



ДО

ДОЦ Д-Р ЕЛЕОНОРА ДИМИТРОВА-ГОСПОДИНОВА, ДМ

ПРЕДСЕДАТЕЛ НА НАУЧНО ЖУРИ

ОПРЕДЕЛЕНО СЪС ЗАПОВЕД № Р-109-141/09.04.2024г

НА РЕКТОРА НА МУ-ВАРНА

РЕЦЕНЗИЯ

От: Проф. Д-р Веселина Горанова-Маринова, дм

Ръководител секция „Хематология“, МФ, МУ-Пловдив

Външен член на научно жури според заповед № Р-109-141/09.04.2024г

на Ректора на МУ-Варна „Проф. Д-р Параскев Стоянов“

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 Владимир Тодоров Геров, Сектор „хематология“, Втора катедра по вътрешни болести, Медицински факултет, МУ-Варна

Форма на докторантурата: Самостоятелна подготовка

Тема: "Биомаркери за оценка на костната плътност при мултиплен миелом"

Научен ръководител: Проф. Д-р Илина Д. Мичева, дм

1.Общо представяне на процедурата. Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител по процедура за придобиване на ОНС „Доктор“ в МУ-Варна е в съответствие с Правилника за устройството и дейността на МУ-Варна, чл. 68 ал. 1 от ЗВО; чл. 7, ал. 1от ЗРАСРБ; чл.5, ал.1 и чл.6, ал.1 от Правилника за неговото приложение, Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Варна. Представени са всички необходими документи, а именно заповедите за зачисляване и отчисляване на докторанта, протоколите от разширени катедрени съвети и изпит докторантски минимум, които отразяват всички етапи от развитието на докторанта

включително самата Дисертация. Към комплекта материали са приложени списък и копия на публикациите, свързани с дисертационния труд, както и таблица, представяща съответствието на докторанта на минималните национални критерии за придобиване на ОНС „Доктор“. Общо представените публикации са 4, в които дисертантът е водещ автор. Две са в престижни международни списания J Clin Med, IF4.1 и Cancers с IF 5.6; една от публикациите е в сп. „Хематология“ - официалното списание на БМСХ, реферирано и индексирено в международна база данни “Скопус”. Представени са 5 научни съобщения, от които 3 са от участия в международни научни форуми. В 4 от представените научни съобщения дисертантът е водещ автор. ***Процедурата по докторантурата е спазена.***

2.Представяне на докторанта. Д-р Владимир Тодоров Геров завършва медицина в МУ - Варна през 1988г. Има две специалности - по вътрешни болести и клинична хематология и магистратура по здравен мениджмънт. От 1992г работи в клиниката по хематология на УМБАЛ „Св.Марина“ гр.Варна. От 2010г е хоноруван асистент към сектор „Хематология“, Втора катедра по вътрешни болести, МУ-Варна. През 2016 ориентира своя професионален път към трансплантацията на хемопоеетични стволови клетки, за което провежда последователно високоспециализирани курсове в МУ-Варна, в Трансплантационно отделение на Университетската болница в гр.Загреб, Хърватска, в Трансплантационно отделение на Университетската болница в гр. Хановер, Германия. През 2015г работи 6 месеца в Клиника по хематология с трансплантационно отделение в гр. Колмар, Франция. Научните интереси на Д-р Вл. Геров са в областта на острите левкемии, мултиплиения миелом, трансплантацията на хемопоеетични стволови клетки и оксидативния стрес при злокачествени хематологични заболявания. Той е част от екипите на големи международни клинични проучвания, включително в областта на мултиплиения миелом, Неходжкиновите лимфоми, острите и хронични миелопрролиферативни заболявания. Владее отлично френски език и много добре английски език. Има повече от 30г стаж в областта на клиничната хематология. ***Докторантът има теоритични познания, практически опит, допълнителни квалификации и насочени научно-практически интереси в областта на докторантурата.***

3.Актуалност на тематиката и познаване на проблема. В своята дисертация д-р Владимир Геров разработва важен, актуален и значим проблем на съвременната клинична хематология. Миелом-индуцираната костна болест (МКБ) е най-характерната клинична изява и „визитна картичка“ на мултиплиения миелом (ММ). Приблизително при 80% от пациентите с ММ още към момнета на диагнозата се установяват поне една или повече остеолитични костни лезии, често придружени с компресионни фрактури, а

