



Медицински университет „Св. Св. Кирил и Методий“, Скопие, Република Северна
Македония

Медицински факултет - Скопие

До Медицински университет - Пловдив, България,

Представяван от Ректора проф. д-р М. Муржева

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Љубинка Дамјановска-Крстиќ, д.м.

професор по вътрешни болести и ревматология в Университет „Св.св. Кирил и Методий“ -
Скопие, Република Северна Македония

във връзка с присъждане на научна степен

„Доктор на науките“

в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.1 Медицина

Научна специалност: Ревматология

**ЗАГЛАВИЕ: ОБРАЗНИ И СЕРУМНИ БИОМАРКЕРИ ЗА БЕЛОДРОБНО И
СТАВНО ВКЛЮЧВАНЕ ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СИСТЕМНА СКЛЕРОЗА**

**АВТОР: Росица Валериева Каралилова, Главен асистент в Катедра по Пропедевтика
на вътрешните болести, Медицински университет - Пловдив, България**

**НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ Проф. д-р Марко Матучи-Черинич, Университет на
Флоренция, Италия**

**НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ Проф. д-р Анастас Згуров Баталов, Медицински
университет - Пловдив, България**

1. Общо представяне на процедурата и на докторантката

Съгласно Заповед № 1843/22.10.2020, от Факултетния съвет на МФ, МУ – Пловдив и на Ректора проф. Мурджева, имам честа да бъда поканена за член на научното жури за присъждане на научната степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“.

Представеният комплект с материали, който получих, отговаря на изискванията на чл.123 (1) от Регламент за придобиване на НС „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“ в МУ – Пловдив № 6/16.09.2020 и съдържа следните документи:

1. Заявление до Ректора на МУ–Пловдив за откриване на процедура по защита на дисертационен труд, 2. Автобиография на кандидата, изготвена в европейски формат с подпис на кандидата, 3. Нотариално заверено копие от диплома за ОНС „Доктор“ от МУ-Пловдив, 4. Дисертационния труд, 5. Списък на научните публикации, създадени по материал от дисертацията, и по темата на дисертационния труд, 6. Копия на научните публикации, 7. Списък с представяния на научни форуми, 8. Списък на цитирания с копия на избрани от тях, 9. Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.

2. Кратки биографични данни за докторантката

Д-р Росица Валериева Каралилова, дм, е родена на 10.10.1979 г. в гр. Пловдив, България. През 2005 г. завършва висше образование по медицина във факултета по медицина и Медицински университет - Пловдив, България. Същата година постъпва на работа в клиниката по Ревматология към УМБАЛ „Каспела“, където работи под ръководството на проф. Анастас Згуров Баталов. През 2013 г. е избрана за асистент в Катедра по пропедевтика на вътрешните болести в Медицински университет - Пловдив, а през 2018 г. е избрана за главен асистент. През 2014 г. завършва специализацията си по Ревматология добива специалност по Ревматология, като демонстрира специален интерес към възпалителния артрит и болестите на съединителните тъкани, по-конкретно системната склероза. Същевременно със съдействието на своя ментор непрекъснато повишава подготовеността си в областта на мускуло-скелетния ултразвук (МСУ), а през 2012 г. придобива всички нива на компетентност за сертифициране в областта на МСУ с европейски сертификат. Благодарение на истинския си талант за образни изследвания, на своята упоритост и отдаденост, през 2017 г. тя е призната за Сертифициран европейски професор по мускуло-скелетен ултразвук към EULAR (European League Against Rheumatic Diseases). Също така през 2016 г. преминава обучение в областта на капиляроскопията в Генуа, Италия.

През 2018 г. защитава дисертационен труд на тема „Диагностични възможности на нови ултрасонографски техники за оценка на кожно, ставно, периставно и белодробно ангажиране при системна склероза“ и придобива българската научно-образователна степен „Доктор“. Тя продължава да работи в тази изключително важна област на

ревматологията и до днес, което доказва отдадеността и изключителните ѝ качества като ревматолог.

Тя е изключително активен член, лектор и координатор на Българската асоциация за мускулно-скелетен ултразвук. Освен това е член и много активен лектор на Българското национално дружество по Ревматология и EULAR и ежегодно има научни изяви на конгресите на EULAR и ACR (American Colledge of Rheumatology). Имала е привилегията да изнесе устен доклад на годишния конгрес на EULAR, а също и на множество конгреси в България. Като член на групите OMERACT (Outcome Measures in Rheumatology) и TUI (Targeted Ultrasound Initiative), е участвала в множество международни проекти и инициативи, изследващи ултразвуковите измервания на стави, сухожилия и бял дроб при ревматологични пациенти.

