

ДО

ДОЦ. Д-Р ТРИФОН ЧЕРВЕНКОВ, ДМ

ПРЕДСЕДАТЕЛ НА НАУЧНО ЖУРИ

ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД № Р-109-149/13.03.2025г

НА РЕКТОРА НА МУ-ВАРНА „ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“

РЕЦЕНЗИЯ

От: Проф. Д-р Веселина Горанова-Маринова, дм

Ръководител секция „Хематология“, МФ, МУ-Пловдив

Външен член на научно жури според заповед № Р-109-149/13.03.2025г

на Ректора на МУ-Варна „Проф. Д-р Параскев Стоянов“

Относно: процедура за придобиване на научна и образователна степен „Доктор“

Област на висшето образование: 7. „Здравеопазване и спорт“

Професионално направление: 7.1. „Медицина“

Докторска програма: „Хематология и преливане на кръв“

Автор: Д-р Ради Евгениев Луканов, Сектор „Хематология“, Втора катедра по вътрешни болести, Медицински факултет, Медицински университет - Варна

Форма на докторантурата: Самостоятелна подготовка

Тема: „Биомаркери за персонализиран подход при подбора на лечение на пациенти с миеломна болест“

Научен ръководител: Проф. Д-р Илина Д. Мичева, дм

1.Общо представяне на процедурата. Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител по процедура за придобиване на ОНС „Доктор“ в МУ-Варна е в съответствие с Правилника за устройството и дейността на МУ-Варна, чл. 68 ал. 1 от ЗВО; чл. 7, ал. 1от ЗРАСРБ; чл.5, ал.1 и чл.6, ал.1 от Правилника за неговото приложение, Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Варна. Представени са всички необходими документи, а именно заповедите за зачисляване и отчисляване на докторанта, протоколите от разширени катедрени съвети и изпит

докторантски минимум, които отразяват всички етапи от развитието на докторанта включително самата дисертация. Към комплекта материали са приложени списък и копия на публикациите, свързани с дисертационния труд. Общо представени са 1 пълнотекстова публикация в сп. „Хематология“ - официалното издание на БМСХ, реферирано и индексирано в международна база данни “Скопус” и 2 участия в международни конгреси, в които дисертантът е водещ автор. ***Процедурата по докторантурата е спазена.***

2.Представяне на докторанта. Д-р Ради Евгениев Луканов е специалист по клинична хематология и асистент в Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Той завършва средното си образование в Математическа гимназия „Д-р Петър Берон“ – Варна с профил математика и английски език, а през 2018 г. се дипломира като лекар от Медицински университет – Варна. Между 2018 и 2023 г. д-р Луканов специализира клинична хематология в УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна, където от 2023 г. заема позицията на специалист по хематология. Същата година полага успешно Европейския изпит по хематология - атестат за отлични знания в различните модули на специалността. Паралелно с работата си в клиниката по Клинична хематология, от 2019 г. е редовен асистент по хематология във Втора катедра по вътрешни болести на МУ – Варна. От 2020 г. е докторант на самостоятелна подготовка в същия университет с дисертационен труд на тема: „Роля на биомаркерите за персонализирания подход при диагностиката и лечението на множествения миелом“. Научно-изследователската дейност на д-р Луканов е съсредоточена в областта на мултипления миелом. Има участия в национални и международни научни форуми, включително в конгресите на Европейската хематологична асоциация (ЕНА) и в Lymphoma Leukemia and Myeloma Congress (Ню Йорк, 2024), където представя резултати от свои изследвания върху ролята на miRNA като биомаркери. Д-р Луканов е отличен с Първа награда в категория „Раритети“ на Единадесетия национален конгрес по хематология (2019 г.) за постер върху POEMS синдром. Участието му в редица студентски кръжоци и научни инициативи още по време на обучението му свидетелства за ранен и устойчив интерес към научната и академична дейност. Интересен факт от неговата биография е това, че е Д-р Луканов е отличен шахматист, премиран с Наградата на Ректора на МУ -Варна за своите шахматни умения. Членува в Българското медицинско сдружение по хематология и Европейската хематологична асоциация. Владее английски език на ниво C1 и има работно ниво на руски, италиански и немски език. ***Докторантът има теоритични познания, практически опит, допълнителни квалификации и насочени научно-практически интереси в областта на докторантурата.***

