

**РЕЦЕНЗИЯ**

**от Проф. д-р Лазар Желев Славов, дм**

**Катедра по анатомия, хистология и ембриология, Медицински университет - София**

**на Дисертационен труд за присъждане на Образователната и научна степен „Доктор“**

**Професионално направление: 4.3 Биологически науки**

**Докторска програма: Генетика**

**Автор: Георги Димитров Блажев**

**Форма на докторантурата: Редовна форма**

**Първично звено: Катедра „Генетика“, Биологически факултет на Софийски университет  
„Св. Климент Охридски“**

**Тема: МУЛТИ-ОМИКС ПОДХОД ЗА АНАЛИЗ НА БИОЛОГИЧНАТА И КЛИНИЧНАТА  
ХЕТЕРОГЕННОСТ НА НЯКОИ РЕДКИ МАЛИГНЕНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ**

**Научен ръководител: доц. д-р Велизар Стефанов Шиваров, дм,**

**Медицински университет – Плевен**

**1. Общо представяне на процедурата и докторанта**

Представеният комплект материали по процедурата на хартиен / електронен носител е в съответствие с изискванията на процедурата за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ според Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Софийски университет „Св. Климент Охридски“ (последно допълнен на 28.06.2023 г.).

**2. Кратки биографични данни за докторанта**

Докторантът Георги Димитров Блажев е роден в град Плевен на 31.03.1995 г. Завършва средно образование в родния си град през 2014 г. През 2018 г. придобива бакалавърска степен по Молекулярна биология в СУ, а през 2020 г. – магистърска по Клетъчно и генно инженерство

в СУ. През месец юли същата година след конкурс е зачислен в редовна форма на обучение за придобиване на ОНС „Доктор“ по Докторска програма „Генетика“ (4.3 Биологически науки). През месец юли 2023 г. е отчислен с право на защита като завършил работата си по дисертационния труд със заглавие „Мулти-омикс подход за анализ на биологичната и клиничната хетерогенност на някои редки малигнени заболявания“. Докторантът владее английски и испански езици и има напреднали познания и умения в областта на биоинформатиката. По време на обучението си в докторската програма като задължителна активност е водил упражнения по „Обща Генетика“ на студенти-бакалаври от специалност „Биология“ в СУ през академичната 2021/2022 г.

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

Общоизвестен факт е, че малигнените заболявания преставляват и ще бъдат в близките десетилетия една от водещите причини за смъртност в разитите страни. От друга страна малигнените заболявания са хетерогенна група с разнообразна патогенеза, клиничен ход и прогноза. Както е известно основната част от раковите заболявания засягат само няколко органи локализации като белодробен карцином, колоректален карцином, рак на гърдата, рак на простата, което в известен смисъл позволява унифициране на подходите при тези пациенти. Около  $\frac{1}{4}$  от всички случаи на рак се падат обаче на така наречените редки видове рак, които имат различна локализация и са резултат от по-редки генетични промени, което не позволява или силно ограничава унифицирането на лечебните подходи поради невъзможност за натрупване на достатъчно данни за биологията на съответните подгрупи и разбира се провеждане на достатъчно големи клинични проучвания със стандартни или иновативни онкологични лекарства. В този смисъл, всички проучвания в групата на редките видове рак, които целят интегрирането на съществуващи данни от различни масиви данни с цел оптимизиране на диагностиката, прогностичната стратификация и лечението на тези болни са актуални и адресират важни медицински проблеми. Разбира се най-големи са непосредствените медицински нужди при редките видове рак, които са свързани с най-лоша прогноза, т.е. най-кратка обща преживяемост. Такова заболяване определено представлява малигнения плеврален мезотелиом (МПМ), което е обект на представения дисертационен труд. Дисертационният труд по същество демонстрира възможностите на системната биология за интегриране на големи масиви от съществуващи омикс данни, така че да се изведат клинично значими прогностични и/или предиктивни биомаркери/моделни, които освен това отразяват определени биологични характеристики на заболяването. В този смисъл дисертационният труд е мултидисциплинарен с отношение към различни специалности на медицината и

биологията като например патология, онкология, имунология, генетика, биоинформатика, което подсилва актуалността на представената разработка.

