

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на

Николета Добромирова Иванова

докторант на самостоятелна подготовка

в Катедра „Биология“, Факултет „Фармация“,

Медицински университет – Варна

на тема:

Количествени и качествени характеристики на автоложни тромбоцитни концентрати и биологичното значение на протеините в тях

представен за присъждане на ОНС “ДОКТОР” по научна специалност
„Медицинска Биология“, в област на висшето образование 4. „Природни науки,
математика, и информатика“, професионално направление 4.3. “Биологически науки”

изготвена от от проф. Регина Комса Пенкова, дбн

катедра „Химия и биохимия“, Факултет „Фармация“,

Медицински университет -Плевен

1. Биографични данни и квалификация на докторанта

Николета Добромирова Иванова е завършила висше образование с ОКС „бакалавър“ по „биология“ в Биологически Факултет на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“ през 2007, а през 2009 придобива ОКС „магистър“ по “Екология на околна среда и биосистеми“ в същия университет.

През 2013г. Николета Добромирова Иванова печели конкурс за асистент в в катедра „Биология“ на МУ-Варна“ , където работи по-настоящем и активно участва в учебния процес на катедрата.

Ас. Николета Добромирова Иванова представи списък на научните и разработки, включващ общо 4 публикации, пълен текст, от които 2 са в списанието на Съюза на учените в България - Пловдив. Серия Г. Медицина, фармация и дентална медицина, а другите две в списанията на Варненския Университет «Варненски медицински форум» и «Scripta Scientifica Pharmaceutica». Тя представи и едно участие в Национална Конференция по биология.

Ас. Николета Добромирова Иванова има участие и в научно-изследователски проект финансиран от Фонд «Наука».

Ас. Николета Добромирова Иванова владее английски на добро ниво.

2. Оценка на дисертационния труд

2.1 Актуалност на дисертационния труд

Продуктите съдържащи богата на тромбоцити плазма (PRP) придобиват все по-нарастваща популярност в медицинска практика, където активно се използват в обща хирургия, пластична хирургия, травматология, ортопедия, ревматология, дерматология, естетична медицина и др.

Разработени са многобройни комерсиални китове и устройства за получаване на богата на тромбоцити плазма. PRP е препарат от автоложна човешка плазма с повишена концентрация на тромбоцити, получена чрез центрофугиране от собствената кръв на пациента. Тромбоцитите съдържат множество растежни фактори и цитокини в алфа гранулите (TGF- β 1, PDGF, VEGF, EGF, IGF-1), като чрез процеса на центрофугиране тромбоцитите се концентрират и освобождават във високи надфизиологични количества специфични клетъчни/тромбоцитни фактори които участват в процеса на тъканно «оздравяване».

PRP препаратите допълнително се категоризират като препарати, богати на левкоцити PRP (LR-PRP), и препарати с бедни на левкоцити PRP (LP-PRP),

Няма общ консенсус относно оптималното приготвяне на PRP по отношение на наличие и концентрацията на кръвни съставки и по-настоящем има много различни търговски PRP системи, които се предлагат от фармацевтични фирми. Съществуват вариации в протоколите за получаване на PRP и характеристиките на обработването на продуктите в зависимост от производителя, като те често се различават по ефективността на утаяване на тромбоцитите, метода на изолиране (едно- или двуетапно центрофугиране), скоростта на центрофугиране, начина на отделяне на „буфитовата обвивка“ и използване или неизползване на активатор.

Ето защо смятам, че темата на дисертационния труд е актуална и голяма част от резултатите от осъществени изследвания имат оригинален принос и приложен характер.

2.2 Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд на ас. Иванова е написан на 170 страници и включва следните раздели: въведение – 2 страници; литературен обзор – 50 страници, цели и задачи – 1 стр; материали и методи – 15 стр; резултати обсъждане 47 стр, изводи и приноси – 2 стр; заключение– 1стр, и библиография – 17 стр. В библиографията са включени общо 330 литературни източници от които 3 на кирилица и 327 на латиница. Представен е списък със съкращения, което улеснява възприемането на представената информация. Дисертационният труд е онагледен с 56 фигури, 63 таблици и 12 диаграми.

