

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

„Генетико-диагностично проучване при лица в детска възраст с наследствена патология, преминали през кабинета за генетично консултиране“

за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР”

Област на висше образование: 4. „Природни науки, математика и информатика”

професионално направление: 4.3. Биологически науки

Научна специалност: „Генетика“

Автор: Милена Петрова Стоянова

Научен ръководител: проф. Людмила Ангелова, д.м.

Рецензент: проф. д-р Савина Петрова Хаджидекова, д.м.
Ръководител на Катедра по Медицинска генетика, МФ, МУ-София,

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Рецензията е изготвена съгласно Заповед РК109-329/01.08.2022 на Ректора на Медицински Университет – Варна и Протокол 1/09.08.2022 от I заседание на Научното жури.

Представеният комплект материали по защитата са в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ-Варна.

При изготвяне на настоящата рецензия са спазвани изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, както и специфичните Критерии за заемане на академични длъжности и придобиване на научни степени в МУ-Варна.

2. Кратки данни от професионално-творческата биография на кандидата.

Дисертантът Милена Петрова Стоянова 2002 г. се дипломира като “магистър” по медицина в Медицински факултет на МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов” Варна. През 2009 г. – придобива специалност по педиатрия, а през 2018 специалност по медицинска

генетика при същия университет. От 2018 г. е зачислена като редовен докторант в научно направление "Генетика" с научен ръководител проф. д-р Людмила Ангелова.

От 2010 г. до настоящия момент заема длъжност асистент при Катедра по Медицинска генетика, Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ Варна. В периода юни 2010 – юни 2018 е работила като лекар педиатър в Лаборатория по Медицинска генетика при Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ Варна в направление лечебно-диагностична и консултативна дейност.

Дисертантът членува в две международни научни организации - Европейско дружество по човешка генетика (ESHG) и Европейска цитогенетична асоциация (ECA), както и в две български - Българско дружество по генетика и геномика на човека и Българска педиатрична асоциация.

Кандидатът е съавтор на 26 пълнотекстови научни публикации и участва в пет научни проекта.

Владее писмено и говоримо английски език.

3. Актуалност и значимост на разработката.

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд на Милена Стоянова е изработен в катедра "Медицинска генетика" на МФ на Медицински университет – Варна и обобщава десетгодишните данни от дейността на Лабораторията по медицинска генетика в УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна в генетичното консултиране и изследвания на пациенти в детска възраст със съмнение за наследствена патология.

Настоящият дисертационен труд е посветен на един изключително сериозен проблем в медико-социален аспект - генетични заболявания и вродени аномалии при педиатрични пациенти, както и на важната роля на генетичния консултант. Вродените аномалии (ВА) представляват тежко бреме за засегнатите семейства и обществото като цяло и имат пряк отрицателен ефект върху раждаемостта, увеличават заболяемостта и смъртността. Честотата на вродените дефекти на развитието е 3-5% от всички раждания. Всяка година в България се раждат около 2500 нови болни с генетично заболяване. Изключително високата цена на лечението и отглеждането на засегнатите индивиди се плаща от всеки член на обществото чрез бюджета, социалното и здравно осигуряване. В развитите страни вродените аномалии са водещата причина за фетална, неонатална и детска смъртност и заболяемост. Двадесет процента от детската смъртност се дължат на вродените аномалии - процент, който непрекъснато се увеличава. Заболяемостта и инвалидизацията на преживелите деца са тежък медико-социален проблем.

Приблизително 25% от хоспитализираните болни и около 1/3 от общия брой леглодни в педиатричните отделения се дължат на вродени аномалии от различен тип. Благодарение на бурното развитие на технологиите за геномни анализи през последните години все повече пациенти се изяснява генетичната диагноза и все повече се увеличават пациентите, които имат нужда от медико-генетична консултация. И тук се отличава ролята на генетичния консултант, чиято задача е да насочи пациента към правилния диагностичен тест и да даде подробна информация на пациента и семейството му за самото заболяване, риска за потомството и сибсите, прогнозата, възможностите за лечение и пренатална диагностика. Ето защо в дисертационния труд е поставен специален фокус върху необходимостта от генетично консултиране. Настоящият труд обобщава опита на Лабораторията по медицинска генетика в УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна в генетичното консултиране и изследвания на пациенти в детска възраст със съмнение за наследствена патология за период от десет години.

