



**ДО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНО ЖУРИ,  
ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД № 3-8/12.01.2024г  
НА ИЗПЪЛНИТЕЛНИЯ ДИРЕКТОР  
НА СБАЛХЗ -ЕАД ГР.СОФИЯ**

**СПЕЦИАЛИЗИРАНА БОЛНИЦА ЗА  
АКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ НА ХЕМАТОЛОГИЧНИ  
ЗАБОЛЯВАНИЯ - ЕАД, гр. София**

**3-8#6 127.02.2024 г.**

*На Ваш Протокол от първо заседание на НЖ приложено представям:*

## **С Т А Н О В И Щ Е**

**От:** Проф. Д-р Веселина Ст. Горанова-Маринова, дм  
Медицински Университет - Пловдив  
Външен член на НЖ по заповед № 3-8/12.01.2024г на  
изпълнителния директор на СБАЛХЗ

**Относно:** процедура за придобиване на научна и образователна степен „Доктор“  
**Област на висшето образование:** 7. „Здравеопазване и спорт“  
**Професионално направление:** 7.1. „Медицина“  
**Докторска програма:** „Хематология и преливане на кръв“  
**Автор:** Д-р Карсен Василев Венков, лекар в СБАЛХЗ  
**Форма на докторантурата:** Самостоятелна подготовка  
**Тема:** "Честота, разпространение и клинична значимост на EVI1 свръхекспресията при пациенти с остра миелоидна левкемия"  
**Научен ръководител:** Проф. Д-р Георги Георгиев Михайлов, дм  
**Научен консултант:** Проф. Д-р Георги Николаевич Балаценко, дм

На основание заповед на Изпълнителен директор на СБАЛХЗ – ЕАД № 3-3 /03.01.20224г за отчисление с право на защита, както и избирането ми с заповед № 3-8/12.01.2024г за член на Научно жури ми бяха предоставени пълен комплект документи и дисертационния труд по процедура за придобиване на ОНС „Доктор“ в област на висше образование: 7.Здравеопазване и спорт, професионално направление: 7.1. Медицина и научна специалност „Хематология и преливане на кръв“

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

Предоставен е необходимият комплект материали от момента на зачисляването до решението за отчисляване с право на защита. Етапите на докторантурата са спазени, няма промяна на първоначалната тема и научния ръководител. Дисертационният труд е обсъден, одобрен и насочен за публична защита от разширен научен колегиум на първичното звено – Клиника по Хематология към СБАЛХЗ. Д-р Красен Василев Венков, роден на 23.09.1991г е възпитаник на МУ - София, където завършва висшето си образование по медицина през 2016г. Започва специализация по Клинична нефрология през 2017, която прекъсва и от 2018г до 2020 г е специализант по клинична хематология към Отделение за трансплантация на хемопоеични стволови клетки към СБАЛХЗ. По време на специализацията си д-р Венков успешно полага Европейски изпит по хематология ( 2021г) и Изпит на Европейската асоциация по костномозъчни трансплантации (2022г) От 2023г е с призната специалност Клинична хематология. Д-р Венков владее писмено и говоримо английски език. В момента на защитата е с 8 години трудов стаж в структурите на СБАЛХЗ и първи автор в 6 научни публикации.

*Приемам процедурата и цялата документация на дисертанта, като отговарящи на Правилника на СБАЛХЗ за развитие на академичния състав, ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ.*

## **2. Структура на дисертационния труд**

Дисертационният труд съдържа 130 страници, 82 фигури и 17 таблици. Съотношението между основните глави – литературен обзор, методи и резултати и обсъждане с изводи са в приемливо съотношение за подобен научен труд. Дисертационният труд е написан на ясен и научно издържан стил. Цитирани са 171 литературни източника, като всички (171) са на латиница. Включените в дисертацията пациенти, изследвания, лечение и проследяване са извършени в СБАЛХЗ .