Тя е отдаден преподавател в множество курсове по ултразвук за млади ревматолози в България и Европа. Като деен учен, понастоящем тя има над 50 публикации, включително 11 в Pub Med и 40 цитирания.

3. Актуалност на темата на дисертацията

Едно от основните достойнства на докторската дисертация на д-р Каралилова е изключителната актуалност и важност на темата на дисертацията.

Системната склероза, в миналото наричана с термина „склеродермия“, беше най-малко проучваната болест в областта на ревматологията, до създаването през 2004 г. на групата European Scleroderma Trials and Research (EUSTAR), която в началото получи подкрепа от EULAR, като това непознаване доведе до множество трудности при лечението на пациенти със склеродермия. Оттогава в областта на склеродермията е постигнат сериозен научен напредък, а усилията на д-р Росица Каралилова са насочени именно в тази посока.

В дисертацията си д-р Каралилова е приложила различни съществуващи маркери при склеродермията, включително серологични, генетични и, най-важното, ултразвукови маркери, които следва да бъдат подробно проучени в бъдеще. Всички тези маркери са важни за ранната диагностика на склеродермията, за оценка на активността и тежестта на заболяването, за предвиждане на тежки органни усложнения и прогнозиране на заболяването, както и за реакция на агресивното и понякога скъпо лечение.

Серологични маркери като Th-2 цитокин IL4, инфламаторни цитокини (TNF α , IL 6), продуцирани от макрофаги, IL 17, продуциран от TH17 клетки, регулаторни цитокини от регулаторни Т клетки (IL10 и TGF β 1), ендотелен адхезионен маркер ICAM-1, YKL 40 - маркер за ангиогенеза и тъканно ремоделиране, асоциирани с РАН, профибротичен хемокин CXCL4, асоцииран с ILD, както и генетични биомаркери с микро-РНК (miR-24, miR-30c, miR-125a, miR153, miR-214), асоциирани с отчетливи фенотипове антитела и участващи в регулацията на отделните гени при Ssc - всички те са включени в изследването на Д-р Каралилова. Разнообразието на включените маркери може да

предостави допълнителна ценна информация не само за аспектите, които споменах по-горе, а и за патогенезата на заболяването.

Що се отнася до ултразвуковите изследвания при оценката на ставните, кожните и белодробните прояви на системната склероза, известно е, че ставните, кожните и белодробните прояви са най-пренебрегваните при системната склероза, докато други органи (сърце, бъбреци, съдови прояви) са проучени далеч по-задълбочено. Именно поради тази причина GSUS и PDUS стават все по-широко разпространен и важен метод за оценка на стави, сухожилия и ентези при системната склероза. Докато оценката на стави чрез MSUS вече получава по-широко признание, оценката на кожата с MSUS при системната склероза е в съвсем начален етап и е изключително актуален метод, включително високочестотният ултразвук и еластографията, с които може да бъде измерена общата кожна дебелина и еластичността на кожата и органите, както и да се намери връзката им с модифицирания скор на Роднан. Ултрасонографското изследване на бял дроб, бидейки сравнително евтина, неинвазивна процедура, която може да се осъществи при лежачо болни и се приема широко и от пациентите, корелира добре с изследванията на газовете в кръвта и HRCT, а и е от голяма важност и актуалност при оценката на ILD, което е основната причина за смъртност, и трябва да се диагностицира и лекува много рано в хода на заболяването.

4. Познаване на научния проблем

По отношение на познанията, д-р Росица Каралилова познава изключително добре научните и практическите аспекти на ревматологията, тъй като е участвала в научни разработки в множество области на ревматологията, включително различни инфламаторни артрити, предимно ревматоиден артрит и серонегативни спондилоартрити, болести на съединителната тъкан (особено системна склероза), а също остеоартрит и подагра, с изключителни умения в ревматологичните образни изследвания.

Научната ѝ разработка става все по-добра, тъй като използва MSUS, ултразвукови изследвания на кожа и бял дроб при оценката на различните органи и аспекти на системната склероза, както и капиляроскопия, което може да се види в следващите точки.

Тази докторска дисертация е кулминацията на нейните практически и научни усилия в областта на системната склероза и обобщава предходни нейни разработки, представени като част от предходната докторантура.