4. Становище по структурата и съдържанието на дисертационния труд

Дисертационният труд е съобразен с обичайното структуриране на работа от този тип, съгласно възприетите у нас стандарти на дисертация за получаване на научната степен „доктор“. Той включва върху 149 страници, в това число: Въведение – 2 стр., Литературен обзор – 35 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материал и методи – 10 стр., Резултати – 41 стр., Обсъждане – 27 стр., Изводи – 4 стр. и Приноси - 2 стр., Цитирана литература - 17 стр., Публикации и научни съобщения, включени в дисертационния труд – 1 стр., Приложение - 2 стр. Трудът е онагледен с 31 фигури и 15 таблици в текста. Цитирани са 246 литературни източници на български и латиница. Фундаменталността на тематиката позволява и цитиране на източници с по-голяма давност, каквито са налице в обзора.

Литературен обзор

Структурата, съдържанието и обема на литературния обзор показват отлично познаване на проблема и отразяват изчерпателно проучванията на литературните данни, с логична постройка. Стилът е достъпен, на литературен български език. Последователно са разгледани класификацията на вродените дефекти, етиологията на заболяванията и епидемиологията. Описани са подходите за генетична диагностика – генеалогичен метод, физикален преглед, лабораторно-генетични методи, като е направен сравнителен анализ на разрешителната способност на генетичните анализи. В допълнение са посочени съвременни софтуерни и компютърни дисморфологични програми и източници, използвани при интерпретацията на клиничните фенотипи и лабораторните

резултати. Специален акцент е поставен върху генетичното консултиране като високоспециализирана дейност в диагностицирането на генетичната патология.

Обзорът показва, че докторантката е много добре запозната с материята, върху която работи. Давам висока оценка на литературния обзор не само заради отличното познаване и анализиране на литературните данни, но и затова, че той е систематизиран и насочен към конкретните задачи на дисертацията.

Цел и задачи

Дисертационният труд цели дескриптивно-епидемиологична оценка и проучване ефекта от дейността на генетичната консултация като подход за клинично – генетичната диагностика при лица със съмнение за наследствена патология в детска възраст на базата на опита на Университетски генетичен център за период от десет години.

За изпълнението на тази цел са поставени 5 задачи, които са формулирани ясно и точно.

1. Да се отдиференцира контингента пациенти на възраст 0-18 години, регистриран в кабинета за медико-генетично консултиране за период от 10 години, да се селектират пациенти с неизяснено/недоказано нарушение, подлежащо на активна диагностична дейност и охарактеризира (дескриптивно-епидемиологично и класификационно по показания за насочване).

2. Да се обобщят и анализират резултатите от проведените лабораторно-генетични изследвания (във и извън секторите на Университетската болнична структура) за оценка диагностичния лабораторен принос в изясняване етиологията на наследствените нарушения при деца.

3. Да се направи оценка от цялостна дейност на МГК като основна структура за генетична помощ в ЛМГВ, в мултидисциплинарния диагностичен процес по разкриване генетичната етиология на болести и предразположения при пациенти в детска възраст.

4. Да се анализира ролята на активната генетична диагностична (лабораторна и консултативна) дейност на МГК при селектирана група пациенти с неизяснено/недоказано нарушение за оценка участието и принос на генетичното звено.

5. Да се изградят насоки за подобряване подхода за провеждане на клинично - генетична оценка на наследствено заболяване при деца като етап от цялостната мултидисциплинарна грижа към пациента в клинично-лабораторната практика.