## **3. Актуалност на темата.**

В последните десетилетия познанията за патогенезата на острите миелобластни левкемии (ОМЛ) на генетично ниво претърпяха непознат досега качествен ръст. Бяха разгадани множество възлови патогенетични механизми, които не само уточниха патологичната сигнализация в биология на неоплазийния пул, но и доведоха до създаването на съвременни маркери за мониториране на заболяването и различни скор-системи, предопределящи терапевтичния отговор и преживяемостта на пациентите. Въпреки това, ОМЛ продължават да бъдат непреодолимо предизвикателство с медиана на преживяемост все още около 10 месеца, като едва около 30% преживяват 5 г и то на фона на инкорпорираните нови таргетни молекули, BCL-2 инхибитори, МКА, конюгати антитяло-лекарство. В този смисъл всяко проучване , което търси нови прогностични

или предиктивни показатели за прецизна риск-стратификация и модифициране на терапията, е не само актуална тема, но и императивно изискване на съвременната клинична хематология.

#### **4. Литературен обзор.**

В литературният обзор от 50 стр д-р Венков е представил съвременните данни за разностранното и значение на *Ecotropic Viral Integration site 1 - EVI1* гена в норма и патология. В 6 взаимно свързани подраздели са разгледани структурата и функцията, ролята в левкемогенезата, дисрегулацията, асоциацията с други генетични нарушения, възможните терапевтични подходи и прогностичното значение на свърхекспресията *EVI1* гена (*EVI1+*) при ОМЛ. В норма *EVI1* генът е с ключово значение за самообновяване на хемопоетичните стволови клетки и възстановяване на хемопоезата. При *EVI1(+)* се стимулира пролиферацията и предизвиква миелоидна експанзия, като едновременно с това се стопира гранулоцитната и еритроцитна матuration, което води до натрупване на по-ранни и незрели прогенитори с изключена апоптоза. *EVI1(+)* повишава нивото на cyclin D1, предизвиква имунопареза, редуцира нивото на p53 и води до химиорезистентна ОМЛ. *EVI1(+)* резултат от *t(3;3)(q21;q26)* или *inv(3)(q21;q26)* се среща в около 2.5% от ОМЛ като обособен подтип с агресивен клиничен ход, химиорезистентност и изключително лоша прогноза. На базата на внушителна литературна справка дисертантът обобщава, че *EVI1(+)* е в зависимост от аномалии засягащи 3q26 региона, *MLL* транслокации, делеция на 7-ма хромозома, вторична ОМЛ; липсват категорични данни за *EVI1(+)* като самостоятелен генетична аномалия с пол, възраст, левкоцитен брой, бласти в костния мозък, FAB субтип; налице е обратна корелация на *EVI1(+)* с благоприятни цитогенетични и ELN рискова групи; По отношение терапевтичния отговор и преживяемостта по-чести са данните, че при *EVI1(+)* е по-ниска CR, по-лоша OS, EFS и RFS в сравнение с *EVI1(-)*. В литературата, вкл и в метаанализи чрез многофакторния регресионен анализ независимата прогностична значимост на *EVI1(+)* по отношение на OS и ранната смъртност не е доказана във отделни разработки, а дори има балканско проучване, което посочва обратния феномен. Причините за подобни противоречиви резултати в обсервационни и/или ретроспективни проучвания са традиционни и трудно отстраними - съществени различия по пол, възраст, допълнителни цитогенетични и молекулярни аномалии, точна дефиниция на *EVI1* свърхекспресията, различия в терапевтичните подходи и т.нат. Този съществен момент не е пропуснат от дисертанта.

Със научно издържан стил в литературния обзор проличава теоретичната осведоменост на д-р Венков и умението му да обобщава и анализира литературните данни, да извежда противоречивите или неуточнени проблеми и убедено да мотивира



необходимостта от проучването .

*Приемам аналитичния и информативен литературен обзор, като отговарящ на темата и формиращ теоретичната основа на работната хипотеза .*

### **5. Цел и задачи.**

Дисертационният труд има ясно изведена цел да се докаже „ *ролята на *EVII* свръхекспресията като независим прогностичен фактор определящ по-ниска обща преживяемост...*“ Такава формулировка звучи малко императивно и като че ли изключва обратната хипотеза – че *EVII(+)* не влияе върху общата преживяемост, (каквито данни има в специализираната литература и са цитирани в обзора). Подобна цел с прогностичен акцент изисква особена прецизност във формулирането на поставените задачи. Тук дисертантът се е справил оптимално със 6 много конкретни и изпълними задачи, които допълват целта и предопределят методологията на проучването.

