

РЕЦЕНЗИЯ

от

проф. д-р Валерия Игнатова Калева, дм

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен
„доктор“, професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма
03.01.39 „Хематология и преливане на кръв“

Автор: д-р Владимир Тодоров Геров

Тема: **Биомаркери за оценка на костната болест при мултиплен миелом**

Форма на докторантурата: самостоятелна подготовка

Катедра: Вътрешни болести II, УС „Хематология“, МУ – Варна

Научен ръководител: проф. д-р Илина Димитрова Мичева, дм

Общо представяне на процедурата

Със заповед № Р-109-141 от 09.04.2024 г. на проф. д-р Димитър Райков, дмн, Ректор на Медицински университет – Варна, на базата на решение на Факултетен съвет на Факултета по Медицина (Протокол №19/01.04.2024 г.) съм избрана за вътрешен член на Научно жури, оценяващо дисертационния труд на д-р Владимир Тодоров Геров на тема: Биомаркери за оценка на костната болест при мултиплен миелом. Според решение от първото заседание на научното жури (Протокол №1/12.04.2024) съм определена да изготвя рецензия.

Представеният комплект материали по процедурата за присъждане на ОНС „доктор“ е пълен, наличен на електронен и хартиен носител и е в съответствие с изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и с Правилника за развитието на академичния състав на МУ – Варна.

Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Владимир Тодоров Геров завършва средно образование през 1980 г. в IV Езикова гимназия „Фредерик Жолио-Кюри“ в гр. Варна с усилено преподаване на френски език, а през 1988 г. – висше образование по медицина в МУ, Варна. Същата година започва професионалния си път като лекар-терапевт към Бърза медицинска помощ, Шумен (1988 – 1989 г.) и семеен лекар към ДКЦ, Шумен (1989 – 1991 г.). От 1992 г. до настоящия момент работи като лекар към Клиника по хематология на УМБАЛ „Света Марина“ – Варна и хоноруван

преподавател към Втора катедра по вътрешни болести, УС по Хематология, МУ – Варна. През 2014 г. е преназначен в Отделение по трансплантация на стволови клетки към Клиника по хематология. Има придобити специалности по вътрешни болести (1995 г.) и клинична хематология (1997 г.). През 2006 г. се дипломира по магистърска програма „Здравен мениджмънт“ към МУ – Варна. Специализира в областта на клиничната хематология и трансплантация на хематопоеетични стволови клетки в Колмар (Франция, 2015 г.), Загреб (Хърватия, 2016 г.) и Хановер (Германия, 2017 г.).

Д-р Владимир Геров участва в редица национални и международни научни форуми и обучителни курсове в областта на хематологията. Участвал е в изследователски екипи на съвместни научни проекти с Катедра по биохимия (2001-2002) и с Катедра по биохимия, молекулярна медицина и нутригеномика и Катедра по клинична лаборатория (2019 – 2023 г.). Научните му интереси са в областта на диагностиката и лечението на остри левкемии и множествен миелом, оксидативен стрес при онкохематологични заболявания, нови биомаркери за оценка на костна болест при множествен миелом, трансплантация на онкохематологични заболявания. Част е от екипите на международни клинични проучвания. Член е на БЛС, Българско научно дружество по хематология и Европейско сдружение по костно-мозъчна трансплантация. Владее френски и английски език.

Актуалност и значимост на темата

Миелом-индуцираната костна болест (MBD) и свързаните с нея остеолитични лезии е отличителна биохимична и клинична проява на мултиплиения миелом (ММ). Тя се открива в около 70% при първоначална диагноза и се развива дори при липса на активно заболяване, което я определя като основна причина за заболяемост и смъртност при пациенти с ММ. Въпреки подобрените терапевтични възможности, в хода на заболяването при 80-90% от пациентите се наблюдават скелетни събития, като костни болки (70-80%), спонтанни фрактури (50-60%), хиперкалциемия (15%) и компресия на гръбначния мозък (2-3%). Освен това, ежедневното физическо въздействие на костното заболяване създава допълнителни заплахи върху тяхната безопасност и качество на живот, дори когато са в ремисия.

В рутинната клинична практика се използват разнообразни биомаркери, оценяващи туморния товар или служещи за стратификация на риска, но липсват такива за определяне степента на костното засягане. В този смисъл пациентите с ММ представляват непрекъснато терапевтично предизвикателство, което налага необходимост както от идентифициране на нови биомаркери, участващи в костното ремоделиране при ММ, така и от разработването на нови фармакологични молекули и подходи.

В контекста на така формулираните мотиви считам, че предложената тема е интересна и със своята актуалност и нерешени проблеми би могла да послужи за основа на нови научни търсения за оценка на костната болест при ММ и за създаване на лабораторен алгоритъм за нейното мониториране.

