

РЕЦЕНЗИЯ

Научен секретар

МУ - Плевен

Вх. № *НС-208/31.08.2021 г.*

на дисертационния труд на
Галя Борисова Георгиева
Докторант в катедра „Химия и биохимия“, УНС „Биохимия“,
Факултет по фармация, Медицински университет -Плевен

на тема:

**„Ролята на snp rs1799889 и rs5918 за активиране на тромбоцити в тромбоцитни
концентрати (in vitro) и при тромбоцитни заболявания ”**

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

изготвена от

*професор Диана Георгиева Иванова, доктор на биологическите науки,
Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика при Факултета по
фармация на Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов” – Варна*

Съгласно решение на Академичния съвет на Медицински университет – Плевен (Протокол № 1) и заповед № 1300/01.06.2021 г. на Ректора на МУ-Плевен съм определена за член на Научно жури по процедура за защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „Доктор“, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Биохимия“, с кандидат **Галя Борисова Георгиева**, докторант към катедра „Химия и биохимия“ при Факултет „Фармация към МУ-Плевен, а на първо заседание на НЖ съм определена да изготвя рецензия.

Процедурата по конкурса е спазена и документите на кандидата са пълни и в съответствие с изискванията на ЗРАС в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет – Плевен и заложените в него критерии за придобиване на ОНС „Доктор“.

1. Биографични данни за кандидата

Галя Борисова Георгиева е завършила висшето си образование с образователна степен „Магистър“ по специалност „Медицина“ в Медицински университет - Плевен през 2000 г. Специализира трансфузионна хематология, а през 2010 г. и е призната и специалност по биохимия от Медицински университет – Плевен. От 2016 г. е докторант на самостоятелна подготовка към същия университет. След завършване на висшето си образование работи от 2000 до 2005 г. първоначално като училищен, а по-късно и като общопрактикуващ лекар, от 2014 до 2019 г. - като лекар-ординатор в РЦТХ – Плевен. От 2019 г. до момента е началник отделение в РЦТХ – Плевен. Академичната кариера на дисертантката започва през 2005 г., когато постъпва като асистент по биохимия в Медицински университет – Плевен, където работи и до момента. Научната продукция на

ас. Галя Георгиева възлиза на 14 участия в научни форуми и 10 пълнотекстови публикации (2 в реферирани в Scopus научни списания и 2 в списания с импакт фактор). В конкурса за присъждане на научна степен „Доктор“ ас. Г. Георгиева представя в автореферата на дисертационния труд общо 4 от тези публикации, едната от които е под печат. Намерени са общо 10 цитирания на публикации, в които дисертантката е съавтор.

2. Актуалност на дисертационния труд

Дисертационният труд на ас. Галя Георгиева има за цел да проучи ролята на полиморфни варианти в гените на тромботичните фактори тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa (полиморфизъм PLA1/A2, rs5918 ITGB3) и инхибитор-1 на плазминогеновия активатор (PAI-1) (полиморфизъм 4G/5G (rs1799889(-) за активирането на тромбоцитите и процеса на тромбообразуване. Известно е, че патологичното активиране на тромбоцитите довежда до неконтролирано образуване на венозни тромбози и други съдови инциденти като съдова оклузия и исхемична некроза на тъканите и е характерно за редица заболявания (атеросклероза, инсулт, миокарден инфаркт, дълбока венозна тромбоза). Тези заболявания могат да имат и летален изход, предизвикан от тромбоза и тромбоемболия. Изследване на промените в наномеханичните и топографски характеристики на тромбоцитите при въздействие на външни фактори ин витро, в тромботични концентрати и на връзката им с тромботични заболявания при анализ на ролята на наличието на полиморфизми в гените за тромботичните фактори би осветлило механизмите на нарушаване на хемостазата и би помогнало за оценка на риска при трансфузирани реципиенти, кръвни донори и при пациенти с риск от кървене.

Ето защо считам, че настоящият дисертационен труд е на актуална тематика и с висока степен на обществена значимост.

