

СПИСЪК

НА НАУЧНИТЕ ТРУДОВЕ

НА Д-Р **ИВАН ДИМИТРОВ ТОНЕВ**

за участие в конкурс за „доцент“ за нуждите на Клиниката по хематология
към СБАЛХЗ – ЕАД, публикуван в ДВ бр. 24 от петък, 17 март 2023 г.

I. ДИСЕРТАЦИЯ

1. **ТОНЕВ, И.** Разработване на оптимален режим на съхранение на човешки хемопоеични стволови клетки при температура -80°C , Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "доктор", София, 2021, 118 стр.

Анотация: Целта на дисертацията е да се разработи метод за съхранение на човешки хемопоеични стволови клетки (ХСК) при температура -80°C , при който да се намали вливането на пациентите количество вътреклетъчен криопротектор диметилсулфоксид (ДМСО), а с това и тежките нежелани следтрансфузионни реакции. Разработен е криопротективен разтвор с 5% крайна концентрация на ДМСО в комбинация с екстрацелуларни криопротектори - хидроксиетил скорбяла (ХЕС) и човешки серумен албумин (ЧСА). При 159 трансплантирани с така съхранявани клетки пациенти се установяват по-малко сериозни нежелани реакции. Клетъчната жизнестойност и хематологично възстановяване след трансплантацията са съпоставими с тези, описани в литературата при 10% ДМСО в криопротективен разтвор. Подобни са и резултатите при разработени от нас модификации на този метод. Намаляването на количеството замразена, респективно преливана суспензия чрез концентриране на левкоцитите (403 пациента) или отстраняването на еритроцитите (92 пациента) също намаляват тежките нежелани реакции без да се влошат резултатите на клетъчна жизнестойност и хематологично възстановяване. Продължителното съхранение при 41 пациента, претърпели две автоложни трансплантации, не води до влошаване на клетъчната жизнестойност и хематологичното възстановяване. Хематологичното възстановяване на пациентите след алогенна трансплантация със замразени чрез разработения метод клетки (24 пациента) е сравнимо с това с пресни клетки (24 пациента).

Annotation: The aim of the thesis is developing of method for cryopreservation of Human hematopoietic stem cells (HSC) at temperature -80°C , allowing reduction of the infused to the patients dose of intracellular cryoprotector dimethyl sulphoxide (DMSO), thus reducing the severe adverse post-transfusion reactions. A cryoprotective solution with final 5% concentration of DMSO, in combination with hydroxyl ethyl starch (HES) and human serum albumin (HSA) is developed. In 159 patients, transplanted with cells cryopreserved using this method, a lower incidence of severe adverse reactions is observed. The cell viability and the hematological recovery after transplantation are similar to those, described in literature with 10% DMSO in cryoprotective solution. Similar are the results when modifications of this method, developed by us are used. The reduction of the volume of frozen, respectively infused cell suspension by cell packing (403 patients) or red blood cell reduction (92 patients) also reduce the severe adverse reactions, without deterioration of the cell viability or hematologic recovery results. The long term storage in 41 patients, who underwent two autologous transplantations does not reduce the cell viability or delay hematologic recovery. The hematological recovery in allogeneic stem cell transplantations with cryopreserved with the developed method cells (24 patients) is comparable with the recovery in patients, transplanted with non-frozen allogeneic cells (24 patients).

II. СТАТИИ В НАУЧНИ СПИСАНИЯ

A. Статии в чуждестранни научни списания

2. **Ivan Tonev**, Milcho Mincheff, Human Serum Albumin And Hydroxy Ethyl Starch Are Protective Alone And In Combination For Human Hematopoietic Stem Cells Stored at -80°C With 5% Dimethyl Sulfoxide, SCIREA Journal of Medicine. Vol. 7 , No. 1 , 2023 , 1 - 10 .

<https://doi.org/10.54647/pm31186>

Abstract The preservation of hematopoietic stem cells (HSC), which allows postponing of their

transplantation is by cryoprotection. Dimethyl sulfoxide (DMSO) is a widely used intracellular cryoprotectant which is toxic for cells and patients at temperature above 0 °C. A possible approach to reduce these toxicities is with addition of extracellular cryoprotectors as hydroxyethyl starch (HES) and plasma proteins to allow the use of DMSO in lower final concentration. We tested the protective role of HES and the plasma protein human serum albumin (HSA), a for human hematopoietic stem cells, subjected either to osmotic stress (a major factor in cellular injury during slow freezing) or to cryopreservation by unprogrammed freezing and storage at -80°C. The viability was tested by trypan-blue exclusion assay. HES has a protective effect on HSCs both against osmotic stress and cryopreservation and reduces cell aggregation. Addition of HSA to the cryoprotective solution improves viability and reduces cell clumping after thawing. Cryopreservation of HSCs with final 5% DMSO concentrations can be optimized by the addition of extracellular agents such as HES and HSA. This reduces DMSO toxicity to both HSCs and to patients during transplantation.

Keywords: DMSO concentration, extracellular cryoprotectors, -80 degrees, hydroxyethylstarch, HES, human albumin, HAS, hematopoietic stem cells, HSCs

Б. Статии в български научни списания

3. А. Хаджиянев, В. Бусарски, К. Романски, Н. Мирчев, К. Георгиев, Л. Нучев, Ст. Джендов, И. Илиев, Ч. Ботев, М. Минчев, В. Хрисчев, **И. Тонев**, И. Алтънкова, М. Генова ЕФЕКТИВНА ЛИ Е ТРАНСПЛАНТАЦИЯТА НА АВТОЛОЖНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ РАЗЛИЧНИ УВРЕДИ НА ЦЕНТРАЛНАТА НЕРВНА СИСТЕМА? / А. Hadjianeв, V. Bussarsky, K. Romansky, N. Mirchev, K. Georgiev, L. Nuchev, St. Djendov, I. Iliev, Ch. Botev, M. Minchev, V. Hrishev, **I. Toney**, I. Altankova, M. Genova. /Българска неврохирургия/ Bulg. nevrokhirurg., 9, 2004, N 1, ISSN 1310-2206, с. 65-72, Прев.загл.: Is autologous stem cells transplantation in various injuries of central nervous system effective

Резюме: Осъществено е проучване на ранните резултати от трансплантация на автоложни стволови клетки при различни по характер увреди на централната нервна система (ЦНС) на базата на клинични и експериментални данни за способността на стволовата клетка за пластична плурипотентност при контакт с тъканта на органа – реципиент. Отчита се подобрене в неврологичните и други физиологични функции при 6 от 17 пациента, на 90-ия ден след трансплантацията, както и добра поносимост на процедурата от пациентите. Първоначалните резултати са обнадеждаващи за повлияване при някои трудно лечими и до сега заболявания на ЦНС. Възникват обаче и някои проблеми по отношение на методиката, типа стволова клетка и оценката на ефективността.

4. P. Padeshki, T. Kantardjiev, M. Mincheff, **I. Toney** Expression Library Immunisation Revealing Immuno-dominant Determinants Of Francisella Tularensis Using Plasmid DNA Immunization To Screen Sublibraries For Induction Of Anti-francisella Tularensis Responses In Mice; Problems of Infectious and Parasitic Diseases, 2006. vol. 34: p. 38-40.

SUMMARY The Expression-Library Immunization (ELI) technique was used to take advantage of the relatively small genomes of the pathogen *F.tularensis* and the already established protocols for plasmid DNA immunization in rodents. Two separate representative genomic libraries have been created and tested for that pathogen. The first -encoding secreted products to be processed via the class II MHC presentation pathway and stimulated CD4, CD8 T cell and humoral immunity. Alternatively, products from the second one targeted to the proteasome and processed via the class I MHC presentation pathway for primarily CD8 T cell stimulation. immunization studies were conducted in a DBA mouse model and the expression libraries were screened for protection against *F.tularensis*. Mice were immunized with expression libraries containing the entire genome of the pathogen. Partial (prolongation of survival) protection from pathogen-induced disease in immunized animals identified sub-libraries that contain plasmids encoding for

reactive antigenic epitopes. In this way, expression library immunization provides an unbiased, systemic approach for isolating vaccine candidates.

