

## РЕЦЕНЗИЯ

от чл. кор., проф. д-р **ДРАГА ТОНЧЕВА**, дбн, Ръководител на катедра по медицинска генетика, МУ София, избрана за член на научно жури със заповед No РД 38-560/31.07.2018 г. на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски“ проф. д-р Атanas Герджиков и определена за рецензент на заседание на научното жури по конкурс за заемане на академична длъжност “Доцент”, област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 4.3. Биологически науки (Генетика – фармакогенетика и епигенетика)/ДВ бр. 44/29.05.2018

### **Обща част**

Конкурсът за Доцент, специалност по Генетика – фармакогенетика и епигенетика е обявен за нуждите на Катедрата по генетика“ при Биологически факултет. СУ „Св. Климент Охридски“.

Единственият кандидат в конкурса е д-р Велизар Стефанов Шиваров. Прегледът на документите показва, че процедурата по разкриване и обявяване на конкурса е спазена. Материалите по конкурса са подготвени съобразно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България и Правилника за неговото приложение в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

### **Д-р Велизар Стефанов Шиваров**

#### *Кратки биографични данни*

Д-р Шиваров е родена 1980 г. в гр. Велико Търново. През 2003 г. е завършил Медицински Университет, Медицински факултет София с отличен успех (Диплома серия МУС № 014063, Рег. № 10619/14.11.2003), 2011 е получил образователна и научна степен „Доктор“ (Диплома № 08/20.10.2011) в Националния център по заразни и паразитни болести, София. Има специалност по Клинична имунология (2011) (Диплома Серия АС № 013470, Рег. № 016315/10.02.2012) и следдипломна квалификация по Здравен мениджмънт, ТУ-Габрово (Свидетелство за професионална квалификация Рег. № 7144/15.04.2014). Той е магистър по Онкология в Университета Улм, Германия; специализирал е в Университета Johns Hopkins -Genomic Data Science, както и Classical Master Class на Европейската хематологична асоциация. Завършил е Postgraduate Training Program „Cancer Biology and Therapeutics“ в Harvard Medical School (HMS-CBT).

Д-р Шиваров е работил последователно като Научен сътрудник, Лаборатория по хематопатология и имунология, СБАЛХЗ (2004-2014), София, Изследовател, Катедра по имунология и геномна медицина в Университета Киото, Постдокторант, Раков център към Медицински факултет на Университет Yale, Ню Хейвън, САЩ (2011-2012). Работил е като лекар (2015-2016), специализант (2017) и Началник на Лаборатория по Клинична имунология (от 2015) в УМБАЛ „София мед“, София.

Докторската му дисертация е на тема: “Проучвания върху механизма на действие на ензима активационно-индуцируема цитидиндеаминаза (AID) при процеса на изотипно превключване и соматични хипермутации на имуноглобулиновите гени” (Диплома № 08/20.10.2011)

#### *Специализации:*

Има висока квалификация, получена при преминали краткосрочни квалификационни курсове: Internal Medicine: Evidence Based Medicine, Open Medical Institute, Залцбург, (2017), FOCIS-ECA Entrepreneurs in Clinical Academia, INSEAD, Фонтенбльо, Франция (2015), 3th ESO-ESMO Masterclass in Clinical Oncology, Ерматинген, Швейцария (2013), Сертификат за Добра Клинична Практика, Университет Улм, Германия (2013), Human Embryonic Stem Cells Culture Training Course, Yale Stem Cell Center, Ню Хейвън, САЩ (2011), GCP for Investigators training by PFC Pharma Focus AG, Варшава, Полша (2010), EMBO Practical Course on MicroRNA Profiling, EMBL, Хайделберг, Германия (2009), BD Flow-cytometry Operator Training Course, Хайделберг, Германия (2008), Diagnostic Tutorial on Malignant Lymphomas, Златни пясъци, България (2006), ESO Advanced Course on Malignant Lymphoma, Аскона, Швейцария (2005), ESH-EHA Second Annual Diagnostic Work-up of Haematological Malignancies: Focus on Lymphoid Malignancies, Рим, Италия (2005)

### ***Научни проекти***

Д-р Шиваров има участие в 6 национални и 3 международни проекти:

- 2015-2016 Международен проект: Rational Design of Antibody Repertoire Probes Using Peptide Arrays, Българска академия на науките, София, България
- 2012-2013 COST акция BM0902 Network of Experts on the Molecular Diagnostics of Myeloproliferative Neoplasm and MPN-related congenital diseases (MPNr)
- 2009-2011 COST акция BM0703 “Cancer and Control of Genomic Integrity” 2008-2011 Национален проект: „Center of Excellence Транслиращи изследвания в хематологията,, СБАЛХЗ, София, България

### ***Патенти и награди***

Д-р Шиваров участва в конкурса с 32 публикации (общ импакт фактор около 101, h-фактор 9, и цитирания около 300) и признати 3 полезни модели за детекция на мутации, свързани с миелопролиферативни неоплазии: BG1777 (U1) Средство за директно определяне на мутации в екзон 12 на човешкия *JAK2* ген в проби от кръв или костен мозък; BG1494 (U1) Средство за *in vitro* определяне на W515A/K/L/R мутации на *MPL* гена в кръвна проба; BG1481 (U1) Средство за директно определяне на *JAK2* V617F мутация в кръвна проба.

