

## СТАНОВИЩЕ

на дисертационния труд на **ас. Катя Иванова Стефанова**,  
на тема: **„Проучвания върху патобиохимични механизми, свързващи хомеостазата  
на желязото с показатели за възпалителни и автоимунни нарушения при  
ревматоиден артрит ”**

представен за присъждане на научно-образователна степен “доктор”,  
по Научна специалност „Мединска биохимия“  
Професионално направление 4.3. „Биологически науки“  
Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика

изготвена от проф. Татяна Иванова Влайкова, д.б.  
Катедра Химия и Биохимия, Медицински факултет,  
Тракийски Университет, Стара Загора,  
тел: 0888 002438, e-mail: tvlaykov@mf.uni-sz.bg

### 1. Биографични данни за кандидата

Висшето си образование, ас. Катя Иванова Стефанова, получава в Биологическия факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ през 2001 година, като придобива степен „Магистър“ по „Молекулярна биология и растителни биотехнологии“. През последните две години на своето образование, Катя Стефанова се обучава и продибива втора специалност „Учител по биология“, което и помага при нейното последващо професионално развитие. През 2010 г. Катя Стефанова след успешно положен държавен изпит, придобива специалност „Биохимия“ в системата на СДО към МНЗ.

След дипломирането си, първоначално, Катя Стефанова работи в Растителен център, Пловдив като Оператор тъканно размножаване (in vitro) на растения.

От 2005 година, след успешен конкурсен изпит Катя работи като асистент в Катедра „Химия и биохимия. (сега Катедра „Биохимия“) на МУ-Пловдив. През тези години тя участва в организирането и провеждането на лабораторни упражнения със студенти по медицина, дентална медицина и фармация, в изпитни сесии, участва в научно-изследователска дейност на катедрата. В момента, Катя Стефанова е отговорник за учебната дейност в катедрата.

Владее английски език на високо ниво и използва успешно редица софтуерни продукти, включително професионални статистически програми.

### 2. Оценка на дисертационния труд

#### *Актуалност на дисертационния труд*

Дисертационният труд си поставя за цел да се потвърди информативността на възприетите параметри за оценка на желязната хомеостаза и да се анализира възможната им взаимовръзка с показатели за оценка на възпалителния процес, автоимунните, окислителни и костни нарушения при ревматоиден артрит и да изясни значението им като биомаркери за развитие и прогресия на това автоимунно заболяване. Темата на дисертацията е безспорно актуална, като резултатите от нея могат да допринесат за изясняване на фундаментални въпроси в патогенезата на ревматоидния артрит, но едновременно с това биха могли да имат и приложен характер за клиничната практика.

Ревматоидният артрит (РА) е автоимунно заболяване, чиято честота сред възрастното население в света, а и в България, е около 1%. Определя се като възпалително ставно заболяване, има хронично рецидивиращо и прогресиращо протичане и често води до намалена трудоспособност и инвалидизация. Въпреки, че РА

като цяло има сравнително изяснена патогенеза и ясни диагностични критерии, някои механизми ангажирани в развитието на съпътстващите системни прояви на болестта, като анемията, предстоят да бъдат уточнени. Такива все още неизяснени напълно са взаимовръзките между някои разтворими рецептори на лиганди, въввлечени в остеокластната диференциация, в окислителния стрес и в желязната хомеостаза. В литературата има твърде противоречиви данни за промените в серумните нива на избраните за проучване разтворими рецептори и патобиохимичното им значение при РА. Няма и убедителни доказателства за тяхната роля като потенциална биомаркери с диагностично или прогностично значение.

Ето защо смятам, че изследванията и анализите, проведени от Катя Стефанова при разработването на нейната дисертационна работа за определяне на серумните нива и взаимовръзките на показатели на желязна хомеостаза (*хемоглобин, еритроцити, серумен феритин и желязо, sTfR, прохепсидин общ и ненаситен желязосвързващ капацитет [TIBC и UIBC]*), възпалителна активност и окислителен стрес (*CRP, IL-6, CУЕ, sRAGE и лактоферин*), костни и автоимунни нарушения (*sRANKL, OPG, RF, анти-CCP антитела, DAS28*) при болни с РА и здрави контроли, предоставят нови знания за патобиохимичните механизми на дефицита на желязо при ревматоидния артрит и разширяват възможностите за ранно установяване и проследяване на някои системни усложнения при заболяването.

