



РЕЦЕНЗИЯ,

от Акад., проф. д-р **ДРАГА ИВАНОВА ТОНЧЕВА – МИТЕВА**, дм, дбн, МУ София

(акад. длъжност, име, презиме, фамилия, н.ст. – научна организация)

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

Професионално направление *Медицина*

Докторска програма „*Медицинска генетика*“

Автор: *Нели Недялкова Митева - Марчева*

Форма на докторантурата: редовна докторантура

Катедра: Педиатрия и медицинска генетика на МФ при МУ - Пловдив

Тема: *Фармакогенетични маркери, асоциирани с лекарствения метаболизъм при пациенти с онкологични заболявания*

Научен ръководител: *Проф. д-р Вили К. Стоянова, дм*

(акад. дл., име, презиме, фамилия, н. ст. – научна организация)

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носители е в съответствие с чл.70 (1) от I.Раздел. Придобиване на образователна и науча степен „ДОКТОР“ и научна степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“ в МУ-Пловдив; Правилник на МУ-Пловдив от 28.01.2021 г. и включва всички необходими документи.

Докторантката е приложил 3 публикации във връзка с дисертационни труд.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Нели Недялкова Митева – Марчева е завършила Медицински университет Пловдив през 2015 г., магистърска степен Тя е била лекар специалист по педиатрия (2015-2019 г.) в УМБАЛ „Пълмед“, Пловдив и придобива специалност „Педиатрия“ (2019 г.). Работи като лекар специалист по Педиатрия в УМБАЛ „Пълмед“. От 2019 г. д-р Митева-Марчева е асистент към Катера по педиатрия и медицинска генетика, а от 2020 г. работи като лекар специалист по „Медицинска генетика“ в УМБАЛ „Св. Георги“, гр. Пловдив. Зачислена е като редовен докторант към Катедрата по педиатрия и медицинска генетика на МФ, МУ - Пловдив със Заповед № Р-393 от 16.03.2022 на Ректора проф. д-р Мариана Мурджева, дм, мзм.

Д-р Нели Недялкова Митева – Марчева впечатлява с публикационна активност, която основно е насочена към проблеми на онкологична фармакогенетика и фармакокинетика (4 статии) и редки болести в детска възраст (2 статии).

Нейният интерес към научна проблематика се проявява в участие в три проекта в последните 4 години, два от които са свързани с темата на дисертационния труд: „Таргетно геномно профилиране за диагностика и поведение при колоректален карцином“ и „Течна биопсия – иновативен метод за неинвазивно мониториране на терапевтичния отговор и развитие на резистентност при недребноклетъчен карцином на белия дроб (NSCLC)“

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Дисертационният труд е посветен на актуален научен и научно-приложен проблем на съвременната иновативна медицина - фармакогеномика и персонализирано лечение на онкологично болни. Списъкът на биомаркери (гени, варианти, хромозомни пренареждания), които са свързани с ефикасност на лекарствата и риска за развитие на странични лекарствени реакции, нараства лавинообразно всяка година. Фармакогеномиката в близко бъдеще ще се превърне в придружаваща диагностика на рака. Развитието на фармакогеномиката е безусловно необходимо, за да се постигне прецизна база от знания за мутационни събития с клинични последици, която ще се използва за персонализирани грижи за онкологично болни.

Към днешна дата са аотирани > 3000 уникални мутации, сливания и промени в броя на копията в 418 гена, свързани с рака. Четиридесет и един процента от първични туморни проби съдържат поне един потенциално приложим генетичен вариант, от които 7,5% са предсказващи клинична полза от стандартно лечение. Резултатите от фармакогенетични изследвания помагат за взимане на оптимални решения за лечение базирани на геномна архитектура на туморите и наличие на герминативни варианти в пациентите.