*Приемам целта като адекватна на темата и хипотезата на дисертационния труд, а поставените задачи като подходящи и изпълними.*

### **6. Материал и методи**

Методологичната основа е най-важната част в научните разработки. Дисертантът предлага по същество ретроспективно проучване върху значителен контингент от 203 възрастни пациенти с ОМЛ диагностицирани, еднотипно лекувани със схемата „7+3“, трансплантирани и проследени в СБАЛХЗ за периода 2010- 2020 г. Диагнозата, риск-стратификацията и критериите за терапевтичен отговор са съгласно World Health Organisation, WHO (2016 г) ELN (2017). Цитогенетичното изследване е проведено съгласно Международната система за номенклатура на човешка цитогенетика –ISCN.

За определяне на *EVII* свръхекспресия е използвана polymerase chain reaction, (PCR), като е приета теоретичната постановка, че ниво на *EVII*, което може да бъде отчетено като положително с качествен PCR е достатъчно, за да повлияе прогнозата на болния и не на последно място поради оскъдните литературни данни за значението на методиката. Качествената PCR е лесна за отчитане, с добра сравнимост и повторяемост на резултатите. Охарактеризиране на експресията на *EVII* е направено чрез 3 степенна система, описана подробно; Проби, при които отсъства продукт на амплификацията за  $\beta$ -Actin са изключени от анализа. Като отрицателни контроли са използвани mRNA от всяка проба, като са използвани същите RT-PCR условия и реактиви, без обратната транскриптаза, и смес, съдържаща всички реактиви, с изключение на нуклеиновите киселини. Спазени са предпазните мерки за избягване на замърсявания от пренос.

Статистическата обработка на резултатите е извършена чрез стандартните

методи за характеристиката на пациентите и извеждане на корелационните зависимости. За оценка на общата преживяемост е използван специфичния панел включващ метода на Каплан-Майер и лог-ранк тест. При оценка на прогностичната роля на *EVII* като независим фактор е използван регресионен модел на Кокс за пропорционалност на рисковете.

## **7. Резултати.**

Този раздел е представен с подходящ информативен дизайн от 49 фигури, диаграми и таблици, без дублиране на текстове и съответстващи на темата, целта и задачите на дисертационния труд. Методологично издържано стъпка по стъпка д-р Венков представя характеристиката на пациентите по отношение на *EVII(+)* /*EVII(-)* и корелационните зависимости в подгрупов анализ в зависимост от *възрастта*, и *пола*, *ECOG статуса*, *перифеерните кръвни показатели*, *бластната популация в перферията и костния мозък*, *вариантите ОМЛ*, *основни генетични аберации*, *рисквите групи по ELN*, *коекспресията на лимфоидни и миелоидни маркери*, *качество на терапевтичния отговор след стандартна и интензивна химиотерапия*, *постиндукционна смъртност и рецидиви*, *причините за леталния изход след интензивна терапия*, *медианата на хематологичното възстановяване*, *резултатите след аlogenна стволовоклетъчна трансплантация*. Същите тези многобройни клинични, биохимични, генетични, флоуцитометрични и други показатели са в основата на предиктивната и прогностична оценка на *EVII(+)*. Д-р Венков коректно не афишира резултати от еднофакторните корелационни анализи независимо от тяхната нерядко високо статистическа достоверност. Те са трудни за сравняемост, нееднозначно оценени в литературата и не на последно място *EVII(+)* е установена чрез различна методика. Той не „заиграва“ и с другите показатели за преживяемост като RFS, EFS, TTT, DFS, а използва най-важния показател - медианата и OS при изследваната кохорта. Чрез многофакторния регресионен модел на Кокс доказва значението на *EVII(+)* като независим прогностичен фактор, който самостоятелно модулира събитията в терапевтичното повлияване, еволюцията и преживяемостта при пациенти с ОМЛ. Получените резултати показват, че *EVII(+)* в изследвания контингент не само се асоциира напр с ниска честота на CR след индукция, повишена индукционна смъртност, повишена честота на рецидив след ало-ТХСК, но и е независим прогностичен фактор за повишен риск от смърт между 6,2 6,7 пъти и намалена общата преживяемост независимо от останалите променливи в многофакторната регресия. С горните данни *EVII(+)* се изравнява с ECOG статуса по неблагоприятна прогностична значимост в изследваната кохорта. И не на последно място чрез научната разработка д-

р Венков апробира и доказва ролята на качествения PCR за изследване на *EVII(+)* и стратифицира подгрупа болни с ОМЛ и неблагоприятни биологични и клинични особености.

