

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Христо Георгиев, дмн
Професор от катедра по ортопедия и травматология, Медицински факултет,
МУ – София. Зам. Декан МФ

Относно: дисертационен труд „Приложение на обогатена тромбоцитна плазма за лечение на проблемни кожни рани ” за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”.

Със заповед на Ректор на МУ- Плевен № 2034/ 26.07.2022 г. съм назначен за член на Научно жури и с решение на последното (Протокол №1), съм определен да представя рецензия относно дисертационен труд на д-р Цветан Венелинов Соколов, докторант на самостоятелна подготовка за придобиване на образователна и научна степен „Доктор” по научна специалност “Ортопедия и травматология“, в професионално направление 7.1 „Медицина” от област на висше образование 7. „Здравеопазване и спорт”.

Хроничните и трудно зарастващи кожни рани, в това число декубитални и постоперативни са сериозен медико-социален проблем и за съвременната медицина. Два процента от бюджета за здраве в ЕС се изразходва за терапия на такива кожни улцерации. Те обикновено са асоциирани с придружаващи заболявания – хронична венозна недостатъчност, диабет, недोхранване, инконтиненция и др. на фона на основното заболяване, допълнителната проблемна кожна рана още повече нарушава качеството на живот на пациента - от дискомфорт до инвалидизация. Конвенционалната терапия на тези рани включва различни видове превръзки, дебридман и кожна пластика. От началото на XXI век, в решаването на този проблем е включено и прилагане на стволови клетки, растежни фактори и екстрацелуларен матрикс. По този начин в увредения участък се осигуряват клетъчни елементи, необходими за неговото възстановяване или регенерация на място, като процеса се управлява от локални фактори. Част от тази „регенеративна медицина” е и метода на обогатена тромбоцитна плазма. Това е обемната фракция на кръвна плазма, която има повишена концентрация на тромбоцити, сравнена с изходното серумно ниво. Счита се, че за истинската тъканна регенерация са необходими три компонента - клетки, растежни фактори и скеле. Обогатената тромбоцитна плазма осигурява два от тях - растежни фактори и скеле.

Дисертационният труд на д-р Ц.Соколов е първия в България, посветен на тази проблематика. Актуалността му се определя и от високия процент, над 100 000 пациенти годишно в България имащи разглежданите патологични проблеми. Разглежданата методика е иновативна за страната, като дисертантът е пионер на метода.

Дисертацията е представена по обичайната за този вид трудове структура в 222 страници, 66 таблици и 64 фигури и графики. Тя включва въведение (3 стр.), литературен обзор (43 стр.), библиография (22 стр. с 10 литературни източника на кирилица и 261 на латиница) и декларация за авторство (1 стр.). В останалата част от дисертацията д-р Соколов формулира целта и произтичащите от нея шест задачи, клиничната методика на проучването, контингентът на проучването, собствените резултати, анализа им, както и собствените изводи и авторски алгоритъм за терапевтично приложение на обогатена тромбоцитна плазма при проблемни кожни рани.

Литературният обзор е достатъчно обширен, като същевременно отговаря на изискванията за обем от дисертацията. Той е 20 % от научния труд. В него са разгледани всички аспекти на проблема, като в логична последователност дисертантът представя:

- историческото развитие на биологичното лечение на раните от края на XX век до първото клинично съобщение на Marx и съавт (1998) за приложението на обогатената тромбоцитна плазма за подпомагане на раневото и костно зарастване.,

- каскадата на раневото зарастване при острите кожни рани с трите фази - инфламация, пролиферация и ремоделиране.,

- интринзик факторите (възраст придружаващи заболявания) и екстринзик фактори (прием на медикаменти, радиация, химиотерапия, емоционален стрес) засягащи раневото зарастване.

Двадесет и пет процента от обзора е отделено на етиопатогенезата на хронични и трудно зарастващи рани. Лично аз за първи път, откривам в обзора такова целокупно и синтезирано представяне на съвременните концепции при проблемни кожни рани и промени, свързани с РФ и протеолитичните ензими, в профила на цитокините и възпалителният отговор, в клетъчният профил и активност, в устройството на ЕЦМ, наличието на свободни РКР и на азотен окис и натрупването на некротична тъкан.

