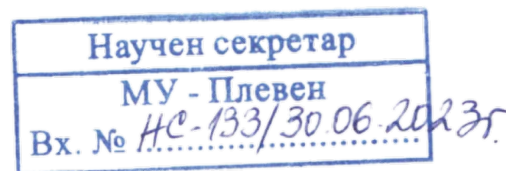


До Председателя на Научното жури,
Определено със Заповед №1515/30.05.2023 год.
На Ректора на Медицински Университет Плевен



РЕЦЕНЗИЯ

от: Доц. д-р Антонио Ивванов Антонов, д.м.,
Начланик Клиника по Хематология, УМБАЛ“Света Марина“ Плевен

на дисертационен труд за присъждане на образователна и
научна степен „доктор“

Професионално направление: 7. Здравеопазване и спорт, 7.1 Медицина

Научна специалност: “Хематология и преливане на кръв“

Автор: Д-р Велизар Стефанов Шиваров

Форма на доктурантурата: самостоятелна форма на обучение

Научна организация: Медицински Университет-Плевен

Тема: „Имуногенетични аспекти в патогенезата на Jak2V617F-положителните миелопролиферативни неоплазии.“

Научен ръководител: Доц. д-р Иван Гигов, д.м.

Доц. д-р Бисер Борисов, д.м

Кратки биографични данни:

Д-р Велизар Стефанов Шиваров завършва Медицина през 2003 год. в Медицински университет-София. В следващите 10 години работи като научен сътрудник в Лаборатория по хематопатология и имунология при СБАЛХЗ-София. В този период с МЕХТ стипендия провежда изследователска специализация в Катедра по имунология и геномна медицина на Университет Киото, Япония, а по-късно продължава с постдокторантска програма в Раков център към Медицински факултет на Университет Yale, Ню Хейвън, САЩ.

Пряка клинична работа започва като лекар, а по-късно продължава като специализант в Отделение по Клинична хематология на УМБАЛ „Софиямед”, София. През 2019 придобива специалност по Клинична хематология.

Успоредно е Началник Лаборатория по Клинична имунология на УМБАЛ „Софиямед” и е хабилитиран за доцент към катедра „Генетика“ на Биологически Факултет при СУ „Св. Климент Охридски“.

От 2020 година е Медицински директор направление „Хематология/Онкология“, PRAHS/ICON plc България.

Образователната квалификация на д-р Велизар Шиваров е забележителна. Още през 2011 год придобива ОНС „Доктор” в Национален център по заразни и паразитни болести, с тема “Проучвания върху механизма на действие на ензима активационно-индуцируема цитидиндеаминаза (AID) при процеса на изотипно превключване и соматични хипермутации на имуноглобулиновите гени”, а през 2011 и специалност по Клинична имунология.

Полага множество високоспециализирани квалификационни курсове в областите на клинична хематология, генетика и имунология във водещи европейски и американски университети.

Структура на дисертационния труд:

Дисертационният труд е написан съгласно общоприетите изисквания и се състои от осем раздела с нормално съотношение. Съдържанието обхваща 126 страници с включени 20 таблици и 34 фигури. Таблиците и фигурите са ясни, добре адаптирани и обяснени с коректно цитиране на съответните автори. Библиографията е значителна, общо обхваща 318 заглавия само на латиница. От тях, две трети (62%) са от последните 10 години.

Тематична актуалност на дисертационния труд:

Генетичните нарушения застъпени в патогенезата на Ph(-) Миелопролиферативни неоплазии са усилено изучавани през последните 15 години. Значителните постижения в тази област промениха представата за биологията на заболяванията и отвориха възможности за създаване на нови терапевтични подходи. Независимо от това, точните механизми на трансформация остават неразгадани. Общоприето е, че поредицата от патогенетични събития водещи до развитието на клонална хемопоеза е придружено и от избягване на имунния надзор. В актуалните публикации по темата, ролята на имунната система не е широко застъпена. От тази гледна точка, разглеждането на патогенетичния процес в неговата цялост, с търсене на връзка между генетичните промени и имунния отговор дава възможност за по-пълно и адекватно разбиране. Подходът е интересен и извън обичайно прилаганата методика изучаваща едностранно генетичните или имунологични нарушения.

Темата е актуална, дискутабилна и засяга недостатъчно проучвана страна в патофизиологията на Миелопролиферативните състояния.