тяхната честота допълнително нараства в еволюцията на заболяването. Прогресията на болестта закономерно се придружава със задълбочаване на МКБ, и нейните различни клинични манифестации, което влошава качеството на живот на пациентите и намалява тяхната преживяемост. Изясняването на патофизиологията и патогенезата на МКБ предоставя възможности за проучване и внедряване в клиничната практика на нови биомаркери, с чиято помощ би могло ефективно да се мониторира развитието и прогресията на костната болест, от една страна и да се проследява ефекта от прилаганата терапия от друга. Костните биоаркери отразяват доколко лечението на основното заболяване подобрява и възстановява тежко нарушения баланс между остеокластогенезата и остеобластогенезата. В рутинната клинична практика се използват разнообразни клинично-лабораторни показатели, които оценяват туморния товар или служат за стратификация на риска на пациентите с ММ. Понастоящем клиничната хематология не разполага с такива показатели, които да дават представа за степента на костното увреждане. Златен стандарт за оценка на МКБ остават образните изследвания. Важно предимство на серумните биомаркери за костно ремоделиране е факта, че те са по-динамично променящи се показатели и биха могли да предоставят важна допълнителна информация към образните изследвания, които значително по-бавно отразяват метаболитните промени в костта. Всичко това налага необходимостта от търсене на подходящите биомаркери, с които ефективно да се мониторира МКБ. В дългосрочен план това е предпоставка за разработване на нови биологични агенти за таргетна терапия и адекватно лечение на костната болест, което би подобрило качеството на живот на пациентите с ММ и би удължило тяхната преживяемост.

Темата на дисертационният труд е важна, актуална, с голямо клинично значение.

4. Познаване на научния проблем. Представената научна хипотеза предполага, че костните биомаркери склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин имат важна роля в развитието на МКБ и имат променена експресия към диагностицирането, в еволюцията на болестта, в зависимост от фазата на проведеното лечение и степента на клинична изява на костната болест. Авторът подлага на анализ ролята на склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин като самостоятелни предиктивни рискови фактори за изява на МКБ и прогностични рискови фактори за преживяемостта на пациентите. ***Авторът познава научния проблема в дълбочина, може да формулира научна хипотеза и да проведе анализ, резултатите от който биха довели до подобряване на диагностиката и проследяването на пациентите с мултиплен миелом и костна болест като предпоставка за удължаване на тяхната преживяемост и повишаване на качеството им на живот.***

5. Методика на изследването. Извършеното научно проучване е едноцентрово и проспективно, проведено в Клиниката по Хематология, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна за периода 01.06.2021 – 31.12.2022 година. Изследвани са общо 74 лица – 41 новодиагностицирани пациента с множествен миелом и 33 здрави лица, които формират контролната група. Анализираният контингент пациенти, набран за период от две години е достатъчен на брой и позволява статистически анализ. Рутинните клинично - лабораторни показатели са изследвани по общоприетите методи, образната диагностика е извършена с КТ на цяло тяло с ниска доза, което е стандарт за оценка на МКБ, а специфичните костни биомаркери склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин са изследвани с валидирана методика, която позволява възпроизводимост на резултатите като измерването им е съобразено с креатининовия клирънс при болните с миеломна нефропатия. Дизайнът има ясна клинична обосновка и включва проследяване на изследваните пациенти в хода на провеждане на антимиеломната терапия.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд. Дисертационният труд е разработен на 184 стандартни страници. Съдържа 50 таблици и 52 фигури. Цитирани са 424 литературни източника, подбрани целенасочено. Изведени са няколко формули. Задължителните раздели на научния труд са професионално разработени като е спазено приемливо съотношение между тях. Използван е ясен и точен, граматически верен български език.

6.1 Литературен обзор. Литературният обзор е изложен на 40 стандартни страници, задълбочено и насочено по научния проблем. Детайлно е представена патогенезата на МКБ, като е подчертано, че множеството клетъчни популации, цитокини, растежни фактори, адхезионни молекули, рецептори и техните лиганди при МКБ формират порочен кръг, при който колкото по-активен е ММ, толкова по-тежка е костната болест и обратно, колкото по-изразена е костната болест, толкова по-напреднал е ММ. Много автори твърдят, че ММ е болест на костно-мозъчната микросреда. Д-р Геров представя множество достоверни данни, получени в резултат на дългодишни научни разработки на изследователски колективи от целия свят, които доказват, че ММ клетки подтискат диференцията на остеобластите и стимулират пролиферацията, диференциацията, матurationта и функционалната активност на остеокластите. Детайлно са представени молекулярните взаимодействия на миеломните клетки с остеобластите, остеоцитите, остеокластите, Т-лимфоцитите и NK – клетките. Описани са сигналните пътища, които са отговорни за костното remodelиране в норма и патология и тяхната промяна при ММ. Литературният обзор продължава с подробно представяне на структурата, функцията, биологичната роля и ролята при