3. Актуалност на тематиката и познаване на проблема. Темата на дисертационния труд е актуална и значима в контекста на съвременната хематологична наука и клиничната практика. Миеломната болест е хематологично злокачествено заболяване с хетерогенен клиничен ход, терапевтичен отговор и преживяемост. В последните години усилията на научната общност са насочени към въвеждането на персонализирани стратегии в лечението, базирани на молекулни и биологични маркери. Темата на дисертационния труд на д-р Ради Луканов е изключително актуална, като се вписва в съвременната парадигма на персонализираната медицина. Изследването засяга идентифицирането и приложението на биомаркери, които подпомагат вземането на индивидуализирани терапевтични решения при пациенти с миеломна болест – проблем с висока клинична значимост. Дисертацията представя изчерпателно и систематично проучване на възможността за използване на специфични микрорибонуклеинови киселини (miRNA) като биомаркери в клиничната практика за диагностика, мониторинг на терапевтичния отговор и прогнозиране на резултати при пациенти с множествен миелом. Темата не е разработвана в национален план. *Темата на дисертационния труд е важна, актуална, с голямо клинично значение.*

4. Познаване на научния проблем. Представената научна хипотеза предполага, че все по-голямо значение придобиват новите подходи за по-прецизно разбиране на биологичните процеси при множествения миелом. Сред най-важните направления са проучванията, свързани с ролята на miR като ключови регулатори на генното експресиране, както и на различни епигенетични фактори, които влияят върху растежа на злокачествените клетки. От особена важност е взаимодействието между миеломните клетки и туморната микросреда в костния мозък, включително ролята на miRNA в процесите на имуномодулация и ангиогенеза. Авторът разработва научната хипотеза, че избрани miRNA могат да бъдат идентифицирани като нови биомаркери за ранна диагностика, по-точна прогноза и оптимално проследяване на терапевтичния отговор, с потенциал да доведат до по-прецизна стратификация на риска и подобрени клинични резултати при пациенти с мултиплен миелом. *Авторът познава научния проблема в дълбочина, може да формулира научна хипотеза и да проведе анализ, резултатите от който биха довели до подобряване на диагностиката и проследяването на пациентите с мултиплен миелом като предпоставка за адаптиране на терапевтичния избор и удължаване на тяхната преживяемост.*

5. Методика на изследването. Извършеното научно проучване е едноцентрово и проспективно, проведено в Клиниката по Хематология, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна за периода 2022 – 2024 година върху 56 пациенти и 12 здрави доброволци. Приложената методология е съвременна, адекватна на целите на изследването и

включва валидни клинични, лабораторни и статистически методи. Описани са детайлно изходните данни и критериите за включване и изключване на пациентите. Подходът е с ясно изразена приложна насоченост и потенциал за приложение в клиничната практика. Анализираните 56 пациенти с множествен миелом провеждат терапия по стандартен протокол. Анализирането на miRNA при пациенти с мултиплен миелом чрез методите на RNA изолация и RT-PCR е иновативен подход, който не е провеждан в страната досега. Възможността за събиране на проби и изследване на miRNA при пациенти, постигнали различни по дълбочина терапевтичен отговор, предлага добра основа за оценка на диагностичния и прогностичния потенциал на изследваните биомаркери. Използваните лабораторни методи, както и статистическите анализи са подходящи за целите на изследването, като дават възможност за получаване на достоверни резултати.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд. Дисертационният труд е разработен на 134 стандартни страници. Съдържа 15 таблици и 34 фигури. Цитирани са 214 литературни източника, подбрани целенасочено. Не е посочена нито една публикация на български автори, въпреки че национални авторски колективи разработват в научен аспект различни проблеми на миеломната болест и нейните усложнения. Задължителните раздели на научния труд са професионално разработени като е спазено приемливо съотношение между тях. Използван е ясен и точен, граматически верен български език.