Литературният обзор е визуализиран с 9 фигури, взаимствани от литературни източници и 4 таблици. В тази връзка, част от фигурите и таблици не включват референциите към съответния литературен източник или интернет сайт.

2.3 Оценка на литературния обзор

При разработването на литературният обзор, ас. Иванова е обобщила голям обем информация за получаването и използването на богата на тромбоцити плазма, направила е анализ на методите за изготвянето и както и представила исторически аспект на проблема. Тъй като работа носи приложен характер ас. Иванова подробно е разгледала техниките за добив, активиране и съхраняване на богата на тромбоцити плазма, представила е номенклатурата на използваните съкращения както и различни класификации за характеризирани и типизирани на богата на тромбоцити плазма.

Авторката е показала богата осведоменост за приложението на богата на тромбоцити плазма (PRP) в медицина. Подробно е разгледала и ролята на кръвните клетки, като е представила морфология, структура, и функции на тромбоцитите и отделните им компоненти, ролята им в процеса на кръвосъсирването и възпаление.

Особено задълбочено ас. Иванова анализира молекулните компоненти в богата на тромбоцити плазма, ролята на разнообразни растежни фактори, цитокини и хемокини освобождавани от тромбоцитите след активиране, тяхното биологично действие; участието им в механизмите на тъканна репарация, хемотаксис, клетъчна пролиферация и диференциация, ангиогенеза, образуване на вътреклетъчен матрикс и ремоделиране, имунна модулация и др. Представила е основни характеристики на тромбоцитен растежен фактор (PDGF), трансформиращ растежен фактор алфа и бета (TGF- α и β), епидермален растежен фактор (EGF), фибробластен растежен фактор (FGF),

кератиноцитен растежен фактор (KGF), (инсулиноподобен растежен фактор IGF), тромбоцитен епидермален растежен фактор (PDEGF), интерлевкин 8 (IL-8) и други, както и е посочила областите на медицинското им приложение.

Литературният обзор показва задълбочената информираност на докторантката по проблема и способността и да прави критичен анализ на научната литература, както и да извежда нерешените въпроси в разглежданите методологични проблеми.

Базирайки се на факта че при настъпване на травма, водеща до рана или възпаление в тъканите, тромбоцитите се активират и се секретират растежните фактори в частност PDGF-AB и TGF β 1 които имат съществена роля в процесите на регенерация и възстановяване на увредените тъкани, дисертантката се е насочила и конкретно към анализиране количеството на PDGF-AB и TGF β 1 в получените PRP проби.

2.4 Основната цел в представения дисертационен труд е изведена и формулирана на база литературния обзор. За съжаление докторантката показва недостатъчно добро владение на терминологията във формулирането на целта и работната хипотеза. Би трябвало да се прецизира разликата между **богата на тромбоцити автоложна плазма която изследва дисертантката, и автоложни** тромбоцитни концентрати.

Основната цел на представения дисертационен труд е да се анализират количествените и качествените параметри на **богата на тромбоцити автоложна плазма** получена по четири начина с на базата на различни протоколи.

Задачите за решаване на поставената цел са формулирани конкретно, и почти е избегнато терминологичното разминаване.

В дисертационния си труд докторантката планира да извърши количествен анализ на кръвните компоненти и основните тромбоцитни фактори PDGF-AB, TGF- β 1, IL-8 в автоложната богата на тромбоцити плазма, както и да определи факторите, които оказват влияние върху количествените и качествените характеристики на PRP продукта. Също така тя се ангажира с разработването на алгоритъм за изготвяне и стандартизиране на богата на тромбоцити автоложна плазма.