5. Цел и методология на проучването

Целта на проучването е да се изследват някои от възможните клетъчни и молекулярни биомаркери, включени в патогенезата на системната склероза, и да се оцени евентуалната асоцираност на някои от тези маркери с кожното и белодробното ангажиране, оценено чрез ултразвук, рентгенография и HRCT. Целите на проучването са следните:

1. Изследване на серумните нива на IL-6, YKL-40, TGF- β 1, ICAM-1, CXCL-4, IL-12p40, TNF- α , IL-17A при пациенти с SSc и здрави контроли.
2. Корелация на серумните нива на IL-6, YKL-40, TGF- β 1, ICAM-1, CXCL-4, IL12p40, TNF- α , IL-17A с ултрасонографските данни за ставно и сухожилно засягане, белодробно ангажиране (ILD, PAH) и дигитални улцерации.
3. Оценка на прогностичната роля на IL-6, YKL-40, TGF- β 1, ICAM-1, CXCL-4, IL12p40, TNF- α , IL-17A като биомаркери при определяне на ставното и белодробно включване при SSc-пациенти.
4. Определяне нивата на генна експресия на свързаните с възпалителния отговор гени (за YKL-40, TNF α , IL-6, IL-12p40, IL-17A).
5. Определяне на експресионни нива на миРНКи (miR-24, miR-30c, miR-125a, miR153, miR-214), участващи в регулацията на експресията на отделни гени при SSc.

Включени са 95-ма участника, разделени на 4 групи – дифузна системна склероза (dcSSc), ограничена системна склероза (lcSSc), много ранна системна склероза (VEDOSS) и със синдром на припокриване. Пациентите са преминали преглед и изследвания в Ревматологичната клиника на УМБАЛ „Каспела“. Всички пациенти със SSc изпълват класификационните критерии за ACR/EULAR от 2013 г.

Използвани са следните лабораторни и генетични методи: Анализ ELISA (за IL-6, YKL-40, TGF- β 1, ICAM-1, CXCL-4, IL12-p40, TNF- α , IL-17), qRT-PCR анализ за гени, участващи в серологичния възпалителен отговор (TNF- α , TGF- β 1, IL-6, IL12-p40, IL-17), и TagMan анализ за miR24, miR30-c, miR125a, miR 153, miR-214)

Д-р Каралилова е използвала и извършила GSUS и PDUS на ставите и сухожилията (MCP 2 и 3, и PIP 2 и 3), оценка на места на ентези, двуразмерен високочестотен ултразвук на кожата и дигитални улцерации, както и капиляроскопия. На всички пациенти с SSc са извършени рентгенографии и HRCT на гръден кош и трансторакална ехокардиография.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертацията е написана на 200 страници, съдържа 34 таблици, 34 фигури и 15 приложения. Библиографията включва 917 научни източника, от които 7 на кирилица и 910 на латиница. Във връзка с дисертацията са направени общо 15 научни публикации, както се изисква от Правилника на Медицински университет – Пловдив

След кратко въведение д-р Каралилова е представила много задълбочен и подробен литературен обзор за патогенезата на SSc, заемащ над 45 страници. В него се подчертава патогенетичната триада от възпаление, автоимунитет и съдови промени при SSc. Първо, тя обяснява генетичните фактори, предразполагащи към развитие на SSc, а също и генетичната експресия в кожните и белодробните клетки, които са предпоставка за по-нататъшни усложнения, като например улцерации, белодробна фиброза или белодробна

артериална хипертония. Тя продължава с изясняване на ролята на В клетките, Т клетките, дендритните клетки, NK клетките, моноцитите и макрофагите, включително цитокините и хемокините, участващи в патогенезата на възпалителния отговор при SSc. Също така разяснява съдовите и ендотелните фактори, оказващи влияние на появата на феномена на Рейно и други съдови промени при SSc. Подчертава и ролята на активираните фибробласти (с негативно регулирана апоптоза), водещи до натрупването на ECM, включително колаген, причиняващ фибротични промени по кожата, в белите дробове и други органи при SSc. Клиничните характеристики на SSc и съвременните терапевтични интервенции са подробно разгледани в края на въведението.

IL-6, YKL-40, TGF- β 1, ICAM-1, CXCL-4, IL-12p40, TNF- α , IL-17A са били оценени при пациенти с SSc и здрави контроли. Оценена е и генната експресия на свързаните с възпалителния отговор гени (за YKL-40, TNF α , IL-6, IL-12p40, IL-17A). Определени са експресионните нива на миРНКи (miR-24, miR-30c, miR-125a, miR153, miR-214), участващи в регулацията на експресията на отделни гени при SSc. Новоразработен US10SSc score за стави (новаторска разработка на д-р Каралилова и колегите ѝ), GUESS score и SEC за ентезите, ултразвук за кожна дебелина и дигитални улцерации, LUS (ултразвук на бял дроб с кометен скор) и налягане на белодробната артерия са измерени и оценени при всички пациенти със системна склероза.

