

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд

на доктор Мария Благоева Костуркова

**гл.ас. в Катедрата по пропедевтика на вътрешните болести в
МУ-Варна**

за присъждане на Научна степен „Доктор по медицина“

**Тема на дисертационния труд: „Честота и клинично-имунологични
корелации на някои C1q-SPNs при пациенти с РА и СЛЕ“**

**Рецензент: проф.Христо Благоев Цеков, д.м.н. – МБАЛ „Св.Анна-
Варна“, специалист ревмокардиология, като член на Научното жури
със Заповед № 1/08.02.2022г.**

Автоимунните заболявания са едни от водещите причини за смъртността, а ревматоидния артрит (РА) и системния лупус еритематодес (СЛЕ) със своята честота остават отпечатък в модерните общества.

Органичната връзка между адаптивния и вродения имунитет е системата на комплемента в неговата C1q компонента. C1q подтиска автоантитялогенезата и намалява риска от автоимунна реакция при РА и СЛЕ. От друга страна, активирания комплемент директно индуцира цитотоксичната увреда на тъканите и повишава нивото на проинфламаторните цитокини. Системата на комплемента има основна роля в имунната толерантност към апоптозата, чрез „тихото“ отстраняване на увредените клетки.

Активирания комплемент има девет главни гликопротеинови компонента от C1 до C9. Системата на комплемента е мощно активирана

при СЛЕ, вследствие на което се стига до нейното изчерпване- намаляват нивата на С3 и С4. Наличието на хомозиготен дефицит предразполага към развитието на СЛЕ. Комплементът е в състояние да поляризира Т-лимфоцитите и да участва в поведението на фагоцитните клетки и стимулира техния капацитет. При СЛЕ се наблюдава синтез на антитела срещу собствени антигени. При РА антителата са насочени срещу Fc-домена на YgG и възпалителния таргент е не само синовията и хрущяла, но и други структури от органи, като бели дробове, сърце, бъбреци и други.

Централни звена в системата на комплемента са ензимни комплекси, като С3 и С5-конвертацията. Така започва общата комплементна каскада и се стига до перфориращия клетъчната мембрана MAC-C5b-9.

YgM антитялото, насочено срещу антиген във Fc региона на YgG, наречено „ревматоиден фактор“ е един от най-използваните диагностични биомаркери за РА. Вероятно RF е генериран като резултат на вторичен имунен отговор при формирането на имунни комплекси. Нараства броя на „анти-кератиновите антитела“. Има антителни системи насочени срещу центрулинирана пептиди, които несъмнено имат съществена роля в патогенезата на РА. Те се откриват в около 2/3 от блните с РА. Друга автоантителна система е срещу карбамилираните протеини. Двете системи заедно предизвикват автоимунен отговор.

Активирането на комплемента е необходим участник в инфламаторната каскада на РА. Двуха ли е ролята на С1q компонент, която все още е хипотеза.

Допуска се, че съществуват С1q генетични варианти, които могат да се асоциират и с две заболявания.

Единичните нуклеотидни полиморфизми се определят от замяната на един само нуклеотид от генома. Вариациите са над 10 милиона. Този полиморфизъм може да съществува навсякъде по веригата на ДНК.

Всичко това определя автоимунните заболявания, като многофакторни по природа. Системата на комплимента и в частност C1q компонента са индикатор за имунологична толерантност. Откриването на нови маркери ще има не само диагностичен, но и специфичен терапевтичен подход. Не само в рамките на едно заболяване, но и конкретно за всеки болен.

Това оправдава и задачата, която си поставя Д-р Костуркова – да изследва пет единични нуклеотидни полиморфизми в гените за C1q в българската кохорта болни от РА и ЛСЕ и контролна група здрави.

Дисертационният труд обхваща 202 страници и включва: списък на съкращенията- 2стр., въведение- 3стр., литературен обзор- 54стр., цел и задачи – 1стр., материал и методи- 23стр., резултати- 50стр., обсъждане и изводи- 26стр., Заключение и приноси- 5стр., библиография- 452 източника, от които 5 на кирилица. Във връзка с дисертационния труд са отпечатани три публикации.

Д-р Костуркова разработва проблем с динамично развитие в изследователските среди. Това е наложило обзора да се построи в един чисто пропедевтичен план, с което има качествата на монография. Посочени са както класическия път, така и алтернативния път за активиране на комплемента. Съобщава се за множество противоречиви данни за нивата на C1q при авансирани заболявания.

