медицина, дентална медицина и фармация и развива активна научна дейност. Ас. Хаджиев работи с желание по научните проекти на катедрата и е активен участник в катедрените мероприятия и представяния на Факултета по фармация при Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

2. Актуалност на дисертационния труд

Простатният карцином е сериозен проблем за страните със застаряващо население, към които спада и България. По данни на СЗО средната честота на рака на простатата в Европа е около 60 на 100 000 мъже. По данни на Националния раков регистър в България до 2015 година броят на новозаболените мъже се увеличава с няколкостотин годишно и достига до 72,9 болни с простатен карцином на 100 000 мъже. По тази причина, не само терапията, но и превенцията на простатния карцином са предизвикателство както за изследователите, изучаващи фундаменталната канцерогенеза, така и за клиницистите, занимаващи се с диагностиката и лечението му.

Все по-голямо внимание привличат данните за ролята на т.н. модифициращи фактори върху риска и прогресията на често срещаните доброкачествени и злокачествени заболявания на простатната жлеза. Към тях се отнасят диетата и начинът на живот, пряко свързани наличието на витамин D в организма - витамин, чийто потенциален антипролиферативен и антитуморен ефект все по-често се дискутира в клиничен план. Счита се, че тези ефекти на витамина се опосредстват от неговите метаболити, съответно зависят от ензимите, участващи в синтеза на тези метаболити, както и от експресията на рецептора за витамин D. Един от спорните въпроси по настоящем е дали дефицитът на витамин D може да доведе до увеличен риск от поява и развитие на простатен карцином и каква е връзката с андрогенния статус и с клинични детерминанти за доброкачествено или злокачествено заболяване на простатата. С прогресиране на заболяването настъпват промени в метаболизма на андрогените, поради променена експресия на стероидогенни ензими, което може да бъде причина както за

прогресия и повишена агресивност на туморния процес, така и за резистентност към хормоналната терапия.

Наличието само на пилотни проучвания върху витамин D статуса при заболявания на простатата обуславя необходимостта от по-обстойни проучвания. В този аспект проучванията, представени в настоящия дисертационен труд, са посветени на един актуален научен проблем.

3. Структура на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд обхваща 155 страници и е структуриран както следва: въведение, литературен обзор и изводи – 43 страници, цел и задачи – 3 страници, материал и методи – 11 страници, резултати и обсъждане – 65 страници, изводи – 2 страници, приноси – 2 страници, библиография – 21 страници. Цитирани са 333 литературни източника, от които 6 на кирилица и останалите на латиница. Прави добро впечатление актуалността на литературните източници, като от цитираните литературни източници основната част са от последните години. Приложен е списък на публикации и участия в научни форуми, свързани с темата на дисертационния труд – 1 страница, списък на съкращенията -3 страници. Дисертационният труд е онагледен с 25 таблици и 26 фигури.

4. Литературна и методологична обезпеченост

Литературният обзор представя подробно биосинтеза и метаболизма, транспорт, механизма на действие и биологичните функции на витамин Д, разгледани са факторите, определящи нуждите от витамин Д, дефиниран е витамин Д статусът. Особено подробна е частта, която обсъжда връзката на дефицита на витамин Д, както и промените в метаболизма на витамин Д при неопластични заболявания, в т.ч. малигнени и бенигнени заболявания на простатата. Направена е добра корелация с клиничните изяви и маркери за простатен карцином и агресивността на туморния процес.

Друга част на обзора разглежда ролята на андрогенния статус за риска и прогресията на простатния карцином. Промените в метаболизма на андрогените се разглеждат като причина за прогресия и метастазирание и резистентност към хормоналната терапия. Андрогените, които регулират редица биологични функции в простатната жлеза, включително пролиферация и растеж на простатните епителни клетки, при дисбаланс могат да имат роля за отключване и развитие на простатен карцином. Счита се, че именно

балансът между андроген-индуцираната клетъчна пролиферация и апоптоза е ключовият фактор за поддържане на нормален растеж на простатната жлеза. Според т.нар. „андрогенна хипотеза“ увеличени нива на тестостерон са предпоставка за рак на простатата. В последните години тези схващания се преосмислят в полза на хипотезата на „насищане на андрогенния рецептор“, според която ниски нива на тестостерон са свързани с увеличен риск от простатен карцином. До момента в България проучванията в тази насока са твърде оскъдни.