#### **4. Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертационният труд е написан в общоприетата структура като включва следните части: увод (4 страници); литературен обзор (26 страници); цел и задачи (2 страници); материали и методи (8 страници); резултати (32 страници) обсъждане (8 страници); заключение, изводи и приноси (4 страници); приложения (5 страници). Дисертационният труд с общ обем от 110 страници е онагледен с 38 фигури (всички цветни, повечето с повече от една субсекция) и 8 таблици. Трудът реферира към 173 литературни източника на английски език като повечето статии са публикувани в последните 15 години с напредъка на омиск технологиите. Като цяло структурата и съдържанието на дисертационен труд са смислово добре обвързани и балансирани като обем на информацията. Главните раздели са формулирани в логиката на избраните цели и са адекватни на съдържанието на поставените задачи.

Макар че заглавието е общо формулирано във връзка с някои редки видове рак, дисертацията е изцяло фокусирана върху МПМ, което е обосновано в уводната част. Освен това, включването на повече редки видове рак би разширило значително дисертационния труд и би било отвъд образователните цели на докторантурата, които е трябвало да се изпълнят в законовия 3-годишен срок.

Литературният обзор продължава насоката на увода като разглежда различни аспекти от етиологията, патогенезата и генетичните аспекти на МПМ. Смятам, че пред вид факта, че докторантурата е в направление „Биологични науки“ и специалност „Генетика“ правилно не са разглеждани детайлно чисто медицински аспекти на МПМ като диагностика и лечение. От друга страна докторантът е представил някои основни положения в омиск технологиите и тяхното приложение в онкологията. Така логично се стига до формулиране на някои актуални въпроси за МПМ и се извеждат целите и задачите на дисертационния труд.

Подбраните биоинформатични методи логично адресират поставените задачи, и очевидно според цитираните източници са актуални и адекватни. На Фигура 8 е представена флоу-диаграма на цялостния аналитичен подход в дисертационния труд, което засилва впечатлението за системно биологичен подход на работата и улеснява нейното разбиране дори и от заинтересовани лица, които не са тесни специалисти в областта на омиск технологиите.

Много добро впечатление прави и избраният и добре описан подход за системен подбор на източници за аналитични данни. Съгласен съм, че за целите на тази работа подбраният

източник на информация – PubMed е адекватен, съвременен и достатъчен. Освен това докторантът е следвал утвърденият световен стандарт за избор на източник на биомедицинска информация – т.нар. PRISMA стандарт (професионално представен на Фигура 10). Самото извеждане и валидиране на двугенния прогностичен скор следва световния стандарт за ползване на трениращи и валидиращи набори от данни. Елегантността и иновативността на работата е в първичната селекция на показателите (в случая гените) които да се използват за извеждане на скор. Това е станало чрез първоначална селекция на валидирани гени, за които е известно, че тяхното потискане води до цитотоксичност на клетъчни линии от МПМ. Методът за извеждане на прогностичния скор е прост и се използва в литературата. Освен това показва отлична възпроизводимост на прогностичната си стойност и в двата валидиращи набора от транскриптомни данни. Като плюс на работата трябва да се отбележи, че единият от валидиращите набори от данни е от РНК секвениране, а другият от стандартен хибридизационен микрочип, което подсказва, че изведеният скор вероятно не зависи от метода за определяне на нивото на генна експресия. След това работата изследва дали дефинираните прогностични групи пациенти с МПМ отразяват определени биологични характеристики на заболяването. За целта е използван широкоприет метод за GSEA като докторантът е използвал стандартизирани списъци от гени, за които е известно, че дефинират някои от характерните черти на рака. Демонстрирано е, че и в трите набора от данни високия прогностичен скор дефинира сходни групи пациенти по отношение на експресията на гени от тези списъци. Дадени са примери за такъв списък от гени и обобщение на припокриващите се списъци (Фигури 26, 27). Интересно е, че това сходство в експресионните профили вероятно е слабо зависимо от епигенетични фактори като ДНК метилиране, което е показано в дисертацията на Фигури 28-34. По същество това са негативни данни, но водят до горното заключение и показват задълбоченото изследване на проблема в дисертационния труд, така че съм съгласен, че включването им в крайния вариант на дисертацията е приемливо. Вероятно под влияние на научния си ръководител, който е и специалист по имунология, докторантът изследва дали 2-ПС корелира с инфилтрацията от определени имунни клетки. За определяне степента на инфилтрация отново е използван количествен биоинформатичен подход, който показва относителния дял на такива имунни клетки в общия транскриптомен профил на туморната тъкан. Интересна е установената права корелация със степента на инфилитриране от макрофаги, което би трябвало да се интерпретира в контекста на тяхната роля в патогенезата на МПМ, описана в литературния обзор. И накрая, направен е опит за намиране на някакви доказателства за потенциалната предиктивна стойност на 2-ПС като той е изчислен за различни клетъчни линии от МПМ и след това е корелиран с данните за тяхната лекарствена чувствителност. Определени са някои статистически значими и клинично релевантни