3. Структура на дисертационния труд

Представеният ми за рецензия дисертационен труд обхваща 130 стандартни страници, като е структуриран по следния начин: въведение 2 стр., литературен обзор – 38 стр.; цел и задачи – 2 стр.; материали и методи – 13 стр.; резултати и обсъждане – 53 стр.; приноси – 1 стр.; публикации по дисертацията – 1 стр.; библиография – 13 стр. Приложен е списък на съкращенията - 1 страница, който улеснява читателя. В библиографията са включени общо 249 литературни източника (всички на латиница).

Онагледяването на резултатите е представено посредством 22 репрезентативни фигури и 11 таблици, но погрешно номерирани, като таблица 9 се повтаря два пъти. В литературния обзор са използвани 16 фигури от източници, които не са цитирани. Номерацията на фигурите е непоследователна. Цитирани са снимки, които или липсват, или са неправилно обозначени.

4. Литературна и методологична обезпеченост

Литературният обзор представя основните насоки на проучванията в областта на активирането на тромбоцитите и настъпилите вследствие на това промени в тромбоцита

- отделяне на микрочастици, промени в мембраната и хиалоплазмата. Обсъдено е получаването на тромбоцитни концентрати с клинично приложение. Подробно са описани структурата и функциите на фибриногеновия рецептор - гликопротеин GPIIb/IIIa и на тромбоцитния плазминогенов активатор PAI-1, представени са данни за два от полиморфизмите в кодиращите ги гени, а именно PAI-14G/5G и PLA1/A2 и тяхната роля като рискови фактори за развитие на дълбока венозна тромбоза, инфаркт на миокарда, инсулт, ранни загуби на плода и други. В резултат на направения обзор е формулирана и основната цел на дисертационния труд, която е анализ на приноса на носителството на тромбофилични полиморфизми/генетични варианти: PLA1/A2 (rs5918ITGB3) в гена на тромбоцитен ITGB3 (гликопротеин IIb/IIIa) и 4G/5G (rs1799889(-)) в гена на PAI-1 върху активирането на тромбоцити и свързаните с тях топологични и наномеханичните свойства на тромбоцитите при здрави контроли, дарители и при пациенти с ДВТ, други съдови инциденти и при жени с ранни загуби на плода, както и значението на тези промени при трансфузии, когато при дарителите се установяват тези полиморфизми.

Като обем материалът е достатъчен и отговаря на целта и задачите, поставени в дисертационния труд.

Целта и задачите са формулирани и разписани ясно.

Клиничният материал по дисертацията е избран със съдействието на екипи от Трета клиника по хирургия – Клиника по съдова хирургия при УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, Клиника по кардиология и ревматология при УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ ЕАД, Медицински център „Клиничен институт за репродуктивна медицина“ ЕООД, гр. Плевен. Подбрани са общо 146 контроли, 172 пациенти с тромбоза и 46 жени с ранна загуба на плода, както и 50 кръвни донора. Районният център по трансфузионна хематология (РЦГХ), гр. Плевен предоставя тромбоцитните концентрати и информация за епидемиологичните изследвания от трансфузиите. Общият брой на участниците и разпределението по пол гарантират адекватност на проведените анализи.

Всички генетични анализи са извършени в Сектор „Биохимия“ към Катедра „Химия и биохимия“ на факултет „Фармация“ при Медицински университет, гр. Плевен. Всички изследвания с АСМ са извършени в Института по биофизика и биомедицинско инженерство към БАН. Флуоцитометричните изследвания са направени в Института по микробиология „Стефан Ангелов“ към БАН.

Свързаните с дисертацията изследвания са частично субсидирани в рамките на два научно-изследователски проекта към НИИ при МУ гр. Плевен.

Представените в дисертационния труд резултати са получени и анализирани при използването на съвременни клинично-лабораторни, биохимични и молекулярно-биологични методи. Материалите и методите са адекватно подбрани, за да се постигнат целите и задачите на проучването. Дисертантката се спира подробно и задълбочено и на методите на атомно-силова микроскопия и флуоцитометрия и тяхното приложение за изследване промените при активиране на тромбоцитите.

5. Резултати и обсъждане

Най-важната част от дисертационния труд представя достатъчни по обем и значими от научна гледна точка оригинални резултати, които позволяват докторантката да бъде насочена към публична защита.