Общата метаболитна връзка и сходството в регулаторните механизми на витамин D и андрогени поставят въпроса за взаимовръзката между витамин D и андрогеногенеза при простатен карцином. Предполага се, че от една страна серумните нива на витамин D са важен фактор в андроген-медираната сигнализация, а от друга - андрогените активират биосинтеза на калцитриол, респективно се проявяват неговите антипролиферативни ефекти. Може да се очаква, че наличието на адекватни нива на витамин D и андрогени би потиснало прогресията на простатния карцином, особено при пациенти в ранен стадий на заболяването, а корекция на витамин D статуса във физиологични граници би могла да бъде допълнителен терапевтичен подход при заболявания, свързани с дефицит на тестостерон, включително и при простатен карцином.

Литературният обзор включва илюстративен материал от 8 фигури, които много добре онагледяват обобщенията на литературните данни и достиженията в областта, като улесняват читателя и плавно и логично го въвеждат в научната проблематика. Литературната справка и анализът на литературата е помогнало на ас. Хаджиев и неговия научен ръководител да открият изследователската ниша и да формулират адекватно целите и задачите на дисертацията. Към литературния обзор нямам съществени забележки по отношение съдържание, обем, последователност на изложението. Литературният обзор е стегнат, логичен и последователен и показва широките познанията на д-р Хаджиев относно витамин D и процесите на канцерогенеза, андрогенен метаболизъм и основните пътища и регулаторни процеси при простатен карцином и демонстрира възможностите му да прави критичен анализ на богатата научна информация.

Задачите са разписани подробно, последователно и логично за постигане на крайната цел, а именно: да се определи витамин D статусът чрез изследване на серумни нива на циркулиращ калцидиол, биоактивен калцидиол, витамин D свързващ глобулин

(VDBP); да се оцени витамин D статуса според утвърдени критерии на Европейското дружество по ендокринология и на Института по медицина, САЩ; да се оцени влиянието на индекса на телесна маса и сезона върху витамин D статуса; да се изследват потенциални взаимовръзки между витамин D статус и простат-специфичен антиген (PSA); да се определи андрогенния статус чрез изследване на серумни нива на андрогени и техни прекурсори - общ и свободен тестостерон, андростендион, дехидроепиандростерон сулфат (DHEAs), серумен алфа-глобулин, свързващ полови хормони (SHBG); да се оцени влиянието на ИТМ и наличието на сезонни вариации в андрогенния статус и да се изследват причинно следствени връзки между витамин D, андрогенен статус и PSA при пациенти с доброкачествени заболявания на простатата и при пациенти с карцином на простатната жлеза, както и да се изследва прогностичната стойност и диагностичната ефективност на витамин D и андрогени при злокачествени заболявания на простатата.

Научната разработка представлява проспективно проучване, което включва общо 142 мъже с бенигнени и малигнени заболявания на простатната жлеза на възраст от 52 до 85 години. Пациентите са с хистологично доказани доброкачествени заболявания на простатата (ДЗП), суспектни за простатен карцином и такива с хистологично доказан простатен карцином, пролежали в Клиниката по Урология на УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна през периода януари - декември 2015 година. За целите на настоящото проучване пациентите са разделени в две основни групи: пациенти с бенигнени заболявания на простатата и с простатен карцином.

Представените в дисертационния труд резултати са получени и анализирани при умелото използване на богат набор от съвременни клинично-лабораторни, биохимични и молекулярно-биологични *методи*, които са много добро постижение за дисертанта. Материалите и методите са адекватно подбрани, за да се постигнат целите и задачите на проучването. Методите са представени информативно и ясно в раздела „Материали и методи“.

