

3-8#7/27.02.2024г.



УНИВЕРСИТЕТСКА МНОГОПРОФИЛНА БОЛНИЦА ЗА
АКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ "АЛЕКСАНДРОВСКА" ЕАД
София 1431 ул. "Св. Георги Софийски" 1, тел./факс: 029230-599

С Т А Н О В И Щ Е

от доц. д-р Евгений Хаджиев, дм
Началник Клиника по Клинична хематология

ОТНОСНО: дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” по професионално направление 7.1. Медицина, научна специалност Хематология и преливане на кръв, шифър 03.01.39. на тема:

”Честота, разпространение и клинична значимост на EVII свръхекспресията при пациенти с остра миелоидна левкемия” към СБАЛХЗ ЕАД,

разработен д-р Красен Василев Венков, лекар в Клиниката по хематология при СБАЛХЗ-ЕАД

Актуалност на проблема: последните десетилетия са белязани с интензивни генетични проучвания в областта на хематология. Острата миелогена левкемия (ОМЛ) е генетично хетерогенно заболяване, което се характеризира с генетични и епигенетични промени в хемопоетичните прогениторни клетки, променящи нормалните механизми на пролиферация и диференциация. Дисертационният труд е посветен на актуален клиничен проблем на съвременната хематология – свръхекспресията на *Ecotropic Viral Integration site 1 - EVII* гена. По литературни данни тази аномалия се свързва с влошена прогноза при пациенти с ОМЛ, но поради мултинационалния и хетерогенен характер на повечето проучвания, липсва еднозначно мнение по отношение на самостоятелната и независима роля на *EVII* свръхекспресията. Пет-годишната обща преживяемост (OS) на болните с ОМЛ остава незадоволително ниска – 30.5 % по данни на SEER (Surveillance,

Epidemiology, and End Results Program). През последните години усилията на изследователите в хематологичната практика за изясняване на хетерогенността на заболяването се насочиха към идентифицирането на биомаркери, чрез експресията на които се правят опити за оценка на риска за клиничната еволюция при пациенти с ОМЛ към момента на диагнозата с цел индивидуализиране на терапевтичния подход. В тази насока, изследванията върху патогенетичните механизми на действие на различни молекулярни маркери са безспорно актуални и с изразена практическа значимост.

Структура и оформление: дисертационният труд, представен от д-р Красимир Венков съответства на основните изисквания за условията и процедурите за придобиване на научни степени в „Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания” ЕАД (СБАЛХЗ), съгласно условията и реда, определени със Закона за развитие на академичния състав в Република България („ЗРАСРБ”), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, и на настоящия Правилник на СБАЛХЗ:

1. Дисертационният труд е представен във вид и обем от общо 130 страници, съответстващи на специфичните изисквания, като съдържа: заглавна страница; съдържание и използвани съкращения (общо 5 страници); изложение, структурирано в следните раздели – I. въведение (2 страници); II. Обширен литературен обзор (50 страници); III. цел и задачи (1 страница); IV. материали и методи (7 страници); V. резултати, онагледени със 39 фигури и 9 таблици (39 страници); VI. обсъждане на резултатите (12 страници); VII- изводи от проведените изследвания (2 страници); VIII- приноси (1 страница) ; IX- публикации и участие в научни форуми (1 страница); X- благодарности (1 страница); XI- библиография, включваща 171 източника на латиница (10 страници).

Предоставен е и Автореферат в обем от 59 страници, в който са отразени в съкратен вид същността на дисертацията, поставените цел и задачи, получените резултатите от направените изследвания и тяхната интерпретация, както и изводите и справка за научните приноси.

2. Дисертационният труд показва, че кандидатът притежава задълбочени теоретични знания по своята специалност и способности за самостоятелни научни изследвания. Дисертационният съдържа научни и научно приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката.

