

РЕЦЕНЗИЯ

от професор Алексей Славков Савов, „доктор“

Началник на Национална Генетична лаборатория,

СБАЛИАГ „Майчин дом“ ЕАД. МУ София

Относно: Дисертационен труд за присъждане на образователна и научната степен „Доктор“ по област на висше образование 7, по професионално направление 7.1 Медицина и докторска програма Имунопатология и алергология на д-р Анна Валериева Димитрова от Медицински университет – София, на тема: „Ангиоедем и уртикария: класификация, имунологична и генетична характеристики“.

Със заповед № РК 36-2700 от 28.11.2018 г. на Ректора на МУ – София съм избран за член на Научното жури във връзка с дисертационния труд на д-р Анна Валериева Димитрова. По процедурата за защитата д-р Димитрова е представила всички необходими материали съгласно изискванията на „Правилникът за развитие на академичния състав“ в МУ–София.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

Предоставеният ми за рецензия дисертационен труд обединява ретроспективно и проспективно проучване на пациенти с ангиоедем в България обхващащо период от 1972-2018 година. Заболяването е клинично хетерогенно и поставянето на своевременна диагноза е изправено пред редица трудности. Редките му форми обединяват няколко различни състояния, от които най-известното е наследственият ангиоедем (ОМІМ 106100). Очакваната популационна честота варира от 1- 10 000 до 1- 50 000 индивида и спрямо броя на диагностицираните в България пациенти, който е по- малък от очакваните може да се допусне, че има не малък брой неразпознати случаи. **Този факт прави темата на дисертационния труд актуална и интересна, като очертава и значението и за клиничната практика.** Тя е насочена към патофизиологията, методите за диагностика, клиничните, лабораторните и генетичните характеристики на различните фенотипове ангиоедем, както и съвременните средства за лечение и профилактика.

Дисертационният труд е структуриран съгласно приетите изисквания на МУ София. Той съдържа 217 стандартни печатни страници, от които „Въведение и литературен обзор” – 54 страници, „Цел, задачи, материали и методи” – 23 страници, „Резултати и обсъждане” – 105 страници, „Изводи, препоръки и приноси” – 4 страници, „Библиография – 23 страници”. (Библиографията включва 346 литературни източници: 336 чуждестранни и 10 български (от които 4 на латиница и 6 на кирилица)

Доказателственият материал, онагледен с 38 таблици и 56 фигури е с много високо качество и убедително свидетелства за професионалния опит, на докторанта.

1. Литературен обзор по темата

Литературният обзор е основан на 127 актуални източници, представящи патофизиологията, фенотипа и клиничните характеристики на ангиоедема. **Информацията е отлично синтезирана и представена, от което личи доброто познаване на материята и професионалната зрялост на докторанта.** Д-р Анна Валериева акцентира върху широкия клиничен спектър, както при различните видове

ангиоедем, така и при пациенти с едно и също заболяване. Този факт дава основания да бъдат разгледани в детайли различните класификации на ангиоедема, като са отбелязани и някои промени касаещи наследствената форма с нормален C1-INH настъпили в резултат на натрупване на данни от доказани морбидни мутации през последните години. Така се очетава връзката между клиничната и генетична хетерогенност, което логично кореспондира на спецификите на заболяването.

Специално внимание е обърнато и на подходите за диагностициране и техните ограничения, както и на съвременните терапевтични решения.

По мое мнение дисертационния труд би спечелил, ако към проблематиката пряко свързана със специалността беше добавена и информация касаеща алелната хетерогенност на наследствените форми на ангиоедем, както и популационни характеристики на заболяването. Отчитайки намеренията на докторанта за охарактеризиране на генетичните варианти при българските пациенти на фона на етническите особености на нашата популация такава информация може да послужи за основа за обсъждане на очакваните резултати.

В края на литературния обзор д-р Валериева прави обобщение, с което дава основателни аргументи за избора на разработваната тема.

2. Целта и задачи

Целта е формулирана конкретно и ясно, а именно „**Да се характеризират пациенти с прояви на ангиоедем в българската популация, като се проучат техните клинични, имунологични и генетични особености**”. Във връзка с нея са предвидени шест задачи. Те са насочени не само към комплексното охарактеризиране на заболяването, но и към неговата епидемиология в различните региони на страната, както и към създаването на съвременен клиничен алгоритъм за диагностициране и поведение.

