

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

**„Изследване на молекулярно-генетични маркери при пациенти с остра
миелогенна левкемия“**

за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР”

Област на висше образование: 4. „Природни науки, математика и информатика”

професионално направление: 4.3. Биологически науки

Научна специалност: „Генетика“

Автор: Диннар Али Яхя

Научни ръководители: Проф. д-р Илина Димитрова Мичева, д.м.
Доц. д-р Трифон Георгиев Червенков, д.б.

Рецензент: проф. д-р Савина Петрова Хаджидекова, д.м.
Ръководител на Катедра по Медицинска генетика, МФ, МУ-
София,

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Рецензията е изготвена съгласно Заповед РК109-82/21.03.2024 на Ректора на Медицински Университет – Варна и Протокол 1/22.03.2024 от I заседание на Научното жури.

Представеният комплект материали по защитата са в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ-Варна.

При изготвяне на настоящата рецензия са спазвани изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, както и специфичните Критерии за заемане на академични длъжности и придобиване на научни степени в МУ-Варна.

2. Кратки данни от професионално-творческата биография на кандидата.

Дисертантът Диннар Али Яхя се дипломира като “магистър” по медицина в Медицински факултет на МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов” Варна през 2017. През 2023 г. – придобива специалност по медицинска генетика при същия университет. От 2020 г. е зачислена като редовен докторант в научно направление ”Генетика”.

От 2019 г. до настоящия момент заема длъжност асистент при Катедра по Медицинска генетика, Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов” Варна.

Дисертантът членува в три международни научни организации - European Society of Human Genetics (ESHG), European Cytogeneticists Association (ECA), International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), както и в две български - Българско дружество по генетика и геномика на човека и Национално Дружество по хематология и хемотрансфузия.

Кандидатът е автор и съавтор на 6 пълнотекстови научни публикации и има 22 публикувани резюмета научни събития в чуждестранни и български списания. Участва в 1 научен проект; ментор е по проект за научен обмен (SCORE) на двама чуждестранни студенти, организиран от IFMSA (International Federation of Medical Students' associations). Участвала е в 18 специализации и курсове в България и чужбина.

Владее писмено и говоримо на високо ниво английски, турски, руски език и на базово ниво италиански език.

3. Актуалност и значимост на разработката.

Дисертационният труд на д-р Диннар Али Яхя, озаглавен „Изследване на молекулярно-генетични маркери при пациенти с остра миелогенна левкемия“, представлява анализ на ролята на молекулярно-генетичните маркери в контекста на острата миелогенна левкемия (ОМЛ). Проучването е с проспективен характер, обхваща периода февруари 2022 - май 2023 г. и е проведено на територията на Лаборатория по Медицинска генетика към УМБАЛ “Света Марина” ЕАД, Варна.

Изследването на генетичните маркери при пациенти с остра миелогенна левкемия (ОМЛ) е от ключово значение за разбирането на хетерогенността на заболяването, прогнозата и терапевтичния отговор.

ОМЛ се характеризира с разнообразни генетични промени, включително хромозомни аномалии, генни мутации и променена генна експресия. Тези промени допринасят за патогенезата и прогресията на ОМЛ и оказват влияние върху резултатите от лечението на пациентите. Конвенционалният цитогенетичен анализ остава крайъгълен камък за стратифициране на риска при ОМЛ. Често срещаните хромозомни аномалии включват транслокации, включващи гени като RUNX1-RUNX1T1 и CBFB-MYH11, както и делеции в хромозоми 5, 7 и 17. Тези аномалии са свързани с различни клинични и прогностични последици. Технологиите за секвениране от следващо поколение (NGS) улесниха идентифицирането на повтарящи се генни мутации при ОМЛ. Често се наблюдават мутации в гени като *FLT3*, *NPM1*, *DNMT3A* и *IDH1/2*, които имат

прогностично значение. Например *FLT3-ITD* мутациите се свързват с лоша прогноза, докато *NPM1* мутациите дават благоприятен изход при липса на *FLT3-ITD*. Профилирането на генната експресия разкрива различни молекулярни подтипове на ОМЛ с различни биологични характеристики и клинични резултати. Експресионните генни сигнатури, свързани със специфични мутации или цитогенетични аномалии, дават представа за механизмите на заболяването и могат да насочат персонализираните стратегии за лечение.

Включването на генетични маркери в алгоритмите за стратификация на риска е от изключително голямо значение за определяне на прогнозата и избор на оптимално лечение на ОМЛ. Таргетните терапии, насочени срещу специфични генетични аберации, като инхибитори на *FLT3* и инхибитори на *IDH*, показват обещаващи резултати в клиничните изпитвания. Освен това контролът на минималната резидуална болест въз основа на генетични маркери позволява ранно откриване на рецидив на болестта и дава информация за терапията след ремисия.

