

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Велислава Илиева Терзиева, д.м.

Институт по биология и имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов" - БАН

на дисертационен труд на тема

„УКЛ-40 при възпалителни заболявания“

на Валентин Дичев Дичев, редовен докторант

Катедра по медицинска биология

Научен ръководител: доц. Мария Казакова, дб

Медицински университет - Пловдив

за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“

Професионално направление "Биологически науки"

Докторска програма "Имунология"

Рецензията е изготвена в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Република България, Процедурата за придобиване на ОСН "доктор" и Правилника на МУ-Пловдив.

Предоставени са всички необходими документи, в съответствие със законовите изисквания - заповед за научно жури, автобиография в европейски формат с подпис на докторанта; нотариално заверено копие от диплома за висше образование; заповеди за записване в докторантура; заповед за отчисляване с право на защита; протокол за издържан докторантски минимум по специалността; дисертационен труд; автореферат; списък на научните публикации по темата на дисертацията; копия на научните публикации; декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи. Протокол от разширен катедрен съвет за даване ход на защита и избор на НЖ. Сертификат за обучение в Докторантско училище с взети кредити.

Актуалност на научния проблем

Актуалността на представеният за становище дисертационен труд произлиза от:

1. Фокуса на научния проблем – възпалителният процес. Той е основен елемент на имунната реактивност. Интересът към него е засилен през последните години, предвид значението му в имунопатогенезата на заболявания с различна етиология, но и възможностите за терапевтичен контрол.
2. Необходимостта от въвеждане на нови биомаркери, които да бъдат достъпни, да предоставят ранна и точна посока на клинично мислене.

Изследваният гликопротеин YKL-40 отговаря и на двете условия – той е важен фактор в сигналните пътища, които активират/медиират различни процеси и така участва във всички етапи на възпалителния процес, вкл. фибротичните промени, ангиогенезата и клетъчната миграция. От друга страна, присъствието на YKL-40 в ликвора и кръвообращението, предполага потенциала му като нов биомаркер.

Въз основа на гореизложеното приемам изследвания проблем за актуален.

Аргументация на направените изследвания

Дисертантът е обосновал необходимостта от изследванията си във въведението и в първата част – литературен обзор. В рамките на около 40 страници, г-н Дичев прави подробен анализ на литературата, който включва възпалителната реакция, структура, гена и протеинова експресия и биологична роля на YKL-40 при различни ключови патофизиологични процеси – тумор-асоциирано и посттравматично възпаление, автоимунитет. В последния параграф е изведена необходимостта от внедряването на нови биомаркери/панели от показатели, които да послужат не само за оценка и проследяване на възпалителния процес, но и за прогнозиране на крайния изход при отделните патологични състояния.

Литературният обзор е фокусиран върху темата, написан е в логична последователност, стилово и граматически е напълно издържан и е онагледен с една фигура.

Цел и задачи

В резултат на обобщените литературни данни, дисертантът е изградил работна хипотеза. Нейното доказване е аргументирано в целта и задачите на дисертационния труд.

Те произхождат от данните в литературния обзор и от работната хипотеза. Формулирани са ясно и кратко. Положително впечатление прави биологично обоснованата подредба на задачите.

Материали и методи

Разделът обхваща 17 страници. В него се открояват две части – изследвани лица и използвани методи (с включените материали). Впечатление прави значителния брой изследвани лица – 117 пациенти, както и адекватно подбраните контроли.. Посочени са включващите и изключващите критерии. Силна страна на тази част от раздела е описанието на диагностичните критерии, скалите за оценка клиничното състояние на пациентите, етичното направление, заедно с приложенията в края на дисертацията.

Дисертантът и неговият научен ръководител са изградили цялостен подход за изпълнение на работните задачи - съчетаване на клиничните методи за оценка на състоянието на пациентите с експериментални подходи, което оценявам много високо. Това позволява задълбочена оценка на изследваните лица и дава възможност за адекватен и коректен анализ на получените резултати. Изследванията са направени върху три групи материали чрез имуноензимен анализ, имуноцитохимични и молекулярно-биологични методи.

Статистическите подходи са представени аргументирано. Всички лабораторни методи са представени достатъчно подробно. Това от една страна е доказателство за отличното познаване на методите от дисертанта, а от друга позволява повторението им.

Резултати

Разделът Резултати обхваща 26 страници, 13 фигури, микрофотографии, 13 таблици и включва 5 основни раздела. Подреден е в съответствие с поставените задачи. Видно е, че дисертантът се опира на предходни проучвания, направени в същата лаборатория. Приемам това като силна страна на работата и на екипа, тъй като показва приемственост, но и развитие на тематиката и на методичната база на лабораторията.

По отношение на първата задача – да се определят серумните нива на протеина YKL-40 в контролна група от здрави индивиди, считам, че задачата е изпълнена изцяло. Аргументите са посочени във всеки един от следващите раздели. Този етап от работата е водещ за коректната оценка на доказателствата по нозологични единици, но и за оценка възможността YKL-40 да бъде използван като биомаркер в диагностичния процес.