5. Г. Михайлов, П. Ганева, Н. Василева, Л. Гърчева, М. Генова, Ч. Ботев, **И. Тонев**, М. Минчев и С. Тошков Автоложна стволовоклетъчна трансплантация при пациенти с болест на Ходжкин G. Mihaylov, P. Ganeva, N. Vasileva, L. Garcheva, M. Guenova, Ch. Botev, **I. Toney**, M. Minchev, S. Toshkov. / Клин. трансфуз. хематол. / Klin. i transfus. khematol., 43, 2007, N 1-2, ISSN 0861-7880, с. 68-74, 2 tabl., 4 graph. Sum. Bulg., Engl. 23 ref. Прев. загл.: High-dose therapy with autologous stem cell transplantation for Hodgkin's disease: NCHT - BMT UNIT, Sofia, Bulgaria experience

Резюме. Високодозовата химиотерапия (ВДТ) с последваща автоложна стволовоклетъчна трансплантация (АСКТ) може да подобри преживяемостта на пациентите с болест на Ходжкин (рецидив или резистентни на лечение). Представяме данните на 24 души с болест на Ходжкин (БХ), лекувани с ВДТ и АСКТ в Отделението за трансплантация към НЦХТ - София, за периода октомври 2003-май 2007 г. Анализът е направен, ката са разгледани: основните характеристики на пациентите преди трансплантацията, статусът на заболяването, предходните химиотерапевтични режими, добивът на стволови клетки, времето за хематологично възстановяване, усложненията от трансплантацията, честотата и видът отговор от приложената терапия, общата преживяемост (OS) и свободният от рецидив период. Представени са 24 болни с БХ (резистентни или с рецидив); съотношението мъже/жени е 10/14, а средната възраст - 30 год. (22-38 год.).

Преобладаваща хистология – нодуларна склероза при 18 болни. Статусът на заболяването при диагностицирането е: стадий II - 9, стадий III - 4, стадий IV - 11. По отношение на статуса на заболяването преди АСКТ, ката хемосензитивни са преценени 22-ма пациенти (91,9%), а ката хеморезистентни - 2-ма (8,1%). Средното време за предварителна химиотерапия преди АСКТ е 32,7 месеца (9-94). Проведената високодозова терапия е тип ICE (при 10) или DHAP (при 14), при средно 3 броя курсове. АСКТ е проведена след кондициониращ режим тип BEAM/LACE (20/4). Десет (41,8%) от болните са били с първично резистентна БХ, а 14 (58,2%) - с рецидив на заболяването. Всички болни са реинфузирани с периферни стволови клетки. Средното количество реинфузирани стволови клетки е $6.3 \times 10^6/\text{kg CO } 34+$ (3.2-13.4). По отношение на хематологичното възстановяване средното време за възстановяване на неутрофили ($\sim 0.5 \times 10^9/1$) е 9,8 дни (7-18), а тромбоцитното възстановяване е средно 10,4 дни (7-20). След АСКТ са отчетени следните резултати (на 100-ния ден) - пълна ремисия (ПР) при 10 (41,6%); частична ремисия (ЧР) при 5 (20,8%); прогресия на заболяването (РО) при 8 болни (33,3%). Само 1 е починал рано след трансплантацията на +27-ия ден (TRM 4,4%). По отношение на общата преживяемост към май 2007 г. от всичките 24 трансплантирани 15 са живи, а от тях в ПР са 11, със стабилно заболяване са 3-ма, а 1 е с рецидив на 5-ия месец след трансплантацията. Високодозовата химиотерапия с последваща АСКТ е ефективна терапия при пациентите с рецидив на БХ и при резистентно заболяване.

Статусът на заболяването преди трансплантацията, химиосензитивността и предходната терапия са най-важните параметри, влияещи на общата преживяемост и на свободния от рецидив период. Нашите резултати потвърждават тезата, че АСКТ е свързана с продължителен свободен от рецидив период при значителна част от болните с БХ и че процедурата има ниска токсичност.

Ключови думи: автоложна стволовоклетъчна трансплантация, болест на Ходжкин

Summary. High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation (ASCT) can improve the outcome of relapsed and refractory Hodgkin's disease (HD) patients. We examined the characteristics and outcome of 24 patients with Hodgkin's disease (HD) treated with high-dose therapy (HDT) and autologous transplantation (ASCT) at our BMT Unit between October 2003 and May 2007. Analysis was performed examining patients' characteristics, prior chemotherapy regimens, pre-transplant disease status, HDT regimen, source of stem cells, time

(or hematopoietic recovery, complications of transplantation, response rates, overall survival (OS) and relapse-free survival (PFS). 24 patients with HD (refractory/relapsed) were analyzed. Male/female ratio was 10/14, with median age 30 years (22-38). The predominant histology was nodular sclerosis (17). Disease stage at diagnosis was: stage II(9), stage III(4), stage IV (11). The disease status at the time of salvage therapy after conventional chemotherapy was assessed as chemosensitive in 22 pts (91,9%) and chemo resistant in 2 pts (8,1%). Median time (or primary treatment was 32,7 months (9-94). All of the patients received peripheral blood stem cell graft. Patients were treated with salvage chemotherapy (ICE or DHAP) (10/14) and ASCT with BEAM (20) or LACE (4) as conditioning regimen. Median number of salvage therapy cycles given prior to ASCT was 3. An average of $6,3 \times 10^6$ /kg CD34+ cells was reinfused (range 3,2-13,2). Median time to WBC recovery ($\sim 0.5 \times 10^9$ /l) was 9,8 days (7-18), platelets recovered in median of 10,4 days (7-20). The disease status after the HDT with ASCT was assessed: among 24 patients transplanted, 10 (41,6%) achieved complete remission (CR), 5 (20,8%) – partial remission (PR) , 8 (33,3%) had progressive disease (PD), only one patient died early (+27 day) after transplantation (TRM 4,34%) with sepsis and multiorgan failure (MOF). HDT and ASCT is an effective therapy (or treatment of relapsed and refractory HD patients. The toxicity of HD ASCT can be considered as acceptable.

Disease status and prior treatment before HDT was the most powerful predictive parameter (or OS and PFS.

Our results confirm that HDT with autologous transplantation is associated with a durable PFS in a remarkable proportion of HD patients and that the procedure has a very low early toxicity.

Key words: autologous stem cell transplantation, Hodgkin's disease

6. И.Шандурков, П. Василева, Т. Хергелджиева, Ч.Ботев, **И.Тонев** Цианоакрилатно или автоложно тъканно лепило при роговични перфорации Български офталмологичен преглед год. LIII София 2009 брой 1(I. Shandurkov, P. Vasileva, V. Hergeldjieva, Ch. Botev, I. Tonev. // Bulg. oftalmol. pregled, 53, 2009, N 1, ISSN 1311-0624, с. 14-17, 10 fig., Sum. Bulg., Engl. 7 ref.) Прев.загл.: Cyanoacrylate Or Fibrin Glue For The Treatment Of Minor Corneal Perforations **Резюме:** Цианоакрилатното лепило прилагано при малки роговични перфорации дава добри дългосрочни резултати, поради способността му да се задържа до 2 месеца - време достатъчно за възстановяване целостта на очната повърхност. Автоложното тъканно лепило дава временна оклузия, но не може да предотврати мощната автоагресия и стапяне при имунните заболявания.Приложението на различни видове тъканни лепила е бърза алтернатива на дългите и сложни операции за възстановяване на роговичната цялост.
7. П. Ганева, Г. Арнаудов, Я. Петров ,С. Лозенов, Б.Спасов, М. Минчев, Ч.Ботев, , **И. Тонев**, М. Генова, Л.Гърчева, А. Михова, Г.Балащенко, Г. Михайлов Анализ на резултатите от автоложна стволово клетъчна трансплантация при пациенти с мултиплен миелом за периода януари 2009 г. – декември 2013г., ANALYSIS OF OUTCOMES FOLLOWING AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA FROM JANUARY 2009 - DECEMBER 2013, P. Ganeva, G. Arnaudov, Y. Petrov , S. Lozenov, B.Spasov, M. Minchev, Ch. Botev, **I. Tonev**, M. Genova, L . Garcheva, A. Mihova, G. Balatzenko, G. Mihaylov, Хематология/Hematology, ТОМ/VOL. LII; №1-2 – 2016, 10-16 Данните от нашето едноцентрово проучване показват, че ВДТ с последваща АСКТ е ефективна и безопасна терапевтична опция за пациенти с ММ за съответната възраст. Резултатите по отношение на OS и PFS са независими от възрастта, пола, интервала от диагнозата и последващата АСКТ, докато само при ISS наблюдавахме сигнификантна разлика между групите с 1 и 2 стадий. Индукционната терапия с новите медикаменти води до резултати сравними с тези от АСКТ и индуциране на пълна ремисия в голям брой пациенти. Последващата ВДТ и АСКТ, води до по-дълга OS и PFS и по този начин

консолидира и подобрява терапевтичния отговор и качеството на живот при по-голяма част от пациентите.