В проучването са включени 111 пациента на 18 годишна възраст (от които 58 с РА и 53 със СЛЕ и контролна група от 68 здрави).

Болните със СЛЕ са с изключително хетерогенна клинична картина.

Направени са стандартните лабораторни, имунологични, хисто и имуноморфологични изследвания.

Изследван е C1q и идентификация на SNPs (свободния нуклеотид полиморфизъм). Направен е анализ за наличието на асоциация със заболяване при случай/контрола дизайн.

Няма да се спираме на резултатите от стандартните изследвания, които потвърждават известните до сега факти.

Проследяват се алелни и генотипни честотни разпределения в пет полиморфизма, като се сравняват резултатите с други кохорти от раси и нации. Намират се разлики главно с африканските кохорти. Заедно с потвърдителните резултати Д-р Костуркова открива разлика в честотата на полиморфизма между болните от РА и СЛЕ/ rs665691 и rs292001. Още повече, че вариантния G-алел на rs665691 и носещите го генотипове се срещат по-често при РА отколкото при болните със СЛЕ. Плазмените нива на C1q корелират негативно с бъбречното ангажиране при СЛЕ независимо от лечението. Значителни различия в плазмените нива на C1q се установяват само в групата на РА. Остава схващането, че няма връзка между изследвания полиморфизъм и измерените нива на C1q при РА.

При пациентите със СЛЕ се демонстрира тенденция за асоциация на rs294179 с нивата на C1q само при ЛН. Като цяло хомозиготите по вариантния алел се характеризират с по-високи плазмени нива на C1q и по-високи нива на АСРА в сравнение с хомозиготите по периферния С-алел. Тези факти сочат, че РА е хетерогенно по своя природа заболяване. Д-р Костуркова установява факти, които могат да бъдат ориентир за всеки ревматолог.

Ниските нива на C1q корелират позитивно с бъбречното ангажиране и нивата на C3 и C4 при пациенти със СЛЕ.

Вариантния G-алел и G G генотипа на rs172378 се асоциират с РА и СЛЕ и с наличието на автоимунно заболяване. Открити са полиморфизми в гена за А веригата на C1q, които се свързва с РА.

Нивата на C1q са определени при РА и СЛЕ, както и връзката им с петте изследвани SPNPs.

Приемам приносите с оригинален характер, които се отнасят до това, че Д-р Костуркова за първи път в България прави асоциативно проучване на SNPs в генния клъстер на C1q при пациенти с РА. Дизайна на проучването показва системен научен подход.

Обсъждането в много отношения доказва литературния обзор и създава впечатлението, че те са органично свързани, защото се съпоставят резултатите на дисертанта с тези на изтъкнати изследователи.

Като приемем с одобрение оригиналните научно-приложни приноси, предлагам на членовете на почитаемото Научно жури да се присъедини към моя положителен вот за придобиване на образователна и научна степен на „Доктор“ на Д-р Костуркова.

02.03.2022г.

Подпис:.....

/Проф.Д-р Христо Благоев Цеков д.м.н./

REVIEW

on dissertation

of Doctor Maria Blagoeva Kosturkova

**Principal Asst. at the Department of Internal Medicine in
MU-Varna**

for the award of the degree of Doctor of Medicine

Dissertation topic: 'Frequency and clinical-immunological correlations of some C1q-SPNs in patients with RA and SLE'

Reviewer: Prof. Hristo Blagoev Tsekov, MD - St. Anna Hospital - Varna, specialist in rheumocardiology, as a member of the Scientific Jury by Order No1.8.02.2022

Autoimmune diseases are one of the leading causes of mortality, and rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE), with their high incidence, remain a footprint in modern societies.

The organic link between adaptive and innate immunity is the complement system in its C1q component. C1q suppresses autoangiogenesis and reduces the risk of autoimmune response in RA and SLE. On the other hand, activated complement directly induces cytotoxic tissue damage and increases the level of proinflammatory cytokines. The complement system plays a major role in immune tolerance to apoptosis by "silently" removing damaged cells.

The activated complement has nine major glycoprotein components from C1 to C9. The complement system is powerfully activated in SLE, resulting in its depletion- decreasing C3 and C4 levels. The presence of homozygous deficiency predisposes to the development of SLE. The complement is able to polarize T

lymphocytes and participate in the behavior of phagocytic cells and stimulate their capacity. Antibody synthesis against self antigens is observed in SLE. In RA, antibodies are directed against the Fc domain of YgG and the inflammatory target is not only synovium and cartilage but also other organ structures such as lung, heart, kidney, etc.