Втората задача е изследване протеиновата експресия и динамиката на YKL-40 в плазма и гръбначно-мозъчна течност при пациенти с гЧМТ в паралел с конвенционални клиничко-лабораторни показатели, клинични скали за оценка, цитокини, маркери за невронална увреда и тъканно ремоделиране. Дисертантът доказва високи протеинови нива на YKL-40 в плазма и ликвор при пациентите с гЧМТ спрямо контролите, които се запазват в продължение на 96 часа. Показано е (имуноцитохимично), че това най-вероятно е свързано с инфилтрация от имунни клетки, синтезиращи YKL-40. Важна е намерената положителна връзка между повишените плазмени нива на гликопротеина и благоприятния клиничен изход според GCS и APACHE III скалите, и ликворна концентрация и Marshall Classification. От една страна това насочва към ролята на протеина в регулирането на възпалението и в тъканното ремоделиране при гЧМТ. От друга страна, е силно доказателство в посоката въвеждане на нов биомаркер.

Интересно би било да се проучи въпроса дали и как прилаганата терапия може да повлияе динамиката на YKL-40 в конкретните ситуации при ЧМТ.

Третата задача е посветена на проучване на YKL-40 при системна склероза. Получените резултати потвърждават ролята на гликопротеина при хронично възпаление. Много интересни са данните за корелационните зависимости с провъзпалителния цитокин IL-6 и US10SSc скалата за оценка на патологичните ставни изменения.

В изпълнение на четвъртата задача – проучване генната експресия на YKL-40, TNF- α , IL-6, IL-12 и IL-17 в бели кръвни клетки, авторът не открива съществени промени в експресионните нива на изследваните гени. Този факт, на фона на повишени серумни концентрации, поставя въпроса за наличие на пост-транскрипционна регулация на YKL-40.

В това се състои и петата задача – изследване панел от малки некодиращи РНКи с потенциална роля в регулацията на YKL-40 в бели кръвни клетки и плазма в същата

група пациенти със SSc. Получените резултати от плазма показват понижена експресия на miR-30a miR-214, което вероятно оказва ефект върху транслационната регулация на YKL-40.

Въз основа на получените резултати, Валентин Дичев прави оценка на диагностичната стойност на YKL-40 при пациенти със SSc. Чрез ROC-анализ на получените данни, е доказана убедително диагностичната значимост на серумите нива на YKL-40 при пациенти с SSc. Показан е и дискриминативният потенциал на изследваната молекула при dcSSc и lcSSc форми на заболяването.

Последната задача е фокусирана върху изследване в динамика на серумните нива на YKL-40, NSE, LAMP-1 и LAMP-2 при пациенти с глиални тумори предоперативно и следоперативно. Тумор-индуцираното възпаление обект на интензивни проучвания, а лабораторията има съществен опит в това направление. Дисертантът добавя нови знания в това направление, чрез изследване на серумните нива на YKL-40 и съпоставката им с утвърдени лабораторни маркери. Намерените характерни промени в нивата са свързани с оценките, в които молекулата участва – възпаление и тъканно ремоделиране. Доказателствата са намерени в изследване зависимостите с LAMP-1, LAMP-2, NSE и са представени в таблици 12 и 13.

Дискусия

Разделът дискусия е написан на 13 страници, стегнато и подредено. Стилът е лаконичен, но аналитичен. Получените резултати са обсъдени в светлината на възможностите за извеждане на хитиназо-подобния гликопротеин YKL-40 като биомаркер при три различни патологични процеса, основани на възпалението – травма, автоимунитет и тумори. Посочена и причината за избора на трите нозологични единици – оскъдните данни за българската популация. Следователно, представените резултати имат значение като първи данни за значението на YKL-40 като потенциален биомаркер при посочените заболявания за българската популация. Още повече, представени са стойности за здрави контроли, както и информация за влиянието на възрастта и пола.

Аргументирано са обсъдени известните факти и собствените резултати, които позволяват да се мисли в посока извеждане на биомаркер. Представените на фигура 15 Б корелационни връзки са изведени от представените резултати и са в потвърждение на идеята за извеждане на YKL-40 като потенциален биомаркер.

Въпроси:

Има ли данни дали стероидните и нестероидните противовъзпалителни средства повлияват нивата на YKL-40?

Интересно би било да се проучи въпроса дали и как прилаганата терапия може да повлияе динамиката на YKL-40 в конкретните ситуации при ЧМТ.

Посочени са шест оригинални приноси на дисертационния труд. Всички те произлизат от получените и представени резултати.

Валентин Дичев представя пет статии с резултати по темата, като четири от тях са в международни списания с импакт фактор, отлично оценени от международната научна общност.

Дисертацията е осъществена с финансовата подкрепа по проекти от МУ-Пловдив (ДП06/2018; НО 02/2015), ФНИ (03/2 12.12.2016), МОН (ДУНК 01/2009) и Българска асоциация за мускулно-скелетен ултразвук (БАМСУ).

В заключение, представената ми за становище работа е представлява комплексно проучване на молекула, която активно участва в процеса на възпаление и има потенциал за нов биомаркер. Научният труд съчетава успешно клиничната и експериментална гледни точки във важни диагностични направления. Впечатлена съм от богатото разнообразие на методи, които позволяват задълбочен анализ на разглеждания проблем. Това приемам за израз на отличната подготовка на дисертанта, за което значение имат безспорните качества на научния ръководител и на екипа, в който е извършена работата.

Всичко гореизложено ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемото научно жури да гласува положително за присъждане на научната и образователна степен "доктор" на Валентин Дичев Дичев.

11.05.2021 г.

София

С уважение:



доцент, д-р Велислава Терзиева, дм