Дисертационният труд е посветен на проучване за герминативни фармакогенетични варианти в онкологията при пациенти с недребноклетъчен белодробен карцином (НДКБК), колоректален карцином (КРК), рак на млечна жлеза (РМЖ) и здрави индивиди. Нови акценти в този проблем е да се определи типа и честотата на онкологичните фармакогенетични варианти в българска популация и тяхното клиничното значение за трите типа най-разпространени онкологични болести.

4. Познаване на проблема

Литературният обзор е написан увлекателно и разкрива съвременната панорама на фармакогенетиката и научно-приложните аспекти на проблема.

Д-р Нели Марчева има широки и задълбочени познания за минало, настояще и бъдещо развитие на онкологичната фармакогенетика. Литературният обзор обхваща персонализираната медицина, която е нов индивидуален подход за болнични грижи, основан на генетични

биомаркери. Описани са най-често използваните химиотерапевтици в три аспекта: фармакокинетика, фармакогеномика и фармакодинамика. Представена е подробна информация за флуоропиримидини, иринотекан, платина съдържащи цитостатици, таксани, инхибитори на EGFR, циклофосфамид, Инхибитори на съдовия ендотелен растежен фактор (VEGF инхибитори) и Етопозид. Разгледани са принципите за лечение на рака и вариабилност на лекарствения отговор. Д-р Нели Марчева проявява критично отношение към тесните терапевтични възможности на химиотерапията и нейните токсични ефекти, анализирани чрез подхода „проба и грешка“. Докторантката познава проведените множество изследвания в областта на онкологичната фармакогеномика и не пропуска да отбележи постижения, доказващи връзки между наследствени генетични варианти и токсичността или ефикасността на различни цитотоксични лекарства: *DPYD* гена и токсичността на 5-флуороурацил или капецитабин, *XPC* гена и токсичността на платиновите съединения, *ABCC2* гена и токсичността на иринотекан.

Основният проблем, на който е посветила дисертационния труд, е индивидуалните разлики във възприемането, метаболизма и реакцията към определени лекарства, определени от генетични варианти. Д-р Нели Марчева е убеден привърженик на фармакогенетиката и компетентно обсъжда огромния потенциал на генетичните маркери за повишаване ефективността на терапията и намаляване на нежеланите лекарствени реакции.

5. Материали и методика на изследването

Дисертационният труд обхваща достатъчен брой кръвни проби за генетични изследвания, получени от 50 пациенти с диагностицирано онкологично заболяване и 40 здрави индивиди. Използвани са адекватни и утвърдени методики за изолиране на ядрена ДНК (от 10 пациенти и 40 контроли) и свободноклетъчна ДНК (от 40 пациенти).

Използвани са съвременни методи на изследване, които позволяват да бъдат реализирани поставената цел и задачи на дисертационния труд. Извършено е пълно екзомно секвениране (WES) на 40 ДНК от здрави контроли в Novogene Corporation Inc. и таргетно секвениране на ядрена ДНК и свободноклетъчна ДНК от 50 пациенти с изчерпателен таргетен панел за солидни тумори, включващ 484 гена (Novogene Precision Medicine 2.0 – NovoPM 2.0).

Анализът на данните представлява най-трудната част от изследването, която изисква висок професионализъм и познания, за да бъдат екстрахирани фармакогенетични варианти сред множеството определени единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) и инсерции/делеции (INDELs). От анализа са изключени 3 проби на пациенти с колоректален карцином, тъй като не отговарят на критериите за включване в изследването, поради индикации за лъчетерапия без химиотерапия.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд впечатлява с многостепенния задълбочен анализ на клиничните и геномни данни.