2.5 Оценка на методология на проучването:

В проучването са включени 30 здрави доброволци / контролни индивиди (14 жени и 16 мъже). От всеки един участник с информираното му съгласие и знание се взима венозна кръв чрез венопункция, която се обработва по четири предварително селектирани протокола. С оглед въздействието на резултатите, участниците не са приемали аспирин, антибиотични медикаменти, стероидни или нестероидни противовъзпалителни лекарствени средства в период от 14 дни преди проучването.

В проучването не са допуснати пациенти с автоимунни или хематологични заболявания.

Статистически са обработени резултатите получени със всеки един метод, по отношение на кръвните компоненти в PRP продукта и три основни тромбоцитни фактора (PDGF-AB, TGF- β 1, IL-8), като показателите са анализирани в сравнение със средните изходни стойности на всички участниците (контролна група пер. кръв). В настоящото изследване е извършен и документиран анализ на 120 проби, които са сравнени с 30 контроли.

Лабораторните протоколи на използваните методи са онагледени с фигури и са описани обстойно с подробни детайли. Използваните статистически анализи са описани в детайли.

2.6 Оценка на резултати

Тази глава на дисертационния труд е най-съществената, тъй като в нея са представени достатъчно по обем резултати, като част от тях са оригинални и имат приносен приложен характер. Резултатите са визуализирани с 56 таблици и 32 цветни информативни фигури.

1. В проведеното научно изследване бяха анализирани различни протоколи за получаване на PRP продукта като се анализира приноса на промяната в центробежната сила, време и броя на центрофугирания, вид използван антикоагулант, с или без активиране (с калциев глюконат), и се отчитат разликите в биологичните им характеристики. Подчертани са фактори, които оказват влиянието на процеса на изготвянето на PRP, като са предложени идеи за стандартизирането на процедурата и извеждането оригинален алгоритъм.

2. Също така бяха изследвани възможни зависимости от пола и възрастта за всеки един протокол и всеки един изследван фактор. Бе установена негативна корелация между

възрастта на участниците и броя на тромбоцитите и на двата фактора PDGF-AB и TGF- β 1 в PRP продуктите, получени с четири метода. По отношение на количеството на IL-8 имаше известна разнопосоченност.

3. Подробно беше изследвано насищане на PRP продуктите с тромбоцити, съдържанието на левкоцити, неутрофили, лимфоцити и моноцити, като съобразно резултатите бяха определени LR-PRP или LP-PRP продукти съответно богати и бедни на левкоцити фракциите.

4. Установено бе повишено с над +337,06% тромбоцитното съдържание в трите от продуктите, сравнени с базовата контролна стойност, с ясно определени налични клетъчни фракции в тях.

5. С регресионият анализ на резултатите от различни протоколи е показано, че концентрацията на тромбоцитите е най-значимата променлива, като наличието на моноцити е съществена копроменлива за прогнозиране на нивата на PDGF-BB и TGF- β 1.

6. Едни от най-важните резултати с приносен характер са тези, показващи връзка между начина на получаване на PRP и съдържанието на PDGF-AB и TGF β 1 в PRP продуктите. Дисертантката потвърждава че богатата на левкоцити PRP получена с метод «2» има значително по-високи нива на PDGF-AB, PDGF-BB и TGF- β 1, сравнена с PRP бедна на левкоцити ($p < 0.05$).

7. В заключителната част на дискусията дисертантката прави задълбочен анализ и дава конкретни обобщени характеристики на PRP получени чрез четири различни метода.

7.1 Ас.Н. Иванова посочва че PRP продукта получен в условията на първия протокол е препарат недостатъчно богат на тромбоцити поради два пъти по-ниско съдържанието им в плазма в сравнение с контролните стойности, и не препоръчва прилагането му в медицинската практика.

7.2 Богата на тромбоцити плазма, получена в условията на протокол «2», е богата на тромбоцити и левкоцити, а също така и на моноцити, неутрофили и лимфоцити и се означава като LR-PRP, като този продукт е и с повишени нива на факторите TGF β 1 и PDGF AB (в неактивираната форма). LR-PRP с такива характеристики може да намери приложение при трудно зарастващи рани и при наранявания на меките тъкани.