*Приемам и отличавам раздел „Резултати“, не само с впечатляващия обем проучени показатели, които отговарят на целта и задачите на дисертационния труд, но и с прецизната обработка с най-адекватно подбрани статистически модели.*

## **8. Обсъждане.**

При подобна, внушаваща респект комплексна работа с многообхватен панел от клинични, биохимични, генетични, флоуцитометрични и др показатели за относително хомогенна българска група с ОМЛ, с резултати често различни от литературните данни, дискуссионният раздел е истинско научно предизвикателство. В обсъждането проличава ерудицията на д-р Венков като клиницист хематолог в съчетание с висока професионална компетентност и теоретична осведоменост за *EVII(+)* - един от важните патогенетични фактори за изявата и еволюцията ОМЛ. Обсъждането следва получените данни, като дисертантът не изключва от дискусия и научно обосновано обяснение нито един от получените резултати през призмата на съвременните познания за *EVII* в норма и патология. Получените резултати дават право на д-р Венков да номинира *EVII(+)* сред възловите генетични отклонения с независима неблагоприятна прогностична значимост.

*Оценявам високо и без забележки раздела „Обсъждане“.*

## **9. Изводи**

Приемам направените кратки и ясни в научно-издържан стил изводи, като напълно отговарящи на получените собствени резултати, поставените цел и задачи. .

## **10. Приноси**

Дисертационния труд има определено научно-потвърдителен и приложен характер с реални възможности за използване на резултатите в клиничната практика. Оформеният предиктивен и прогностичен модел за *EVII(+)* изследвана чрез качествения PCR е сравнително изолирано съобщение в специализираната литература и е най-голямото за нашата страна Това е и първото изследване, което установява ролята на *EVII(+)* като фактор, определящ по-висок риск от индукционна смъртност при пациенти до 60 годишна възраст. Подкрепям становището на дисертантът, че *EVII* статуса допълва ELN рисковата стратификация

*Приемам самооценката на д-р Венков за приносите на дисертационния труд*

## **11. Автореферат и публикации, свързани с дисертацията.**



Приемам автореферата, който е направен съгласно изискванията и максимално точно, в съкратен вид отразява замисъла, методологията на дисертационния труд и получените резултати. Представени са необходимите публикации във връзка с темата.

**12. Критични бележки и препоръки.** Те са изключително технически: употреба на „чуждици“ в текста, не е необходимо превод на български език на имената на цитираните автори, немалко технически грешки, повече „заемки“ на графичен материал от някои цитирани автори, което създава впечатление за рефериране на техните статии, трудно ориентиране за бройката на пациентите в отделните подгрупи, някои заглавия на графики са излишно дълги.

**Заклучение.** Научните разработки в генетичен аспект върху ретроспективен материал не са предварително методологично ясни, нито лесни. Задача става още по-трудна, когато основната цел и задачи е прогностичната оценка. Това е огромен труд по брой на включените показатели и многобройните подгрупови анализи. Като цяло дисертационният труд е в завършен вид, а като разработка със значителен контингент болни от един център, проследени за продължителен период от време е без аналог в родната периодика и една от редките в литературата с качествена PCR за доказване на *EVII(+)*. По същество работата има потвърдителен, научно-приложен характер. Смятам, че дисертационният труд на отговаря на изискванията на ЗРАРБ и Правилника на СБАЛХЗ -София. На основание на горното убедено препоръчвам на членовете на уважаваното Научно жури да гласуват положително за присъждане на ОНС „ Доктор“ на д-р Красен Василев Венков.

**ИЗГОТВИЛ СТАНОВИЩЕ:**

Проф д-р Веселина Ст. Горанова- Маринова дм

19.02.2023г гр. Пловдив