Дисертационният труд е разработен изцяло в катедрата по Биохимия, МУ-Пловдив под ръководството на Проф. Ана Манева и проф. д-р Анастас Баталов в колаборация с колеги от Катедрата по Пропедевтика на вътрешните болести, МФ, МУ-Пловдив с финансовата подкрепа на Вътреуниверситетски проект НО-11/2013 на Медицински университет – Пловдив.

#### **Оценка на литературния обзор**

Литературният обзор на дисертационния труд на Катя Стефанова (49 стр.) е обстоен, задълбочен и изчерпателен. В него конкретно, точно и ясно са представени биохимичната и физиологична роля на желязото, метаболизма на желязото в организма, протеините, участващи в неговата абсорбция, транспорт, складиране, механизмите и факторите на контрол, взаимовръзките между метаболизма на желязото и процесите на възпаление и окислителен стрес. Други проблеми, задълбочено разгледани в литературния обзор са тези, отнасящи се за взаимовръзката между възпалението и окислителния стрес: ролята на IL-6 и лактоферина, формирането на AGEs (късните продукти на напреднало гликиране), вътреклетъчните сигнални пътища и ефектите от активирането на техните рецептори (RAGE).

И всички тези фундаментални процеси и механизми на регулация умело и с разбиране са представени в светлината на патогенезата, особеностите и клиничните прояви и системни усложнения при ревматоиден артрит.

Като допълнителна глава в литературния обзор, ас Стефанова разглежда желязната обмяна и проявите и механизмите на възпалителните процеси при диабет тип 2. Този допълнителен раздел се включва във връзка споставената от нея задача да бъдат сравнени и да се потърсят характерни различия при двете заболявания, при които, въпреки различията в етиологията и клиничната картина, се установява анемия и възпалителен процес.

Литературният обзор е написан компетентно, онагледен е подходящо с 4 самостоятелно изготвени фигури и показва задълбочените знания на докторанта по проблемите, разработвани в дисертационния труд.

Литературният обзор завършва с обобщение на неизяснените въпроси, свързани с метаболизма на желязото при РА. Тези противоречиви становища и резултати са

солидна основа за изграждането на работната хипотеза и за извеждането на целта и задачите на дисертационния труд

Целта и задачите на дисертационния труд са конкретни и добре дефинирани. Прави много добро впечатление логичната последователност и цялостта в разработването на дисертационния труд.

### **Материали и методи**

Разделът „*Материали и методи*“ е написан на 10 страници и включва данни за изследваните пациенти и контролни индивиди, както и подробно описание на прилагания ELISA метод за определяне на по-голямата част от анализирани серумни параметри.

В проучването са обхванати 114 болни с РА, които са подходящо подбрани и много добре охарактеризирани по отношение на техните демографски и клинични параметри и прилагана терапия. Големината на групата на пациентите с РА е достатъчна за провеждане на статистическите анализи и за получаване на репрезентативни резултати от тях. *Смятам, че по-задълбочено биха могли да бъдат представени контролната група и особено групата на пациентите с диабет.*

За реализиране задачите в дисертацията са приложени адекватни методи с висока надеждност и възпроизводимост. Основният метод прилаган за определяне на проучваните серумни маркери е ELISA метода, като са използвани комерсиални китове. Стандартните серумни и кръвни показатели на желязната хомеостаза (серумно желязо, желязосвързващ капацитет, хемоглобин, еритроцити и фибриноген) са измервани с автоматични биохимичен и хематологичен анализатор в клиничната лаборатория на МУ.

Удовлетворена съм от въведения в крайния вариант на дисертацията раздел, описващ ултрасонографски методи и оценките, които са дават с тях. Прилаганите статистически методи са напълно адекватни и са съобразени с типа на разпределение на количествените показатели.

### **Оценка на резултатите и дискусията**

Ас. Катя Стефанова представя в логична последователност много сериозен обем от резултати, много добре онагледени с 11 фигури и 18 таблици.

Получените и представени резултати убедително доказват по-високи серумни нива на разтворимите рецептори sTfR, sRAGE и OPG, на разтворимата серумна форма на RANKL (sRANKL), на про-хормона прохепсидин и на про-възпалителния цитокин IL-6, както и по-ниски концентрации на серумното желязо при пациентите с РА в сравнение със здравите контролни индивиди. Други съществени резултати, **водещи до оригинални приноси с научно-теоретичен характер** са установените многобройни корелационни зависимости на разтворимите рецептори с показатели на желязната хомеостаза, с показатели на възпалителния процес, окислителен стрес, костна деструкция и клинични и ултрасонографски параметри на болестта.