8. SHANDURKOV, Ilian; **TONEV, Ivan**. AUTOLOGOUS FIBRIN GLUE IN DOUBLE PERFORATING INJURIES OF THE EYEBALL. Bulgarian Review of Ophthalmology, [S.l.], v. 62, n. 2, p. 30-37, nov. 2018. ISSN 1311-0624. Available at: <<http://journals.mu-varna.bg/index.php/bro/article/view/5172>>. doi:<http://dx.doi.org/10.14748/bro.v0i2.5172>.
Abstract Aim: The aim of this article is to demonstrate the method of eyeball-sparing surgery in double perforating trauma, after a gunshot wound.
Materials and Methods: Three patients with double perforating wounds of the eyeball as a result of a gunshot are presented. The primary surgeries of the anterior segment of the eye were performed by revisions and simple sutures. After a period of 14 to 60 days we performed posterior segment surgeries. The fibrin glue was made of autologous blood, after extraction of its fibrinogen. The tissue sealant was used in all three patients with perforation of the eyeball in the posterior pole. At the end of the vitrectomy in all cases, a silicone oil was implanted as a measure for permanent maintenance of the intraocular pressure.
Results: Sufficient adaptation of the wound in the posterior pole was achieved in all three patients. In all of them there was severe traumatic retinopathy and even loss of retina in some quadrants. In the follow-up period of 6 months to 5 years, we did not find leakage of silicone oil towards orbital structures. Visual acuity was from insecure light perception to full absence of light sensitivity. Esthetically, the eyeball remained with its full volume and mobility.
Conclusion: Autologous fibrin glue provides stable permanent occlusion after trauma with significant loss of tissue in the posterior pole of the eyeball, where it is impossible to place sutures.
Keywords: autologous fibrin glue; double perforating injuries; eye-saving surgery
9. И. Митков, С. Симеонов, **И. Тонев**, М. Минчев Имунологични промени при екстракорпорална фотофереза //, Immunological Changes After Extracorporeal Photopheresis, I. Mitkov, S. Simeonov, **I. Tonev**, M. Mincheff, Хематология/Hematology, ТОМ/VOL. LIV – №1-2 – 2018, 15-19
Резюме. Екстракорпоралната фотофереза е нов метод за лечение на автоимунни заболявания, на реакцията на присадения графт срещу приемателя след аlogenна трансплантация на хемопоетични стволови клетки и на отхвърляне на трансплантирани солидни органи като бял дроб, сърце и др. Смята се, че в основата на механизма на действие на този терапевтичен метод стои индуцирането на апоптоза в имунните клетки на дарителя (при трансплантация на стволови хемопоетични клетки) или на приемателя при солидни трансплантати. Това води до промяна на цитокиновата секреция при имунна стимулация, както и до увеличаване на количеството на популация от специализирани супресорни Т лимфоцити, добили гражданственост като Т-регулаторни клетки, характеризиращи се с флоу-цитометрична характеристика CD4+CD25+ FoxP3+.
Abstract. Extracorporeal photopheresis is a new method for treatment of autoimmune diseases, graft-versus-Host Disease (GvHD) following hemopoietic stem cell transplants and for rejection of solid transplants such as lungs, heart etc. Apoptosis induction of donor (stem cell transplants) or recipient (solid transplants) immune cells, changes in the cytokine profile after immune stimulation, combined with an increase of T regulatory (CD4+CD25+FoxP3+) cells is the basic mechanism of this therapeutical approach.
10. **Иван Тонев**, Милчо Минчев Настъплението на имунотерапията в хематологията, Медик Плюс, година III, декември 2021, 106-108
Резюме: Туморни клетки се образуват непрекъснато в човешкия организъм като грешка на клетъчното делене, но биват разпознавани и унищожавани от имунната система. При злокачествено заболяване като основни клетъчни ефектори на противотуморния имунитет,

T-лимфоцитите не разпознават туморните клетки или са с потисната реактивност към тях. Понастоящем в лечението на рецидивирани или рефрактерни хематологични неоплазии се използват биспецифични антитела, които свързват T-клетъчния рецептор с тумор-асоцииран антиген или моноклонални антитела срещу имунните check-points, насочвайки T-лимфоцитите от толерантност към активация. Широко се използват и моноклонални антитела срещу специфични мишени върху неопластични клетки, самостоятелно или в комбинация с химиотерапия.

Трансплантацията на хемопоетични стволови клетки (ХСК) е основен метод на лечение на онкохематологичните заболявания. При автоложна трансплантация източник на ХСК е самият пациент и се разчита на високите дози цитостатици и пренастройка на съществуващата имунна система. При алогенната трансплантация източник е здрав човек, от когото освен ХСК се вкарва изцяло нова имунна система, разчитайки на реакцията на присадката срещу тумора (Graft vs Tumor (GvT)). Тя води до повече усложнения, защото новата имунна система атакува и здравите клетки на приемника - т. нар. болест на присадката срещу приемателя (Graft vs Host Disease (GvHD)).

Трудното постигане на баланс между GvT и GvHD налага търсенето на подходи чрез модифициране на имунната система на пациента, с преливането на подходящи клетки - т. нар. компонентна трансплантация. Върхово постижение в момента е терапията с T-клетки с химерични антигенни рецептори, разпознаващи определен туморен антиген. Засега тя е основно насочена срещу остра лимфобластна левкемия и B-клетъчни лимфоми, но все повече навлиза и при лечението на множествения миелом и острата миелоидна левкемия.

11. Иван Тонев Мобилизационни режими за получаване на хемопоетични стволови клетки за целите на трансплантацията МедИнфо, Брой 12, Година XXI, декември 2021, 54-57

Резюме: Трансплантацията на хемопоетични стволови клетки (ТХСК) е съвременен метод за лечение на доброкачествени и злокачествени хематологични заболявания. Все по-често като източник на хемопоетични стволови клетки (ХСК) се използва периферна кръв поради по-малката инвазивност на процедурата и по-бързото хематологично възстановяване след трансплантация. За да могат да бъдат получени от периферна кръв чрез цитафереза, ХСК трябва да бъдат мобилизирани – т.е. те да напуснат костномозъчната ниша и да навлязат в периферното кръвообращение. Мобилизацията се извършва чрез прилагане на колонио стимулиращи фактори (КСФ), които се използват самостоятелно или в комбинация с химиотерапия. По-високата възраст и по-големия брой предходни химиотерапии, особено с цитостатици с изразена миелотоксичност, както и ангажирането на костния мозък от някои заболявания като множествения миелом, са предпоставка за затруднена или неуспешна мобилизация. Тогава не е възможно да се съберат достатъчно клетки за трансплантация или за постигане на необходимия добив се провеждат повече процедури за получаване. За решаването на този проблем в практиката през последното десетилетие навлезе медикаментът плериксафор, който като антагонистът на рецептора CXCR-4 отслабва прикрепването на ХСК към стромалните клетки в костно-мозъчната ниша. Съобщения за постигане на по-добри добиви след хемомобилизация с цитарабин и G-CSF при пациенти с миелом показват още една възможност за постигане на достатъчен клетъчен добив при тази проблемна група пациенти.

