

СТА Н О В И Щ Е

от доц. д-р Евгений Хаджиев, дм

Началник Клиника по Клинична хематология
УМБАЛ "Александровска" - ЕАД, София
Медицински Университет - София

Външен член на Научно жури за присъждане на ОНС „Доктор“

ОТНОСНО: дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ в Област на Висшето образование 7., Здравеопазване и спорт; по професионално направление 7.1. Медицина; докторска програма по научна специалност „Хематология и преливане на кръв“, шифър 03.01.39 на тема: **“БИОМАРКЕРИ ЗА ПЕРСОНАЛИЗИРАН ПОДХОД ПРИ ПОДБОРА НА ЛЕЧЕНИЕТО НА ПАЦИЕНТИ С МИЕЛОМНА БОЛЕСТ”**, разработен от д-р Ради Евгениев Луканов, докторант в редовна форма на обучение към Катедра/ УС „Втора катедра по вътрешни болести, УС Хематология“, Факултет „Медицина“ при МУ-Варна

Актуалност на проблема: Дисертационният труд е посветен на актуален клиничен проблем на съвременната хематология – ролята на микрорибонуклеиновите киселини (miR) за клиничната еволюция на пациентите с Множествен миелом (ММ), втората по честота хематологична неоплазия при възрастни. Заболяването се характеризира с голяма хетерогенност в клиничното протичане, произтичаща от многообразието в цитогенетичните и молекулярни профили, обуславящи непредвидимост по отношение на терапевтичния отговор. През последните години усилията на изследователите за изясняване на хетерогенността на заболяването се насочиха към изследване на биологичните процеси чрез идентифициране на биомаркери, имащи значение за оценка на прогностичния риск към момента на диагнозата, с цел индивидуализиране на терапевтичния подход. В тази насока, проучванията за участието на

микрорибонуклеиновите киселини в механизмите на регулация на генната експресия върху процесите на клетъчна пролиферация и апоптоза, безспорно са актуални и с изразена практическа значимост.

Структура и оформление: дисертационният труд, представен от д-р Ради Луканов 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. 30 от 2018 г.) и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ-Варна:

1. Дисертационният труд е представен във вид и обем от общо 137 страници, съответстващи на специфичните изисквания, като съдържа: заглавна страница; съдържание и използвани съкращения (общо 10 страници); въведение (1 страница); изложение, структурирано в следните раздели - литературен обзор (33 страници); цел и задачи (1 страница); материали и методи (10 страници); резултати, онагледени със 34 фигури и 15 таблици (37 страници); обсъждане на резултатите (11 страници); заключение, представено като обобщаващи изводи от проведените изследвания (2 страница); приноси (1 страница); приложения (6 страници), публикации (1 страница) и библиография, включваща 214 източника на латиница (14 страници).

Предоставен е и Автореферат, който отразява в съкратен вид същността на дисертацията, поставените цел и задачи, получените резултати от направените изследвания и тяхната интерпретация, изводи и справка за научните приноси. Клиничното проучване е проведено след получено разрешение от Комисията по етика на научните изследвания при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна с решение №129 от 06.04.2023г. в съответствие с изискванията на Хелзинкската декларация.

2. Дисертационният съдържа научни и научно приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката, потвърждаващи, че кандидатът притежава задълбочени теоретични знания по своята специалност и способности за самостоятелни научни изследвания.

2.1. Дисертационният труд съдържа задълбочен Литературен обзор, който съдържа информация относно клинично-епидемиологични данни за множествения миелом, като е анализирано участието на генетичните нарушения в етиопатогенезата на болестта. Докторантът синтетично

анализира данните за участието на микрорибонуклеиновите киселини върху епигенетичния контрол на транскрипцията и транслацията, цитирайки проучвания върху връзката на дисрегулацията на MiR с патофизиологията на злокачествените неоплазии. В отделен раздел е разгледана ролята на циркулиращите miR в диагностиката на злокачествените неоплазии, както и като потенциален терапевтичен таргет. Тази част от обзора ясно показва добрата информираност на докторанта за участието на микрорибонуклеиновите киселини в процесите на клетъчна диференциация, неопластична пролиферация и клетъчната апоптоза. В обзорната част на дисертационния труд се анализира клиничната значимост на микрорибонуклеиновите киселини при пациенти с ММ, както за диагнозата, така и за прогнозата, основаваща се на предиктивната им стойност за химиорезистентност спрямо някои от включените в основните терапевтични схеми лекарствени продукти. Този раздел от дисертационния труд показва, че докторантът познава в детайли литература по дисертационния проблем и умее правилно да подбере, творчески да подреди и критично да интерпретира литературните данни.

2.2. Въз основа на задълбочения анализ на литературата, докторантът аргументира и логично обосновава Целта на дисертационния си труд – да се изследват нивата на експресия на подбрани циркулиращи miR-и при пациенти с новодиагностициран ММ и здрави контроли, като основната цел е да се докаже специфична експресия на предварително подбраните miR-и в момента на диагнозата и след 6 месеца лечение. За осъществяването на тази цел са поставени и съответните 14 задачи на дисертационния труд, които са ясно и точно формулирани. Те определят обема на изследванията и отговарят на замисъла на дисертационния труд.

2.3. Докторантът е представил прецизно използваните в научната разработка Материали и методи, които са подбрани адекватно на поставената цел и основни задачи. Дисертационният труд е проведен под формата на проспективно неинтервенционално едноценрово клинично изпитване, обхващащ периода 2022 – 2024г. с участници 56 новодиагностицирани пациенти с Множествен миелом, които отговарят на включващите и нямат изключващи критерии, при които е проведена стандартна

терапия по протокол velcade, cyclophosphamid, dexamethasone и 12 здрави доброволци.