Целите на проучването, както и материалите и методите, са описани в предходен раздел.

Разделът с резултатите е написан много добре, лесен е за разбиране, съдържа много полезни таблици, а също и много прегледни и информативни фигури. Статистическата част е изпълнена изключително правилно и успява да предостави на читателите много ценна и убедителна информация.

В първата част на резултатите кандидатката представя задълбочени данни за клиничните характеристики на проучваните групи. След това прави отделен анализ на всички серологични и генетични маркери, на които е извършена оценка. Продължава със сравнителна оценка на серумните цитокинови концентрации при пациенти и контроли, която е изключително интересна, особено асоциираността с резултатите от ултразвуковите изследвания и прогностичната роля за различните подтипове системна склероза. Резултатите от подпроучване на генетичните маркери при 41 пациенти (25 с dcSSc и 16 с lcSSc) и 13 здрави контроли са изложени в отделен раздел.

Разделът „Обсъждане“ е много добре организиран, отделно за всеки серологичен и генетичен маркер, обогатен е с много голям брой актуални източници.

Накрая изключително ми допадна краткото обобщение с най-важните резултати, което подчертава основните приноси на докторската дисертация.

6. Принос и значимост за развитието на науката и практиката

От проучването на д-р Каралилова могат да бъдат извлечени множество практически и научни приноси.

Считам, че най-важният от тях е новоразработеният US10SSc score за оценка на стави и сухожилия при SSc, който се съставя за пръв път не само в България, но и в света, и за който е необходимо допълнително валидиране с оглед по-широкото му признаване. При него се включват двете ръце, китките и MCP стави, флексорните и екстензорните сухожилия и е добре разяснен в допълнителните документи.

Също така прилагането на GSUS и PDUS при SSc, включително GUESS score и SEC за ентензните места, може да е много ценно както за клиничната практика, така и за изследванията.

Ултразвуковата еластография за кожната дебелина и улцерациите, както и модифицираният скор на Роднан са изключително съвременни методи за оценка на кожата при SSc, далеч по-прецизни, отколкото обикновеният скор на Роднан.

Прилагането на белодробно ултрасонографско изследване с кометен резултат в момента е изключително актуален метод, който се прилага и при Covid 19, като много ценен и неинвазивен метод за оценка (сравним с HRCT) на белодробните лезии и белодробната фиброза при пациенти с SSc. Възможно е в бъдеще този метод да бъде използван за оценка на белия дроб и при други съединително-тъканни заболявания.

Всички оценени серологични и генетични маркери се използват за пръв път в България, което обогатява диагностичния и прогностичния инструментариум за SSc в ревматологичните клиники.

Някои от тях, като IL-6, YKL-40, ICAM-1, CXCL4, IL-12p40, са потвърдителни за негативен ход и неблагоприятно развитие на заболяването предвид асоциирането им с белодробна и ставна ангажираност.

Свързаността на различните маркери с органното ангажиране би могла да бъде допълнително оценена в други научни проучвания и може да подобри стратификацията на риска на заболяването.

7. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Първата публикация на д-р Каралилова е направена през 2007 г. и е свързана с оценката на синовит при остеоартрит на бедрената става, оценени чрез B-mode и Power Doppler ултразвук и MRI техника. Публикувана е от Съюза на учените в България. Оттогава тя изучава и усъвършенства брилянтната си техника за извършване на MSUS. В следващата си публикация, също от 2007 г., за списание „Ревматология“ в България, тя е първият автор, оценяващ ентезопатиите при серонегативни спондилоартрити, включително ранна диагностика отново по метода на MSUS, което се явява наистина много съвременно за

онзи момент, а остава актуално и сега. Третата публикация е от 2008 г., като част от екипа на професор Баталов, и е свързана с ултразвукова диагностика на синдрома на карпалния тунел, което е поредна диагноза, включена в широкия обхват на MSUS. През 2013 г. тя публикува интересен доклад по клиничен случай за пациент, при който едновременно са били налице псориатичен артрит и системна склероза и е бил лекуван с биологични DMARDs. Една от най-интересните разработки на д-р Каралилова, която също е залегнала в основата и темата на настоящата дисертация, е обобщена в резюме от EULAR 2014, озаглавено "Lung ultrasound for the evaluation of pulmonary fibrosis in systemic sclerosis". В тази публикация е потвърдена стойността на ултразвуковата оценка на белите дробове при SSc посредством високо ниво на корелация с HRCT, а също и с асоциираността с В линиите, изведени при ултразвуковото изследване, с ранната и точна диагностика на белодробната фиброза като част от ILD при SSc. През 2016 г. д-р Каралилова е била част от екипа, оценяващ ролята на MSUS за оценка на ремисията на заболяването при ревматоиден артрит, като статията е публикувана в списание „Ревматология“ в България.