Ключови думи: трансплантация, мобилизация, хемопоетични стволови клетки от периферна кръв, колонио-стимулиращ фактор (КСФ)

12. Красен Венков, Камелия Милчева, Иван Тонев Остра реакция на присадката срещу приемателя. Същност, патогенеза и рискови фактори, терапевтични възможности МедИнфо, Брой 12, Година XXI, декември 2021, 58-61

Резюме АЛОГЕННАТА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ (ало-ТХСК) е процедура, при която хемопоетичната и имунната системи на дарителя заместват тези на приемателя. Реакцията на присадката срещу приемателя (GvHD),

Graft versus Host Disease) представлява отговора на донорските имунокомпетентни клетки към „непознати“ за нея тъкани и органи (тези на реципиента). Острата GvHD е сериозно и потенциално фатално усложнение след ало-ТХСК. Основни рискови фактори са степента на HLA несъвместимост между дарителя и приемателя, използването на неродствен донор, повишаването на интензитета на кондициониращия режим. Патогенезата включва активация на донорски Т-лимфоцити, пролиферацията им и последващата им атака срещу тъканите и органи на реципиента. Въпреки навлизането на нови молекули в лечението на това усложнение, гръбнакът на терапията си остават системните кортикостероиди.

13. Иван Тонев Клетъчната терапия в хематологията – успехи и предизвикателства МедИнфо, Брой 01, Година XXII, януари 2022, 348-351

Резюме: Един от подходите за прицелно лечение на злокачествените заболявания с минимално увреждане на нормалните тъкани е имунотерапията и като част от нея клетъчната имунотерапия, която навлиза все повече в съвременното лечение на хематологични заболявания. Първите успехи на това лечение са свързани с прилагането на трансплантацията на хемопоеични стволови клетки при апластична анемия и при остри левкемии. В следствие след откриване на ефекта на присадката срещу тумора като основен механизъм, определящ преживяемостта след алогенна трансплантация при пациенти с левкемия, в терапията навлизат донорните лимфоцитни инфузии. Стремещт Т лимфоцитите да бъдат специфично насочени към туморните клетки води до въвеждането и на биспецифичните антители, ангажиращи Т – лимфоцитите (ViTEs) или клетките – естествени убийци NK (ViKEs), които свързват Т-клетъчния рецептор с тумор-асоцииран антиген. За да се преодолее супресията на имунния отговор в туморната микросреда от отделяните в нея цитокини в практиката все повече навлизат медикаменти, насочващи взаимодействието на ниво имуно синапс (т. нар. check-points), в който антиген представящите клетки и цитотоксичните Т – лимфоцити си взаимодействат. Друг подход е култивиране или активиране на антиген – представящи клетки извън имunosупресивната туморна микросреда. Върхово постижение в момента е терапията с Т-клетки с химерични антигенни рецептори (Т-ХАР), разпознаващи определен туморен антиген. За преодоляване на резистентност и рецидиви в последните години се използват и Т – клетки с биспецифични химерични антигенни рецептори.

Освен за специфична терапия, левкоцити се използват за лечение на инфекциозните усложнения, настъпили поради непълноценния естествен и адаптивен имунитет на пациентите, страдащи от хематологичните заболявания. В случаи на тежки инфекции поради цитопения могат да се използват гранулоцитни концентрати или вирус – специфични Т – лимфоцити.

14. Е. Алексов, И. Тонев, М. Ягуриноски, К. Венков, Й. Лазарова, М. Генова, Г. Балаценко, Г. Арнаудов, Б. Спасов Терапевтични подходи при пациенти с МДС - интермедиерен-2 и висок риск – данни от реалната клинична практика на един център, // Е. Aleksov, **I. Toney**, М. Jagurinoski, К. Venkov, Y. Lazarova, М. Guenova, G. Arnaudov G. Balatzenko, В. Spassov Therapeutic approach in patients with intermediate – 2 and high risk MDS – real world data from the clinical experience of single institution, Хематология/Hematology, ТОМ/VOL. LVIII – №1-2 – 2022, 37-44

Резюме. Хетерогенността на миелодиспластичните синдроми е един от ключовите фактори, затрудняващи както изработването на ясни терапевтични алгоритми, така и избора на терапия в условията на реалната клинична практика, като това е особено валидно за високорисковите по отношение на прогресията на заболяването групи. В това проучване, основната ни цел, бе да бъде направена оценка на предимствата на различните терапевтичните стратегии при тези пациенти, категоризирани така след стратификация съгласно IPSS в групите междинен-2 и висок риск. Общо 58 пациенти със средната възраст 63,5 год. и съотношение мъже:жени – 67.2:32.8 %, бяха подложени на анализ. От тях

конвенционална химиотерапия е приложена при 8 (13.7 %), лечение с хипометилиращ агент - при 38 (65.5 %), при 11 (19 %) е проведена алогенна трансплантация на хемопоеични стволови клетки, а при 13 (22.4%) е приложена поддържаща терапия. Анализът на общата преживяемост в зависимост от вида на терапията, даде следните резултати: 1 (100%) пациент на терапия Аза+ХТ+АСКТ е жив; 7 (70%) от пациентите на терапия Аза+АСКТ са живи; 13 (48.1%) от пациентите на терапия Аза са живи; 5 (38.5%) от пациентите на поддържаща терапия са живи и 1 (14.3%) от пациентите на ХТ са живи ($p=0.007$). Видът на терапията при пациенти над 65 годишна възраст, не се различава сигнификантно ($p>0.05$) по отношение на общата преживяемост, докато при групата на пациентите под 65 години, видът на терапията дава статистически значима разлика ($p=0.013$). Нашите изводи са, че АСКТ и лечението с хипометилиращи агенти притежават потенциал за промяна в хода на заболяването, по-дълга преживяемост до трансформация в ОМЛ, както и значимо по-дълга обща преживяемост. Необходими са бъдещи проучвания, които да установят терапевтичния алгоритъм при тези пациенти.

Ключови думи: МДС, трансформация в ОМЛ, АСКТ, IPSS, риск, терапия

Abstract. The heterogeneity of myelodysplastic syndromes is one of the key factors making difficult development of clear therapeutic algorithms and the choice of therapy in real clinical practice, and this is especially challenging for high-risk groups MDS, in terms of disease progression. In this study, our main goal was to evaluate the benefits of different treatment strategies in these patients, categorized according to IPSS in the intermediate-2 and high risk groups. A total of 58 patients with a mean age of 63.5 years and a male to female ratio of 67.2:32.8% were analyzed. Conventional chemotherapy was administered in 8 (13.7%) patients, treatment with hypomethylating agent - in 38 (65.5%), in 11 (19%) allogeneic hematopoietic stem cell transplantation was performed, and 13 (22.4%) were on maintenance therapy only. The analysis of the overall survival, depending on the type of therapy, showed the following results: 1 (100%) patient on therapy Aza + HT + ASCT is alive; 7 (70%) of Aza + ASCT patients were alive; 13 (48.1%) of Aza therapy patients are alive; 5 (38.5%) of the patients on maintenance therapy were alive and 1 (14.3%) of the patients on HT were alive ($p = 0.007$). The type of therapy in patients over 65 years of age, did not differ significantly ($p > 0.05$) in terms of overall survival, while in the group of patients under 65 years of age, the type of therapy reported a statistically significant difference ($p = 0.013$). Our findings are that ASCT and treatment with hypomethylating agents have the potential to change the course of the disease, provide longer period to AML transformation, ensure significantly longer overall survival. Future studies are needed to establish the therapeutic algorithm in these patients.

