

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Искрен Коцев, д.м.н., професор по вътрешна медицина и гастроентерология

*на дисертационния труд на тема „Антивирусна терапия при хроничен хепатит В - динамика на вирусните маркери и дългосрочни резултати“ на д-р Йоана Светлозарова Стоянова, лекар-асистент в Клиниката по гастроентерология на УМБАЛ „Св. Марина“ към МУ, гр. Варна, докторант в самостоятелна форма на обучение към II-ра катедра по вътрешни болести, УС „Гастроентерология, хепатология и хранене“, Медицински факултет при МУ, гр. Варна, за присъждане на научната и образователна степен „доктор“ в областта на висше образование 7. здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. „Медицина“, докторска програма „Гастроентерология“*

Със заповед № Р-109-83, гр. Варна, от 21.03.2024 г. на проф. д-р Димитър Райков, д.м.н. – Ректор на Медицинския университет, гр. Варна бях утвърден за член на Научното жури по процедура за публична защита на дисертационния труд на д-р Йоана Светлозарова Стоянова на тема „Антивирусна терапия при хроничен хепатит В - динамика на вирусните маркери и дългосрочни резултати“. На първото заседание на Научното жури от 25 март 2024 г. бях определен за изготвяне на рецензия. Предоставени ми бяха всички материали, които разгледах подробно и потвърждавам, че процедурата по разкриването, разработката и допускане до защита е проведена съгласно изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за приложението му от 2010 г., както и съгласно изискванията на Правилника за развитие на академичния състав в Медицински университет, гр. Варна. От същите документи се ръководех и при изготвянето на тази рецензия.

От въвеждането на масовата ваксинация против HBV-инфекцията в края на миналия век честотата на хроничен хепатит В постоянно намалява. У нас преживяхме спад за 50 години от 7% HBsAg позитивни сред общата популация до под 1% при младата генерация на XXI век. Въпреки това радикалното лечение в смисъла на HBsAg сероконверсия остава нерешен въпрос. Честотата на хроничната HBV-инфекция сред възрастното население остава по-висока. Усилените проучвания в края на миналия и началото на настоящия век доведоха до създаване на нуклеозидни аналози, осигуряващи в приемлив срок пълно подтискане на вирусната репликация, но без повлияване на вирусния резервоар от HBV - cccDNA на инфектираните хепатоцити. RNA-вирусът на хепатит С беше успешно победен, но DNA-вирусът на HBV е значително по-устойчив и днес продължава да е обект на усилен проучвания.

Разглеждам настоящия труд като успешно продължение на тази противовирусна борба, която Клиниката по гастроентерология водеше в годините на съвременната хепатология. В тази многогодишна борба участваха колежитне от клиниката, но в основата ѝ стоеше научният ръководител на дисертантката – доц. Ирина Иванова, д.м. Това дава необходимата научна дълбочина, съвременно продължение и развитие на големия проблем с хроничната хепатит В вирусна инфекция.

Съвременната поддържаща нуклеозидна терапия прекъсва прогресиращата чернодробна фиброза, дори води до известен неин регрес, но канцерогенният вирус остава, персистира минимално възпаление, натрупват се нежеланите прояви на продължителната терапия. В последните години се търсят нови методи за оценка на терапията и фиброзата, нови предиктори за успешно функционално излекуване, нови възможности за лечение.

Днес, д-р Йоана Стоянова ни представя отлично структурирания си дисертационен труд „Антивирусна терапия при хроничен хепатит В - динамика на вирусните маркери и дългосрочни резултати“, в който разработва изключително актуална тема, която в момента е обект на множество проучвания, научни спорове, с динамично променящ се изследователски консенсус или липса на такъв. Дисертантката си поставя високата цел да направи съвременна оценка на днешното противовирусно лечение и на активността на хроничната HBV инфекция при пациенти с дългогодишен прием на нуклеотидни/нуклеозидни аналози. Тя навлиза смело в нови и непознати области относно ролята и значението на количественото изследване на HBsAg, HBcrAg, RT-PCR HBV DNA, и взаимовръзката между всички биомаркери на инфекцията.

В последните години хроничната HBV инфекция отново стана обект на нови обширни и последователни проучвания. Научният труд на д-р Йоана Стоянова е добре мотивиран в научно и практическо отношение. Нейното задълбочено изследване е уникално за България и носи пионерски дух.