Той е удостоен с 4-ри награди:

- 2014 Голяма награда за млад учен “Питагор” от Министерство на образованието и науката, България
- 2013 Почетен диплом от конкурса за „Млад изобретател“ на Фондация „Еврика“
- 2009 EHA-ASH Translational Research Training in Hematology (TRTH) Award
- 2006-2008 1997 Национална диплома за отлични резултати по време на средното образование на Министерство на образованието, науката и технологиите.

Рецензирал е статии за 13 авторитетни международни научни списания: Journal of Medical Genetics, Leukemia Research, American Journal of Hematology, Plos ONE, Hematological Oncology, Mathematical Methods in Applied Sciences и други, както и 2 научни проекта на Czech-Norwegian Research Programme (CZ09).

### ***Научни трудове***

*Общ преглед на научните трудове*

Д-р Шиваров участва в конкурса със значителна научна продукция.

- 32 публикации в пълен текст, всички публикувани в международни списания с общ импакт фактор около 101, h-фактор 9) и 3 полезни модели;
- 70 участия в национални и международни научни форуми с публикувани резюмета.
- Общия брой на цитиранията е около 300
- 3 полезни модела с внедряване в диагностиката и участие в разработване на „Методични насоки за диагностика на тумори на лимфоидната тъкан“.

*Оценка на научните приноси*

Трудовете на д-р Шиваров за „Доцент“ са в следните основни направления:

- а) биология на В-лимфоцитите,
- б) Молекулярна диагностика,
- в) Миелоидни неоплазии. Молекулярно-генетични биомаркери,
- г) Имуногенетика,
- д) Редки болести и състояния.

### ***Научни постижения***

В областта на биология на В-лимфоцитите резултатите са отразени в 6 публикации, свързани с функционални изследвания на ензима AID (Activation-induced cytidine deaminase, създаващ мутации в ДНК в резултат от деаминиране на цитозина в C:G и формиране на U:G базова двойка, която при репликация вместо C:G се превръща в A:T). Авторът получава интересни доказателства, че мутации в гена *AICDA*, които водят до липсваща ензимна активност, асоциират със запазена активност при процесите на изотипно превключване (ИП). Резултатите показват, че моделът за ДНК деаминиране не е абсолютно валиден за процеса на ИП. Те са в подкрепа на модела за РНК редакция, предложен от Тасуку Хондзо, който обяснява сложността на молекулярните механизми на генерирането на имунологичната памет при гръбначните животни и човека. Публикувани са данни, получени *in vitro* и *in vivo* на ксенотрансплантационни модели, че транслокацията на AIDER фузионни протеини, след добавяне на тамоксифен, води до индукция на апоптоза в клетъчна линия от човешки Бъркитов лимфом. Резултатите са обяснени с липса на сигнал за експорт на AID от ядрото (т.нар. JP8Vdel мутант), съпроводен с по-високо ниво на апоптоза. Предполага се, че AID представляват добра терапевтична мишена, като един от възможните подходи е блокиране на нуклеарния експорт на AID с цел индукция на апоптоза.

В обзорна статия от 2012 г. е направено обобщение на постиженията и нерешените проблеми за ролята на ензима активационно-индуцируема цитидиндеаминаза (AID) в патогенезата на В-клетъчните лимфоми.

В областта на молекулярно-генетични биомаркери за миелоидни неоплазии са получени резултати с фундаментален характер и са разкрити нови прогностични маркери. Установени са дискретни граници, които са определени като значими прогностични фактори, при използване на интегриран подход с комбиниран анализ на данни за експресионни профили на 7 микроРНКи в две групи пациенти (определени като случаи/контроли) - възрастни пациенти с *de novo* AML („training“ група - случаи) и пациенти с ОМЛ от проекта Cancer Genome Atlas (TCGA) („валидираща“ група -

контроли). Те асоциират с лоша прогноза при възрастните пациенти с *de novo* AML и нормална цитогенетика (CN-AML). Установено е, че представляват независим прогностичен фактор за пациенти с CN-AML и във „валидиращата“ група.