Key words: MDS, AML transformation, HSCT, IPSS; Risk; Therapy

15. **И. Тонев**, М. Минчев Въздействие на смяната на температурата на съхранение между -80°C и -196°C върху човешки хемопоеични стволови клетки, замразени с 5% диметилсулфоксид (ДМСО, // I. Tonev, M. Mincheff, Influence of Temperature Recirculation Between -80°C And -196°C On Human Hematopoietic Stem Cells Frozen With 5% Dimethylsulphoxide (DMSO), Хематология/Hematology, TOM/VOL. LVIII – №1-2 – 2022, 55-57

Резюме: Ние съхраняваме хемопоеичните стволови клетки на нашите пациенти с криопротективен разтвор с 5% диметилсулфоксид след непрограмирано замразяване при температура -80°C . За да проверим дали преходът на замразената по този начин суспензия през температура -135°C води до увреждане на клетките чрез процеси на рекристализация, ние изследвахме дали няколко цикъла на температурен преход от по-високи към по-ниски отрицателни температури и обратно намаляват тяхната жизненост. След поставяне в течен азот и обратно във фризера, при един или два цикъла на температурен преход, ние изследвахме тяхната виталност след размразяване по метода с трипаново синьо. Установихме, че жизнеността на ХСК след подлагането им на този термичен стрес намалява клетъчната жизненост с около 1% и тя остава по-висока от 90%. Тези

първоначални данни показват, че непрограмно замразени клетки, съхранявани при -80°C с 5% ДМСО могат да бъдат подложени на неколкостепенна промяна на температурния режим на съхранение без това да влоши тяхната виталност.

Ключови думи: 5% ДМСО, екстрацелуларни криопротектори, -80 градуса, течен азот, хемопоеични стволови клетки, ХСК

Abstract: We store the hematopoietic stem cells of our patients with cryoprotective solution with 5% dimethyl sulfoxide after unprogrammed freezing at -80°C . In order to evaluate if the transition through -135°C of such frozen suspension leads to cell injury through recrystallization we tested if several recirculations from higher to lower temperatures below zero and back decrease their viability. After putting the cells in liquid nitrogen and back to the freezer with one or two cycles we tested their viability after thawing by trypan blue method. We found that the viability of the cells after such thermal stress is decreased with about 1% and remains above 90%. These preliminary data show that unprogrammed frozen cells, stored at -80°C with 5% DMSO can be subjected to changes in the storage temperature without decreasing their viability.

Keywords: 5% DMSO, extracellular cryoprotectors, -80 degrees, liquid nitrogen, hematopoietic stem cells, HSCs

16. К. Милчева, К. Венков, **И. Тонев**, Й. Лазарова, Е. Насева, П. Ганева. РАННО ЛИМФОЦИТНО ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ КАТО НЕЗАВИСИМ ПРОГНОСТИЧЕН ФАКТОР ЗА ИЗХОД ОТ АЛОГЕННА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ И МИЕЛОДИСПЛСТИЧЕН СИНДРОМ, // К. Milcheva, K. Venkov, I. Tonev, J. Lazarova, E. Naseva, P. Ganeva., EARLY LYMPHOCYTIC RECOVERY AS AN INDEPENDENT PROGNOSTIC FACTOR FOR THE OUTCOME OF ALLOGENEIC TRANSPLANTATION OF HEMATOPOETIC STEM CELLS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKAEMIA AND MYELODYSPLASTIC SYNDROME, Хематология/Hematology, ТОМ/VOL. LVIII – №3-4 – 2022, 38-45

Резюме. Въведение. Алогенната трансплантация на стволови клетки (АлоСКТ) е доказан терапевтичен метод, но все още свързан със значителна заболеваемост и смъртност. Рецидивът и смъртността от самата процедура са основни причини за неуспех от АлоСКТ. Установяването на рисковите фактори продължава да бъде обект на задълбочени научни изследвания.

Цел: Идентифициране на стойността и времевата точка на ранно лимфоцитно възстановяване, представено като абсолютен лимфоцитен брой (АЛБ) и тяхното прогностично значение за изхода от АлоСКТ.

Материали и методи. За периода 2017-2021 г. ретроспективно са анализирани демографските, личните и лабораторните данни от електронните досиета на 70 пациенти с остри левкемии и миелодиспластичен синдром, получили АлоСКТ. Оценката на ранното лимфоцитно възстановяване (РЛВ) като АЛБ е извършена на Д+21 и Д+30. С регресионен анализ на Cox е проверена значимостта им при оценката на общата преживяемост (OS) и като значим се доказва само АЛБ Д+21. Използвани са ROC криви за определяне на най-добрата гранична стойност на Д+21 по отношение на OS, която отговаря на АЛБ $220 \times 10^9/l$. На базата на създадената нова променлива, пациентите са групирани и оценени в две групи – ЗЛВ с АЛБ $< 220 \times 10^9/l$ и РЛВ с АЛБ $\geq 220 \times 10^9/l$.

Резултати. От анализираните 70 болни 47 са мъже (67,1%) и 23 жени (32,9%) на средна възраст 46 (21–68) год. При медиана на проследяването 17,9 месеца, медианата на общата преживяемост (OS) за групата с РЛВ не е достигната, а при тези със забавено лимфоцитно възстановяване (ЗЛВ) е 7,5 месеца. Налице е тенденция за удължена свободна от прогресия преживяемост (PFS) и по-ниска кумулативна честота на рецидив (CIR) за пациентите с РЛВ, но не се доказва статистическа значимост, за разлика от смъртността, която не е свързана с рецидив (NRM), където времето до настъпване на събитие е значимо по-дълго за пациентите с РЛВ ($p=0,039$). Доказва се и сигнификантно по-висока честота на

хронична реакция на присадката (сGVHD) за групата на РЛВ – 88,2% срещу 11,1 %.

Заклучение. АЛБ Д+21 е биологично значим прогностичен фактор за изхода от трансплантацията – универсален, достъпен, лесно измерим, евтин.

Ключови думи: алогенна трансплантация, остра левкемия, лимфоцитно възстановяване, изход от трансплантация

Abstract. Introduction. Allogeneic stem cell transplantation (AlloSCT) is a therapeutic method for the treatment of a large number of malignant and non-malignant hematological diseases, still associated with significant morbidity and mortality. Disease relapse and non-relapse mortality (NRM) remain the main causes of failure from AlloSCT. The identification of the risk factors associated with this continue to be a subject of extensive scientific research.

Aim. The aim of the study is to identify the value and time point of early lymphocyte recovery, presented as absolute lymphocyte count (ALC), that would have prognostic significance for the outcome of AlloSCT.

Materials and methods. Between 2017 and 2021 retrospectively are analyzed demographic, clinical and laboratory data from the electronic records of 70 patients with acute leukemias and myelodysplastic syndrome, who underwent allo-transplantation. The evaluation of the early lymphocyte recovery (ELR) like ALC, is performed on days +21 and +30, their relevance for the overall survival (OS) is checked with Cox regression analysis and as significant is proven only ALC +21. ROC curves are used to determine the best cut-off value on D +21, concerning OS, which corresponds to ALC $220 \times 10^9/l$. Based on the created new variable, the patients are grouped and evaluated in two groups – delayed lymphocyte recovery (DLR) with ALC $< 220 \times 10^9/l$ and ELR with ALC $\geq 220 \times 10^9/l$.

Results. From 70 patients included in the analysis, 47 are men (67.1%) and 23 are women (32.9%) with an average age 43 (range 21-68) years. At a median follow-up of 17.9 months, the median overall survival (OS) for the group with ELR is not reached, and for those with DLR it is 7.5 months. There is a trend for prolonged progression-free survival (PFS) and lower cumulative recurrence rate (CIR) for patients with ALB D+21 $>220 \times 10^9/L$, but no statistical significance is demonstrated, in contrast to nonrelaps mortality (NRM), where time to event is significantly longer for the patients with ELR ($p=0.039$). A significantly higher incidence of chronic graft versus host disease (сGVHD) is also demonstrated for the ELR group (88.2% vs. 11.1%).