Методи

При изпълнението на горепосочената цел са използвани следните методи на изследване:

- Клинични методи, включващи генеалогичен метод и фамилна анамнеза, физикално изследване
- Лабораторни методи, включващи цитогенетичен метод, молекулярно-генетични (ДНК) методи – изолиране на ДНК, dTP-PCR (direct triplet-primed PCR) и melting curve анализ (скрининг за синдром на чуплива X-хромозома, FRAXA), Мултиплексна лигазно-зависима реакция на амплификация на пробата (MLPA), Real-Time PCR. Посочените по-горе методи са проведени в Лабораторията по медицинска генетика в УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна. В допълнение за изясняване на диагнозата са провеждани и генетични анализи във външни лаборатории - селективен метаболитен скрининг/ензимен анализ; микрочипов анализ; секвениране по Sanger, новогенерационно секвениране, Methylation-specific MLPA, Methylation-specific PCR
- Анализи, базирани на дисморфологични бази данни и софт, London Medical Databases/ Winter-Baraister Dysmorphology Database уерни онлайн-базирани програми - OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), THE PHENOMIZER, FACE2GENE, ORPHA.NET, Monarch Initiative, POSSUM
- Методи за статистическа обработка на данните - непараметрични анализи, регресионен анализ, графичен анализ, Graph Pad Prism 9

От прегледа на експерименталните техники, може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантката се е изградила като високо квалифициран медицински генетик. Приложените методи са адекватни за изпълнение на поставените цели и задачи.

Материали

Материалът за дисертационния труд е обобщава дейността на Лаборатория по медицинска генетика - Варна (ЛМГВ), МУ-Варна за десетгодишен период от месец януари 2011 г. до месец декември 2020 г. като включва общо **3 124** педиатрични пациенти, на възраст от 0 до 18 години (средна възраст 5.9 години). От тях 1855 (59.4%) са от мъжки пол, а останалите 1269 (40.6%) – от женски пол (М:Ж =1.5:1). Пациентите са преминали през МГК кабинета за консултация и/или генетичен анализ. От тях са вземани биологични проби за поставяне на цитогенетични култури, за биохимични, ензимни и молекулярно-генетични анализи.

Отличителна черта на дисертационния труд е интегралния подход при подбора на пациенти, проведен от високо квалифициран екип от лекари педиатри, неонатолози, хематолози, ендокринолози, невролози, психиатри, дисморфолози и генетици.

Резултати и дискусия

Анализът на резултатите е представен в 2 подраздела: 1) Обсъждане на резултати от дескриптивно-епидемиологичната характеристика на проучвания контингент, обхващащо дескриптивно-епидемиологичната характеристика на всички регистрирани и дескриптивно-епидемиологичната характеристика на селектираната група; 2) Обсъждане на резултати от проведени генетични и метаболитни/ензимни изследвания, включващо анализ на резултати от конвенционален цитогенетичен анализ, ДНК анализ за моногенни заболявания и резултати от активна диагностична дейност.

Въз основа на индикацията за провеждане на МГК пациентите са разделени в 6 групи - група I - 971 (31,1%) – вероятна хромозомна болест, група II - вероятна моногенна (неметаболитна) болест, група III - вероятно наследствено метаболитно заболяване) - 148 (4,7%), група IV - единични или множествени вродени аномалии / неясен дисморфичен синдром, с или без УМИ, група V - водещ клиничен фенотип на нарушение в нервно-психичното развитие; група VI – други. Анализът на данните показва, че най-честото показание за МГК е съмнение за неясен дисморфичен синдром/МВА със или без УМИ - почти 50% от всички насочени.

С помощта на цитогенетичен анализ са установени 13,9% патология като най-често диагностицираното нарушение е тризомия 21. При 26 лица са открити видимо балансирани хромозомни преустройства.