Данните от всички експерименти са подходящо обработени *статистически* с прилагането на пакети от статистически програми GraphPad Prism, version 6.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA и IBM SPSS version 23, и посредством компетентното прилагане на съответните статистически анализи: дескриптивен анализ, вариационен, непараметричен корелационен анализ на Spearman, One way ANOVA, многофакторен регресионен анализ, ROC анализ, графичен анализ.

5. Резултати и обсъждане

Най-обширната част от дисертацията на ас Хаджиев е разделът „Резултати и обсъждане” (65 стр.), където най-добре проличава обемът работа извършен при разработването на дисертацията и се очертават основните резултати с научна значимост. Резултатите са богато илюстрирани с фигури и таблици, които дават възможност за лесно възприемане на представените данни.

Основните резултати могат да бъдат систематизирани в три основни групи, които включват (1) определяне на витамин D статуса и връзката му със заболявания на простатната жлеза; (2) определяне на андрогенния статус и връзката му със заболявания на простатна жлеза и (3) установяване на взаимозависимости между витамин D статус, андрогенен статус и клинични детерминанти при пациенти със заболявания на простатата. Сред по-важните достижения на дисертанта са установяването на по-неблагоприятен витамин D статус при болните с простатен карцином, в сравнение болните с доброкачествени заболявания на простатата; определяне на значимо по-високи серумни концентрации на калцидиол през „топлия“ сезон, като при карциномните пациенти те почти достигат граничната стойност от 50nmol/L, а за болните с доброкачествени заболявания са в оптималния диапазон за витамин D. Установява се тенденция на понижение на калцидиол и бионаличен калцидиол с нарастване на риска от костни метастази, оценен чрез PSA над 20ng/ml; а серумните нива на калцидиол и бионаличен калцидиол са значимо понижени при карциномните пациенти с по-висок риск от биохимичен рецидив. Между нивата на циркулиращия витамин D, бионаличния калцидиол и риска от биохимичен рецидив се доказва негативна корелативна връзка. Серумният калцидиол е понижен при пациентите с по-агресивен простатен карцином и е в обратна корелативна зависимост с оценката по Gleason.

Определянето на андрогенния статус установява значимо по-ниски нива обратна корелативна зависимост с PSA на общ, свободен тестостерон и техния прекурсор DHEAs при карциномните пациенти в сравнение с пациентите с доброкачествено засягане на жлезата. При карциномните пациенти серумните нива на общия тестостерон се намаляват с увеличаване на риска от биохимичен рецидив и с агресивността на тумора и се установява негативна корелативна връзка. Установена е обратна корелативна зависимост на свободния андрогенен индекс с риска от биохимичен рецидив и с агресивността на простатния карцином. И при двете групи пациенти се установява положителна корелативна връзка между серумен калцидиол и процента на свободен

тестостерон, като тези резултати подкрепят хипотезата за връзката между витамин D статуса и нивата на тестостерона.

Установени са следните взаимовръзки между витамин D статус, андрогенен статус и клинични детерминанти при пациенти със заболявания на простатата: регресионният модел, изследващ влиянието на андрогените върху серумния калцидиол установява позитивно влияние на процента свободен тестостерон; регресионният модел, изследващ влиянието на андрогени, калцидиол, PSA и утвърдени рискови фактори (възраст, BMI и сезон) върху агресивността на тумора установява положително влияние на PSA и отрицателно влияние на калцидиол; ROC-анализът, изследващ диагностичната ефективност на андрогени и витамин D за отдиференциране на пациентите с доброкачествено заболяване от тези с простатен карцином, установява по-висока диагностична ефективност на калцидиол в сравнение с по-широко използвания тестостерон.

Изводите са конкретни и отразяват точно получените резултати и тяхното значение. От особено значение е, че значителна част от изследванията са пионерни за България, а някои представляват принос в световната литература.