3. Материали и методологичен подход

Клиничната група в разработения дисертационен труд включва пациенти **(202-ма от 41 фамилии)** с прояви на ангиоедем, диагностицирани, проследявани и лекувани в Клиниката по алергология: **ретроспективно** за периода 1972-2013 г (за групата на C1-INH-НАЕ) и **проспективно** за двете групи за периода 2013-2018 година - **85 пациента от 26 фамилии**.

Освен обработката на наличната в регистрите информация и снемането на актуални анамнестични данни при проспективно проследяваните пациенти са извършени и редица клинично лабораторни и имунологични изследвания. Част от тях са лично дело на докторанта. Подробното описание на методите свидетелстват за уменията и опита, който д-р Валериева е придобила при разработването на дисертационния труд. Като подход за генетичното охарактеризиране на пациентите е избрано таргетно секвениране от ново поколение (next-generation sequencing, NGS) на SERPING1 гена. Това решение дава редица преимуществата пред конвенционалното секвениране по Сангер, като дизайнът включва всички екзони, интрони, промоторните части и 5'- и 3'-нетранслируемите участъци.

Генетичните изследвания са извършени в Центъра по клетъчна и молекулна приложна имунология (CeMIA) към Катедрата по Имунология и клетъчна съвместимост, Медицински факултет на Университета на Тесалия, Лариса, Гърция.

Подбраните статистически методи за анализ на данните са подходящи и изцяло съобразени с поставените цели.

4. Резултати и обсъждане

Получените резултати и направените на тяхна основа обсъждания са разделени на шест части (според поставените за изпълнение на целта задачи) както следва:

- **Предлагане на съвременна клинична и патофизиологична класификация при пациентите с ангиоедем**

Съществуващите в момента класификации са разгледани компетентно и аналитично от д-р Валериева, като дискутираните ограничения произлезли от клиничната практика и свързани с някои от подвидовете ангиоедем са напълно основателни. **Предложената от автора на фигура 13, патофизиологична класификация** е изградена на концепцията за наличие на припокриване между медиаторите при не добре характеризираните форми на идиопатичен ангиоедем и е един от съществените приноси на дисертационния труд.

- **Изследване на пациенти с прояви на хистаминергичен ангиоедем и хронична уртикария чрез оценка показатели за минимално персистиращо системно възпаление**

В изпълнение на тази задача са проведени редица лабораторни анализи в подбрана клинична и контролна група. Отчетени са разлики в нивата на IL-10, IL-6 и IL-33, като при пациентите се наблюдават значително повишени стойности. Статистически значими разлики са отбелязани и при анализите на hsCRP в групата на пациенти с различна тежест на изява на заболяването. **Някои от находките имат потвърдителен характер, но има и такива, за които няма съобщавани данни към момента.** Такива са установените значимо различни нива на IL-10 и IL-33 при пациенти с Хронична уртикария, както и статистически значимите разлики в нивата на IL-33 и наличието на съпътстващ ангиоедем.

- **Изследване на пациентите с прояви на редки форми на брадикинин-медиран ангиоедем, чрез оценка на техните демографски, клинични и имунологични показатели.**

По изпълнение на тази задача е направен ретроспективен анализ за периода 1972-2012 година на множество показатели от наличната информация съхранявана в Регистъра за НАЕ, създаден към Клиниката по алергология на УМБАЛ “Александровска” и проспективен анализ обхващащ периода 2013-2018 година. Определянето на средната възраст на поява на оплакванията, средното забавяне от появата на симптомите до поставянето на диагнозата, средната възраст и причините на смърт при пациентите **предоставят възможност за комплексна оценка на клиничния фенотип и сравнителен анализ с данни от други страни.** Компетентно са обсъдени редица обстоятелства

свързани с демографските процеси в страната, които могат да са полезни в прогностичен план и да подобрят терапевтичните програми при пациентите. Интересен факт е коментираният по-ниската раждаемост при пациентите и като цяло във фамилията със заболяването. В това отношение резултатите от настоящия дисертационен труд са от съществено значение давайки възможност чрез изясняване на генетичната етиология да бъде предлагана пренатална или предимплантационна диагностика. Анализирайки в детайли клиничните прояви на ангиоедема д-р Валериева обръща внимание и на още една характеристика – „рецидивираща коремна болка“, която е недооценена в настоящия етап, но може да бъде от съществено значение при диференциалната диагноза.