ММ на костните биомаркери, обект на анализ в дисертационния труд: склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин. *Литературният обзор завършва с мотивирано основание за необходимостта от допълнителни изследвания за изясняване ролята на склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин, участващи в регулацията на остеокластите, остеобластите и остеоцитите и възможността им да бъдат използвани в клиничната практика за мониториране на MBD и ефекта от провежданото лечение.*

6.2 Цел и задачи. Целта на дисертацията е да се оцени ролята на костните биомаркери склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин за развитие на костната болест при новодиагностицирани пациенти с множествен миелом и проследи тяхната динамика в хода на провежданото лечение. *Тя е е точно и ясно формулирана и с логично поставени 8 основни задачи.*

6.3 Раздел „Материал и методи“. Разделът „Материал и методи“ е представен на 9 стандартни страници. Пациентите и контролната група са изследвани в четири времеви периода – преди започване на лечението след С4, след С8 и 3 месеца след автоложна трансплантация на хемопоетични стволови клетки (авто - ТХСК). Маркерите на костния метаболизъм склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин са анализирани спрямо пола и възрастта, показателите за активност на ММ, клиничния стадий според Международната стадийна система (ISS), данните от КТ изследване на цяло тяло с ниска доза във всеки един от четирите периода и са преизчислени спрямо креатининовия клиърънс. Костните биомаркери са изследвани в серум с помощта на ELISA (enzymelinked immunosorbent assay) методи с готови търговски китове на Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, China. Базирани са на некопетитивен „сандвичев“ принцип. Измерванията са извършени в Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика към Фармацевтичен факултет на МУ-Варна при стриктно спазване инструкциите на производителя. Резултатите са отчитани на Biotek Synergy 2 Multi-Mode Plate Reader, USA. Стастическите медоди са правилно избрани и позволяват получаването на достоверни резултати. Статистическата обработка на получените резултати е направена компетентно с правилно подбрани анализи – дескриптивен, вариационен, сравнителен, корелационен, регресионен, ROC, както и тестовете на Shapiro-Wilks за оценка на нормалното разпределение и χ^2 непараметричен тест за съгласуване. Данните са обработени и нагледно представени чрез GraphPad Prism, version 8.0.2 for Windows, USA и IBM и SPSS Statistics v. 23. *Приемам напълно и без забелжки раздел „Материал и методи“*

6.4. Раздел „Резултати“ е представен на 68 стандартни страници. Изложението на раздела е обемно, но е представено прегледно на таблици, фигури, графики и диаграми.

Логично е следвана последователността на поставените задачи. Представени са демографските данни и клиничните характеристики на пациентите с ММ. Дванадесет от тях са с миеломна нефропатия. Девет пациента (21.9%) са с липсващо и лекостепенно костно засягане и 32 пациента (78.1%) са с тежко-степенно засягане на костната система. Авторът установява, че серумните нива на всички изследвани костни маркери - Dkk-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин са значимо по-високи при новодиагностицираните пациенти с ММ в сравнение със здравите контроли и нарастват с напредване на клиничния стадий. Те дискриминират болни от здрави индивиди, което се доказва посредством проведения ROC анализ, докато установената позитивна корелация на изследваните биомаркери с костномозъчната инфилтрация и B2M, както и отрицателната корелация с Hb, вероятно отразяват туморния растеж и прогресията на заболяването. Серумните нива на Dkk-1 и склеростин при NDMM пациенти отразяват потиснатата остеобластна активност в костния мозък, докато повишените нива на sRANKL, остеопонтин и периостин са отражение на повишената ОК активност. Серумните нива на Dkk-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин при NDMM корелират с тежестта на миеломната костна болест като Dkk-1, склеростин, остеопонтин и периостин разграничават пациентите с по-леко костно засягане от тези с по-тежко. Важни са резултатите, които отразяват динамиката на склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин в хода на лечението. С кумулиране на курсовете терапия намаляват техните серумни нива, като Бортезомиб базираната терапия има ефект не само за потискане на туморния процес, но е с потенциал да се намесва в процесите на костно ремоделиране и да подобрява дисбаланса между остеокластогенезата и остеобластогенезата. Най-ниски серумни нива на Dkk-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин са установени след ASCT и при пациентите с VGPR и CR, което потвърждава ролята на високодозовата химиотерапия не само за редуциране на туморния обем, но и благотворния ѝ ефект по отношение на костния метаболизъм. *Приемам без забелжки получените резултати. Като резултат с важно клинично значение отбелязвам данните, че от всички изследвани биомаркери най-чувствителни и значими за прогресията на миеломната костна болест са склеростин и периостин.*