Изводите са конкретни и отразяват получените резултати и тяхното значение. Приносите на настоящата дисертация са ясно формулирани и могат да бъдат приети в представения вид.

С висока научна значимост са резултатите, отнасящи се до връзката на генетичният вариант PLA2 (rs5918(C) в гена на GPIIb/IIIa при здрави лица, дарители както и при пациенти тромботични инциденти и при жени с ранни загуби на плода с топографските характеристики на тромбоцити и степента на тромбоцитната еластичност (модула на Юнг) и свързания с носителството на полиморфизма по-висок риск от единични и рекурентни инциденти на венозна тромбоза, както и за по-ранната му проява при млади жени; по-висок риск от единични инциденти за ранна загуба на плода; увеличена популация на микрочастиците (броя, големина, форма, обем) при жени с нормална бременност и такива със загуба на плода. Анализ на връзката между полиморфизъм PLA2 (rs5918(C) в гена на ITGB3 и степента на активирането на тромбоцитите, изчислена като MFI CD41/CD61/CD62p индекс, сочи, че активирането е по-силно при носителите на генетичният вариант, както при здрави лица, така и при пациенти с тромботични инциденти и при жени с ранни загуби на плода. Установяването на полиморфизмите се свързва с увеличена популация на микрочастиците при жени с нормална бременност и такива със загуба на плода. В своята цялостност резултатите допринасят за по-доброто разбиране на връзката между тромбофиличните фактори и механизмите на патологичните процеси.

Изследванията на характеристиките на тромбоцитни концентрати с приложение в трансфузионната практика по отношение на активността на тромбоцити и риска за развитие на тромботични усложнения при реципиенти са с висока приложна стойност.

6. Критични бележки

Като цяло, общото ми впечатление от представения ми за рецензиране дисертационен труд е, че са получени достатъчен по обем и значимост резултати при използването на голям брой съвременни методи. При прочита на дисертационния труд, обаче, срещнах трудности поради няколко причини. На първо място заглавието е неточно, защото в него не са упоменати гените, в които разглежданите полиморфизми се установяват. На второ място това е разкъсаната дискусия и липсата на обобщаваща част. Групирането на данните, например тези от флоуцитометричните изследвания на всички пациенти и контроли, би помогнало те да бъдат обобщени и представени синтезирано и в разбираем вид след съответната статистическа обработка. Забелязах и редица технически грешки и неточности, като липса на някои от използваните съкращения в списъка, неточности при използването на понятия като „носителство на полиморфизъм“, „неносителски“ и „носителски“ статуси и други. Прави впечатление, че сред цитиранията практически липсват източници от последните няколко години. Само 4 са цитираните публикации по темата от последните 5 години, което силно намалява общото

добро впечатление от работата и поставя под съмнение актуалността на дискусиите. Въпреки дадената от мен препоръка на предварителната защита, дисертантът не е осъвременил цитираната литература. Езикът и стилът на целия дисертационен труд биха могли да се подобрят още при по-старателна редакция.

Въпреки критичните бележки, общото впечатление за работата представена от Галя Георгиева е, че тя е достатъчна по обем и значимост за придобиването на научната степен „Доктор“ и че докторантката при дългогодишната си работа по дисертацията е придобила нужния обем от знания и компетентности да работи самостоятелно върху даден научен проблем.

Наукометричните показатели на докторантката отговарят на изискванията за тази научна степен.

7. Заключение

В заключение считам, че представеният ми за рецензиране дисертационен труд на Галя Борисова Георгиева представлява завършено научно-приложно проучване с висока научна стойност и обем на резултатите, като така отговаря на изискванията за придобиването на образователно-научната степен „Доктор“. Това ми дава основание да гласувам положително „за“ и да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъдят на Галя Борисова Георгиева ОНС „Доктор“ по научна специалност „Биохимия“, професионално направление 4.3. „Биологически науки“, област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика.

30.08.2021 г.

гр. Варна

Изготвил:.....

(проф. Диана Георгиева Иванова, д.б.н.)