Key words: allogeneic transplantation, acute leukaemia, lymphocyte recovery, outcome of allogeneic transplantation

17. **И. Тонев**, М. Минчев ПРОТЕКТИВЕН ЕФЕКТ НА ИЗВЪНКЛЕТЪЧНИ КРИОПРОТЕКТОРИ ВЪРХУ ЧОВЕШКИ ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ, ЗАМРАЗЕНИ С 5% ДИМЕТИЛСУЛФОКСИД (ДМСО), // **I. Tonev**, M. Mincheff PROTECTIVE EFFECT OF EXTRACELLULAR CRYOPROTECTORS ON HUMAN HEMATOPOIETIC STEM CELLS FROZEN WITH 5% DIMETHYLSULPHOXIDE (DMSO), Хематология/Hematology, ТОМ/VOL. LVIII – №3-4 – 2022, 46-50

Резюме: Криоконсервирането на хемопоетични стволови клетки (ХСК) позволява трансплантацията да се извърши на по-късен етап след подходяща подготовка на пациента. Диметилсулфоксидът е широко използван криопротектор, който при температури над 0°C е токсичен както за клетките, така и за пациентите. Един от подходите да се намали тази токсичност е употребата му в по-ниска крайна концентрация. За да може да се запази протективният ефект към разтвора най-често се добавят екстрацелуларни криопротектори, които са високомолекулни вещества като захари и плазмени протеини. За целта изследвахме защитната роля на хидроксиетил скорбяла (ХЕС) за човешки хемопоетични стволови клетки, подложени на осмотичен стрес (основен фактор в клетъчното увреждане при бавно замразяване). Допълнително проверихме протективният ефект на разтвор, съдържащ комбинацията от ХЕС и човешки серумен албумин (ЧСА) с 5% ДМСО за ХСК, замразени с висока клетъчна концентрация след непрограмирано замразяване и съхранение

при -80°C . За двата експеримента използвахме тест за клетъчна жизнестойност с багрилото трипаново синьо.

ХЕС има протективен ефект върху ХСК както при излагането им на осмотичен стрес, така и при криогенното им съхранение. Добавянето на ЧСА към криопротективния разтвор подобрява жизнестойността и намалява клетъчната агрегация след размразяване. Криогенното съхранение на хемопоеични стволови клетки с крайна концентрация на ДМСО 5% се подобрява от добавянето на екстрацелуларни агенти като ХЕС и ЧСА и позволява намаляване на токсичността на ДМСО за клетките и пациентите по време на трансплантация.

Ключови думи: концентрация на ДМСО, екстрацелуларни криопротектори, -80 градуса, хидроксиетил скорбяла, ХЕС, човешки албумин, ЧСА, хемопоеични стволови клетки, ХСК

Abstract: The cryoprotection is crucial for the preservation of hematopoietic stem cells (HSC), which allows postponing of their transplantation. Dimethyl sulfoxide (DMSO) is a widely used intracellular cryoprotectant which is toxic for cells and patients. One of the approaches to reduce these toxicities is its use in lower final concentration with addition of extracellular cryoprotectors as hydroxyethyl starch (HES) and plasma proteins like human serum albumin (HSA). We tested the protective role of HES and HSA for human hematopoietic stem cells subjected either to osmotic stress (a major factor in cellular injury during slow freezing) or to cryopreservation by unprogrammed freezing and storage at -80°C . Trypan-blue exclusion assay was used as a viability test. HES has a protective effect on HSCs both against osmotic stress and cryopreservation. Addition of HSA to the cryoprotective solution improves viability and reduces cell clumping after thawing. Cryopreservation of HSCs with final 5% DMSO concentrations is optimized by the addition of extracellular agents such as HES and HAS thus allowing the reduction of DMSO toxicity to both HSCs and to patients during transplantation.

Keywords: DMSO concentration, extracellular cryoprotectors, -80 degrees, hydroxyethylstarch, HES, human albumin, HAS, hematopoietic stem cells, HSCs

18. И. Шандурков, **И. Тонев**, П. Василева Приложение на автоложно тъканно лепило в офталмологията GP News 8/2022, 5-7

Резюме: Цел: Да представим методика на органосъхраняваща хирургия при перфоративни травми на очната ябълка.

Методи: Преставят се пациенти с роговични и двойно перфоративни наранявания на очната ябълка, следствие от попадане на проектил от ловна пушка. Автоложното тъканно лепило беше изработено от собствена кръв на пациентите, чрез процес на екстракция на фибриногена, съдържащ се в нея. Тъканно лепило приложихме и при всички демонстрирани пациенти, с цел съхраняване на очната ябълка.

Резултати: Постигна се отлична адаптация на входната и изходната рана. При случаи с роговична перфорация са постигнали добро зрително възстановяване, а при тези с огнестрелна рана имаше тежка травматична ретинопатия и липса на ретина в някои квадранти. За период на наблюдение от 6 месеца до 5 години при нито един пациент не установихме фтиза на очната ябълка. Естетично очите при пациентите се запазиха с нормален обем и подвижност.

Заклучение: Автоложното тъканно лепило дава добра перманентна оклузия при травми със значителна липса на тъкан при случаи, където е невъзможно да се възстанови интегритетът на тъканите чрез зашиване с конци.

19. **Иван Тонев**, Милчо Минчев; Нискотемпературно съхранение на стволови хемопоеични клетки за трансплантация. Въздействие на повишаване на температурата при аварийни ситуации върху тяхната жизнестойност; Наука онкохематология, година II, 2022, 36-39

Резюме: Ние съхраняваме хемопоеичните стволови клетки (ХСК) за трансплантация след непрограмирано замразяване при температура -80°C с криопротективен разтвор с крайна 5% концентрация на диметилсулфоксид. Тъй като се счита, че съхранението на клетки над температура -135°C увеличава риска от рекристализация и увреждане на клетките, изследвахме дали временно или постоянно повишаване на температурата на съхранение може да намали жизнеността на клетките и ако да, след колко време това би настъпило. ХСК, съхранявани при температура -80°C бяха прехвърлени за различни периоди от време при –при -20°C или при $+4^{\circ}\text{C}$. Клетките бяха в три групи: в първата бяха поставени на -20°C , във втората при $+4^{\circ}\text{C}$ за 24 часа, а в третата последователно за по 24 часа клетките престояха при -20°C , после при $+4^{\circ}\text{C}$ и след това отново при -20°C . И в трите групи след престоя при по-висока температура клетките бяха върнати при -80°C , след което бяха размразени и беше отчетена виталността им по метода с трипаново синьо. Установихме, че виталността на клетките, претърпели повишаване на температурата само до -20°C за 24 часа, е значително по-висока (средно 79% (76-84%)) от тази в другите две групи (съответно 53% (51-56%)) във втората и 47% (45-49%) в третата група). Макар и с малка разлика, престоят за по-дълго време при по-висока температура води до по-ниска клетъчна жизненост. Тези първоначални данни показват, че за непрограмно замразени клетки, съхранявани при -80°C с 5% ДМСО краткотрайно повишаване на температурата (до 24 ч при -20°C) понижава клетъчната жизненост в приемливи граници. По-продължително затопляне, особено при по-високи температури, значително влошава виталността, като са необходими допълнителни изследвания за да се определят безопасни граници на температура и времетраене на съхранение над -80°C след замразявания с използвания от нас режим.

Ключови думи: 5% ДМСО, -80 градуса, аварийно размразяване, хемопоеични стволови клетки, ХСК

Abstract: We store the hematopoietic stem cells (HSC) for transplantation using cryoprotective solution with final 5% dimethyl sulfoxide after unprogrammed freezing at -80°C . Since it is accepted, that cell storage at temperatures above -135°C increases the risk of cell injury through recrystallization we tested if temporary or constant elevation of storage temperature may decrease their viability and what length of exposure may be deleterious. HSCs stored at -80°C in a mechanical freezer were transferred at higher temperatures (-20°C or $+4^{\circ}\text{C}$) for different periods of time. The cells were divided in three groups: in the first they were transferred at -20°C for 24 hours, in the second at $+4^{\circ}\text{C}$ for 24 hours and in the third group the cells were recycled consecutively at -20°C followed by $+4^{\circ}\text{C}$ and again at -20°C . The three groups of cells were returned at -80°C and their viability after thawing was tested by trypan blue exclusion. We found that the viability of the cells after 24 hours at -20°C is significantly higher in the first group (average 79% (76-84%)) compared with the other two groups (53% (51-56%) for transfer to -20°C and 47% (45-49%) for the recycled group. These preliminary data show that after unprogrammed freezing at -80°C with our cryoprotectant solution cells retain their viability at acceptable limits following transfer to -20°C for 24 hours. Longer exposure or recycling at higher temperatures further reduces cell viability. Additional studies are necessary to define ranges of temperature and time of exposure of cells frozen at -80°C that can be safe.