6.1 Литературен обзор. Литературният обзор е изложен на 33 стандартни страници, задълбочено и насочено по научния проблем. Поставя контекста на изследването на miRNA като биомаркери като започва с кратко представяне на множествения миелом (ММ) и значението на намирането на нови биомаркери за диагностика и прогнозиране на заболяването. Подчертано е, че въпреки напредъка в терапията, множественият миелом остава предизвикателство за лечението, което обосновава необходимостта от нови диагностични инструменти. Включването на miRNA като потенциални биомаркери за ранно откриване и прогнозиране на отговора към лечението е напълно оправдано, като се подчертава важността на тази насока на изследване. Литературните данни за значението на miR-126-5p и miR-199a-5p са подкрепени с данните на от няколко проучвания. Логичният преход от общото описание на заболяването към конкретни молекули е добре направен, като Д-р Луканов представя механизма, по който miRNA действат като тумор-супресори. Дисертантът предоставя доказателства за понижаване на нивата на miRNA при пациентите с новодиагностициран ММ в сравнение със здравите контроли. Референциите към съществуващата литература, свързваща тези miRNA с различни видове неопластични заболявания са основателни и

подкрепят хипотезата, че тяхната експресия може да бъде ключова в патогенезата на ММ. Позиционирането на miRNA-126 и miRNA-199a като тумор-супресори с механизми за инхибиране на ангиогенезата и клетъчната пролиферация е закономерно и подкрепено с цитати от съществуващи проучвания по темата. Така Д-р Луканов представя ролята на miRNA и тяхното участие в молекулярните механизми на ММ, което допринася за цялостното разбиране на техния потенциал в клиничната практика. *Литературният обзор завършва с мотивирано основание за необходимостта от допълнителни изследвания за изясняване ролята на miRNA при мултиплен миелом и възможността те да бъдат използвани в клиничната практика за мониториране на еволюцията на болестта и ефекта от провежданото лечение.*

6.2 Цел и задачи. Формулираната основна цел е ясно дефинирана и адекватно подкрепена с 14 конкретни задачи, които са последователно решени в хода на проучването. Те отразяват добре избраната научна проблематика и структурират логиката на изследването. Целта на дисертационния труд е ясно формулирана и обоснована – да се изследва ролята на избрани биомаркери за оптимизация на терапевтичния избор при пациенти с мултиплен миелом. Задачите са конкретизирани логично и отразяват последователността на изследователския процес. Те обхващат както клинични, така и лабораторни аспекти, включително анализ на прогностични фактори и оценка на терапевтичния отговор.

6.3 Раздел „Материал и методи“. Разделът „Материал и методи“ е представен на 8 стандартни страници. Пациентите с ММ (56) и контролната група (12) са изследвани в два времеви периода - към диагнозата и на месец 6 след стандартно лечение за миеломната група. Пациентите са изследвани с рутинните методи за диагностика на мултиплен миелом. Специфичните анализи на избрани miRNA са проведени с РНК изолация и Real-time PCR, осъществен чрез реактив miRNeasy Serum/plasma Kit(Qiagen). Изследването е проведено в съответствие с протокола на производителя, който включва 2 етапа – изолация на РНК и полимеразна верижна реакция в реално време. Статистическите методи са правилно избрани и позволяват получаването на достоверни резултати. Употребени са дескриптивен, вариационен, сравнителен, корелационен, регресионен, ROC анализи, както и тестовете на Shapiro-Wilks за оценка на нормалното разпределение и χ^2 непараметричен тест за съгласуване. Методът на Kaplan-Maier с log-rank тест е прилаган за анализ на времето до настъпване на прогресия на болестта или летален изход. Данните са обработени и нагледно представени чрез GraphPad Prism, version 8.0.2 for Windows, USA и IBM и SPSS Statistics v. 23. *Приемам напълно и без забелжки раздел „Материал и методи“*