- Включените в дисертационния труд пациенти са изследвани с широк спектър цитологични, биохимични, имунологични и генетични методи. Дисертантът е използвал съвременен молекулярно-биологичен метод като полимеразна-верижна реакция за анализ на 100 проби, осъществен чрез реактив miRNeasy Serum/plasma Kit(Qiagen), като са изследвани 56 проби от новодиагностицирани пациенти, 32 контролни проби от пациенти след лечение и 12 от здрави доброволци. Методите са адекватни за поставените задачи. Обстойно са представени и използваните статистически методи за обработка на получените резултати.

2.4. Дисертационният труд представя значителен обем от *научни резултати* много добре онагледени с фигури и таблици, описани прецизно и в логична последователност, в съответствие с поставените основни задачи. Структурата на изложението позволява да се очертаят няколко направления:

1) *Понижени нива на експресия на miR-126-5p* – в проучването е установено, че концентрацията на miR-126 намалява при случаи в по-напреднал клиничен стадий, по-голямо туморно натоварване и наличие на маркери, свързани с по-лоша прогноза и агресивно заболяване. При контролното изследване след лечение, при пациентите с пълна ремисия (CR) и много добър частичен отговор (VGPR), се отчита ниво на експресия до стойности близки до тези на здравите контроли.

2) *Понижени нива на експресия miR-199a-5p при пациенти с ММ* – при ROC анализа на изследваните miR като биомаркери за разграничаване на пациенти с множествен миелом от здрави контроли, *miR-199a-5p* е с на-висока чувствителност. Установява се тенденция към по-ниски нива при изразена костна болест. По високите нива корелират с по-високи стойности на хемоглобина и имат обратна корелация с бета2-микроглобулин.

3) *МикроРибонуклеиновите киселини (miR) като биомаркери за разграничаване на пациенти с множествен миелом и здрави контроли*- при ROC анализа от нивата на експресия на изследваните циркулиращи miR, miR-126-5p и miR-199a-5p демонстрират най-

обещаващи характеристики като диагностични биомаркери чрез своите високи стойности на AUC и сигнификантна значимост (p).

4) **Прогностична стойност на експресията на miR-199a-5p, miR-126-5p, miR-497-5p, miR-214-3p, miR-373-3p, като предиктивни биомаркери за OS (общата преживяемост).** Анализът за OS установява статистическа значимост за miR-214-3p и miR-497-5p като потенциални предиктивни маркери за обща преживяемост и риск от ранна смърт.

5) **Прогностична стойност на експресията на miR-199a-5p, miR-126-5p, miR-497-5p, miR-214-3p, miR-373-3p, като предиктивни биомаркери за PFS (преживяемост, свободна от прогресия).** Анализът за PFS откроява miR-214-3p и miR-497-5p като статистически значими предиктивни биомаркери, като по-високи нива на експресия предполагат с до 38,1% по-висок риск от прогресия на заболяването. Повишените стойности на miR-497-5p се свързват с над два пъти по-голяма честота на прогресия в изследваната популация

3. Обсъждането на резултатите е представено отделно, макар че при такава сложна материя би било улеснено възприемането, ако след всяка глава е представен накратко анализ на собствените резултати. Задълбоченото познаване на проблематиката и аналитичното мислене позволяват на докторанта умело да интерпретира получените резултати в светлината на данните от други проучвания, да обобщава и аргументирано да извежда изводи.

Дисертационният труд дава основание за формулиране на следните основни **приноси**, които точно и ясно отразяват получените резултати:

1. **Научно-теоретични приноси:** Проведеното проучване дава данни за нивата на експресия на циркулиращи микрорибонуклеинови киселини при здрави контроли и новодиагностицирани пациенти с множествен миелом, като е изследвана тяхната диагностична и предиктивна стойност за прогресия на заболяването и ранна смърт. Анализирани са динамиката в нивата на експресия на изследваните miR в хода на лечението и влиянието им върху терапевтичния отговор. Ниските нива на miR-126-5p и miR-199a-5p при диагностицирането на пациентите с ММ, подчертава потенциала им да се използват като диагностични

маркери и индикатори за отговор към лечението. Нормализирането на нивата на miR-126-5p след ефективна терапия затвърждава потенциала им като биомаркери за мониториране на терапевтичния ефект. Потвърдено е неблагоприятното прогностично значение на miR-214-3p и miR-497-5p, като високата експресия корелира с по-краткотрайна обща преживяемост.

2. Научно-приложни приноси: установената значима корелация между ниските нива на miR-126-5p и miR-199a-5p при диагностицирането, дава възможност в клиничната практика да бъдат използвани в диагностичния алгоритъм и рисковата стратификация при новодиагностицирани пациенти с Множествен миелом. Важен принос от клинична гледна точка е, че изследването на профила на експресия на микрорибонуклеиновите киселини към момента на поставяне на диагнозата, може допълнително да прецизира оценката на риска при пациентите с ММ за индивидуализиране на терапевтичния подход.

Научни публикации. Във връзка с дисертационния труд докторантът има три публикации – една в българското списание Хематология (Hematology) и две на английски език в международни, реферирани списания (EHA Library- PB1686 и American Journal of Hematology Volume 99, Issue S2 Supplement-2024). Тези статии не са използвани в предишни процедури. Дисертантът е на първо място в трите публикации.

Дисертационният труд има висока научна стойност и представя д-р Ради Луканов като задълбочен млад изследовател в областта на хематологията и молекулярната биология. Препоръчвам на Научното жури да присъди образователната и научна степен “ДОКТОР” на д-р Ради Евгениев Луканов.

07.05.2025 г.

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

/доц. д-р Е. Хаджиев, дм/