Клиниката, в която работи д-р Стоянова има безспорна заслуга (заедно с другите български университетски клиники) за въвеждането в клиничната практика у нас на съвременното лечение при болните с хроничен хепатит В. В този смисъл тя разполага с достатъчен брой от необходимия за изследването контингент. За постигане на амбициозната си цел д-р Стоянова си поставя 8 основни задачи, които по мое мнение, е изпълнила отлично. Най-важните задачи се отнасят до вирусологичния и биохимичен отговор при дългогодишно лечение с нуклеозидни аналози, проследяване на динамиката и равнището на HBsAg и HBcrAg. Дисертантката мониторира чернодробната болест с лабораторни показатели за чернодробна синтетична функция, индиректни фиброзни серумни маркери, абдоминална ехография, еластография и ендоскопия. Д-

р Стоянова оценява ролята на метаболитните нарушения в динамика на чернодробната болест при пациенти с хроничен хепатит В, които са на лечение с нуклеозинди аналози.

Д-р Стоянова оценява и разликите в динамиката на вирусните маркери при класическото деление на инфектираните с HBV, а именно HBeAg-положителни и HBeAg-отрицателни.

С приложението на нуклеозинти аналози (НА) се постигнаха безспорни успехи в лечението на HBV-инфекцията. НА подтискат ДНК-полимеразата, създадена с обратната транскрипция по време на HBV-репликацията и спират синтеза на плюс и минус веригите на HBV, но не унищожават mRNA и ковалентно затворената кръгова ДНК (cccDNA) в хепатоцитното ядро, които служат като матрица за вирусен синтез. Опитана се различни начини за елиминация на вируса – комбинация от НА, спиране на терапията с надежда за възстановен елиминационен имунитет, Т-клетъчна терапия, терапевтични трансгенни HBV-ваксини, инхибитори на клетъчното навлизане (Bulevirtide, Hepcludex), повлияване на HBV-полимеразата, анти-сенсионда (Bepirovirsen), HBs-инхибитори, имунотерапия и др. Засега Bulevirtide беше утвърден за лечение на HDV-инфекцията, а Bepirovirsen засега показва много добри резултати – до 10% загуба на HBsAg и HBV DNA. Допуска се, че комбинация от кръга на НА, Bepirovirsen, пегилиран IFN, терапевтични ваксини, полимеразни RAPD5 и RAPD7 ензимни инхибитори, ще е в състояние да елиминира вируса. Необходими са нови биомаркери и индикатори за оценка на хода и елиминацията на вируса, както и предиктори за добър отговор. Усилията на дисертантката се вписват в общия ход на световните научни и приложни изследвания в тази област.

Д-р Стоянова изследва 84 последователни пациента с хронична HBV инфекция от регистъра на Клиниката по гастроентерология, 90% с HBeAg негативен статус и 10% с HBeAg-позитивен.

Всички изследвани пациенти провеждат антивирусно лечение в Клиниката по гастроентерология и отговарят на адекватни и коректно спазени включващи и изключващи критерии. Дисертацията на д-р Стоянова е голямо и представително за България проучване в тази област, потвърдено с клинична, лабораторна, вирусологична и образна верификация, като са използвани всички съвременни възможности за диагностика и лечение.

Дисертантката използва съвременни методи на изследване – клинични, лабораторни, вирусологични (HBV DNA, HBeAg, anti Hbe, количествен HbsAg, HbcrAg), серумни фиброзни маркери APRI и FIB-4, абдоминална ехография, чернодробна биопсия със стадиране по METAVIR, споделено-вълнова и вибрационно-преходна еластография (фиброскен) и ендоскопия. Докторантката използва адекватен статистически апарат, което ѝ позволява да направи валидни изводи и заключения. Дисертационният

труд е онагледен богато с 47 фигури и 15 таблици.

Научният труд е представен на 106 страници, структурирани в 10 части, най-важните от които са: литературен обзор, методика на проучването, резултати с обсъждане и изводи. Съотношението между отделните части е правилно, езикът е ясен и точен, авторката представя сложната материя по достъпен и разбираем начин. Библиографията представя на практика всички съвременни публикации, свързани с темата и се състои от 176 автори публикации (2 на кирилица и 174 на латиница).

Съвременен е схващането, че целите на терапията при хроничната HBV-инфекция включват не само прекъсването на вирусната репликация, но и изкореняване на вирусната матрица в хепатоцитното ядро. В клиничната практика бяха въведени 6 НА, 3 от които се използват активно и днес. Въпреки че поддържащата терапия с НА забавя прогресиращия ход на HBV-хепатита, нискостепенната интрахепатална активност на HBV и проканцерогенният риск персистират. Дамоклевият меч за реактивация и резистентност е също налице. Явно, че освен равнището на HBV DNA, е необходимо да се търсят нови показатели за ефективността на антивирусното лечение. Затова дисертантката правилно проследява динамиката на qHBsAg, HBcrAg и HBV DNA. Очакванията са, че HbcrAg може да се окаже подходящ сурогатен маркер, заедно с другите HBV биомаркери, за предсказване на прогресията и лечебния отговор при пациентите с хроничен HBV-хепатит.

