

СТАНОВИЩЕ

на дисертационен труд на тема: „Мулти-омикс подход за анализ на биологичната и клиничната хетерогенност на някои редки малигнени заболявания“, представен от **Георги Димитров Блажев**, за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР” в научно направление 4.3. „Биологически науки“ (Генетика-Генетика на рака), Катедра „Генетика“, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, с научен ръководител **доц. д-р Велизар Шиваров, д.м.**

От **доц. Сена Карачанак-Янкова, дб** Катедра „Генетика“, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, назначена за член на научното жури със заповед на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ № РД-38-193/25.04.2024 г.

Предметът на представения ми за становище дисертационен труд е установяване и валидиране на нов прогностичен скор, основаващ се на генна експресия чрез прилагане на мулти-омикс подход за анализ на биологичната и клиничната хетерогенност на редки малигнени заболявания, по-точно на малигнен плеврален мезотелиом (МПМ).

Дисертационният труд е развит в рамките на 102 страници и е структуриран по стандартен начин, като включва следните основни раздели: литературен обзор (състояние на проблема), материали и методи, резултати и обсъждане. Отделно са представени увод; изследователска хипотеза, цели и задачи; заключение и изводи; и приноси. Дисертационният труд завършва с библиографска справка, обхващаща 173 източника, които в голямата си част са от последните години.

Дисертационният труд започва с **увод** в рамките на 4 страници, в който са посочени непосредствените медицински нужди за подобряване на общата преживяемост при редките видове рак с фокус върху основната нозологична единица от мезотелиомите, а именно малигнения плеврален мезотелиом.

„Литературният обзор“ (състояние на проблема) започва с определението за малигнен плеврален мезотелиом и епидемиологията на този вид рядък рак. След описанието на етиологията и патологията, са посочени механизмите за индуциране на канцерогенеза от азбест и последващите молекулни и имунологични процеси във възпалителната микросреда. Разгледани са омикс технологиите (геномика, епигеномика, транскриптомика, протеомика и метаболомика), тяхното приложение в раковата биология, както и управлението и интегрирането на омикс данните за извличане на биологично значима информация.

Във връзка с дисертационния труд ясно е формулирана цел за извеждане и валидиране на нов прогностичен скор, основаващ се на генна експресия, при пациенти с МПМ и за изпълнението на целта са поставени 9 изследователски задачи.

„Материали и методи“. За въвеждането на двугенния прогностичен скор (2-ПС) са използвани 3 набора от данни от анализ на целия транскриптом при пациенти с МПМ. Като набор за обучение са използвани RNA-Seq данни за 87 МПМ случая от проекта TCGA (The Cancer Genome Atlas Program), а като набори от данни за валидиране са използвани данни от проучване с РНК секвениране (Bueno) на 211 МПМ случая и проучване с планарен генен експресионен масив (Blum) при 67 случая. При извеждането на модела са избрани 179 гена от DepMap проекта за да се изгради модел, базиран на експресията на гени свързани с преживяемостта. За да се изгради двоичен скор (висок спрямо нисък) е дефинирана гранична стойност съответстваща на медианата на непрекъснатия скор за всяка от кохортите. Анализът на обогатяването на набори от гени е извършен с помощта на самостоятелната версия GSEA 4.0.3 при което като референтен набор от гени е използвана базата данни за молекулярни подписи (MSigDB); фракциите на имунни клетки са изчислени с помощта на CIBERSORTx; анализът на лекарствена чувствителност е с данни от GDSC1 и 2 клетъчните линии; а интегрираният анализ на ДНК метилиране е извършен с помощта на COHCAP алгоритъма.

„Резултати“. Избраният модел се състои от два гена – *GOLT1B* и *MAD2L1*, които са валидирани с набори от данни от RNA Seq на Bueno и планарен експресионен масив на Blum. При анализа на обогатяването на списъци от гени в експресионни профили е установено, че 25 профила са свръхекспресирани с висок скор в трите кохорти. Повечето от тези профили са свързани с ДНК поправката, отговора към ДНК повреди и контрола на митотичното клетъчно делене. От данните за ДНК метилиране, получени чрез Infinium 450K bead chip (Illumina) за пациентите от TCGA и Blum кохортите се установява, че в първия набор метилирането на CpG островите корелира обратно с експресията на гените *SLC20A1* и *KIAA1949*. И в двата набора данни непрекъснатият прогностичен скор показва положителна корелация с CD8+ Т-клетъчната фракция, както и с фракциите на макрофагите M1 и M2. Установена е корелация на 2-ПС с отговора към лечение с цисплатина, гемцитабин и винбластин. Забележките ми към този раздел са по отношение на грешните препратки към фигури.

Резултатите са дискутирани в отделен раздел „Обсъждане“, в който освен, че се изтъква нуждата от нови прогностични и предиктивни модели при МПМ, е описана

ролята на *MAD2L1* и *GOLT1B* гените при малигнения плеврален мезотелиом. Въз основа на проведеня GSEA анализ се стига до заключението, че 2-ПС отразява истински подлежащи особености на пациентите с висок скор спрямо тези с нисък, като тази възпроизводимост не се установява при анализа на ДНК метилирането. Двугенният прогностичен скор корелира със съдържанието на CD8+ Т-клетки и M1/2 макрофаги, което в съответствие с патогенетичния механизъм на хронично възпаление при МПМ следствие неефективната фагоцитоза на азбестовите фибри. При анализа на лекарствената чувствителност, 2-ПС скорът може да предскаже по-висока чувствителност към цисплатина, докато при гемцитабин и винбластин може да предвиди резистентност.

Във връзка с дисертационния труд са формулирани 5 извода относно прогностичния скор и са дефинирани 4 примерни рационални насоки за бъдещи изследвания и внедряване на 2-ПС в клиничната практика. В отделен раздел са посочени приноси: 5 оригинални приноса относно прогностичния модел и прогностичната стойност на експресията на *GOLT1B* гена и 3 приноса с потвърдителен характер.

Автореферат. Представени са автореферати на български и английски език, написани съответно в рамките на 43 и 41 страници. Вариантите са идентични по съдържание, като повтарят в съкратен вид дисертационен труд.

Общи забележки върху дисертационния труд. Като цяло представената за разглеждане работа прави много добро впечатление на едно завършено цялостно научно изследване по актуален проблем, при което са използвани данни от различни омикс технологии за да се въведе и валидира олигогенен прогностичен скор при МПМ, който да определя подгрупи пациенти със сходен експресионен профил, да отразява специфични профили на инфилтрация от имунни клетки и да има предиктивна стойност по отношение на чувствителност или резистентност към химиотерапевтични средства. Направената от мен забележка е от технически характер и в никакъв случай не намалява научните достойнства и цялостното впечатление от дисертационния труд.

Научни публикации и изяви във връзка с дисертационния труд. Представени са общо 2 научни публикации в международни специализирани издания с квантил Q2 и Q4, в които докторантът е съавтор и едно участие е национална научна конференция. Събраните точки на основата на квантилите на списанията са 32, което надвишава необходимите 30 точки в Професионално направление 4.3. „Биологически науки“ съгласно Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в Република България.

Заключение. Представеният ми дисертационен труд е в актуална изследователска област, представлява завършено научно изследване проведено на високо ниво, което ми дава основание да гласувам положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ на Георги Димитров Блажев по професионално направление 4.3. Биологически науки (Генетика-Генетика на рака).

22.05.2024 г.

доц. Сена Карачанак-Янкова, дб

