

РЕЦЕНЗИЯ

от професор д-р Красимир Антонов Антонов д.м.н.
определен за външен член на Научното жури и за изготвяне на
рецензия със Заповед Р-109-217/ от 17.05.2021 г. на Ректора на Медицински
университет-Варна

Относно: Дисертация за придобиване на научна степен „Доктор на науките“
Автор: Доц. д-р Антония Йорданова Атанасова, д.м. - Катедра „Анатомия и клетъчна
биология“ на Факултет по Медицина при Медицински университет-Варна
Тема: „Серумна експресия на микрорибонуклеинови киселини при пациенти с
хронични възпалителни болести на червата“ в област на висше образование 7.
„Здравеопазване и спорт“ по професионално направление 7.1. „Медицина“ и научна
специалност „Гастроентерология“ в Катедра по Анатомия и клетъчна биология на
Факултета по медицина на Медицински университет-Варна.

Възпалителните болести на червата са имуномедирирани заболявания, в чиято патогенеза стои хронично възпаление и променени имунни реакции. В световен мащаб и у нас се наблюдава тенденция към зачестяване на тези заболявания, с обхващане предимно на млади пациенти. Ранната диагностика, разграничаването на болест на Крон (БК) от язвен колит (ЯК) при дебют, контролът на възпалението и мониториране на ефекта от лечението за да се избегне инвалидизация при тези пациенти, се явяват важни задачи, свързани с големи предизвикателства. Съществуващите биомаркери за проследяване на възпалението при болест на Крон и язвен колит не могат изцяло да помогнат при решаване на тези задачи.

Множество проучвания разкриват, че микрорибонуклеиновите киселини (miRNAs) играят съществена роля във всеки един етап от възпалението. Те участват в диференциацията, регулирането и клетъчната сигнализация на вродената и придобитата имунна система, контрола на бариерната функция на ентероцитите, негативната обратна връзка върху различни сигнални пътища, свързани с възпалението, контрола на процесите на апоптоза и автофагия, дисплазия и клетъчна смърт.

Структурата на дисертационния труд представен от доц. д-р Антония Атанасова съответства напълно за представяне за защита – увод, литературен обзор, цел и задачи, методология на дисертационния труд, резултати, дискусия, изводи и приноси.

Той е написан на 223 страници и е онагледен с 59 таблици и 55 фигури.

Библиографията включва 574 литературни източници, от които 8 са на кирилица и 566 на латиница. Библиографията е обширна, добре оформена, като присъстват изключително малко българските автори. Над 20 % от цитираните автори са от последните 5 години.

В *увода* се подчертава, че данните от литературата остават все още доста противоречиви поради различните източници на miRNAs (мукоза на тънко и дебело черво, периферна кръв, изпражнения и други) и различните популации пациенти (стадий, давност на заболяването и терапевтични режими). Като се имат предвид възможностите, които предоставят изследванията в областта на експресията на miRNAs, прилагането им сред българските пациенти с БК и ЯК представлява един нов съвременен подход, който дава различен поглед и актуално решение в областта на диагностика, проследяване и лечение при пациенти с хронични възпалителни болести на червата.

Литературният обзор представен в дисертационния труд е много задълбочен и обхваща 15 раздела в логическа последователност. В първите шест раздела доц. Атанасова разглежда най-важните въпроси, свързани с хроничните възпалителни болести на червата, диагностика, биомаркери на проследяване на възпалението и отговора от приложеното лечение.

Доц. Атанасова конкретно и аналитично представя най-важните подходи, публикувани в литературата във връзка с приложението на серумната експресия на определени микрорибонуклеинови киселини за разграничаване на пациентите с болест на Крон от тези с Язвен колит, отговор на кортикостероидното лечение, формиране на фиброза, отговор на различни терапии и прогресия на възпалителните болести на червата към дисплазия и колоректален карцином. Посочените обосновават и изводи от литературния обзор дават пълно основание за разработване на дисертационния труд.

Целта на дисертацията е много ясно и конкретно формулирана - да се изследва и оцени серумната експресия на някои miRNAs при пациенти с хронични възпалителни болести на червата..

За изпълнението на тази цел тя си поставя 5 *задачи*, които също в логична последователност отговарят на целта.

Изследвани са miRNAs (*Hs_miR-28_1; *Hs_miR-29c_1; *Hs_miR-96_1; *Hs_miR-191_1; *Hs_miR-451_1; *Hs_miR-142-5p_1; *Hs_miR-199a_1; *Hs_miR-363_1; *Hs_miR-144_4; *Hs_miR-142-3p_2; *Hs_miR-155_2; *Hs_miR-16_2; *Hs_miR-1228-

Зр_1 и контролни: *Hs_RNU6-2_11; Ce_miR-39_1) в серум при пациенти с доказани IBD - БК и ЯК в стадий на активност на болестта и в стадий на ремисия, постигната с медикаменти.

Изследвани са седемдесет пациенти с IBD, разделени на 2 групи от 35 пациенти, съответно с БК 35 (20 с активна БК и 15 в ремисия) и с ЯК 35 (20 с активен ЯК и 15 в ремисия), преминали през Клиниката по гастроентерология от 04.2019 до 10.2019 г.

В клиничното проучване участват и 30 здрави доброволци на възраст от 18 до 42 години, които нямат анамнеза за заболявания, не приемат никакви медикаменти, и след запознаване с условията за участие в клинично проучване, са подписали информирано съгласие за участие в клиничното изследване.