В първото ниво е обработена клиничната информация с подробно описание на пациентските групи по заболявания (колоректален карцином - КРК, недребноклетъчен белодробен карцином – НДКБК, рак на млечна жлеза - РМЖ), приложени различни химиотерапии и прояви на множество нежелани лекарствени реакции (анемия, левкопения, тромбоцитопения, хепатотоксичност, нефротоксичност, невротоксичност и ГИТ токсичност), диференцирани по степени на тежест от 1 до 4 (според Common Terminology Criteria for Adverse Effects (CTCAE) (табл. 5 - 7). Пациентите, включени в изследването, са лекувани с няколко химиотерапевтици, което усложнява анализа. От 47 пациенти, включени в изследването, само 2 жени са получили съответно по една химиотерапия – жена с НДКБК е лекувана с Alectinib (ALK инхибитор) и жена с РМЖ, която е получила Arimidex (трета генерация ароматазен инхибитор с ФГ основа). Те са развивали анемия като нежелана лекарствена реакция. При останалите 45 пациенти токсичните лекарствени реакции трудно могат да бъдат свързани с отделен медикамент. Опит за решаване на този проблем е направен чрез последващ анализ.

Вторият тип анализ е фокусиран върху прегрупираните пациенти в 7 групи според използваните химиотерапевтици (съдържащи платина – 35 пациенти; пиримидинови аналози – 26, фолинова киселина – 21; EGFR инхибитори – 11, таксани – 15, антрациклини – 8 и анкилиращи агенти - 8). Всяка група е допълнена с информация за ФГ варианти, които участват в метаболизма на съответния медикамент. Целта е да бъде направена клинична оценка на ФГ варианти (табл. 8 - 17) при хомозиготно или хетерозиготно носителство. Този анализ представлява малък фрагмент от активността на големи международни изследователски екипи, които продължават да анализират предиктивните стойности на ФГ маркери за отговор към определени лекарства.

Според сегашното ниво на знания, най-значими са одобрените от FDA генетични маркери (1-во ниво на доказателства) и NCCN маркери, включени в гайдлайни (2-ро ниво на доказателства). Те са следвани от ФГ маркери (3А ниво на доказателства), за които има убедителни клинични доказателства да прогнозираят реакцията на лекарство, използвано за съответната индикация. Фармакогенетичните 23 варианти в 16 гени в трябва да получат клинично аотирирани за тяхната токсичност.

На трето ниво, изследването продължава със сравняване на алелните честоти на ФГ варианти в гени, асоциирани с метаболизъм на използвания медикамент в 7-те групи, между

онкоболните пациенти, контролите и данните в глобалната база GnomAD (табл. 18 - 24). Този анализ е от съществено значение, за да позиционира съответните български полиморфизми на фона на други популации.

Във финалния етап на статистическия анализ е направено обобщено сравнение между алелните честоти на ФГ варианти в общата изследвана група от 90 лица (пациенти и здрави лица) и глобалната база GnomAD.

Достойнство на дисертацията е, че са получени много данни, които в бъдеще могат да бъдат подложени на допълнителни анализи. Проблемът за онкологичните ФГ варианти е нов за нашата популация и отваря широки възможности за продължаване на изследванията по тематиката на дисертацията.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Дисертационният труд има приноси към научната литература в няколко направления.

Изследването разкрива неизвестни до сега данни за алелни честоти на 23 герминативни ФГ варианти в 16 гена в българска популация, асоциирани с метаболизма на химиотерапевтици, при пациенти с КРК, НДКБК и РМЖ и контролна група. Дисертационния труд има приносен характер, въпреки размера на изследваните кохорти, тъй като резултатите доказва различно разпространение на тези полиморфизми между българска и други популации - по-ниска честота на 4 от тях и по-висока честота на 6 други варианти. Това е важно постижение, тъй като честотата на разпространените варианти в човешки геноми е различна в зависимост от географския регион, което се дължи на миграционни процеси и фактори на средата. Всеки народ се стреми да опознае специфичните честоти на герминативни варианти, тъй като това е основата за планиране на здравни политики. В световен мащаб са реализирани големи международни проекти като „The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis Project“, „100,000 Genomes Project“ на Англия, „Genetic Structure of Europeans: A view from the North-East“ с участие на български екип и много други. Дисертационният труд е нов сигнал за необходимост от широкомащабни геномни изследвания в полза на бъдещото здравеопазване.