При задълбочен анализ на таргетни РНКи, функционално зависими от изследваните 7 микроРНКи, са получени доказателства, че те са диференциално експресирани при пациенти с нисък и висок скор. Нещо повече, след Gene Set Enrichment (GSEA) анализ на подгрупата от CN-AML пациенти <61 години са определени първите 7 значими генни профил, които са били свързани с РНК метаболизма и предимно с „РНК сплайсинг“. Чрез анализ на данни от TCGA за метилационни профили в общо 1218 CpG позиции е доказано диференциално метилиране между пациентите с нисък и висок скор. Получените резултати дават допълнителни доказателства за потенциална връзка на молекулната патогенеза на ОМЛ с биологичната същност на подгрупите, дефинирани въз основа на скората и с дерегулацията на РНК сплайсинга.

Определена е честотите на мутации в три гена *JAK2*, *MPL* и *CALR* при български пациенти с миелопролиферативни неоплазии без Филадельфийска хромозома. Тяхното разпределение у нас съответства на други Европейски страни. За първи път се съобщават мутации в *CALR* в страни от Югоизточна Европа.

Чрез проведен мета-анализи при пациенти с остра миелоидна левкемия е установено, че мутации в гена *ASXL1* асоциират с лоша прогноза, мутациите в гена *DNMT3A* са независим прогностичен маркер по отношение на общата преживяемост и на преживяемостта без болест. Получени са данни за експресия на микроРНКи като маркер за минимална резидулна болест

Амплификацията на онкогените *MYC* и *MLL* играе роля за клонална еволюция на ОМЛ и МДС и авторите препоръчват пациентите с тризомия на 8-ма или 11-та хромозоми да се изследват за тези криптични амплификации. Открита е за първи път нова транслокация  $t(7;21)(q32;q22)$  при пациент с ОМЛ и е доказан един от партниращите гени - *RUNX1*. Описана е рядка транслокация  $t(9;22)(p24;q11)$  при пациент с миелопролиферативен/миелодиспластичен синдром, асоциирана с агресивен фенотип.

За първи път е направено комплексно проучване за мутации в *JAK2*, *MPL*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *EZH2*, *CALR*, *RUNX1*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *U2AF1* при пациенти с миелоидни неоплазии от българската популация

В областта на имуногенетиката е направено комплексно проучване на 6 функционално значими SNPs в *MBL2* гена и е определено разпределението на алели и хаплотипи в 4-ри етнически групи. Изследвана е асоциацията между HLA алели и хаплотипи и дълголетие в международно проучване. Определена е честотата на лимфопролиферативните заболявания по нозологични единици в българска популация, съгласно класификацията на СЗО (2001) с цел планиране на здравни грижи.

В областта на Редки болести и състояния (6 публикации) са описани редки наследствени синдроми. Доказан е първи случай на тип 2 наследствена ксантинурия в България, която е интерпретирана като фармакогенетичен дефект и е направена препоръка за противопоказания за лечение с азатиоприн и 6-меркаптопурин. Доказан е неописан в литературата случай със съчетание на две заболявания: POEMS синдром (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, myeloma protein, skin changes) и постполицитемична миелофиброза с голяма давност. Авторите препоръчват изследването на *JAK2* V617F мутация при всички пациенти с POEMS синдром и с еритроцитоза или тромбоцитоза. Изследван е рискът за развитие на вторични солидни тумори при пациентска група с редки клонални заболявания, засягащи мастоцитния ред

чрез анализ данни от Американския Раков регистър (SEER) след 2000 г. Не е установен статистически значим риск за пациенти с мастоцитоза. При анализ на клиничните данни, включени в SEER при пациенти с рядък NLPHL подтип на Ходжкиновия лимфом, който се отличава с експресия на CD20 (нодуларен лимфом на Ходжкин с лимфоцитно предоминиране) не е доказано, че общата преживяемост на пациентите зависи от пола или от частичното въвеждане на ритуксимаб. Описана е в българско семейство мутация в гена *EPAS1*, който кодира транскрипционния фактор HIF2a при рядка фамилна еритроцитоза тип 4.

Описан е първи случай на ранно развитие на остра миелоидна левкемия при индукционно лечение за остра В-лимфобластна левкемия при млад мъж. Тъй като фенотипните и молекулярни маркери са изключили обща клоналност, авторите допускат наличието на „спящи“ миелодни левкемични клетки с голям пролиферативен потенциал, които са различни от изходния лимфобластен клон.