У нас има ограничен брой разработки върху хронични миелопролиферативни неоплазии /ХМПН/, а проучванията на имунологичните аспекти настъпващи при тях са крайно редки.

Литературен обзор:

Представеният обзор обхваща 31 страници, онагледен е с 12 фигури и 1 таблица. В него елегантно са изведени съвременните принципи за ракова биология, представени са механизмите за имунна редакция на ракоите клетки и възможната туморна еволюция. Представена е генетичната организация и разнообразие на HLA системата. Разгледано е нейното значение в процесите на антитуморен имунитет и при прилагана имунотерапия. Подробно е разгледан предполагаемия модел на онкогенеза при Jak2V617F (+) хронични миелопролиферативни неоплазии /ХМПН/. Дискутирана е и двойствената роля на тази характерна аномалия от една страна като драйвър мутация при МПН а от друга като персистираща клонална хемопоеза без клинично изявено заболяване при СНР. Накрая, ясно са формулирани група от проблеми ненамерили отговор в литературата.

Структурата на обзора отговаря на темата на дисертационния труд. В него докторантът излага и систематизира съвременните представи по проблема.

Изследователска хипотеза. Цел и задачи:

Изследователската хипотеза е оригинална, но недобре изложена независимо от придружаващата фигура. Основната цел е формулирана конкретно и ясно. Изследователските задачи са 8 на брой като изчерпателно подкрепят целта.

Приемам формулираната цел и изследователски задачи за оптимално

структурирани.

Методология на дисертационния труд:

Мултидисциплинарният характер на проучването налага използването на разнообразен методологичен панел включващ RT-PCR, HLA генотипизиране чрез NGS, използване на статистическо моделиране с адаптивни линейни модели, симулация на молекулярната динамика в NADM среда, анализ на генната експресия чрез платформа Gene Expression Omnibus. Методите са модерни, високотехнологични, описани конспективно.

Изследвани са общо 139 пациента с ПБ, ЕТ, ПМФ, неуточнени МПН, диагностицирани съгласно критериите на СЗО 2016 и 622 здрави контроли.

Резултати:

Описанието на резултатите следва последователността на поставените изследователски задачи. Те са систематизирани подрбно, придружени от добре онагледени фигури и таблици. Интерес представлява резултат от задача 3 установяващ сравнително високия ранг на свързване на неопитопа LVLNYGVCF с HLA-B*35.01 алел.

Приемам описаните резултати като адекватни на поставените цел и задачи.

Дискусия:

Като основен раздел на всеки научен труд и тук, тя разглежда съвременните разбирания на конкретната туморна биология. Акцентира се върху способността на туморните прцеси да генерират и поддържат разнообразието на раковите клетъчни популации. Анализа на получените резултати не може да установи протективна роля на HLA-I генотипа за развитието на ХМПН.

От друга страна, се установява способността на HLA-B*35.01 алел да свързва Jak2V617F мутантния пептид / LVLNYGVCF/, което го превръща в протективен алел за развитието на Jak2V617F ХМПН. Дискутирани са и ефектите на α -IFN и Ruxolitinib върху повишената експесия на гени от МНС-I пътя. Предложен е схематичен модел на HLA-медирана имунна редакция при Jak2V617F ХМПН.

Изводи:

Изводите обобщават получените резултати. Приемам първите два като достатъчно логични и аргументирани.

1. Някои алели на HLA клас I могат да рестрицират развитието на Jak2V617F ХМПН
2. Стволовите кетки при МПН могат да избегнат медираната от HLA система имунна редакция

чрез понижаване на експресията на гени от пътя на антигенна обработка и предоставяна на HLA клас I.

Третия извод:

3. Някои лекарствени средства могат да повишат експресията на молекули от пътя на антигенна обработка и предоставяна през HLA клас I в стволови клетки от МПН и по този начин да засилят терапевтичния отговор.

Независимо, че е верен в голяма степен като съдържание отразява само частично сложните многостранни и ненапълно изяснени лекарствени ефекти на тези медикаменти прилагани при конкретните заболявания.

Приноси на дисертационния труд:

Приносите са оформени очаквано в 2 групи. Първата група отбелязва 7 наистина оригинални приноса, изложени ясно и балансирано. Всъщност тук са и основните акценти и ползи от комплексния подход с използването на модерни технологии.