На много високо научно ниво е представена биологията и действието на тромбоцитите. Този раздел е доказателство за научните познания на дисертанта, но според мен е много тясно профилиран и затруднява читателя ортопед.

Безспорно най-интересната част от обзора е представянето на концепцията и резултатите от приложението на обогатена тромбоцитна плазма при лечението на остри и хронични кожни рани. Разгледани са научните публикации на над 25 съвременни автори работили по проблема.

Литературният обзор приключва с обобщение на доказаните вече предимства на изследваната методика и синтез на нерешените и дискутабилни проблеми – прецизиране на оптимална концентрация на тромбоцитите, нуждата от активиране на обогатената тромбоцитна плазма с физични, химични или биологични активатори, честотата на прилагане на метода, уточняване вида на последващата ранева превръзка, рехабилитацията на пациентите и др. Въпроси, на някои от които дава отговор и представената ми за рецензия дисертация.

Глави II съдържа целта и задачите. Целта е ясно формулирана – „Да се изследва надеждността и значимостта на метода на обогатена тромбоцитна плазма, да се оцени неговата ефективност и приложимост при лечението на проблемни кожни рани“. Шестте задачи са конкретни, ясни, правилно дефинирани и съответстват напълно на поставената цел.

Глава III съдържа клиничния материал и методиката.

Възможността на д-р Соколов да работи в една от водещите ортопедо-травматологични клиники в България, тази в „УМБАЛ Канев“ АД му предоставя условия да събере клиничен материал достатъчен за статистически достоверни заключения. Той включва 154 хоспитализирани пациенти с проблемни кожни рани. При 83 от тях (54 %) е приложен метода на обогатената тромбоцитна плазма и при 71 конвенционалния метод с раневи дебридман и стерилна, марлена превръзка напоена с физиологичен разтвор 0,9% натриев хлорид. Срокът на проучването е б год.6мес. При използваната методика преобладават пациентите над 50 г.- 54%. Въведени са ясни изключващи критерии за оценка на раната са използвани точни съвременни класификации - Total Wound Score, Total anatomic score of wound и Total Score of Wound data. Всяка конкретна рана е оценявана в началото на лечението по метода на обогатена тромбоцитна плазма, на 4-та, 8-ма, 12-та седмица и продължава през четири седмици до пълното зарастване на раната, или до отказ от лечение на раната на 12-та седмица при

лош резултат. При обработка на резултатите дисертантът използва достоверни съвременни статистически методи използвани в биомедицинските науки.

Двете групи на проучването са хомогенни. При групата лекувана с обогатена тромбоцитна плазма (ЕГ) 30 пациенти (36,1%) са с остри рани, 25 (30,1%) с труднозарастващи и 28 (33,7%) с хронични рани. Няма съществено полово различие както в двете групи, така и между тях. В тази група 79,5% са травматични рани, декубитални рани са 18,1% и раните с възпалителен произход -2,4%. Най-често срещаната етиология за пациентите в ЕГ са: Декубитус кутис дефектус кутис – 13 пациенти, Ф-ра мал латер екстр клави дефектус кутис – 9 пациенти, Ф-ра крурис, РСОМ, дефектус кутис – 6 пациенти.

Собственият терапевтичен алгоритъм включва:

- Хирургичен или остър дебридман до здрава тъкани и оформяна на рана най-близка до геометрична фигура. Последното е необходимо за точно определяне на обема и площта на раната.

- Подготовка на обогатената тромбоцитна плазма-Вземане на автоложна венозна кръв от пациента, Подготовка на вакуетите и центрифугиране, Отделяне на обогатената тромбоцитна плазма и активирането ѝ. Последното се осъществява с 10% калциев дихлорид или с 10% 10 мл калциев глюконат.

- Апликация на активираната обогатена тромбоцитна плазма в раневото ложе.

Резултатите от проучването коректно са представени в раздел IV. Данните от изследването показват статистически достоверни разлики. Методът на обогатена тромбоцитна плазма при лечението на проблемни кожни рани е с постигнат положителен резултат и пълно зарастване на раните в 92,78%, за разлика от конвенционалния метод с успешно лечение само при 8,45%. Лошите 7,22% резултати в ЕГ, дисертантът свързва с придружаващи заболявания в напреднал стадий.