2.1. Дисертационният труд съдържа обширен и задълбочен Литературен обзор, който ясно показва добрата информираност на докторанта относно структурата, функцията и ролята на *EVII* като важен както транскрипционен, така и епигенетичен регулатор за нормалната функция на хемопоеичната система, като физиологичната му роля е свързана с поддържането на възможностите на хемопоеичните стволови клетки за самообновяване и възстановяване на хемопоезата. Анализирани са патогенетичните механизми на левкемогенеза, свързани със свръхекспресията на *EVII*, под влиянието на която по отношение на миелопоезата се наблюдава от една страна стимулиране на пролиферацията, но от друга – блокирането на матурацията с натрупване на по-ранни и незрели прогенитори. В преобладаващата част от случаите на пациенти с ОМЛ и *EVII* свръхекспресия, се установява, че левкемогенезата не е в резултат на структурни аномалии, а се асоциира с нарушена епигенетична регулация на промотъра/енхансера на *EVII*. Предвид данните за значението на *EVII(+)* за резистентност към стандартните индукционни режими на лечение и произтичащата поради този факт неблагоприятна прогноза, в отделен раздел са анализирани различни концептуални възможности за лечение на *EVII(+)* ОМЛ. Обзорната част на дисертационния труд завършва с анализ на нерешените засега проблеми по отношение на прогностичната роля на *EVII* свръхекспресията при пациенти с остра миелоидна левкемия. Този раздел от дисертационния труд показва, че докторантът познава в детайли литература по дисертационния проблем и умее правилно да подбере, творчески да подреди и критично да интерпретира съвременните данни.

2.2. Въз основа на задълбочения анализ на литературата, докторантът д-р Красен Венков аргументира и логично обосновава целта на дисертационния си труд- да се докаже ролята на *EVII* свръхекспресията като независим

прогностичен фактор определящ по-ниска обща преживяемост в кохорта български пациенти с остра миелоидна левкемия, лекувани и проследявани в СБАЛХЗ. За осъществяването на тази цел са поставени и съответните 6 задачи на дисертационния труд, които са ясно и точно формулирани. Те определят обема на изследванията и отговарят на замисъла на дисертационния труд.

2.3. Докторантът е представил прецизно използваните в научната разработка *Материали и методи*, които са подбрани адекватно на поставената цел и основни задачи. В изследването ретроспективно са включени 203 възрастни (над 18 години) пациенти с остра миелоидна левкемия, които са диагностицирани и лекувани/проследявани в СБАЛХЗ в периода 2010-2020 г. Включените в дисертационния труд пациенти са изследвани с широк спектър цитологични, цитохимични, флоуцитометрични и генетични методи, необходими за диагностично прецизиране в съответствие с критериите на Световната здравна организация (СЗО, World Health Organisation, WHO) 2016 г. Дисертантът е използвал съвременен молекулярно-биологичен метод като качествена полимеразна- верижна реакция за установяване наличието на *EVII*, пред вид литературните данни за липса на разлика в преживяемостта при пациенти с ОМЛ с базална и тези с *EVII* свръхекспресия при количествен PCR. Специфично за елите на дисертацията експресията на *EVII* гена е определена чрез ко-амплификация с β -*Actin* гена, която да позволи определяне на наличието на годна за анализ РНК и ефективността на обратната транскрипция. Методите са адекватни за поставените задачи. Обстойно са представени и използваните статистически методи за обработка на получените резултати.

2.4. Дисертационният труд представя значителен обем от *научни резултати*, добре онагледени с фигури и таблици, описани прецизно и в логична последователност, в съответствие с поставените основни задачи. Структурата на изложението позволява да се очертаят няколко направления:

1. **Честота и разпространение на свръхекспресия (*EVII*(+))** чрез качествена PCR реакция - анализът е проведен върху 203 пациенти. Установената честота на *EVII*(+) е 18.7%, като 37 от тях са със свръхекспресия (+) и 1 с умерена експресия (+/-).

2. Корелации на *EVII* свръхекспресията с други лабораторни параметри

– установени са корелации между свръхекспресия (*EVII*(+)) и основни клиничко-лабораторни показатели, цитогенетични/молекулярни характеристики, основни фенотипни характеристики на левкемичната бластна популация. При оценката на рисковата стратификация според ELN критериите, данните показват по-висока честота на високорисковата група при *EVII*(+) – 73.4%, в сравнение с *EVII*(-) – 45.5%.

