



**СТАНОВИЩЕ**

от доц. д-р Ваня Славчева Попова, дм  
Началник клиника по хематология, УМБАЛ „д-р Г.Странски“ Плевен  
Ръководител сектор Хематология  
Катедра нефрология, хематология и гастроентерология, МУ- Плевен  
Вътрешен член на Научна жури за присъждане на ОНС „Доктор“

Относно:

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „ Доктор“

Област на висшето образование: 7. “Здравеопазване и спорт“.

Професионално направление: 7.1 “Медицина“.

Докторска програма: „ Хематология и преливане на кръв“

Тема: “Имуногенетични аспекти в патогенезата на JAK2 V617F- положителните миелопролиферативни неоплазии“

Автор: доц. д-р Велизар Стефанов Шиваров

**Научни ръководители:** доц. д-р Иван Гигов, дм. и доц.д-р Бисер Борисов, дм

**Изготвил становището:** доц.д-р Ваня Славчева Попова, дм

На основание заповед № 1515/30.05.2023г. на Ректора на МУ- Плевен съм избрана за член на Научното жури по процедура за придобиване на ОНС „ Доктор“от докторанта д-р Велизар Стефанов Шиваров.

***Структура на дисертационния труд:***

Дисертационния труд включва 136 стандартни печатни страници, разпределени тематично както следва: литературен обзор (38 стр.), материали и методи (7стр.), резултати (22стр.), обсъждане (14 стр.), заключение, приноси и приложения (19стр.) Библиографията включва общо 311 източника, по- голяма част от които са издадени през последните 10 години. Представеният дисертационен труд на докторанта д-р Велизар Шиваров е онагледен с 34 фигури и 20 таблици.

***Актуалност на темата:***

Патогенезата на JAK2 V617F- положителните миелопролиферативни неоплазии е обект на интензивно проучване през последните години, което е свързано с напредъка в развитието на имуногенетиката, молекулярната биология и въвеждането на нови технологии и методи за диагностика. Възможността за асоцииране на специфични HLA

алели и/ или хаплотипове с патогенезата на JAK2 V617F + МПН е обект на проучване в представения дисертационен труд, което безспорно прави предложената от докторанта тема дисертабилна.

### ***Литературен обзор:***

Направен е подробен литературен обзор върху тематиката на дисертационния труд. В този раздел са разгледани характерни черти на туморния растеж, способността на рака да генерира и поддържа генетично и епигенетично разнообразие, модели за имунологична редакция на рака, както и възможности за избягване на имунологичния надзор. Проведен е задълбочен анализ върху молекулярната патогенеза на JAK2 V617F позитивните миелопролиферативни заболявания. В края на литературния обзор са изведени неразрешени въпроси, налагащи допълнителни проучвания.

### ***Работна хипотеза, цел и задачи на дисертационния труд:***

Формулирана е изследователска хипотеза, предполагаща HLA- медирана рестрикция на ниво МПН- СК. Основната цел е ясно дефинирана и кореспондира с поставените осем изследователски задачи.

### ***Материали и методи:***

В проучването са включени 139 пациента с JAK2 V617F позитивна МПН и сравнителна група от 622 здрави български лица. Използвани са съвременни методи на анализ. Генотипизирането за JAK2 V617F мутация е извършено чрез директно ДНК секвениране по Sanger и/ или микросферов мултиплексен течностен метод. HLA генотипизирането е проведено чрез NGS, а HLA генотипа е определен чрез компютърна програма.

### ***Резултати:***

Въз основа анализа на използваните материали и методи, аргументирано са изведени съответните резултати, които са онагледени в таблици и фигури. Идентифицирани са три алела, които се срещат по- рядко при наличие на JAK2 V617F мутация, отколкото при здрави лица (HLA-A\*02:01, HLA-B\*35:01, HLA-C\*15:02). Въз основа на получените резултати се предполага, че JAK2 V617F+ клетъчен клон отчасти може да избегне опосредстваната от цитотоксични Т лимфоцити имунна редакция на ниво стволова клетка, независимо от HLA-I генотипа поради понижена експресия на компоненти от пътя на антигенна обработка и представяне през HLA-I. Проучена е възможността някои медикаменти (руксолитиниб, алфа- интерферон) да повлияят експресията на молекули от пътя на антигенна обработка и представяне през HLA клас I при човешки и миши JAK2 V617F+ клетъчни линии.

***Обсъждане:***

Анализирани са получените собствени резултати и резултатите на други научни колективи, свързани с JAK2 V617F асоциираната онкогенеза. Потвърдена е протективната роля на HLA-B\*35:01 алела за развитие на JAK2 МПН.

***Изводи:***

Представените изводи следват поставените от докторанта задачи и получените резултати.

***Приноси:***

Към дисертационният труд са представени седем научни приноса с оригинален характер и два с потвърдителен характер.

Д-р Шиваров е представил необходимия брой публикации, участия в научни проекти, глава от книга, списък с участия в научни форуми и декларация за оригиналност на научната продукция.

***Заключение:***

Научната разработка на тема „Имуногенетични аспекти в патогенезата на JAK2 V617F положителните миелопролиферативни заболявания“ е актуална, съдържа оригинални приноси и отговаря на ЗРАС на РБ и Правилника за РАС на МУ- Плевен за придобиване на ОНС „ Доктор“. Давам своята положителна оценка за дисертационния труд на д-р Велизар Стефанов Шиваров.