корелации, което потвърждава рационалността на подобрения подход за първична селекция на гените за съставянето на 2-ПС.

Обсъждането е представено в стегната и логична форма и разглежда получените резултати в съпоставка с други подобни проучвания. Докторантът като специалист биолог вероятно би могъл по-подобрено да разгледа биологичната функция на двата гена, включени в 2-ПС, и да представи по-задълбочени рационални хипотези за тяхното участие в патогенезата на МПМ.

Изведените изводи са логични и съответстват на изпълнението на изследователските задачи. Нямам забележки по тях. Добро впечатление прави формулирането на насоки за възможни бъдещи изследвания.

## **5. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

Приемам формулираните оригинални и с потвърдителен характер научни приноси. Особено важно е демонстрирането на оригинален рационален подход за първична селекция на гени при малигнени заболявания, които да се използват за разработване на прогностични модели/скорове въз основа на транскриптомни данни. Очевидно е, че докторантът е имал възможност да придобие задълбочени познания как да интегрира налични омикс данни, така че да извлече клинично и биологично важни заключения за определено заболяване.

## **6. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Представени като свързани с дисертацията са две публикации в международни списания, едното от които с импакт фактор. Съгласно ранкинга на списанията са покрити изискуемите минимален борй точки за защита на ОНС „Доктор“ по професионално направление 4.3 Биологични науки. Това доказва, че докторантът е получил достатъчно умения под ръководството на научния си ръководител не само да генерира съвременни научни данни, но и да ги публикува. Препоръчително е в бъдеще докторантът да задълбочи и да проведе самостоятелни проучвания, които да публикува в международни научни списания.

## **7. Автореферат**

Представеният автореферат на български и английски правилно отразява същността и съдържанието на основния дисертационен труд и може да се използва като съкратена реферативна справка. Авторефератът към дисертационния труд е направен според изискванията и отразява в достатъчни детайли основните части, включително резултатите, постигнати в дисертацията.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В заключение, по съдържание и свързани научни публикации, дисертационният труд на Георги Димитров Блажев на тема „Мулти-омикс подход за анализ на биологичната и клиничната хетерогенност на някои редки малигнени заболявания“ представлява значителен оригинален принос в науката по смисъла на ЗРАСРБ. Освен това докторантът е изпълнил програмата за обучение в редовна форма на докторантура по изискванията на СУ „Св. Климент Охридски“. Поради тези причини изказвам положително мнение за присъждане на ОНС „Доктор“ на Георги Димитров Блажев в професионално направление 4.3 Биологични науки и научна специалност „Генетика“. Предлагам и на останалите членове на научното жури по процедурата да гласуват положително.

С уважение:

22.05.2024 г.

.....

(Проф. д-р Лазар Желев Славов, дм)