

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационния труд на д-р **СВИЛЕНА АНГЕЛОВА АТАНАСОВА**, докторант в редовна форма на обучение, за присъждане на образователната и научна степен **“Доктор”** в област на висшето образование: 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление: 7.1. Медицина, по докторска програма „Хематология и преливане на кръв“.

Тема на дисертацията: “РОЛЯ НА ПОДБРАНИ ПЛАЗМЕННИ МИКРО РНК-и КАТО ДИАГНОСТИЧНИ И ПРОГНОСТИЧНИ МАРКЕРИ ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕН СИНДРОМ”

Изготвил становището: полк. доц. д-р Иван Кипдеков, дм,
Началник Клиника по хематология, ВМА МБАЛ София.

Миеلودиспластичните синдроми (МДС) представляват хетерогенна група от клонални заболявания на плурипотентната стволова клетка, характеризирани се с неефективна хемопоеза, цитопении и повишен риск от прогресия в остра миелоидна левкемия. Наблюдават се най-често при пациенти в напреднала възраст и се характеризира с вариабилен клиничен ход. Диагностицирането на МДС продължава да бъде клинично предизвикателство, тъй като изисква комплексно интегриране на клинични, морфологични и генетични находки. Заболеваемостта рязко нараства с възрастта, като мъжете боледуват по-често от жените. От десетилетия насам заболяването поставя редица предизвикателства по отношение както на диагностиката, рисковата стратификация, клиничния ход, така и на лечението. Патогенетичните механизми на заболяването остават не напълно изяснени. При много пациенти с цитопения се установяват генетични изменения, които могат да наподобяват МДС, но не изпълняват установените диагностични критерии. В основата на патогенезата на заболяването стоят цитогенетични и епигенетични нарушения, смущения в ДНК метилирането, апоптозата и не рядко имунна дисфункция, изразяващи се с дисрегулация на стволовата клетка и развитие на патологичен клон с белези на дисплазия и нарушена функция. Известен е факта, че цитогенетични аберации се откриват при приблизително 50% от новодиагностицираните пациенти, докато при вторичните МДС честотата достига до 80%. Нарушенията в генома могат да обхващат региони съдържащи редица туморсупресорни гени, чиято експресия, както е известно е в основата на биологията на заболяването и стратификацията на риска.

Едновременно с доказаните и изследвани цитогенетични и молекулярно-генетични нарушения, през последните години вниманието на изследователите е насочено към епигенетичните регулаторни механизми и взаимодействия инициращи геномната нестабилност при голяма част от пациентите с МДС. Хетерогенността на заболяването, вариращата преживяемост и особеностите в клиничното протичане, налагат необходимостта от откриване на надеждни биологични прогностични маркери. Редица научни публикации през последните години фокусират вниманието на изследователите върху малки регулаторни молекули, каквито са и микроРНКите, участващи в процесите на експресия на туморсупресорните гени и онкогените. МикроРНКите са малки некодиращи РНК молекули, обикновено с дължина 19–25 нуклеотида, които регулират генната експресия, като се свързват с 3'-нетранслируемите региони на таргетните информационни РНКи (иРНК), водейки до потискане на транслацията или до разграждане на иРНК. МикроРНКите изглеждат като критични регулатори в патогенезата на МДС, повлиявайки ключови клетъчни процеси като диференциация, пролиферация и апоптоза.

Дисертационният труд на д-р Свилена Атанасова е актуален именно в тези насоки. Той проучва и получава нови данни за нивата на експресия на подбрани пет микроРНКи - miR-22, miR-144, miR-16, miR-451a, let7a и определя прогностичното им значение, като сравнява високорискови пациенти с МДС и екстраполира данните при рисковата стратификация на различните подтипове МДС.

Формално дисертационният труд съдържа общо 176 страници, огледен е с 19 фигури и 29 таблици. Книгописът включва 290 заглавия на латиница, като 18% от цитираната литература е публикувана след 2019г.