Дисертацията подчертава важността на интегрирането на молекулярно-генетичното профилиране в рутинните диагностични и прогностични оценки за пациенти с ОМЛ. Тъй като генетичните маркери все повече определят изборът за лечение и алгоритмите за стратификация на риска, дисертацията представлява актуален научен труд със значимост не само за академичните среди, но предлага и съществени ползи за пациентите, както и за по-широката онкологична общност.

4. Становище по структурата и съдържанието на дисертационния труд

Дисертационният труд е съобразен с обичайното структуриране на работа от този тип, съгласно възприетите у нас стандарти на дисертация за получаване на научната степен „доктор“.

Дисертационният труд включва 130 страници в това число: Въведение – 3 стр., Литературен обзор – 43 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материал и методи – 7 стр., Резултати – 14 стр., Обсъждане – 22 стр., Заключение – 3 стр., Изводи – 1 стр. и Приноси - 2 стр., Цитирана литература - 19 стр., Библиографията обхваща 201 литературни източника, от които 5 на кирилица и 196 на латиница. Цитираните в дисертацията източници са подходящи и актуални, като отразяват цялостен преглед на литературата. Авторът подчертава по подходящ начин приноса на предишни изследователи в областта.

Публикации и научни съобщения, включени в дисертационния труд – 2 стр., Благодарности – 1 стр. Приложение - 5 стр. Трудът е онагледен с 15 фигури и 12 таблици в текста.

Литературен обзор

Структурата, съдържанието и обема на литературния обзор показват отлично познаване на проблема и отразяват изчерпателно проучванията на литературните данни, с логична постройка. Стилът е достъпен, на литературен български език. Оценява се неотдавнашният напредък в идентифицирането и характеризирането на генетичните маркери при ОМЛ, като се хвърля светлина върху техните клинични последици.

Последователно са разгледани двете най-използвани използвани класификации –FAB (French-American-British) и класификацията на Световната здравна организация (WHO).

Описани са подходите за генетична диагностика – цитогенетичен метод, FISH, секвениране по Сангър, PCR и MLPA, SNP-arrays, NGS, панели за секвениране на фузионни гени.

Обзорът показва, че докторантката е много добре запозната с материята, върху която работи. Давам висока оценка на литературния обзор не само заради отличното познаване и анализиране на литературните данни, но и затова, че той е систематизиран и насочен към конкретните задачи на дисертацията.

Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е да се оцени приложимостта на метода MLPA за отчитане на характерни за ОМЛ молекулярно-генетични маркери в рутинната клинично-диагностична дейност за оценка на пациенти с новодиагностицирана ОМЛ.

За изпълнението на тази цел са поставени 5 задачи, които са формулирани ясно и точно:

1. Да се въведе молекулярно-генетичен метод за идентификация на значими молекулярно-генетични маркери, свързани с ОМЛ.
2. Да се селектират пациенти с новодиагностицирана ОМЛ, отговарящи на критериите за включване в проспективното проучване.
3. Да се проведе молекулярно-генетичен анализ на ДНК, изолирана от левкоцити от венозна кръв от пациенти с новодиагностицирана ОМЛ преди лечение, и от контролна група от здрави индивиди.
4. Да се съпоставят данните с тези от успоредно проведен КЦА, и да се обобщат и анализират резултатите от проведеното молекулярно-генетично изследване.

5. Да се обобщи ролята на използвания молекулярно-генетичен метод в инициалния генетичен скрининг и да се изведат насоки за подобряване на генетичната оценка на контингента новодиагностицирани пациенти с ОМЛ.

Материали

В проучването са включени общо 61 пациенти (29 (47,5%) жени и 32 (52,5%) мъже). Възрастта на изследваните лица е от 20 до 89 години.

Въз основа на първоначалната диагноза, пациентите са групирани в 4 групи: • Група I – новодиагностицирани пациенти без други предходни хематологични (вкл. малигнени) заболявания (*de novo* ОМЛ) – 48 (78,7%); Група II – пациенти с предходно установен МДС – 7 (11,5%); Група III – пациенти с предходно установена BCR::ABL1 (-) МПН – 4 (6,6%); Група IV – пациенти с предходно установена ХМЛ – 2 (3,3%).

Контролната група включва 21 лица – 10 жени на възраст 20-79 (медиана 64,5 години) и 11 мъже на възраст 37-73 (медиана 62 години).

За целите на молекулярно-генетичния анализ е изолирана ДНК от левкоцити от венозна кръв.