Central units in the complement system are enzyme complexes, such as C3 and C5-conversion. This starts the general complement cascade and leads to the cell membrane perforating MAC-C56-9.

The YgM antibody directed against an antigen in the Fc region of YgG, called "rheumatoid factor", is one of the most widely used diagnostic biomarkers for RA. It is likely that RF is generated as a result of a secondary immune response in the formation of immune complexes. The number of "anti-keratin antibodies" is increasing. There are antibody systems directed against centrullinated peptides that undoubtedly have a significant role in the pathogenesis of RA. They are found in about 2/3 of blns with RA. Another autoantibody system is against carbamylated proteins. The two systems together induce an autoimmune response.

The activation of the compliment is a necessary participant in the RA inflamatory cascade. Is the dual role of the C1q component still a hypothesis.

It is assumed that there are C1q genetic variants that may be associated with both diseases.

Single nucleotide polymorphisms are determined by the substitution of a single nucleotide from the genome. There are over 10 million variations. This polymorphism can exist anywhere along the DNA chain.

All this defines autoimmune diseases as multifactorial in nature. The complement system and in particular the C1q component are an indicator of

immunological tolerance. The discovery of new markers will have not only a diagnostic but also a specific therapeutic approach. Not only within a disease, but also specifically for each patient.

This justifies the task set by Dr Kosturkova - to study five single nucleotide polymorphisms in the C1q genes in the Bulgarian cohort of RA and LSE patients and a control group of healthy subjects.

The dissertation covers 202 pages and includes: list of abbreviations- 2pp, introduction- 3pp, literature review- 54pp, aim and objectives- 1pp, material and methods- 23pp, results- 50pp, discussion and conclusions- 26pp, conclusion and contributions- 5pp, bibliography- 452 sources, of which 5 in Cyrillic. Three publications have been printed in connection with the thesis.

Dr. Kosturkova develops a problem with dynamic development in research circles. This has made it necessary to construct the review in a purely propaedeutic way, which has the qualities of a monograph. Both the classical pathway and the alternative pathway for complement activation are outlined. Many conflicting data on C1q levels in advanced disease are reported.

The study included 111 patients aged 18 years (58 with RA and 53 with SLE and a control group of 68 healthy controls).

SLE patients have an extremely heterogeneous clinical picture.

The standard laboratory, immunological, histological and immunomorphological tests were performed.

C1q and identification of SNPs (free nucleotide polymorphism) was investigated. Analysis was performed for the presence of disease association in case/control design.

We will not dwell on the results of the standard studies, which confirm the known facts.

Allele and genotype frequency distributions across five polymorphisms are examined, and results are compared with other cohorts of races and nations. Differences are found mainly with African cohorts. Along with confirmatory results, Dr Kosturkova found a difference in polymorphism frequency between RA patients and SLE/ rs916656 and rs292001. Moreover, the variant G allele of rs665691 and its carrier genotypes are more common in RA than in SLE patients. Plasma C1q levels correlated negatively with renal involvement in SLE regardless of treatment. Significant differences in plasma C1q levels were found only in the RA group. The notion remains that there is no association between the polymorphism studied and measured C1q levels in RA.

In SLE patients, a trend for association of rs294179 with C1q levels was demonstrated only in LN. Overall, homozygotes for the variant allele were characterized by higher plasma C1q levels and higher ACPA levels compared with homozygotes for the peripheral C allele. These facts suggest that RA is a heterogeneous disease in nature. Dr Kosturkova establishes facts that can be a guide for every rheumatologist.

Low C1q levels correlated positively with renal involvement and C3 and C4 levels in SLE patients.

The variant G allele and G G genotype of rs172378 are associated with RA and SLE and with the presence of autoimmune disease. Polymorphisms in the gene for the A chain of C1q have been found to be associated with RA.

C1q levels were determined in RA and SLE and their relationship with the five SPNPs examined.


I accept the original contributions, which refer to the fact that Dr Kosturkova for the first time in Bulgaria made an association study of SNPs in the C1q gene cluster in RA patients. The study design shows a systematic scientific approach.

The discussion in many ways proves the literature review and gives the impression that they are organically related because they compare the dissertation results with those of eminent researchers.

Accepting with approval the original scientific and applied contributions,

I propose that the members of the esteemed Scientific Jury join in my affirmative vote for the award of the degree of Doctor of Education and Science to Dr. Kosturkova.

02.03.2022г.

Signature:..........

/Prof.Dr. Hristo Blagoev Tsekov PhD /