Литературният обзор

Подробно са описани наличните до момента класификации на заболяването: класификацията на СЗО от 2016 г., FAB класификацията, ревизираната класификация на СЗО за миелоидни и лимфопротролиферативни злокачествени заболявания 2020г. Детайлно са анализирани рисковите фактори и скали за МДС, като е акцентирано върху молекулярно-генетичните аномалии, и тяхното прогностично значение. Направен е подробен анализ на патогенезата на заболяването. Анализирани са значението на най-често срещаните хромозомни аномалии при МДС: делеция на дългото рамо на хромозома 5 (del 5q); аберациите в хромозома 7; тризомия 8; хромозомните аберации, засягащи хромозома 3. Описано е значението на някои соматични мутации, засягащи гени отговорни за клетъчни процеси свързани с диференциацията и пролиферацията на хемопоетичните клетки, сигналната трансдукция и епигенетична регулация.

Особено значение е обхванато на някои епигенетични механизми, отговорни за развитието на миелодиспластичния синдром.

1. ДНК метилирането и ролята на ДНК метилтрансферазите (DNMT).
2. Хистоните и хистоновите модификации, които водят до промяна в конфигурацията на хроматина и съответно експресията на гените.
3. МикроРНКите (миРНК, miR), некодиращи ендогенни РНКи с дължина 19-25 нуклеотида, които са комплементарни на 3' нетранслируемия регион на таргетните гени. Анализирани са потенциалите на микроРНКите като обещаващи диагностични и прогностични биомаркери и като маркери за отговор към лечението при МДС.

Литературният обзор е направен добре, проличава доброто познаване на литературните източници и показва възможностите на докторанта да анализира данните на други автори. Формалният анализ на цитираната литература показва, че приблизително 20% от литературните източници са публикувани през последните 5 години, като са цитирани 290 достъпни източника.

Целта на дисертацията е ясно формулирана. За изпълнение на целта са поставени девет добре формулирани задачи.

Главата „Материал и методи“ е представена много подробно. Използвана е материалната база на УМБАЛ „Св. Марина“ гр. Варна: Клиника по клинична хематология; Централна Клинична лаборатория; Имунологична лаборатория и Генетична лаборатория. Проспективно са анализирани 50 участника - 40 пациента с доказан миелодиспластичен синдром и 10 здрави контроли. Проучването е проведено в клиника по Клинична хематология към УМБАЛ „Света Марина“ Варна след получаване на положителна оценка от Комисията по етика на научните изследвания (КЕИИ) при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – гр. Варна. Участниците в него са включени след подписване на информирано съгласие. Използвани са широкодостъпни и предварително уточнени критерии за включване на пациентите с МДС. Проведени са както рутинни лабораторни изследвания, така и високоспецифични молекулярно генетични. Данните от изследването са обработени с помощта на специализиран софтуер за статистическа обработка (IBM SPSS Statistics v.24, GraphPad Prism, version 10.4.1, Python v.3.8 и Google Sheets). Обобщавани са основните характеристики на данните чрез изчисляване на средни стойности, стандартни отклонения, медиани и процентни разпределения. Използвани са методи за проверка на нормалността на разпределението на данните в дадена група, непараметричният тест на Ман-Уитни за сравнение на медианите между две независими групи. Коефициент на корелация на Спирман за оценка на връзката между две количествени променливи, независимо от разпределението на данните. Използван е регресионен анализ за оценка на линейната зависимост между две променливи. Използвани са кривите на Каплан-

Майер за оценка на преживяемостта. За статистически достоверни са приемани данни с прагово ниво на значимост $\alpha=0,05$. Методите са много добре описани, което ги прави напълно възпроизведими и доказва личното участие на дисертанта в изпълнението им.