Проведеният ДНК анализ е допринесъл за поставяне на диагноза муковисцидоза при 21 пациента, а при други 20 е разкрито носителство при наличие на характерна симптоматика. Други поставени диагнози са болест на Уилсън, бета-таласемия, синдром на Жилберт и предразположения към цьолиакия и наследствена тромбофилия. В допълнение 43 пациенти са изследвани за фармакогенетични дефекти. При 5,7% от пациентите с неясна причина за нарушение в НПР с помощта на молекулярно-генетичен скрининг е поставена диагноза FRAXA синдром. Проведеният MLPA анализ разкрива диагнозата при 13,9% от насочените за изследване пациентите. С микрочипов анализ са изследвани 44 пациенти, като патогенни резултати са установени при 19 деца (43,2%).

Чрез ДНК секвениране (класическо и новогенерационно) са диагностицирани пациенти със съмнение за RAS-опатии, импринтинг болести, автозомно-доминантна бъбречна

поликистоза, редки и ултраредки болести като Beare-Stevenson cutis gyrate синдром, Hutchinson-Gilford progeria, Cartilage-hair hypoplasia, болест на Dent, Lowe синдром и др. При 126 пациента в детска възраст е извършен селективен метаболитен скрининг и/или ензимен анализ като при 14 пациента е поставена диагноза.

При повече от половината от активно консултираните лица (**520; 53,7%**) е описан *лицев* дисморфизъм като са използвани бази данни от специализирани програми по дисморфология, напр. Face2Gene.

Настоящата работа представлява пилотна разработка в Р. България за дескриптивно-епидемиологична характеристика и оценка приноса от цялостната дейност на генетична структура в обслужване на педиатричен контингент. В нея е обобщена ценна информация относно разпределението на генетичната патология сред пациентите с наследствени болести и предразположения и би могла да послужи като основа при разработването на програми за откриване, проследяване и лечение на пациентите, както и за финансиране на диагностиката на генетичните болести. В допълнение тя дава ценни насоки за медико-генетичното консултиране на пациенти с генетична патология.

Изводи и приноси

Формулирани са пет извода, които отразяват резултатите и отговарят напълно на поставените задачи. Изведени са и приноси с оригинален, с потвърдителен и приложен характер. Съгласна съм с авторската оценка за приносите на дисертационния труд, като от тях бих открила основно тези с оригинален характер, по специално касаещи създаването на основа за сравнителни популационни проучвания и планирани действия в областта на медицинското обслужване при пациенти със съмнение за генетично нарушение.

5. Публикации по темата на дисертацията

Във връзка с дисертацията, докторантът представя три публикации, на които е първи автор. Кандидатът представя и 3 участия с резултати по темата на дисертацията. Представените научни трудове покриват напълно тематиката на дисертационния труд и съдържат резултати от проведените изследвания.

6. Автореферат

Авторефератът е в обем 65 страници като отразява основните раздели на дисертационния труд.

7. Заключение

Дисертационният труд „Генетико-диагностично проучване при лица в детска възраст с наследствена патология, преминали през кабинета за генетично консултиране“ е посветен на важен медицински проблем и представлява задълбочено проучване. При дискутирането на резултатите правят впечатление високата професионална зрялост и научна компетентност на докторанта. Изводите и приносите в дисертацията имат приложна стойност за правилното диагностициране на пациенти с генетична патология. Трудът утвърждава автора като отговорен и надежден изследовател, който може да провежда самостоятелно изследвания на високо научно ниво и да интерпретира научни резултати.

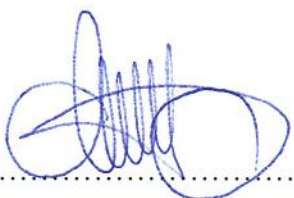
Дисертацията отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в република България и на специфичните Критерии за заемане на академични длъжности и придобиване на научни степени в МУ-Варна.

В заключение искам да спомена, че ми познавам лично докторанта Милена Петрова Стоянова и мога да твърдя, че тя е отговорен професионалист с изграден авторитет сред медицинските среди и има уважението на специалистите по генетика в България.

Всичко това ми дава основание да дам своя положителен вот за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ на Милена Петрова Стоянова.

30 септември 2022 г.

гр. София

Рецензент: 

Проф. д-р Савина Хаджидекова, д.м.