HBcore-свързаните антигени могат да персистират при пациенти със HBsAg сероконверсия и всъщност обединяват HBeAg, HBcAg и 22-kDa пресоре протеин p22cr, които са кодирани от пресоре/core региона на вирусния геном и затова могат съвместно да бъдат определени количествено в серума на HBV-пациенти. Тези 3 протеина са транслационни продукти на mRNA, транскрибирана от ccc DNA и затова може да се приемат за индиректен техен показател.

Д-р Стоянова в своето проучване потвърждава, че приложението на нуклеотидни/нуклеозидни аналози при хроничен хепатит В осъществява високо ефективно инхибиране на HBV репликацията и осигурява начален вирусологичен отговор при 63 % като поддържа вирусната супресия - HBV DNA <10 IU/ml при 90.4 % и неоткриваема HBV DNA при 84.5 % от лекуваните. Докторантката регистрира разликата във вирусологичния отговор при HBeAg негативен и HBeAg позитивен хроничен хепатит – съответно 87 % и 66 %, което съвпада с досегашните литературни данни. Постигнатият траен биохимичен отговор от 91.6 % при лечението с нуклеозидни/нуклеотидни аналози е оптимален. Правилно дисертантката отбелязва субоптималния отговор към Lamivudin, при който не се постига вирусна супресия при 19% и е налице висок риск от медикаментозна резистентност.

Д-р Стоянова категорично показва, че дълготрайната терапия с НА

води до подобрене на индиректните серумни маркери за фиброза, със значително подобрене на APRI при повечето случаи и намаляване на FIB-4 при 56% от лекуваните. Тя изтъква чрез проучването си, че продължителното лечение с нуклеозидни/нуклеотидни аналози намалява чернодробната плътност, оценена с ултразвукова еластография със средно 4 kPa при 64% от пациентите. Това са убедителни доказателства за реверсивния ход на фиброзата при продължително поддържащо лечение със НА.

Д-р Стоянова установява значително по-ниска концентрация на HbsAg при пациентите с чернодробна цироза, което е обяснимо с 5-фазовата класификация на хроничната HBV-инфекция, а именно с напредване на фиброзата ходът е към HbsAg-негативната фаза. Но тя регистрира факта, че равнището на HB core-свързаните антигени не намалява при цироза.

Докторантката установява връзката между HBV DNA и равнището на HbsAg. Чрез регресионен анализ изчислява, че увеличаването на HBV DNA с 1 IU/ml води до покачване на qHBsAg с 30,5 IU/ml.

Д-р Стоянова чрез своето проучване постановява, че съвременното проследяване на лекуваните с НА пациенти с HBV-хепатит изисква проследяване в динамика на HbsAg равнището. Тя потвърждава в своето наблюдение, че дълготрайната поддържаща терапия с нуклеозидни/нуклеотидни аналози (над 10 години) води до прогресивно намаление в равнището на HbsAg и благоприятна динамика при 90% от лекуваните с най-ниска концентрация на HBsAg от средно 898 IU/ml.

Д-р Стоянова установява в наблюдаваната група пациенти функционално излекуване с пълна сероконверсия на HbsAg и поява на анти HBs-антитела при 4,8%. Потвърденият от дисертантката нисък дял на сероконверсия стои в основата на продължаващите и днес проучвания за нови терапевтични подходи.

Потвърдена е ролята на абдоминалната ехография при проследяването на пациентите с HBV-цироза. Докторантката установява развитие на хепатоцелуларен карцином при 3 случая (12,5%) сред пациентите с цироза.

Интересни са данните за установената при 3 пациенти регресия на порталната хипертония, с обратно развитие на хранопроводните варици и порталната хипертензивна гастропатия.

Значителен интерес представляват пионерските изследвания на HB core-свързаните протеини, които се откриват в кръвта на пациентите с дълготрайна противовирусна терапия и успешна супресия на вирусната репликация, представлявайки индиректен маркер за персистираща ccc-DNA. Дисертантката установява, че 67% от изследваните пациенти имат

равнище на HBcrAg между 3 и 4 log10. Интерес представлява и доказаното откриваемо равнище на HBcrAg при пациентите с клирънс на HbsAg.

Дисертантката установява, че в случаите с прогресия на чернодробната болест, оценена с индиректни фиброзни маркери и с висока чернодробна плътност, трябва да се търсят и други патогенетични фактори, като алкохолна консумация и метаболитни нарушения. Това е наистина нерядко срещана в практиката картина и заключението на дисертантката говори за нейната клинична зрялост.