След 2018 г., когато защитава докторската си дисертация, е налице бърз напредък в научната работа на д-р Каралилова, който води до 11 публикации в PubMed, в престижни международни издания с импакт фактор.

Тя има три публикации в Rheumatology International (импакт фактор 2,05) през 2018, 2019 и 2020 г, две публикации в Medical Ultrasonography (импакт фактор 1,5) - двете през 2018 г., една в списание с отворен достъп Current Rheumatology Review през 2020 г., и едно с престижната група на проф. Марко Матучи-Черинич в Rheumatology (Оксфорд, импакт фактор 5.2) също през 2020 г.

Повечето от публикациите ѝ са свързани с използването на MSUS не само при системната склероза, но и при ревматоиден артрит, псориатичен артрит, анкилозираш спондилит, гонартроза и други.

Като водещ автор, има 2 публикации, в които се оценяват серумни маркери при системна склероза YLK-40 и IL-6, които са част от настоящата дисертация, като следва да се очакват повече публикации от този много задълбочен и пространен труд.

Друга публикация касае серумни маркери като IL40 и MMP3 при гонартроза. Тя също така е работила по една публикация, свързана с асоциираността на оралния микробим при RA с АСРА антителен профил, което прави научния ѝ интерес много широк и богат, тъй като е взела участие в научната работа на по-млади колеги, оказвайки им помощ като част от екипите по докторските дисертации.

Автор е на няколко доклада за конференции със световно известната група OMERACT.

В Research Gate към момента тя има 24 публикации, 1249 прочитания и 39 цитирания, което е изключително впечатляваща научна работа, особено за последните няколко години.

9. Автореферат

Авторефератът е изготвен на български и на английски език, което дава възможност да бъде на разположение за по-широка аудитория в целия свят. Той заема 76 страници, съдържа 34 фигури, 12 таблици и библиография с 15 източника, включително най-важните резултати от инструменталните методи (MSUS, ултразвук на бял дроб и кожа, рентген на гръден кош и ултрасонография на сърце), също от серологичните и генетичните маркери, включени в дисертацията. Написан е в много удобен формат и може да бъде трансформиран или публикуван като книга в бъдеще.

10. Критични забележки и препоръки

Тъй като съм много вдъхновена и впечатлена от работата на д-р Каралилова, както и таланта и уменията ѝ в областта на MSUS, ултразвук на бял дроб, еластрография и видеокапилароскопия, които имах възможност да наблюдавам на място в болница „Каспела“, където тя беше лектор на няколко научни конференции с подкрепата на EULAR, нямам забележки, а мога да изкажа само поздравления за нейната работа.

Единственото предложение, които бих дала, е в бъдеще, ако все още разполага със серумите на пациентите, би било интересно да се добави един Th1 маркер, например интерферон, ако е възможно, но иначе е обхванала всички останали маркери от различни групи за активност, оценка и прогноза на системната склероза.

11. Заключение

В заключение искам отново да подчертая, че научната и практическата работа на докторантката главен асистент д-р Росица Каралилова, дм, ръководена от нейните ментори през всички тези години, е била много отдадена, задълбочена, мащабна и изключително вдъхновяваща, което днес дава отлични резултати с огромен практически и научен принос, представен в докторската дисертация, озаглавена

„Образни и серумни биомаркери за белодробно и ставно включване при пациенти със системна склероза“.

Дисертационният труд на д-р Каралилова демонстрира широките ѝ познания в интересната и все още слабо развита област на системната склероза, която в днешно време е предизвикателство за много учени. Дисертацията е оригинален принос за медицинската наука и практика не само в България, а и в света като цяло.

Поради гореизложеното, имам честта да дам силно положителна оценка на докторската дисертация на главен асистент д-р Росица Каралилова, дм, и да препоръчам на уважаемото научно жури да гласува положително за присъждане на научна степен „Доктор на науките“ на главен асистент д-р Росица Каралилова, дм, в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт и професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Ревматология.

27 ноември, 2020 г.

Рецензент

Скопие

Република Северна Македонија

проф. Лубинка Дамјановска-Крстик, дм

Лубинка Дамјановска-Крстик
в Скопје