Обща характеристика и структура на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд съдържа 184 стандартни страници и е онагледен с 50 таблици и 52 фигури. Структуриран е съгласно общоприетите изисквания и включва: съдържание – 2 стр., съкращения – 1 стр., въведение – 2 стр., литературен обзор – 40 стр., цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 9 стр., резултати – 68 стр., дискусия на резултатите – 30 стр., изводи – 2 стр., приноси – 1 стр., списък на публикации и участия в научни форуми, свързани с дисертационния труд – 1 стр. и библиографска справка – 25 стр., включваща 424 литературни източника, от които 1 на кирилица и 423 на латиница.

Литературен обзор

Литературният обзор е изчерпателен и демонстрира отлично познаване на проблема. Много подробно са разгледани епидемиологията на ММ и съвременните разбирания за патогенезата на MBD. Представени са особеностите на различните клетъчни компоненти на костния мозък и молекулярните механизми на тяхното взаимодействие с миеломните плазматични клетки. Подчертана е ролята на костно-мозъчното микрообкръжение, играещо ключова роля за прогресия на ММ и развитие на MBD. Посочени са и най-често активираните сигнални пътища, подпомагащи растежа, оцеляването, миграцията и лекарствената резистентност на миеломните клетки. Голяма част от литературния обзор (около 2/3) е посветен на избрани от автора 5 патогенетични фактора, имащи отношение към дисбаланса на процесите при костното ремоделиране: Dkk-1 и склеростин, като инхибитори на остеобластна активност,

sRANKL, като основен остеокластен активатор, и остеопонтин и периостин, като важни белтъци от екстрацелуларния матрикс, осигуряващи благоприятна среда в костномозъчното микрообкръжение за заселване, пролиферация и експанзия на клонални миеломни плазматични клетки. За всеки един от тях е предоставена подробна информация за клетъчна структура, генна експресия, механизъм на действие и биологична роля в процесите на костна резорбция и костно образуване. Особено внимание е обърнато на известните до момента факти, свързани с ролята им за възникването и прогресията на MBD.

Обобщавайки наличните литературни данни авторът прави заключение, че за една част от изследваните фактори (склеростин, остеопонтин и периостин) клиничните проучвания са твърде ограничени и не позволяват да се формулират препоръки за клинично приложение, а при останалите са съобщени противоречиви резултати, водещи до различни заключения относно тяхната роля за оценка на костната болест при пациенти с ММ. Авторът формулира обобщение, според което е необходимо да се проведат допълнителни изследвания, с които да се изясни ролята на Dkk-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин за възникване и поддържане на нарушен баланс между основните процеси на костното ремоделиране като остеокластогенеза и остеобластогенеза.

Целта е кратко и точно дефинирана.

Задачите за нейното изпълнение са ясно формулирани, следват логиката на литературния обзор и техните решения са в синхрон с използваните диагностични методи.

Разделът **Материал и методи** е представен на 9 страници. Проучването е едноцентрово проспективно и е проведено в Клиника по хематология към УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна след получаване на одобрение от Комисията по етика на научните изследвания към МУ – Варна. В него са включени общо 74 лица – 41 новодиагностицирани пациенти с ММ и 33 здрави лица, формиращи контролна група, подбрани съобразно ясно дефинирани критерии за включване и изключване. Дизайнът на проучването е представен описателно и схематично и демонстрира реалната възможност за динамично проследяване на нивата на проучваните костни биомаркери според стадия и тежестта на ММ, степента на плазмоклетъчната костномозъчна инфилтрация и рутинните хематологични, морфологични и биохимични показатели. При лицата от контролната група

костните биомаркери са изследвани еднократно, а при пациентите – на три етапа в зависимост от провежданото лечение: преди започване на лечение (етап T0), след приключване на 4 курса химиотерапия (етап T1), след приключване на допълнителни 4 курса химиотерапия за нетрансплантирани пациенти (етап T2) и три месеца след проведена автоложна стволово-клетъчна трансплантация (ASCT) при трансплантирани пациенти (TA). На всеки един от етапите пациентите са изследвани рутинно с всички използвани в диагностично-клиничната практика показатели и е вземано допълнително количество венозна кръв за определяне на серумните нива на склеростин, Dkk-1, sRANKL, остеопонтин и периостин. Измерванията са извършвани чрез високочувствителни ELISA-методи с китове на Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, China. Костната болест е изследвана посредством целотелесна нискодозна компютърна томография. Всички използвани методи са съвременни и адекватни за изпълнение на поставените задачи. Статистическите методи, заедно със софтуерните програми за обработване на данните, са представени детайлно и компетентно.

Изложението на **резултатите** е разгърнато върху 68 страници и включва 7 подраздела. В първия подраздел са представени демографски и клинично-лабораторни характеристики на изследваните лица. Липсата на хетерогенност по отношение на пол и възраст в двете изследвани групи (пациенти и здрави контроли) говори за добре балансиран подбор, гарантиращ качество на сравнителния анализ. В следващите пет подраздела са представени резултати за всеки един от изследваните биомаркери – Dkk-1, склеростин, sRANKL, остеопонтин и периостин. Спазвайки замисъла на научната разработка, те са описани и онагледени коректно и следват последователността на поставените задачи.