6.4. Раздел „Резултати“ е представен на 33 стандартни страници. Изложението на раздела е представено прегледно на таблици, фигури, графики и диаграми. Логично е следвана последователността на поставените задачи. Представени са демографските данни и клиничните характеристики на пациентите с ММ. Резултатите са ясно представени, статистически обработени и интерпретирани в контекста на съвременната научна литература. Авторът демонстрира способност за критичен анализ и представя както получените положителни находки, така и ограниченията на проучването. От представените данни отбелязвам като такива с особено важно клинично значение следните резултати:

1. Корелацията между нивата на miR-126-5p и бета-2 микроглобулин, може да даде ценна допълнителна информация за определяне на прогнозата и проследване еволюцията на болестта. Слабата корелация между miRNA и серумния креатинин е в същия контекст, без самостоятелно значение.
2. miR-126-5p показва значимо повишение след проведено лечение при болни постигнали пълен и много добър частичен терапевтичен отговор. Това от една страна може да бъде елемент от оценката на ефикасността на терапията, а от друга в патогенетичен аспект има потенциал да наруши проангиогенната среда и да забави прогресията на болестта. За разлика от miR-126-5p, miR-199a-5p не показва значителни промени след лечение, което предполага, че макар и полезен към поставянето на диагнозата, той не представлява динамичен маркер за краткосрочния терапевтичен отговор.
3. Използването на **ROC анализ** и оценката на **AUC** демонстрира, че miR-126-5p и miR-199a-5p имат висока чувствителност и специфичност и предлагат потенциал за използване в клиничната практика. От друга страна **miR-214-3p** и **miR-497-5p** показват ниска диагностична стойност, което е важен резултат за правилното планиране на бъдещи изследвания.
4. Оценката на **OS** и **PFS** спрямо нивата на **miR-214-3p** и **miR-497-5p** като предиктивни маркери за прогресия на заболяването и преживяемост има клинична стойност, особено като като рискови фактори за ранна смъртност.

Приемам без забелжки получените резултати. Като резултати с важно клинично значение отбелязвам данните, че от всички изследвани биомаркери най-чувствителен и значим за отговор към лечението е miR-126-5p, а miR-214-3p и miR-497-5p са неблагоприятни прогностични маркери.

6.5 Раздел „ Обсъждане“. В 11 стандартни страници докторантът анализира получените собствени резултати, обсъжда тяхното значение и ги сравнява с тези на други авторски колективи. Дискусията е добре написана, с ясни връзки между научните

изводи и възможностите (или липсата на възможност) за практическо приложение, като това е силна страна на този научен труд. Авторът подлага на обсъждане важни аспекти на динамиката на miRNA в хода на лечението и прогнозирането на резултатите при пациенти с множествен миелом (ММ). Пример за това е повишаването на нивата на miR-126-5p при пациенти с пълен отговор или много добър частичен отговор в подкрепа на хипотезата, че ефективното лечение може да възстанови експресията на miR-126-5p, което има потенциал да наруши проангиогенната среда и да забави прогресията на болестта. За разлика от miR-126-5p, miR-199a-5p, не показва значителни промени след лечение и няма значение на динамичен маркер за краткосрочен терапевтичен отговор. Авторът подлага на обсъждане miR-214-3p и miR-497-5p като негативни прогностични биомаркери, които могат да се използват за прогнозиране на лоши резултати при ММ и по-кратка преживяемост. Посочва литературните данни, които установяват че miR-214-3p може да играе роля в прогресията на заболяването чрез активиране на пътя PI3K/AKT, което увеличава преживяемостта на Тu клетки и резистентността към апоптоза, а miR-497-5p, въпреки че е известен като тумор-супресор фактор при някои заболявания, може да има двойствен ефект при ММ, като индуцира патологична ангиогенеза или нарушава апоптозата на миеломните клетки. **Липсата на значими резултати при анализа на miR-373-3p** авторът обяснява с технически ограничения, липсата му в значими количества в пробите или минимално участие на miR-373-3p в патофизиологията на болестта. Авторът посочва потенциала на miRNA в лечението на ММ и дискутира бъдещи изследвания и перспективи в контекста на възможните терапевтични стратегии чрез модулиране на мРНК, като възстановяване на нивата на miR-126-5p и miR-199a-5p или инхибиране на онкогенни miR. **Приемам раздел „Обсъждане“ без забележки.**