Приносите на настоящата дисертация са ясно формулирани и могат да бъдат приети без забележки. Някои от по-съществените приноси на дисертационния труд, които имат не само теоретична, но и приложно-научна стойност са:

- За първи път е направен **сравнителен анализ на витамин D статуса** на представителна извадка болни от българската популация с хронично засягане на простатната жлеза – доброкачествени заболявания на простатата и простатен карцином. Получени са допълнителни данни, доказващи витамин D недостатъчност при пациентите с доброкачествено засягане на простатната жлеза и витамин D дефицит при пациентите с карцином. Получени са допълнителни данни, доказващи, че влошеният витамин D статус при пациентите с простатен карцином се задълбочава с нарастване на риска от биохимичен рецидив и агресивността на туморния процес. Потвърдена е сезонната зависимост на серумните нива на калцидиол, което трябва задължително да се взема под внимание при анализ на резултатите.
- За първи път в оценката на витамин D статуса са изследвани **два нови биомаркера**, бионаличен калцидиол и витамин D свързващ глобулин, първият от които е с по-голямо значение, съпоставимо с това на калцидиола.

- За първи път е направен **сравнителен анализ на андрогенния статус** на представителна извадка болни от българската популация с хронично засягане на простатната жлеза – доброкачествено и злокачествено, като е въведен **разширен панел** от андрогени, андрогенни индекси и основен транспортен белтък за андрогени.
- Потвърждава се, че агресивността на туморния процес е в зависимост не само от широко използваните рискови фактори като възраст, BMI, PSA и раса, а и от нивата на циркулиращия калцидиол.

Във връзка с дисертационния труд е представен списък от 4 публикации в пълен текст в научни медицински списания, в три от които ас. Богдан Русев Хаджиев е първи автор. Резултатите са докладвани на 6 международни научни форума, 3 от които в чужбина. На всички научни съобщения дисертантът е първи автор, което недвусмислено показва неговият основен принос в разработките. Считаю, че работата е добре представена и популяризирана пред научната общност, включително и периодично обсъждана на Националните научни срещи по биохимия, където основни части от нея са докладвани и дискутирани.

6. Автореферат

Запозната съм с автореферата и намираю, че той отразява напълно и адекватно съдържанието и постиженията на дисертацията.

7. Критични бележки

Фактически нямаю съществени критични бележки по дисертацията, освен някои дребни езикови неточности, неясноти и чуждици, които могат да бъдат избегнати. Смятаю, че стилово текстът би могъл да се усъвършенства, като изказът бъде по-точен, като това би съкратило обема и би допринесло за по-голяма яснота при представянето на тезите и резултатите. Но приемаю, че това се дължи по-скоро на това, че дисертантът на практика е двуезичен, предвид полученото образование в Испания, работата му и клиничната обвързаност на темата. Бих искала, да подчертая, че тези критични бележки, не умаловажават стойността на дисертационния труд и не променят моето положително впечатление за работа, представена от ас. Хаджиев. Оценката ми за представената дисертация е изцяло положителна.

Декларирам, че нямаю общи публикации с дисертанта.

8. Заключение

Дисертационният труд на ас. Богдан Русев Хаджиев, озаглавен “ВРЪЗКА МЕЖДУ ВИТАМИН D И АНДРОГЕНЕН СТАТУС ПРИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ПРОСТАТАТА”, е широкообхватно проучване, при което са получени оригинални данни по отношение на ролята на витамин Д и андрогенния статус при бенигнени и малигнени заболявания на простатата. При проведените изследвания са използвани съвременни клиничко-биологични методи, реализирани прецизно на ниво, което заслужава висока оценка. Получени са резултати, водещи до оригинални научно-теоретични приноси. Считаю, че настоящият дисертационен труд напълно отговаря на изискванията за съответната научна степен, формулирани от Закона за развитието на академичния състав в Република България, ППЗРАСРБ и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет - Варна. Това ми дава основание да гласувам положително „за“ и да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъди на научната степен „Доктор“ по научна специалност „Биохимия“ на ас. Богдан Русев Хаджиев.

22.05. 2018 г.

Рецензент:



/Проф. Диана Георгиева Иванова, дбн/