За постигане на научно-изследователската цел и за решаване на предварително формулираните задачи, са проучени и анализирани данните от пациенти с IBD, на които са извършени изследвания по стандартния клиничен подход: анамнеза на болестта и съпътстващите заболявания, физикален преглед, абдоминална ехоскопия, КТ ентоерография или МР-ентерография (за пациенти с БК и при началото на IBD), илеоколоноскопия, с оглед оценка на ендоскопската активност и морфологично изследване. Въз основа на тези данни е поставена диагнозата БК или ЯК и тези пациенти получават терапия с месалазин, кортикостероиди, азатиоприн или биологично лечение.

Тези данни са показателни за стремежът на доц. Антония Атанасова не само да се постигнат нови измерения в диагностика, контрол и лечебен резултат, но и да се изведат успешно научно-обосновани резултати и изводи, които да подпомогнат и усъвършенстват клиничната практика и подхода на лечение при пациентите с БК и ЯК.

Извършено е количествено измерване на ниво на серумна експресия на панел от микрорибонуклеинови киселини чрез количествена полимеразна реакция в реално време (RealTime PCR).

Посочените статистически методи позволяват да се онагледят детайлно поставените задачи. Това са: Дисперсионен анализ (ANOVA); Вариационен анализ; Корелационен анализ; Регресионен анализ.

Получените *резултати* по отделните задачи потвърждават задълбочения анализ на клиничния материал. Въпреки спецификата на обработване на този клиничен материал, доц. д-р Атанасова много ясно го представя в таблици и фигури. Авторът разглежда своите резултати и обсъждане по всяка отделна задача, което дава много

точна оценка на клиничния материал като го съпоставя с наличните резултати на други автори, извършили подобни изследвания сред различни групи от пациенти с хронично възпалителни болести на червата.

Дискусията е насочена и компетентна. Проличава умението на доц. д-р Атанасова да анализира собствените си резултати в контекста на известните в литературните данни. Авторът съпоставя резултати си с резултатите от международната база данни.

Твърде оскъдните публикации и информации в литературата показват, че нейното проучване за ролята на микрорибонуклеиновите киселини при пациенти с възпалителни болести на червата се явява навреме, давайки възможност да се приложат като нови неинвазивни модерни и комплексни биомаркери при тези заболявания.

Въз основа на получените резултати са формулирани *11 извода*, които следват логически поставените цел и задачи на проучването. Сред тях бих открил следните:

1. Експресията на разглежданите miRNAs се различава при пациентите с БК и ЯК. При пациентите с БК експресията е сигнификантно по-висока спрямо тази при пациентите с ЯК.
2. При изследване на експресията на miRNAs при двете групи пациенти според активността на заболяването се установи разлика не само в експресията на отделните miRNAs, но се откроява и специфичен за конкретното заболяване miRNA подтип.
3. Според локализацията и формата на протичане се установяват различни miRNAs за двете заболявания с различна посока на експресия спрямо праговите стойности.
4. Интестиналните усложнения и екстраинтестиналните прояви корелират с различни miRNAs при пациентите с БК и ЯК.
5. Давността на заболяването корелира с повишената експресия на различни miRNAs при пациентите с БК (miR-28 и miR-96) и ЯК (miR-144 и miR-155).
6. Повишената експресия на miR-28 при пациентите с БК е специфичен маркер за постигната ремисия и корелира с понижени нива на CRP, FCP, постигната ремисия, оценена чрез CDAI, нормално ниво на серумно желязо, витамин B₁₂ и витамин D.
7. Съществува зависимост между серумната експресия на miR-142-5p, miR-96, miR-199a и нивата на витамин D при пациенти с IBD.

Представените от доц. Атанасова *приноси* са дадени много точно и коректно. Те са представени в три групи:

- > приноси с теоретичен характер;
- > приноси с практико-приложен характер
- > приноси с оригинален характер.

Създаването на микрорибонуклеинов профил на пациентите с болест на Крон и язвен колит сред българските пациенти с възпалителни болести на червата може да бъде

определено като принос с международно значение. Този принос има важен научно-приложен характер, тъй като дава възможност да се въведе един нов клас биомаркери, нов подход в характеризирането на пациентите с възпалителни болести от дебюта до различна давност, както и един нов подход в мониторирането на двете заболявания.

С не по-малко висока стойност са и приносите с оригинален характер за страната, като особено важно е да се подчертае, че за първи път у нас е доказана връзката между експресията на микрорибонуклеинови киселини, серумните нива на витамин D и основни характеристики на хроничните възпалителни заболявания на червата.

Доц. Антония Атанасова представя *10 публикации* в наши и международни периодични издания. Във всички публикации тя е първи автор, в седем е и единствен автор. Публикациите отразяват различни аспекти от получените резултати и направените обзори на литературата в областта на приложение на микрорибонуклеиновите киселини.

Авторефератът е написан на 80 страници и представя напълно дисертационния труд.

В заключение отново искам да подчертая своята много висока оценка за голямата клинична и научно-изследователска дейност представена в дисертационния труд на доц. д-р Атанасова и убедено и категорично ще гласувам с „ДА“ за присъждане на научна степен „Доктор на науките“ на доц. д-р Антония Йорданова Атанасова, д.м.

14.06.2021

проф. К. Антонов