Собствените проучвания са проведени правилно. Разделът **“Резултати”** отразява целия ход на научната разработка. Илюстриран е богато с 19 фигури, които дават много добра визуална представа за извършената работа. Систематизиран е в десет подраздела, които представят последователно резултати от съответните изследвани и задълбочено анализирани данни. Като заключение на всеки етап е направен анализ на резултатите и се преминава логично към следващия етап на проучването. Могат да се очертаят няколко области на интерес от проведените проучвания:

I. Оценен е диагностичния потенциал на избрани плазмени микроРНКи при пациенти с МДС и здрави контроли. Отчетена е значително подчертана разлика при микро РНК 144, микро РНК 16, *let-7a* и микро РНК 451a.

II. Направен е сравнителен анализ между нивата на микро РНКите и различните подтипове МДС. Установена е потенциалната роля като биомаркер при *let-7a*.

III. Проведен е корелационен анализ за връзките между самите микро РНКи, като е установена статистически значима положителна корелация между всички анализирани РНКи.

IV. Установена е статистически значима корелационна зависимост между нивата на микроРНКите и стойностите на ЛДХ, феритина и процента бласти в костния мозък, но не се установяват значими предиктивни връзки.

V. Подчертана е значимата роля на **miP-22** и **miP-451a** като предиктори за принадлежност към групата на пациентите с миелодиспластичен синдром, като идентифицира тези две като най-значими, а последващите опростен и многофакторен анализ потвърждават тяхната силна предиктивна стойност. **miP-22** показва положителна връзка с вероятността за заболяване, докато **miP-451a** има обратна връзка, предполагайки защитен ефект. Моделите демонстрират отлична точност и стабилност, което подкрепя диагностичната значимост на тези две микроРНКи.

VI. Определена е прогностичната стойност на **let-7a**, като идентифицира **let-7a** като най-силния предиктор сред изследваните микроРНКи. По-високите нива на **let-7a** са свързани с увеличен шанс за принадлежност към групата с МДС с висок процент бласти.

Дисертационният труд завършва със задълбочено обсъждане на получените резултати. То показва добрата литературна осведоменост на д-р Свилена Атанасова, както и правилното и компетентно тълкуване на получените резултати. То дава и насоки за бъдещи изследвания.

Изводите на брой 6 отразяват най-важните резултати от дисертационния труд. Те следват систематично поставените задачи.

Дисертационният труд на д-р Свилена Атанасова има безспорни приноси в насока охарактеризиране на някои епигенетични взаимодействия, ключови за развитието на Миелодиспластичния синдром.

1. За първи път в България е проведено изследване на плазмени микроРНК при пациенти с миелодиспластичен синдром.

2. Анализирана е връзката между нивата на специфични микроРНК и някои биохимични показатели, отразяващи еритропоезата и желязната метаболитизъм при МДС. Доказан е потенциала на микроРНКите за допълнителна информация при протичащите патологичните процеси в костния мозък.

3. Потвърдена е корелацията между let-7a и процента на бласти в костния мозък, както и R-IPSS риска. Доказана е потенциалната му роля в рисковата стратификация при миелодиспластичния синдром.

4. Потенциалната неинвазивност на плазмените микроРНК подчертава ролята им като допълнителен инструмент към стандартните диагностични методи, особено при случаи със затруднена хистопатологична оценка.

Дисертационният труд е актуален и дисертабилен. Разработен е прецизно. Получени са оригинални резултати и изводи.

Дисертационният труд е лично дело на докторанта. Списъкът на научни публикации (4 заглавия), във връзка с дисертационния труд показва, че научната разработка е пълно огласена.

Съдържанието на автореферата отговаря на това на дисертационния труд. В заключение, предложения ми за рецензиране дисертационен труд е много добре планиран и изпълнен. Получени са приноси с теоритичен и приложен характер. Препоръчвам убедено на членовете на Уважето научно жури да гласуват с положителен вот за присъждане на научната степен „Доктор“, в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление: 7.1. Медицина, по докторска програма „Хематология и преливане на кръв“ на д-р **СВИЛЕНА АНГЕЛОВА АТАНАСОВА**.

РЕЦЕНЗЕНТ
Полк. доц. И.

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

01.05.2025г.