6.6. Изводите са 6 на брой и ясно следват поставените цел и задачи. Изводите подчертават значението на микроРНК като биомаркери, които могат да подпомогнат не само диагностицирането и мониторинга на заболяването, но и да подобрят индивидуализирането на терапевтичния подход при пациенти с ММ. **Съгласна съм с така формулираните изводи.**

6.7. Книгопис. Цитирани са 214 литературни източника, подбрани целенасочено, но не е посочена нито една публикация на български автори. Анализирани са научни публикации в последните 5г са 20% от общия брой. Тези данни свидетелстват за актуалността на проблема и големия изследователски интерес по тематиката.

7. Оценка на приносите на дисертационния труд. Дисертационният труд завършва с представянето на приноси които имат научен, както и научно-приложен характер. пет

от приносите са с оригинален характер и 4 приложна научна стойност. ***Приемам изложените приноси .***

8.Лично участие на докторанта. Докотрантът има лично участие във формулирането на научната идея, събирането на материала и дизайна на проучването. Лично е участието му в статистическата обработка на данните и анализа на получените резултати. Изводите и приносите са също изведени с участието на Д-р Луканов. Дисертантът е първи автор във научни съобщения, свързани с дисертацията ***Докторантът има основно лично участие в разработването на дисертацията.***

9.Автореферат. Авторефератът съдържа 71 страници, дава цялостна представа за дисертационния труд като отразява пълноценно отделните раздели. Включени са всички фигури и таблици, с изключение тези от литературния обзор и представят в достатъчен обем необходимите данни.

10.Критични бележки и препоръки:

1. Въпреки че дисертацията разглежда значимостта на miR-126-5p и miR-199a-5p като биомаркери, необходими са допълнителни проучвания в по-големи популации пациенти за потвърждение на резултатите уточняване на механизма на тяхното действие при мултиплен миелом.
2. Необходими са допълнителни проучвания за обосноваване на практическата приложимост на **miR-214-3p** и **miR-497-5p** в клинични условия, особено при стратифицирането на пациентите по рискови групи.
3. Дисертантът да увеличи публикационната си активност по темата
4. Не са посочени литературни източници по темата от български автори

11.Заклучение. Дисертационният труд на Д-р Ради Евгениев Луканов отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Правилника на МУ-Варна за присъждане на научна и образователна степен „Доктор“. Дисертационният труд представлява солидно и новаторско изследване на ролята на miRNA като биомаркери при множествен миелом. Научният трудът показва потенциал за по-нататъшно развитие на прогностични модели и терапевтични стратегии, базирани на молекулярни маркери, и може да има значително влияние върху бъдещата диагностика и мониторинг на болестта в случай, че намари потвърждение в по-големи кохорти болни с ММ. Предоставените резултати са адекватни и стойностни за научната общност и клиничната практика. В дисертационния труд на Д-р Ради Луканов проличават изградени качества за анализ и синтез на научна информация, способност за формулиране на изводи и изграждане на научни хипотези. Проличават задълбочени научни познания и практически умения по специалността „ Хематология и преливане на кръв“ . Давам своята положителна оценка за дисертационния труд на

тема „Биомаркери за персонализиран подход при подбора на лечение на пациенти с миеломна болест“ и предлагам на уважаемото научно жури да гласува „за“ присъждане на научна и образователна степен „Доктор“ на Д-р Ради Евгениев Луканов.

ПРОФ. Д-Р ВЕСЕЛИНА ГОРАНОВА-МАРИНОВА, ДМ

/Рецензент /

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