Стартирайки с изпълнението на първата задача, докторантът установява статистически по-високи нива на изследваните белтъци при новодиагностицирани пациенти в сравнение с контролната група, като по отношение на пола значимите различия са само за склеростин и периостин при здрави лица. При оценката на влиянието на бъбречната функция върху серумните нива на изследваните биомаркери статистическа достоверност е установена само за остеопонтин при пациенти с увредена бъбречна функция. На етап T0 е оценена зависимостта на изследваните белтъци от стадия на заболяването, степента на

костната болест и костно-мозъчната инфилтрация с плазматични клетки, както и корелационните взаимовръзки с рутинните хематологични, морфологични и биохимични показатели. Избраните белтъци отразяват адекватно стадия и тежестта на костното заболяване и корелират значимо с утвърдения за ММ бета-2-микроглобулин. За всеки един от изследваните биомаркери е проследена динамиката на серумните им нива в хода на терапията и в зависимост от отговора към лечението. За всички показатели се открива понижение на стойностите, което е в зависимост от броя на проведените химиотерапевтични курсове и има най-голям ефект при трансплантирани пациенти.

В последния подраздел е проведен ROC-анализ за установяване на диагностичната стойност на изследваните белтъци. За всички изследвани показатели AUC е със стойност над 0.8 при $p < 0.0001$, като за два от тях (склеростин и периостин) се достига дори до стойност близка до 0.9, което потвърждава отличната им диагностична стойност. Със същия анализ докторантът изследва предиктивната стойност на всеки един от белтъците и възможността им правилно да селектират пациенти с леко и с тежко засягане скелетната система. Всички изследвани белтъци, с изключение на sRANKL, се характеризират с висока стойност на AUC, което дава основание на автора да приложи и логистичен регресионен анализ, за да оцени индивидуалния ефект на изследваните биомаркери за прогресията на MBD. Установено е, че параметрите склеростин и периостин формират най-значимата комбинация относно прогноза за прогресия на костната болест.

Обсъждането на резултатите е изведено в отделен раздел *Дискусия*, който е разработен върху 30 страници и следва логиката на проведеното проучване. В него дисертантът демонстрира отлични познания по отношение патогенезата на MBD и задълбочени дискуссионни умения и заключения за получените собствени резултати. Направени са паралели с резултати от други чуждестранни проучвания за всички изследвани параметри, пропорционално разпределени в обема на съдържанието. Като цяло, дискусията е обстойна и задълбочена, показваща отличното познаване на патогенетичните особености на MBD. Аргументирано и обосновано е представена личната интерпретация на докторанта при търсенето на причините за наличните съответствия и различия.

Изводите на дисертационния труд са 12 и са формулирани правилно, екстрахирайки резултатите от осемте поставени задачи.

Оценка на приносите на дисертационния труд

Трудът завършва с представянето на **8 приноса**, чието достойнство е в тяхната оригиналност в научен и в приложен аспект. Приемам ги напълно.

Преценка на публикациите, свързани с дисертационния труд

Докторантът представя **4 публикации**, две от които са в българска периодика и две – в международни списания с висок импакт фактор. Във всички тях д-р Владимир Геров е първи автор, което е косвено доказателство за личния му принос при разработването на научната концепция, събирането на данните, дизайна на проучването, обобщаването на резултатите и тяхното публикуване. Всичко това е подкрепено и чрез представяне на част от резултатите в пет национални и международни научни форума, в четири от които докторантът е водещ автор.

Автореферат

Авторефератът е разгърнат на 115 страници и е структуриран аналогично на дисертационния труд. Онагледен е с 50 таблици и 52 фигури и дава много добра представа за поставените цел и задачи, постигнати резултати и дискусия, изводи и самооценка на приносите.

Заклучение

Дисертационният труд на д-р Владимир Геров е посветен на актуален медицински проблем и допринася за откриване и въвеждане в клиничната практика на нови биомаркери за оценка на костната болест при ММ. В дългосрочен план получените резултати могат да бъдат предпоставка за разработване на нови биологични агенти за таргетна терапия на ММ, което е своеобразен допълнителен принос на дисертационния труд.

По структура, обем и съдържание представеният дисертационен труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ – Варна. Той е оригинална разработка на дисертанта и демонстрира неговата теоретична ерудиция и професионални умения по научната специалност “Хематология и преливане на кръв”,

включително и академична аналитичност за научна информация и концептуалност за провеждане на научно изследване.

Всичко, формулирано по-горе, е основание да декларирам положителна оценка и да препоръчам на уважаемото Научно жури да присъди на д-р Владимир Тодоров Геров научно-образователната степен „ДОКТОР“ по докторска програма „Хематология и преливане на кръв“.

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

Дата: 07.05.2024 г.

Изготвил рецензията:

(проф. д-р Валерия Калева, дм)