Приносите с потвърдителен характер също са добре обособени.

Обобщено, приемам както формулираните от автора приноси, така и предложения автореферат, който отговаря на необходимите изисквания.

Заключение:

Дисертационният труд върху имунологичните промени при Ph(-)ХМПН е оригинална, актуална и перспективна разработка. Тя отговаря на наукометричните критерии съобразно правилника за академично развитие на МУ-Плевен за присъждане на научно-образователна степен „Доктор“.

Отправлям препоръка към Научното жури да присъди научно-образователна степен „доктор“ по научна специалност „Хематология и преливане на кръв“ на д-р Велизар Стефанов Шиваров.

30.06.2023 г.

Доц. Антонио Антонов, д.м.: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

To the Chairman of the Scientific Jury,
Determined by Order No. 1515/30.05.2023
Of the Rector of Medical University -Pleven

Statement

by: Assoc. Prof. Antonio Ivanov Antonov, MD,PhD
Head of the Department of Hematology, UMPHAT "St. Marina" Pleven

for a dissertation for the award of an educational and scientific degree "PhD"

at professional direction: 7. Health care and sports, 7.1 Medicine

in scientific specialty: "Hematology and blood transfusion"

Author: Dr. Velizar Stefanov Shivarov

Form of doctorate: independent form of study

Scientific organization: Medical University-Pleven

Topic: "Immunogenetic aspects in the pathogenesis of Jak2V617F-positive myeloproliferative neoplasias."

Research supervisor: Associate Professor Ivan Gigov, MD, PhD

Associate Professor Biser Borisov, MD,PhD

Brief biographical data:

Dr. Velizar Stefanov Shivarov graduated in Medicine in 2003 at Medical University-Sofia. In the following 10 years, he worked as a research assistant in the Laboratory of Hematopathology and Immunology at SHATHD-Sofia. During this period, with a MEXT scholarship, he worked as a researcher in the Department of Immunology and Genomic Medicine, Kyoto University, Japan, and later in a postdoctoral program at the Cancer Center at the Yale University School of Medicine, New Haven, USA.

His direct clinical work he began as a physician, and later continued as a resident in clinical hematology at the Department of Clinical Hematology at UMPHAT "Sofiamed" , Sofia. In 2019, he acquired a specialty in Clinical Hematology.

At the same time, he is the Head of the Laboratory of Clinical Immunology at the UMPHAT "Sofiamed", and habilitated as an associate professor at the "Genetics" department of the Faculty of Biology at Sofia University"St. Kliment Ohridski".

Since 2020, he is the Medical Director of the "Hematology/Oncology" department, PRAHS/ICON plc Bulgaria.

The educational qualification of Dr. V. Shivarov is remarkable. Already in 2011, he acquired a doctorate from the National Center of Infectious and Parasitic Diseases on the topic "Studies on the mechanism of action of the enzyme activation-inducible cytidine deaminase (AID) in the process of isotype switching and somatic hypermutations of immunoglobulin genes", and in 2011 he acquired his specialty in Clinical Immunology.

He took numerous highly specialized qualification courses in clinical hematology, genetics and immunology at leading European and American universities.

Structure of the dissertation:

The dissertation is written according to the generally accepted requirements and consists of eight sections with a normal ratio among them. The contents cover 126 pages with 20 tables and 34 figures included. Tables and figures are clear, well adapted and explained with a correct citation of the relevant authors. The bibliography is substantial, totaling a quantity of 318 titles in Latin alone. Of them, two thirds (62%) are from the last 10 years.

Thematic relevance of the dissertation:

Genetic disorders involved in the pathogenesis of Ph(-) Myeloproliferative neoplasias have been intensively studied in the last 15 years. Significant advances in this field have changed the understanding of the biology of this disease and opened up opportunities to create new therapeutic possibilities. Nevertheless, the detailed mechanisms of its origin and transformation remain unsolved. It is generally accepted that the series of pathogenetic events leading to the development of clonal hematopoiesis is also accompanied by an evasion of the immunological surveillance. In most of the new-to-date publications on the subject, the role of the immune system is not widely presented. From this point of view, considering the pathogenetic process in its entirety, with a search for a connection between genetic changes and the immune response, enables a more complete and adequate understanding. The approach is interesting and outside the box of the one-sided study of genetic or immunological changes. **The topic is up-to-date, debatable and affects a widely understudied part of the pathophysiology of the Myeloproliferative conditions.**

In our country, there is a limited number of studies on chronic myeloproliferative neoplasias /CMPN/, and the studies of the immunological aspects occurring in them are extremely rare.