Получените разлики на изследваните показатели между пациенти и контролни индивиди, както и корелационни взаимовръзки дават основание на докторантката да направи заключението, че при РА се среща едновременно наличие на желязен дефицит, възпалителен процес и костна деструкция.

Получените по-високи нива на sTfR, sRAGE, sRANKL и OPG при пациентите с комбинирана анемия ACD+IDA (sTfR-F индекс>1.5), в сравнение с тези само с анемия на хроничното възпаление (ACD), определят sRAGE, sRANKL и OPG като серумни показатели, които свързват окислителния стрес и костната деструкция с анемията на възпалителния процес при ревматоиден артрит.

Сравнителният анализ на показателите за желязния метаболизъм при пациенти с РА и диабет показва незначителни разлики в нивата на sTfR и sRAGE. Единствено само

неспецифичният фактор на имунитета с антиоксидантна активност, Lf показва значимо повишени нива при пациентите с диабет спрямо тези с РА, което докторантката обяснява с вероятно изчерпване на адаптивните възможности за биосинтеза на лактоферин при РА.

Големият брой резултати са обсъдени задълбочено и компетентно в светлината на литературните данни. Дискусията е стегната, последователна и задълбочена и представя способностите на докторанта критично да анализира и обобщава личните резултати и литературните данни.

#### **Оценка на изводите и приносите**

Въз основа на резултатите, Катя Стефанова извежда 7 изводи, които са формулирани добре и обобщават най-съществените наблюдения.

От резултатите на докторантурата са изведени **4 приноса с научно-теоретичен характер и един с научно-приложен характер**. Приемам приносите в представената форма, *но би било удачно да се разграничат оригиналните от потвърдителните приноси*.

Приемам начина, по който е оформен *авторефератът*, който отговаря напълно на съдържанието на дисертационната работа и отразява точно резултатите и фактите в нея.

#### **3. Оценка на публикационната активност**

Резултатите от дисертацията са публикувани в 4 научни труда, като един от тях са в списания с ИФ (ИФ= 0.321, Scimago Q2), други 2 в списание реферирано в Scopus (Scimago Q3), и четвъртата в списание, реферирано във вторични международни бази данни (Trakia Journal Science). Част от резултатите от дисертационния труд са представени като научни съобщения в научни форуми в България.

Личният принос на Катя Стефанова се отразява от факта, че тя е първи автор на **всички публикувани** статии и на две от научните съобщения. Публикуваните резултати са привлекли вече интереса на международната научна общност, което се доказва с установените 3 цитирания в списания, реферирани в международни бази данни.

#### **4. Критични бележки**

Нямам критични забележки към темата, идеята, организацията, методологията и получените резултати, изводи и приноси. Бих препоръчала на Катя да избягва използването на някои чуждици като индикира (стр. 24) или промотира (стр. 26,36).

Имам още една препоръка, с която Катя би могла да се съобрази при представяне на все още непубликуваните резултати от дисертационния труд. Бих препоръчала да бъдат проведени допълнителни статистически анализи (анализа на ROC кривите). С тези анализи могат да бъдат определени граничните стойности на серумните нива на разтворимите рецептори за отграничаване с достатъчна чувствителност и специфичност на болестното състояние и/или тежестта на болестта.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Представеният за рецензиране дисертационният труд **„Проучвания върху патобиохимични механизми, свързващи хомеостазата на желязото с показатели за възпалителни и автоимунни нарушения при ревматоиден артрит”** представлява задълбочено проучване на актуален проблем свързан с патобиохимичните механизми на дефицита на желязо при ревматоидния артрит. Работата съдържа множество оригинални резултати, доказващи едновременно наличие на железен дефицит, възпалителен процес и костна деструкция при РА. Резултатите са задълбочено обсъдени и са формулирани няколко основни изводи и приноси с научно-теоретичен характер и научно-приложен характер. Дисертационният труд притежава всички качества на научен труд с висока научна стойност и отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и на критериите на МУ-Пловдив.

Дисертационният труд и публикуваните научни статии очертават ас. Катя Иванова Стефанова като млад изследовател, със самостоятелно мислене, солидни теоретични познания и експериментален опит.

Въз основа на достойствата на дисертационен труд и на представените наукометричните показатели, убедено давам своята **положителна оценка** и гласувам с „**ДА**“ за присъждане на ас. Катя Иванова Стефанова научната и образователна степен „Доктор“ по научна специалност „Медицинска биохимия“ Професионално направление 4.3. „Биологически науки“ Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика

15.06.2020.

Рецензент.....

/проф. Татяна Влайкова, дб/