Като оригинален принос към тази задача ще посоча и определянето на клиничната тежест на заболяването чрез използване на **Vugum score**. Наблюдаваната особеност за преобладаване на по-тежка клиника, която автора обяснява с хиподиагностика не е изключение и се среща и при други заболявания – например муковисцидоза.

- **Създаване на карта на пациентите с редки форми на ангиоедем (C1-INH-НАЕ) на територията на Р. България и изчисляване честотата на диагнозата в различните административни области на страната.**

С наличните данни авторът прави заключение, че получената средна честота за страната е значително по-ниска от очакваната и вероятно диагностиката на болестта в България не е задоволителна, Това актуализира въпроса за създаването на национален регистър на редките болести. Друго решение произтичащо от резултатите е организиране на информационна кампания насочена към медицинските специалисти в областите, където е отчетена много ниска честота на регистрирани пациенти.

- **Изследване приносите на генетичното изследване и биобанкирането при пациенти с ангиоедем.**

Тази задача свързана с дисертационния труд го извежда на неоспоримо съвременно ниво. От една страна се изясняват повече детайли по молекулните характеристики на

наследствения ангиоедем при българските пациенти, създават се условия за обсъждане на корелациите между генотип и фенотип и не на последно място установяването на генетичната компонента позволява оценката на риска и профилактика в засегнатите семейства. Това, което прави впечатление е изключително голямата алелна хетерогенност – намерени са 13 различни генетични дефекта в 19 от изследваните фамилии, като при 6 от случаите анализите все още не са приключили. Като вид мутациите също са много разнообразни, включващи еднонуклеотидни замени, малки делеции и инсерции, регулаторни дефекти и една голяма делеция обхващаща един от екзоните на гена. Тази хетерогенност насочва към необходимостта от по- комплексен методологичен подход, който да съответства на генетичната специфика. **Има няколко допълнителни задачи, които бих препоръчал на докторанта, да определи честотата на намерените морбидни алели от настоящето и предходни проучвания и да анализира етническите характеристики на молекулните дефекти.** Допускам, че сред пациентите от ромски етнос ще превалява конкретен молекулен дефект, което е характерно и при други генетични заболявания. На този етап е още рано да се предлага алгоритъм на генетично изследване насочено към чести мутации или екзони. **Избраното като стратегия в настоящата дисертация таргетно секвениране и анализ за по- големи преустройства чрез MLPA е напълно подходящо на установените молекулни характеристики.**

- **Предлагане на клиничен алгоритъм за диагностициране и поведение при пациентите с прояви на ангиоедем**

Резултатите на дисертационния труд на д-р Валериева позволяват да бъде предложен оригинален диагностичен алгоритъм, които насочват към правилна комплексна диагноза и поведение. В него е застъпена логично обоснована последователност изградена на лесни за оценка обективни критерии от клиничната практика.

5. Изводи

Докторантката представя осем извода, които отговарят на поставените задачи. **Като цяло подкрепям направената от нея финална оценка, но някои от изводите могат да бъдат представени по- концептуално, а да не звучат като резултати.**

Заклучение

Това, което откроява дисертационния труд на д-р Анна Валериева е широкият поглед върху избраната пазологична единица. Обединяването на ретроспективни с проспективни наблюдения ясно откроява промените и тенденциите в развитието на проблема. Докторанта аргументирано заявява необходимостта от интердисциплинарност за достигане на съвременно ниво в диагностиката и профилактиката на ангиоедема. Професионалната зрялост на д-р Валериева е изградена не само върху уменията да организира и осъществи изследователската работа, но и да отрази социалните аспекти на заболяването в съвременния етап.

Във финалните глави на дисертационния труд д-р Анна Валериева дава няколко полезни препоръки с подчертано значение за клиничната практика.

Във връзка с дисертационния труд са представени шест публикации в пълен текст в специализирани научни издания, една от които в списание с импакт фактор. В три от статиите докторанта е първи автор.

Давам висока положителна оценка на цялостната научна и изследователска продукция на автора и убедено препоръчам на научното жури да присъди научната степен „Доктор” на д-р Анна Валериева Димитрова

София 27.12.2018 год.

Член на НЖ:

(проф. Алексей Савов „доктор”)