Keywords: 5% DMSO, extracellular cryoprotectors, -80 degrees, liquid nitrogen, hematopoietic stem cells, HSCs

20. Никола Маджаров, Ружа Николова, Каролина Любомирова, Тодор Кундуржиев, **Иван Тонев**, Progression of psychosocial stress in nurses working in hemodialysis during exposure to pandemic SARS – COVID19 in Bulgaria; Acta Medica Bulgarica 2023 – прието за печат

Резюме: Експанзионистичното разпространение на заболяването от нов вид вирус – SARS-CoV-2 обхваща глобално целия ни свят. Здравната система, обществото и медицинските специалисти експресно се подготвиха за да се пригодят, обучат и устоят на

повишения психо-социален натиск. В тази ситуация осезаемо изпъкна ролята и мястото на медицинските специалисти, а психо-социалният стрес от работната среда повиши въздействието си. Той прогресира до високи нива на вреден интензитет върху медицински специалисти. Фокусирайки се в границите на РБългария, може да се твърди, че първоначалните две вълни от високи нива на разпространение на COVID-19 се преодоляха трудно и критично. Цел на настоящата статия е изследване на въздействието от експозицията на психо-социален стрес върху функционалното състояние на организма на медицински сестри, упражняващи дългосрочни грижи в клиники и центрове по хемодиализа в условията на пандемия от COVID-19. Проведено е проучване за субективната оценка на психологическите и социални рискови фактори и на артериалното систолично и диастолично налягане съответно през 2018-2019 (пре-Ковиден) и 2020 година (Ковиден). Използваните методи са въпросникът на NIOSH за оценка на психо-социалния стрес при работа и сфигмоманометрично измерване на артериалното налягане. Резултатите показват, че прогресията на психо-социалните рискове от работна среда въздействат върху функционалното състояние на медицинските сестри, като се наблюдава повишение на нивото на социалната подкрепа и систоличното артериално налягане в Ковидния в сравнение с пре-Ковидния период, и намаление на нивото на контрола при сравнение на същите периоди. Със загриженост ще следим и наблюдаваме тези ефекти, за да може своевременно да се реагира с ефикасни и практични стратегии, политики и програми за противодействие и превенция на психо-социалния стрес на работното място. Една от очертаните водещи цели и тенденции за това ще е, както съхраняване и удължаване на трудово-цикличния живот на медицинските сестри, така и тяхното препозициониране в степен на ключова, рискова и значима за здравеопазването група.

Ключови думи: пандемия SARS COVID-19, прогресия на психо-социалния стрес, медицински сестри, хемодиализа, артериалноналягане

Summary: The exponential spread of a new type of virus, SARS-CoV-2, has spread globally throughout our world. The health care system, society and medical professionals have prepared rapidly to adapt, train and resist the increased psychosocial pressure. In this situation, the role and place of medical professionals has become noticeably more prominent, and the psychosocial stress of the work environment has increased its impact – progressing to high levels of harmful intensity towards the medical professionals. Focusing within the borders of Bulgaria, it can be argued that the initial two waves of high levels of COVID-19 prevalence were difficult and critical to overcome. The aim of this article is to investigate the impact of exposure to psychosocial stress on the functional status of nurses, practicing long-term care in hemodialysis clinics and centers in the context of a COVID-19 pandemic. A study was conducted on the subjective assessment of psychological and social risk factors and arterial systolic and diastolic blood pressure in 2018-2019 (pre-Covid) and 2020 (Covid), respectively. The methods used were the NIOSH questionnaire – to assess psychosocial stress at work and sphygmomanometric measurement of blood pressure. The results showed that the progression of psychosocial risks from the work environment impacted on the functional status of nurses, with an increase in the level of social support and systolic blood pressure during the Covid compared to the pre-Covid period, and a decrease in the level of control when comparing the same periods. We will monitor and observe these effects with concern in order to respond in a timely manner with effective and practical strategies, policies and programs to counter and prevent psychosocial stress in the workplace. One of the outlined guiding goals and trends for this will be to both preserve and prolong the work life of nurses and to reposition them as a key and significant group for the healthcare system.

Key words: SARS COVID-19 pandemic, psychosocial stress progression, nurses, hemodialysis, arterial pressure

21. Милчо Минчев, Иван Тонев, Станислав Симеонов; Тромботични микроангиопатии (ТМА) – Диагноза и диференциална диагноза Хематология/Hematology, ТОМ/VOL.XLIX – №1-2 – 2023, прието за печат

Резюме: Тромботичните микроангиопатии (ТМА) включват различни състояния, в чиято патогенеза лежи микротромбоза на малките кръвоносни съдове. При тях увредата на ендотелните клетки води до три основни клинични прояви: микроангиопатична хемолитична анемия, тромбоцитопения и исхемично увреждане на тъкани. Етиологията им е разнообразна - дефицит на протеази, разграждащи фон Вилебранд фактора (VWF), ентеробактериални токсини, нарушена регулация на комплемента, ендотелна увреда. Вторичните ТМА се предизвикват от редица заболявания или медикаменти, но по-често тези фактори не предизвикват клинична проява.

Различните форми на ТМА изискват различно патогенетично лечение, поради което е важно диагнозата да бъде уточнена на възможно най-ранен етап. Освен широко използвани лабораторни тестове като пълна кръвна картина и биохимия, важни в диагностиката са имунохематологичните тестове както и специфични изследвания за нива на ADAMTS-13, C3 протеин от комплемента, наличие на Shiga-токсин и други. Вторичните ТМА изискват ранно идентифициране на първопричината, след което нейното отстраняване може да е дефинитивното лечение. ТМА имат и различна прогноза – от прогресивна бъбречна недостатъчност в над 60% от случаите на атипичен ХУС до пълно възстановяване в около 90% при ТТП.

Ключови Думи: Тромботични микроангиопатии (ТМА), Тромботична тромбоцитопенична пурпура (ТТП), Хемолитично-уремичен синдром (ХУС), HELLP синдром, ADAMTS-13

Abstract: Thrombotic microangiopathies (TMA) are a variety of clinical conditions which pathogenesis involves thrombosis of the microcirculation. The injury of endothelial cells leads to three major clinical manifestations: microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and ischemic tissue injury. Their etiology is variable – deficiency of von Willebrand factor (VWF) proteases, enterobacterial toxins, dysregulation of complement activation, endothelial injury. Secondary TMAs are provoked by multitude of diseases and medications, but often these factors do not lead to clinical manifestation.

The different forms of TMAs require different pathogenetic treatment, requiring the diagnosis to be certain as early as possible. Together with widely used laboratory tests like complete blood count and biochemistry, important for the diagnosis are immunohematology and specific tests like ADAMTS-13 levels, C3 complement fraction, Shiga toxin presence, and other. The secondary TMAs require early identification of the of the etiologic factor, because its removal can be definitive treatment. TMAs have different prognosis varying from progressive renal failure in 60% of atypical HUS patients to complete recovery in about 90% in TTP.

Key words: Thrombotic microangiopathies (TMA), thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), hemolytic uremic syndrome (HUS), HELLP syndrome, ADAMTS-13

22. Милчо Минчев, **Иван Тонев**, Станислав Симеонов; Тромботични микроангиопатии (ТМА) – лечение; Хематология/Hematology, ТОМ/VOL.XLIX – №1-2 – 2023, прието за печат

Резюме: Тромботичните микроангиопатии (ТМА) включват различни състояния, в чиято патогенеза лежи микротромбоза на малките кръвоносни съдове. При тях увредата на ендотелните клетки води до три основни клинични прояви: микроангиопатична хемолитична анемия, тромбоцитопения и исхемично увреждане на тъкани. Етиологията им е разнообразна - дефицит на протеази, разграждащи фон Вилебранд фактора (VWF), ентеробактериални токсини, нарушена регулация на комплемента, ендотелна увреда. Вторичните ТМА могат да се предизвикат от редица заболявания или медикаменти, но по-често тези фактори не предизвикват клинична проява.