7.3 Богата на тромбоцити плазма, получена чрез методи «3» и «4» е сходна по своите характеристики и по количественото присъствие на изследваните клетъчни компоненти. Това са продукти предимно богати на тромбоцити и бедни на левкоцити,

означени като LP-PRP, които могат да се използват в клиничната практика, като продукти с установена липса на левкоцити.

7.4 Направена е и препоръката за продуктите получени с протоколи «2», «3» и «4», могат да намират своето приложение след прилагане на активатор или не в зависимост от състоянието, в което трябва да бъдат приложени. Например предварително активирани посочените PRP продукти могат да се прилагат при необходимост от запълване на кухини или костни дефекти.

8. В настоящото проучване са предложени 3 протокола за получаване на PRP продукти, които могат да бъдат прилагани успешно в амбулаторни условия.

Оценка на изводите и приносите

1. Изводите желаят да бъдат по-добро формулирани, като те са представени във вид на отчет за работа или общи препоръки, а не конкретни заключения от получените резултатите.

2. Направен е извод че клиничното приложение на дадения PRP продукт е основният фактор, който трябва да се съобрази при избора на протокол на изготвяне – с оглед използването на богат или беден на левкоцити продукт, течна или гелообразна форма на PRP.

2. Приносите с оригинален характер са три на брой, и са конкретно формулирани.

Приносите, с потвърдителен и приложен характер са от значение за медицинската практика.

Публикационна активност

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 4 статии и са представени на един научен форум в България. Тези наукометрични показатели покриват минималните изисквания за ОНС „доктор“ в научно направление „Медицинска биология“. Ас. Н. Иванова е първи автор на една от публикуваните статии.

2.7 Забележки и препоръки

Подчертавайки положителното ми становище относно научната и приложната стойност на проведените изследвания и получените резултати, смятам, че представянето им в дисертационния труд има редица неточности и недостатъци.

1. Смятам, че един от недостатъците на тази работа е некоректно използване на терминологията «тромбоцитни концентрати» във формулирането на заглавието,

целите, хипотезата, което звучи неподходящо тъй като в работата се изследва «богата на тромбоцити автоложна плазма» което е и представено в резултатите. Това са два различни биологични продукта.

2. Бокс плот е представен от докторантката като метод с кутийки, което не е подходящо за научен труд. (не бива толкова да се доверяваме на Google).

3. Не много добро впечатление прави излишната тавтология при представянето на резултатите, които първоначално виждаме в малка обобщена таблица, и след това като подразбити на няколко по-подробни таблици, включващи същите резултати, като част от тях е и представена и графично.

4. Библиографията в дисертационния труд е направена по два различни начина с цитирани имена и годината, а също така и с номерата, които за съжаление не са подредени а започват с номер (111, 187, 237).

5. Дисертационния труд е оформен много добре, онагледен с качествено направени фигури, и хубаво форматиране, обаче за съжаление това не го виждаме при оформянето на автореферата

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Смятам че дисертационният труд на Николета Добромирова Иванова представлява един актуален, интердисциплинарен труд с важно медицинско приложение. Той е разработен задълбочено и са получени достатъчно на брой резултати с научна стойност и приносен характер.

Тъй като разработването на докторантура е степен в обазованието на един млад учен, считам, че настоящият дисертационен труд и наукометрични показатели отговарят на изискванията за съответната научна степен, формулирани от ЗРАСРБ и Правилника за прилагането му в Медицински университет – Варна, което ми дава основание за положителната оценка и да предложа на почитаемото научно жури да присъди на ас. Николета Добромирова Иванова ОНС “ДОКТОР” по научна специалност „Медицинска Биология”, Професионално направление 4.3. „Биологически науки”, област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика.

24.09.2021


Проф. Регина Комса-Пенкова