### ***Научно-приложни постижения***

В областта на молекулярната диагностика са публикувани 6 статии, базирани върху разработването и валидирането на микросферов, течностен мултиплексен метод за определяне на мутации в различни гени чрез модифицирани олигонуклеотидни сонди. Методът е използван за разкриване на 6 функционално значими генни полиморфизми в *MLP* гена при пациенти с миелолифолиферативни заболявания, на *V617F* и други най-чести мутации в *JAK2*, мутации в гените *DNMT3A*, *IDH1* и *IDH2* при миелоидни неоплазии и разработване на нов генен панел за секвениране на всички кодиращи екзони на 9 гена (*ASXL1*, *EZH2*, *CALR*, *RUNX1*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *U2AF1*), свързани с миелоидни неоплазии. Апробирани са 3 метода (директно секвениране, HRM и секвениране от следващо поколение) за анализиране на мутации в *CALR* гена и са въведени два метода: Luminex™ базирано профилиране и qPCR за определяне на експресионни профили на микроРНКи.

## **ПЕДАГОГИЧЕСКА ДЕЙНОСТ**

### *Лекционен курс*

Д-р Шиваров има преподавателски опит. Той е провел самостоятелен курс „Фармация“ с лекции и упражнения за студенти на Софийски университет– 30 часа лекции и 180 часа упражнения.

От 2004 година до сега д-р Шиваров има участия в научно-изследователски екипи на 6 национални проекти с БАН, МУ София, СБАЛХЗ, София, 3 международни; два пъти е бил рецензент на научни проекти на Czech-Norwegian Research Programme (CZ09) и член на жури за присъждане на награди „Питагор“.

### *Ръководство на докторанти и специализанти*

Д-р Шиваров е бил научен ръководител на 1 дипломант по Магистърска програма “Геномика” към Биологически факултет на Софийски университет, който е защитил успешно.

## **ЧЛЕНСТВО В НАУЧНИ ОРГАНИЗАЦИИ:**

Д-р Шиваров е член на национални и на международни организации - F1000Prime Subcommittee on Clinical Immunology and Rheumatology, European Hematology Association, American Society of Hematology – 2012-14 Member of the Scientific Committee for Lymphoid, Neoplasia, Yale Alumni Association, Harvard Alumni Association, Ulm University Alumni Association.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Д-р Шиваров е забележителна творческа личност, с много висока професионална квалификация, придобита в международни квалификационни курсове, с изграден международен авторитет, със сериозни научни постижения, отразени в международни списания с висок импакт фактор и цитирания. Той отговаря на критериите за заемане на академична длъжност „Доцент“, определени в „Правилника за развитие на академичния състав в Биологическия факултет на Софийския университет „Св. Климент Охридски“.

- Той има образователна и научна степен „Доктор“ от .
- Публикационната му активност е висока и многократно надвишава изискванията за съответната степен. Той има 32 публикации в международни списания с висок импакт фактор 101, H-index 9 и цитирания – 300. Има публикувани статии в списания, сред които се открояват: Proc Natl Acad Sci U S A.2008 (IF 9,4), Arthritis Rheum 2011 (IF 7.9), Haematologica. 2016 (IF 7.7), Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2009 (IF 5.1), Curr Opin Hematol (IF 4,1) и други. Научните му постижения са оригинални, с висока научна стойност и научно-приложни аспекти в пет основни области: а) биология на В-лимфоцитите, б) Молекулярна диагностика, в) Миелоидни неоплазии. Молекулярно-генетични биомаркери, г) Имуногенетика, д) Редки болести и състояния. Наукометричните му показатели надхвърлят значително необходимия брой на публикациите за доцент.

Той е съавтор на „Методични насоки за диагностика на тумори на лимфоидната тъкан“ заедно с колеги от Националния център по хематология и трансфузиология и от Катедрата по обща и клинична патология на МУ София.

- Има преподавателски опит от проведен самостоятелен курс „Фармакогенетика за специалност „Фармация“ с лекции и упражнения. От 2004 г. до сега е участвал в научно-изследователски екипи на 9 национални и международни научни проекти и има 3 патента. Научен ръководител е на дипломант, защитил магистърска теза в същата научна област.

Д-р Шиваров внедрява в клиничната практика създадени от него полезни модели за определяне на патогенни мутации при миелопролиферативни неоплазии. Той допринася за изясняване на молекулната патогенеза на Редки болести, определя значимостта на генетични маркери за развитие на миелопролиферативни неоплазии и постига резултати в молекулярната биологията на В лимфоцитите и в областта на имуногенетиката. В професионално отношение е изграден учен с доказан международен авторитет.

Имайки предвид всичко това, си позволявам да препоръчам убедено на уважаемото Научно жури да присъди на д-р Велизар Стефанов Шиваров званието „Доцент“, по Генетика – фармакогенетика и епигенетика, шифър 4.3. Биологически науки за нуждите на Биологическия Факултета, СУ „Св. Климент Охридски“, Катедра по Генетика.

Дата 15.10.2018

**Рецензент:** .....

Чл. кор., проф. д-р Драга Тончева,

Ръководител на катедра по медицинска генетика,  
Медицински Университет, София