Друг научно-приложен принос на дисертационния труд са получените убедителни доказателства за висока чувствителност на течната биопсия за откриване на герминативни фармакогенетични варианти. Течната биопсия се развива интензивно през последните години, тъй като има големи предимства пред стандартните диагностични подходи при рака. Тя представлява нов диагностичен подход за ранно откриване на рака и за развитие на стратегии за терапии и прогноза. Фокусът на дисертационния труд върху този проблем доказва, че д-р Нели Марчева и нейния научен ръководител проф. Вили Стоянова имат стратегическо мис-

лене и поглед в бъдещето за модернизиране на медицинската онкология и за постигане на по-ефективна терапия и качество на живот на раково болните.

Разширяването на ДНК банката на пациенти с КРК, НДКБК и РМЖ предполага продължение и бъдещо развитие в много по-широки мащаби на тези важни изследвания.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от дисертационния труд са отразени в 3 публикации, в които е водещ автор. Две от тях имат импакт фактор:

- ✓ Biomark Res. 2020;8;32. doi: 10.1186/s40364-020-00213-4 (IF 8.633; Q1). Статията представлява обзор на състоянието на фармакогенетиката в онкологията и поставя фокус върху герминативни мутациите. Авторът отчита, че са необходими по-нататъшни проучвания при по-големи групи пациенти с рак, за да бъдат валидирани ФГ маркери, преди рутинното им прилагани в клиничната диагностика и лечение.
- ✓ Biotechnology&Biotechnological Equipment, 2023;37:1, DOI: 10.1080/13102818.2023.2249560. IF 1,4; Q4. Статията отразява резултати от успоредно изследване на мутации с течна биопсия и екзомно секвениране. Новост е търсенето на герминативни мутации с течна биопсия. Авторът справедливо определя резултатите като предварителни, но полезни след допълнителни изследвания за установяване на полезността на течната биопсия.

Третата статия е посветена отново на течната биопсия “Liquid Biopsy – a Sensitive Tool for Detecting Genetic Variants in Solid Tumors“, включена в научни доклади на конференция „Наука и младост“, Пловдив 2022, стр. 58-60.

9. Лично участие на докторанта(ката)

Дисертационния труд е лично дело на докторанта, който е извършил събиране на материала, планиране и провеждане на изследванията, анализите, дискусиите и оформянето на текста под научното ръководство на проф. Вили Стоянова. Формулираните приноси и получени резултати са лична заслуга на д-р Нели Марчева.

10. Автореферат

Авторефератът е направен според изискванията на съответните правилници и отразява в съкратен вариант дисертационния труд с акценти върху постигнатите основни резултати.

11. Критични забележки и препоръки

Към докторанта нямам съществени критични забележки. Трудът изцяло отговаря на критериите за качество на докторската дисертация.

12. Лични впечатления

Личните ми впечатления за д-р Нели Марчева от нейния дисертационен труд са отлични.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Д-р Нели Марчева има широк хоризонт пред себе си за продължаване на темата за приложение на фармакогеномиката в онкологията чрез разширяване на клиничните групи, прецизиране на включващи критерии и клинична анотация на вариантите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ - Пловдив.

Д-р Марчева е творческа личност, която притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения, има оригинално мислене и голям потенциал за развитие в нова област на науката - фармакогеномика, проявява засилен интерес към бъдещи научни проекти.

Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка на дисертационния труд за проведеното изследване, на автореферата, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор' на Нели Недялкова Митева-Марчева в докторска програма по „Медицинска генетика“, професионално направление „Медицина“.

09.01. 2024 г.

Заличено на основание
Чл.5 §1, б."В" Регламент (ЕС)2016/679

.....


Рецензент: Акад., проф. д-р
Драга Тончева – Митева, дм,
дбн.....

(ак. дл., име и фамилия, н. ст.)