11.Юни.2023г.  
Плевен

Изготвил становището: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**  
Доц. д-р Ваня Славчева, дм



**OPINION**

by Assoc. Dr. Vanya Slavcheva Popova, MD, PhD

Head of Clinic of Hematology, University Hospital "Dr. G. Stranski" Pleven

Head of Sector Haematology

Department of Nephrology, Hematology and Gastroenterology, MU-Pleven

Internal member of the Scientific Jury for awarding NSA "Doctor"

Concerning:

Dissertation for awarding educational and scientific degree "Doctor"

Field of Higher Education: 7." Health and Sport".

Professional field: 7.1 "Medicine".

Doctoral Program: "Hematology and Blood Transfusions"

Topic: "Immunogenetic aspects in the pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms"

Author: Assoc. Dr. Velizar Stefanov Shivarov

**Scientific supervisors: Assoc. Dr. Ivan Gigov, PhD, PhD and Assoc. Prof. Dr. Biser Borisov, MD, PhD**

**Author of the opinion:** Assoc. Prof. Dr. Vanya Slavcheva Popova, MD, PhD

In accordance to Order No 1515/30.05.2023 by the President of MU-Pleven I was appointed as a member of the Evaluation Committee PhD thesis defense by Dr. Velizar Stefanov Shivarov.

***Structure of the dissertation:***

The dissertation includes 136 standard printed pages, distributed thematically as follows: literature review (38 pages), materials and methods (7 pages), results (22 pages), discussion (14 pages), conclusion, contributions and appendices (19 pages) The bibliography includes a total of 311 sources, most of which have been published in the last 10 years. The dissertation of the doctoral student Dr. Velizar Shivarov is illustrated with 34 figures and 20 tables.

***Significance of the research topic:***

The pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms has been the subject of intensive study in recent years, which is related to advances in the development of immunogenetics, molecular biology and the introduction of new technologies and methods of diagnosis. The possibility of associating specific HLA alleles and/ or haplotypes with the pathogenesis of JAK2 V617F + MPN is the subject of study in the dissertation presented, which undoubtedly makes the topic proposed by the doctoral student suitable for a PhD thesis.

***Literature review:***

A detailed literature review of the dissertation thesis is made. In this section, characteristic features of tumor growth, the ability of cancer to generate and maintain genetic and epigenetic diversity, models for immunological editing of cancer, as well as opportunities to evade immunological surveillance are discussed. An in-depth analysis was conducted on the molecular pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative diseases. At the end of the literature review, unresolved questions requiring additional studies are outlined.

***Working hypothesis, purpose and tasks of the dissertation:***

A research hypothesis is formulated suggesting HLA-mediated restriction at the MPN-SC level. The main objective is clearly defined and corresponds to the eight research tasks set.

***Materials and methods:***

The study included 139 patients with JAK2 V617F positive MPN and a comparison group of 622 healthy Bulgarian faces. Modern methods of analysis were used. Genotyping for JAK2 V617F mutation was performed by direct DNA sequencing by Sanger and/ or microspheric multiplex fluid method. HLA genotyping was conducted by NGS and HLA genotype was determined by computer program.

***Results:***

Based on the analysis of the materials and methods used, the relevant results are reasonably outlined, which are illustrated in tables and figures. Three alleles have been identified that occur less frequently in the presence of a JAK2 V617F mutation than in healthy subjects (HLA-A\*02:01, HLA-B\*35:01, HLA-C\*15:02). Based on the results obtained, it has been suggested that a JAK2 V617F+ cell clone can partly avoid cytotoxic T lymphocyte mediated immune editing at the stem cell level, regardless of the HLA-I genotype due to decreased expression of components of the antigen processing and presentation pathway through HLA-I. The possibility that some medications (ruxolitinib, alpha-interferon) may affect the expression of molecules from the antigen processing and presentation pathway through HLA class I has been studied. in human and mouse JAK2 V617F+ cell lines.

***Discussion:***

The results obtained were analyzed and the results of other scientific teams related to JAK2 V617F associated oncogenesis. The protective role of the HLA-B\*35:01 allele for the development of JAK2 MPN has been confirmed.

***Conclusions:***

The presented conclusions follow the tasks set by the doctoral student and the results obtained.

***Contributions:***

Seven scientific contributions of an original nature and two of a confirmatory nature are presented to the dissertation.

Dr. Shivarov has presented the required number of publications, participation in scientific projects, a book chapter, a list of participations in scientific forums and a declaration of originality of scientific production.

***Conclusion:***

The research work on "Immunogenetic aspects in the pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative diseases" is focused, contains original contributions and meets the requirements of Academic Development in Republic of Bulgaria Act as well as the Regulations for Academic Development in MU-Pleven for acquiring a PhD degree in "Hematology and Blood Transfusion". I give my positive assessment for the dissertation of Dr. Velizar Stefanov Shivarov.

11.June.2023  
Pleven

Prepared the opinion: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**  
Assoc. Dr. Vanya Slavcheva, MD, PhD