Резонна е препоръката на д-р Стоянова, че проследяването на пациентите с хроничен хепатит В при дълготрайна терапия с НА трябва да включва задължително комплексна оценка на новите вирусни маркери, на неинвазивните фиброзни показатели и данните от абдоминалната ехография и гастроинтестинална ендоскопия.

Д-р Стоянова потвърждава високата ефективност на съвременното лечение на HBV-инфекцията и внася нови акценти в проследяването на тези пациенти. Тя доказва категорично нуждата от динамично проследяване на qHBsAg, HbcrAg, HBV RNA, неинвазивните фиброзни маркери и еластографските показатели. Съобщаваните от авторката данни съвпадат с тези на водещи европейски хепатологични центрове.

Със своя научен труд д-р Йоана Стоянова има оригинални приноси:

- Проведена е комплексна оценка на резултатите от лечението с нуклеозидни/нуклеотидни аналози за период от средно 8,2 години
- За първи път в България е направен оригинален анализ на HBcrAg
- Количественото равнище на HBsAg е оценено във връзка със стadiите на болестта и вирусния товар
- Събран е начален клиничен опит за приложение на новите вирусни маркери за активност на HBV при пациенти с медикаментозно инхибирана вирусна репликация.
- Анализът и изводите на дълготрайните резултати от настоящото лечение на хепатит В е предпоставка за поставяне на нови цели за оптимизиране на терапевтичното поведение при тези пациенти.

Приносите ѝ са с научно-приложен и потвърдителен характер и са пряко приложими в клиничната практика. Със своята дисертация д-р Стоянова потвърждава високата информативна стойност на неинвазивните методи за проследяване на пациентите.

Д-р Стоянова има 3 публикации и участия в научни форуми, свързани с дисертационния си труд. Тя е първи автор.

Могат да се направят следните препоръки:

- Предвид задълбоченото ѝ проучване с оригинални резултати, желателно е д-р Стоянова да има по-висока публикационна активност

- Да повиши научната си активност в национални и международни научни форуми с научни съобщения, доклади или постери

Направените бележки не намаляват стойността на дисертационния труд. Ние си позволяваме да ги направим с цел бъдещо научно и клинично развитие на дисертантката.

Постигнатите резултати и изводи са ценен принос в българската хепатология. Д-р Йоана Стоянова е млад лекар, с амбиции и възможности за развитие. За времето, което работи в Клиниката по гастроентерология, тя се утвърждава като знаещ и можещ гастроентеролог с ценен принос в общата дейност на Клиниката.

Тя работи във университетска клиника по гастроентерология с ръководител доц. Ирина Иванова, водещ експерт в България в областта на хепатологията. В Клиниката по гастроентерология д-р Стоянова има щастието да разчита на вещото присъствие и съдействие на доц. Антония Атанасова д.м.н, с чието лично и активно участие беше разработена хепатологичната инфраструктура на Клиниката, а също и на активния принос в развитието на хепатологията от д-р Павлина Бойкова, д. м., и доц. Диана Ганчева, д. м., както и в сътрудничество с всички останали колеги от клиниката и болницата.

Д-р Йоана Стоянова е завършила с отличен успех висшето си медицинско образование през 2018 г. и има 6 годишен лекарски стаж. Тя е работила като лекар-специализант в Клиниката по гастроентерология, а от 2019 г. е лекар-асистент в Медицински университете, гр. Варна. От 01.01.2023 г. има призната специалност по гастроентерология и работи като специалист по гастроентерология в Клиниката по гастроентерология

Проучването на д-р Йоана Стоянова е задълбочено и научно издържано изследване със съвременна комплексна оценка на ефективността на противовирусно лечение и на активността на хроничната HBV инфекция при пациенти с дългогодишен прием на нуклеотидни/нуклеозидни аналози. То има своите забележителни научни и практически приноси. Смятам, че този труд притежава висока научна стойност и полезна практическа приложимост.

Оценявайки цялостно дисертационния труд на д-р Стоянова с нейните комплексни проучвания, постигнати резултати, оригинални приноси, научна и практическа значимост, смятам, че представеният дисертационен труд на д-р Йоана Стоянова отговаря напълно на изискванията за присъждане на научната и образователна степен „Доктор” и давам своя позитивен вот.

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

Позволявам си да препоръчам същото и на уважаемите членове на Научното жури.

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

13.04.2024 г.  
гр. Варна

Проф. Д-р Искрен Коцев, д.м.н.  
МБАЛ-Варна, ВМА, Клиника по гастроентерология