Literature review:

The presented review covers 31 pages illustrated with 12 figures and 1 table. In it, the modern principles of cancer biology are elegantly presented, the mechanisms of immune editing of cancer cells and tumor evolution are presented. The genetic organization and diversity of the HLA system is presented. Its importance in the processes of anti-tumor immunity and in administered immunotherapy is examined. The theoretic model of the oncogenesis in Jak2V617F (+) chronic myeloproliferative neoplasias /CMPN/ has been examined in detail. The dual role of this characteristic abnormality as a driver mutation in MPN and the lack of a clinically significant disease in clonal hematopoiesis of undetermined potential (CHIP) is also discussed. Finally, the author clearly formulated a group of problems unanswered in the literature. **The structure of the review corresponds to the topic of the dissertation. In it, the PhD candidate presents and systematizes modern ideas on the problem.**

Research hypothesis. Purpose and tasks:

The research hypothesis is original but poorly stated regardless of the accompanying figure. The main objective is formulated specifically and clearly. The research tasks are 8 in number and comprehensively support the goal.

I accept the formulated goal and research tasks as optimally structured.

Methodology of the dissertation work:

The multidisciplinary nature of the study demands the use of a diverse methodological panel including RT-PCR, HLA genotyping by NGS, use of statistical modeling with adaptive linear models, simulation of the molecular dynamics in NADM environment, gene expression analysis by Gene Expression Omnibus platform. The methods are modern, high-tech and described in a concise manner.

A total of 139 patients with PV, ET, PMF, unspecified MPN diagnosed according to WHO 2016 criteria and 622 healthy controls were studied.

Results:

The description of the results follows the sequence of the tasks set for research. They are systematized comprehensively and well illustrated with figures and tables. Of interest is the result of task 3 establishing the relatively high association rank of the LVLNYGVCF neoepitope with the HLA-B*35.01 allele.

I accept the described results as adequate to the set goals and tasks.

Discussion:

As a main section of any scientific work, it starts from basic modern concepts of tumor biology. The most characteristic ability of tumor processes to generate and maintain the diversity of cancer cell populations is highlighted. The interpretation of the obtained results does not establish a protective role of HLA-I genotype and its diversity for the development of CMPN.

On the other hand, HLA-B*35.01 was identified as an allele capable of binding to the Jak2V617F mutant peptide /LVLNYGVCF/, which makes it a protective allele for the development of Jak2V617F CMPN. The effects of alpha-IFN and ruxolitinib on increased expression of MHC-I pathway genes are also discussed. A schematic model of HLA-mediated immune editing in Jak2V617F HMPN is proposed.

Conclusions:

Conclusions are based on the results obtained. I accept the first two as sufficiently logical and reasoned.

1. Certain HLA class I alleles may restrict the development of Jak2V617F HMPN
2. Stem cells in MPN can evade HLA-mediated immune editing by downregulating the expression of genes from the antigen processing pathway and presented to HLA class I.

The third conclusion:

3. Some drugs can increase the expression of molecules from the antigen processing pathway and presented through HLA class I in MPN stem cells and thus enhance the therapeutic response. nevertheless that it is largely true in content it only partially reflects the complex multifaceted and incompletely understood drug effects in these diseases.

Contributions of the dissertation:

Contributions are formed as expected in 2 groups. The first group notes 7 truly original contributions presented in a clear and balanced way. In fact, here are the main highlights and benefits of the complex approach with the use of modern technologies.

The acknowledgments of a confirmatory character are also well distinguished.

In summary, I accept both the contributions formulated by the author and the proposed abstract that meets the requirements.

Conclusion:

The dissertation work on the immunological changes in Ph(-)CMPN is an original, up-to-date and with a promising development. It meets the scientometric criteria in accordance with the rules for academic development of MU-Pleven for awarding the scientific and educational degree "PhD".

I make a recommendation to the Scientific Jury to award the scientific and educational degree "PhD" in the scientific specialty "Hematology and blood transfusion" to Velizar Stefanov Shivarov,MD.

30.06.2023

Assoc. Prof. Antonio Antonov, MD, PhD : **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**