Методи

При изпълнението на горепосочената цел са използвани следните методи на изследване:

- Клинични методи
- Генетични лабораторни методи, включващи цитогенетичен метод, молекулярно-генетични (ДНК) методи - изолиране на ДНК чрез солева екстракция, MLPA анализ,
- За статистически анализ са използвани следните методи: графичен анализ, обработка на количествени показатели, непараметрични анализи - Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test, както и chisquare test, Fisher's exact test, оценка на преживяемостта чрез Kaplan-Meier test.
- Софтуерния анализ е проведен с GraphPad Prism v. 9.5.1 (GraphPad Software, USA) и Microsoft Excel 2016 (Microsoft, USA).

От прегледа на експерименталните техники, може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантката се е изградила като високо квалифициран медицински генетик. Приложените методи са адекватни за изпълнение на поставените цели и задачи.

Резултати и дискусия

Над три четвърти – 78,7% от пациенти с новодиагностицирана ОМЛ са без предходни хематологични (вкл. малигнени) заболявания.

При анализа на резултатите от MLPA са открити генетични промени при 27-на (44,3%) не се установяват генетични промени, а при 34-ма (55,7%) се откриват различни промени. При една трета (34,4%) от всички изследвани пациенти са диагностицирани моногенни маркери (*NPM1*, *IDH2*, *DNMT3A*). При 22-ма (64,7%) са открити 31 моногенни соматични варианта – в изолирана форма при 11 и в комбинация с друга генетична находка при другите 11 пациенти. Вариантът *NPM1* (865insTCTG) е най-честият и се открива при 35,3% от пациенти с патология.

От включените 53 пациенти, цитогенетичният анализ е успешен при 38 (71,7%), докато при останалите 15 (28,3%) не са открити метафазни пластинки за анализ. При 21 (55,3%) са установени различни патологични резултати. Установени са различни мутации в хромозоми 1, 4, 5, 6, 7, 11, 14, 17 и 21 при 18 (52,9%) от същите 34-ма пациенти (29,5% от всички в проучването).

Направено е сравнение на двата метода по отношение на цялостната им успеваемост и информативност. С MLPA метода са разкрити находки, пропуснати от цитогенетичния анализ при една пета (18%) от всички изследвани. При близо една трета (27,9%) от пациентите при конвенционалния цитогенетичен анализ е открита патология без аналогичен резултат от молекулярно-генетичния метод. При комбинираното приложение от двата метода са установени генетични промени при 78,7% от пациентите.

Настоящата работа подчертава важността на интегрирането на молекулярно-генетичното профилиране в рутинните диагностични и прогностични оценки за пациенти с ОМЛ, тъй като генетичните маркери все повече ръководят избора на терапия и алгоритмите за стратификация на риска. Чрез анализ на молекулярния профил на АМЛ и изясняване на прогностичните и терапевтичните последици от специфични генетични аберации, дисертацията спомага за подобряване на разбирането ни за патогенезата на ОМЛ, както и подчертава значението на прецизната медицина за избор на геномно информирана терапия.

Изводи и приноси

Формулирани са шест извода, които отразяват резултатите и отговарят напълно на поставените задачи. Изведени са и приноси с оригинален, с потвърдителен и приложен характер. Съгласна съм с авторовата оценка за приносите на дисертационния труд.

5. Публикации по темата на дисертацията

Във връзка с дисертацията, докторантът представя три пълнотекстови публикации, на които е първи автор, като две от тях са индексирани в научни бази данни Scopus или Web of Science. Кандидатът представя и 4 резюмета от научни прояви, свързани с темата на дисертационния труд. Представените научни трудове покриват напълно тематиката на дисертационния труд и съдържат резултати от проведените изследвания.

6. Автореферат

Авторефератът е в обем 52 страници като отразява основните раздели на дисертационния труд.

7. Заключение

Дисертационният труд „Изследване на молекулярно-генетични маркери при пациенти с остра миелогенна левкемия“ представлява задълбочено проучване върху ролята на генетичните маркери при стратификацията на риска, прогнозирането и изборът на оптимална терапия при пациенти с ОМЛ. Продължаващите изследователски усилия, насочени към изясняване на генетичния пейзаж на ОМЛ и приложението на резултатите в клиничната практика, са от съществено значение за подобряване на прогнозата за пациентите с това хетерогенно заболяване.

Дисертационният труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСПБ) и Правилника за неговото приложение, както и специфичните Критерии за заемане на академични длъжности и придобиване на научни степени в МУ-Варна.

Трудът утвърждава автора като отговорен и надежден изследовател, който може да провежда самостоятелно научни изследвания и да интерпретира получените резултати.

Всичко това ми дава основание да дам 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 Диннар Али Яхя в докторска програма „Генетика“.

07 май 2024 г.

гр. София

Рецензент:

Проф. д-р Савина Хаджидекова, д.м.

Заличено на основание чл. 5,
§1, б. „В“ от Регламент (ЕС)
2016/679