3. Влияние на *EVII* свръхекспресията върху различни клинични параметри и преживяемостта

– установени са важни корелации между свръхекспресията на *EVII*(+) и по ниската честота на терапевтичен отговор – само 20% от тези болни постигат пълна ремисия, докато при пациентите с *EVII*(-) тя е 43%. При субгруповия анализ на пациентите на възраст под 60 години се установява нарастване на индукционна смъртност в групата на пациентите с *EVII*(+) – 33% , спрямо 10% такава при *EVII*(-) болни, което е в съответствие с по-бавното възстановяване на хемопоезата при *EVII*(+) болни. Анализирана е възможността ало- ТСК частично да негативира отрицателния ефект на *EVII*(+) по отношение на преживяемостта и да я доближи до тази на *EVII*(-) пациенти. При анализа на кумулативната честота на рецидив след ало-ТХСК при пациентите с *EVII*(+) се установява сигнификантно по-висока честота на рецидив – 71%, в сравнение с *EVII*(-) болни – 31.6%.

4. Прогностична стойност на свръхекспресията на *EVII* при пациенти с ОМЛ

– чрез мултивариационен анализ се установява, че *EVII*(+) е свързана с повишен риск от обща смъртност, респективно редуцирана преживяемост, независимо от останалите изследвани променливи.

3. Обсъждането на резултатите е представено отделно, макар че при такава сложна материя би било улеснено възприемането, ако след всяка глава е представен накратко анализ на собствените резултати. Задълбоченото познаване на проблематиката позволяват на докторанта умело да интерпретира получените

резултати в светлината на данните от други проучвания, да обобщава и аргументирано да извежда изводи.

Дисертационният труд дава основание за формулиране на следните основни **приноси**, които точно и ясно отразяват получените резултати:

- 1) **Оеигинални приноси:** Проведеното проучване дава данни за честотата на разпространение и клиничното значение на *свр̀хекспресията на EVII* при българската популация новодиагностицирани пациенти с ОМЛ, като се установява независимата му и сигнифакантна стойност като неблагоприятен прогностичен фактор. От съществено значение е резултатът от анализа на групата пациенти до 60 годишна възраст, който установява ролята на *EVII(+)* като фактор, определящ по-висок риск от индукционна смъртност. Важен принос на дисертационния труд е установяването на сигнифакантно по-лоша преживяемост за *EVII(+)* болните в ELN 2 и 3 рисковите групи във всички субанализи, както и независимата роля на *EVII(+)* като фактор, определящ по-висок риск от смърт, съответно редуцирана обща преживяемост при болни с еднакъв ELN скор.
- 2) **Потвърдителни приноси:** с настоящото проучване се утвърждава ролята на качествения PCR като подходящ метод за детекция на пациенти с *EVII(+)* и се установява, че честотата на *свр̀хекспресията на EVII* при изследваните в РБългария пациенти с ОМЛ, съответства на описаната в международните литературни източници. Съществен потвърдителен принос има установената корелацията на *EVII(+)* с AML-MRC подтип, 11q23 пренарежданията и високорисковата група по ELN. Независимата роля на *EVII(+)* като фактор, определящ по-висок риск от рецидив след ало-ТХСК е важен принос от клинична гледна точка, независимо от факта, че за момента няма терапевтична алтернатива на трансплантацията при тази кохорта пациенти с ОМЛ.
- 3) **Научни публикации.** Във връзка с дисертационния труд докторантът д-р Красен Венков е представил четири публикации в български списания, като

едната от тях е приета за печат, приложено е удостоверение. Тези статии не са използвани в предишни процедури. Дисертантът е на първо място и в четирите от статиите. Освен това, дисертантът има участие в XII Национален конгрес по хематология -2023г. с анализ на резултатите от проведените алогенни трансплантации на хемопоетични стволови клетки в СБАЛХЗ при пациенти с индикация остра миелоидна левкемия.

Представеният за становище дисертационен труд на д-р Красимир Венков съответства на минималните национални изисквания за условията и процедурите за придобиване на научни степени, определени със Закона за развитие на академичния състав в Република България („ЗРАСРБ”), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, и на настоящия Правилник на СБАЛХЗ. Убедено считам, че дисертационния труд има научна стойност и представя д-р Красен Венков като задълбочен изследовател в областта на клиничната хематологията с определени интереси към молекулярната биология.

Препоръчвам на Научното жури да присъди образователната и научна степен “ДОКТОР” на д-р Красен Василев Венков.

26.02.2024 г.

Подпис:

/доц. д-р Е. Хаджиев, дм/