6.5 Раздел „Обсъждане“. В 30 стандартни страници докторантът анализира получените собствени резултати, обсъжда тяхното значение и ги сравнява с тези на други авторски колективи. Установените различия с данните от други научни разработки, авторът обяснява аргументирано и с конкретни факти. Такъв е примерът с влиянието на възрастта и пола върху експресията на показателите за костно ремоделиране. Д-р Геров не установява статистически значими разлики в серумните

нива на изследваните показатели в зависимост от пол и възраст и заключава, че влиянието на патологичния процес надвишава по сила влиянието на биологичните фактори възраст и пол и има решаващо значение за наблюдаваните значимо по-високи нива на Dkk-1 и Scl при поставянето на диагнозата ММ. Резултатите, получени от Д-р В.Геров относно корелациите на склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин с клиничния стадий, тежестта на МКБ и понижението им след успешно лечение съвпадат напълно с данните от известните проучвания на E.Terpos и M. Politou. За разлика от Д-р Геров, E.Terpos и сътр. установяват стойности на sRANKL при трансплантирани пациенти все още различни от стойностите в контролната им група. При провеждане на консолидираща терапия по протокол VTD (6 курса) авторите посочват значителна промяна единствено в нивата на СТХ, достигащи тези на контролите, но не и за останалите изследвани костни биомаркери, включително и за sRANKL. Дисертантът обяснява тези различия, с факта, че групите постигнали терапевтичен отговор са нехомогенни, както и че пациентите постигат терапевтичен отговор в различен етап от своето лечение. Дисертантът посочва, че в литературата не се откриват данни относно зависимостта на серумните нива на OPN и PON от постигнатия отговор при лечението на ММ. Затова и резултатите от проведените ROC анализи потвърждават високата диагностична значимост на изследваните костни биомаркери, а регресионният анализ откроява двата от тях – склеростин и периостин, които с най-голяма степен на вероятност биха могли да прогнозират костното заболяване. **Приемам раздел „Обсъждане“ без забележки.**

6.6.Изводите са 11 на брой и ясно следват поставените цел и задачи като са логично формулирани според получените резултати. Най-важен от клиничен аспект е изводът, че от всички изследвани биомаркери най-чувствителни и значими за прогресията на миеломната костна болест са склеростин и периостин. **Съгласна съм с така формулираните изводи.**

6.7.Книгопис. Библиографията обхваща 424 литературни източника, от които 3 са от български автори. Анализираните научни публикации в последните 5г са 20% от общия брой. Тези данни свидетелстват за актуалността на проблема и големия продължаващия изследователски интерес по тематиката. **Нямам забележки.**

7.Оценка на приносите на дисертационния труд. Дисертационният труд завършва с представянето на приноси които имат научен, както и подчертано научно-приложен характер. Три от приносите са с оригинален характер и пет с потвърдителен. **Приемам изложените приноси.**

8.Лично участие на докторанта. Докотрантът има лично участие във формулирането на научната идея, събирането на материала и дизайна на проучването. Лично е

участието му в статистическата обработка на данните и анализа на получените резултати. Изводите и приносите са също изведени с участието на Д-р Геров. Дисертантът е първи автор във всички предсатвени публикации, свързани с дисертацията, както и в повечето научни съобщения, което потвърждава неговото лично участие в разработването на научния труд. **Докторантът има основно лично участие в разработването на дисертацията.**

9.Автореферат. Авторефератът съдържа 115 страници, дава цялостна представа за дисертационния труд като отразява пълноценно отделните раздели. Включени са всички фигури и таблици, с изключение тези от литературния обзор и представят в достъпен обем необходимите данни.

10.Заклучение. Дисертационният труд на Д-р Владимир Тодоров Геров отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Правилника на МУ-Варна за присъждане на научна и образователна степен „Доктор“. Въпреки, че темата на дисертационния труд се разработва от немалко авторски колективи, включително в България, избрания панел маркери на костния метаболизъм е оригинален, а проблемите на МКБ са все още обект на дискусия в международен мащаб. Приносите на дисертацията имат научен и подчертано научно-приложен характер, което е добра основа за внедряването на склеростина и периостина в алгоритъма за мониториране на ефекта от лечението на МКБ. В дисертационния труд на Д-р Владимир Геров проличават изградени качества за анализ и синтез на научна информация, способност за формулиране на изводи и изграждане на научни хипотези. Проличават задълбочени научни познания и практически умения по специалността „Хематология и преливане на кръв“.

Давам своята положителна оценка за дисертационния труд на тема „Биомаркери за оценка на костната болест при мултиплен миелом“ и предлагам на уважаемото научно жури да гласува „за“ присъждане на научна и образователна степен „Доктор“ на Д-р Владимир Тодоров Геров.

ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯ:

/Проф. Веселина Горанова-Маринова, ом/

Заличено на основание чл. 5,
§1, б. „В“ от Регламент (ЕС)
2016/679