Различните форми на ТМА изискват различно патогенетично лечение, което може да бъде започнато насочено след като диагнозата да бъде уточнена. Основен метод на лечение на тромботичната тромбоцитопенична пурпура (ТТП) е плазменият обмен. Наред с имуносупресията, за рефрактерни и рецидивиращи случаи на ТТП, в последните години в терапията навлезе моноклоналното анти тяло каплацизумаб, съкращаващо периода на лечение. Докато при хемолитико-уремичния синдром (ХУС), предизвикан от Shiga—

токсин няма специфично патогенетично лечение, при атипичния ХУС антиятлото екулизумаб е средство на избор. При вторичните ТМА рано идентифициране на първопричината и нейното отстраняване може да бъде дефинитивното лечение. Независимо от навременното диагностициране и своевременно лечение, ТМА имат и различна прогноза – от прогресивна бъбречна недостатъчност в над 60% от случаите на атипичен ХУС до пълно възстановяване в около 90% при ТТП.

Ключови Думи: Тромботични микроангиопатии (ТМА), Тромботична тромбоцитопенична пурпура (ТТП), Хемолитично-уремичен синдром (ХУС), HELLP синдром, ADAMTS-13

Abstract: Thrombotic microangiopathies (TMA) are a variety of clinical conditions whose pathogenesis involves thrombosis of the microcirculation. The injury of endothelial cells leads to three major clinical manifestations: microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and ischemic tissue injury. Their etiology is variable – deficiency of von Willebrand factor (VWF) proteases, enterobacterial toxins, dysregulation of complement activation, endothelial injury. Secondary TMAs are provoked by a multitude of diseases and medications, but often these factors do not lead to clinical manifestation.

The different forms of TMAs require different pathogenetic treatment, which may be initiated after the diagnosis is certain. A must treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is the plasma exchange. Together with immune suppression for refractory and relapsing TTP, in the last years the antibody caplacizumab was introduced resulting in shortening of the treatment period. While hemolytic uremic syndrome (HUS), resulting from Shiga toxin requires no specific treatment, for the atypical HUS eculizumab is treatment of choice. The secondary TMAs require early identification of the of the etiologic factor since its removal can lead to a definite treatment. TMAs have different prognosis varying from progressive renal failure in 60% in cases of atypical HUS to complete recovery in about 90% in TTP patients despite the time of diagnosis and initiation of treatment.

Key words: Thrombotic microangiopathies (TMA), thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), hemolytic uremic syndrome (HUS), HELLP syndrome, ADAMTS-13

- 23. Тонев И.,** Симеонов С., Симоноски Н., Дончев М., Минчев М. Рецидивираща тромботична тромбоцитопенична пурпура с пристъп непосредствено след прилагане на ритуксимаб – клиничен случай Хематология/Hematology, ТОМ/VOL.XLIX – №1-2 – 2023, прието за печат
- Резюме:** Тромботичната тромбоцитопенична пурпура (ТТП) е микроангиопатия, настъпваща в резултат на вроден или придобит дефицит на активността на металопротеазата ADAMTS-13, водещ до непълноценно разграждане на фактора на фон Вилебранд до мономери с последваща тромбоза. Лечението, особено при придобитата форма, се основава на плазмен обмен, като в случаите на резистентно или рецидивиращо заболяване се прилага имunosупресивна терапия, най-често с моноклоналното антиятло ритуксимаб. Шестдесет и две годишна пациентка постъпи в клиниката с пети пореден рецидив (шести пристъп) на болестта си. След овладяването му със седем плазмаферези и стабилизиране на хематологичните показатели, на пациентката беше приложен Ритуксимаб. В рамките на 24 часа стойността на тромбоцитите спадна от 294 до 19 G/L и на фона на на плазмаферези пациентката се влоши и изпадна в кома за три денонощия. С продължаването на плазмените обмени и включването на антибиотична терапия срещу установена чрез полимеразна верижна реакция Enteropathogenic E. coli (EPEC) в проба от стомашно-чревния тракт, както и с хемотрансфузии, състоянието се овладя след още едно краткотрайно понижение на тромбоцитите.
- При тази пациентка наблюдаваме рецидивиращо през около пет години заболяване, което се овладява с прилагане на плазмафереза и ритуксимаб – до момента три курса. Въпреки опасността една безсимптомна инфекция да провокира рецидив на живото-застрашаваща ТТП, имunosупресивното лечение остава единствен начин да се постигне по-дълготрайни ремисии при такива пациенти.

Ключови думи: Тромботична тромбоцитопенична пурпура, ТТП, микроангиопатия, Мошковиц, плазмен обмен, плазмафереза, ритуксимаб

Abstract: Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a thrombotic microangiopathy, resulting from an inborn or acquired deficiency of metalloprotease ADAMTS-13 function, leading to incomplete degradation of von Willebrand factor to monomers and thrombosis. The treatment, especially in cases with the acquired form, is based on total plasma exchange (TPE). In certain cases with resistant or relapsing disease immunosuppressive therapy is applied, most often with the monoclonal antibody rituximab. A sixty-two-year-old female patient came to the hospital with a fifth relapse (sixth attack) of her disease. After gaining disease control with seven plasmaphereses and stabilization of the blood tests, she received rituximab. Only 24 hours later the platelets count fell from 294 to 19 G/L and despite daily TPE she deteriorated and went into a coma for three days. She recovered and her condition stabilized after receiving antibiotic therapy for PCR-identified Enteropathogenic E. coli (EPEC) in the gastro-intestinal tract and with daily TPEs despite an additional fall in platelet count.

This patient is relapsing approximately every five years, and the disease is controlled by TPE and rituximab – three courses each with four applications. Despite the risk that an asymptomatic infection could provoke a life threatening TTP relapse, the immune suppressive therapy remains the only option to achieve long lasting remissions in such patients.

Key words: Thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP, microangiopathy, Moschkowitz, total plasma exchange, TPE, plasmapheresis, rituximab

24. **I. Tonev**, C. Botev, G. Balatzenko, M. Mincheff; Repeated therapeutic leukapheresis - a sole treatment during pregnancy as a bridge before tyrosine kinase inhibitors for a pregnant woman with chronic myelogenous leukemia – a case report and discussion; Journal of IMAB; 2023: vol. 29, прието за печат

ABSTRACT: Objective: Chronic myelogenous leukemia (CML) is a disease, which in cases with high leukocyte numbers is treated with hydration and cytoreductive therapy.

Materials and Methods: A 20-year old female patient during routine examination for pregnancy presented with elevated white blood cells (WBC) count (over 275x10⁹/L) and splenomegaly without any complaints. The diagnosis of Ph-positive CML was confirmed by cytology and PCR [presence of p210 type BCR::ABL1 [e13a2 (b2a2)] transcripts. Since she was in her 6th month of pregnancy, abortion or conventional treatment (tyrosine kinase inhibitors (TKI), chemotherapy and/or allogeneic haematopoietic stem cell transplant) were contraindicated due to the high risk for both the mother and the fetus. The patient was treated with two consecutive leukaphereses followed by weekly apheresis for about 3,5 months until the day of the delivery. Each procedure included processing of 1000-1200 ml of whole blood with separation of around 600 ml white blood cell concentrate and plasma.

Results: The patient's WBC count was kept between 170 and 270 x 10⁹/L until childbirth, and immediately after delivery imatinib mesylate therapy was initiated. A healthy male child with weight 2.250 kg and height 46 cm was born. The mother achieved hematologic, cytogenetic and molecular remission within the next 6-9 months after initiation of tyrosine kinase inhibitor therapy.

Discussion: The classical treatment for the CML includes tyrosine kinase inhibitors, chemotherapy and/or allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. All of these approaches have teratogenic potential and therapeutic schemes should involve contraception. In cases with existing advanced pregnancy therapeutic leukapheresis is a valid option for controlling WBC counts until delivery date. Despite later initiation of TKI therapy, the deep molecular response is still present thirteen years after initiation of therapy.

Keywords: Chronic myelogenous leukemia, cytapheresis, TKI, imatinib, CML, pregnancy

2023 г.
Гр. София

Подпис:
д-р Иван Димитров Тонев