Проведеният вариационен анализ показва еднакви изходни показатели при двете групи за възрастовото разпределение, пол, средна възраст, вида на раната – остри, трудно зарастващи и хронични рани и етиология. Анализът на споменатите по-горе крайни резултати доказват, че конвенционалният метод не дава добър резултат при лечение на проблемни кожни рани.

Дисертантът изследва корелационни зависимости между редица качествени признаци и ефекта на лечението („Резултат от лечение“, „Етиологични групи“, „Причинител“, „Анатомична локализация“, „Придружаващи заболявания“, „Площ“, „Дълбочина на раната в мм“ и др.: Данните са представени в разгърнат и обобщен вид и

статистически достоверно доказват, че методът на обогатена тромбоцитна плазма дава значителни резултати при лечението на проблемни кожни рани независимо от утежняващите фактори причинител, придружаващи заболявания и локализация.

В раздел 4.6. , авторът представя сравнение на резултатите по критериални скали. Те позволят промените на клиничните параметри да бъдат цифровизирани и таблично систематизирани.

Като недостатък на раздела мога да посоча прекаленото поясняване на статистическите методи. Това обобщено вече е дадено в предишната глава.

Главата V – „Обсъждане“ от 26 стр. представя обширен сравнителен анализ на вижданията и резултатите на дисертанта по разглежданата тематика с тези на други автори работили по проблема. Тази глава е най-творческата част от дисертационния труд. Тя убедително доказва високата ерудираност на д-р Цветан Соколов по представената проблематика. В този раздел авторът поставя и дискутабилни и нерешени въпроси, не получили отговор в настоящия труд. Теми които ще бъдат основа за бъдещи научни търсения.

Обсъждането завършва с два алгоритъма – за профилактично и за терапевтично приложение на обогатена тромбоцитна плазма при проблемни кожни рани.

Важни за практиката изводи дисертантът извежда в VII глава – „Изводи“. Въпреки че те са твърде много за такъв труд – 14, с тези авторски заключения съм съгласен напълно и убедено приемам, че с тях поставената цел на дисертационния труд е изпълнена. Напълно подкрепям достоверността и терапевтичната полза на представените собствени алгоритми за профилактично и терапевтично приложение на обогатена тромбоцитна плазма при остри, потенциално застрашени или проблемни кожни рани.

Необяснимо за мен, но не променящо актуалността и научната стойност на дисертацията е поставянето на Заключението преди изводите.

Проведеното проучване е подкрепено със снимков материал представен в раздел IX. Приложения.

Като цяло дисертацията е написана на правилен литературен език. Използваните графики и снимков материал са с високо качество и информативност, напълно отговарящи на текста. Направените от мен забележки не променят обективността и научно-практическата стойност на дисертацията.

Към така представения ми за рецензия научен труд на д-р Цветан Соколов мога да посоча следните по-важни приноси. Те са с:

Методологичен характер:

1. Предложен е иновативен метод за оценка на раната, който позволява промените на клиничните параметри да бъдат цифровизирани и таблично групирани за прогноза на крайния резултат от лечение.

Научно-приложен и потвърдителен характер

1. Проследяването на 83 пациенти, при които са оценени постигнатите резултати от приложението на обогатена тромбоцитна плазма е най-голямата серия съобщавана в литературата.

2. За първи път у нас са дефинирани кои кожни рани са проблемни и показани за лечение чрез методът на обогатена тромбоцитна плазма.

3. Практически е потвърден собствен алгоритъм за профилактично и терапевтично приложение на обогатена тромбоцитна плазма при остри, потенциално проблемни и проблемни кожни рани чрез обективен, статистически достоверен анализ.

По дисертационната тема дисертантът представя 3 публикации в реферирани научни списания. Дисертантът има пет научни съобщения във връзка с темата и участие в един научен проект. В всички тях д-р Соколов е първи автор. Те съдържат отделни части от разработения материал. Това напълно отговаря на изискванията на Правилник за развитие на академичния състав в МУ – Плевен, 2020 г. и Приложение I към него. Същото се отнася и за представения ми Автореферат на дисертационния труд в обем от 53 стр.

В заключение, представеният ми за рецензия дисертационен труд показва възможността на дисертанта да поставя научна теза, методика за нейното решение, възможността му да подбере и обработи материал, както и да направи статистически достоверни изводи по една актуална и специфична за родната ортопедия и хирургия тема – лечение на проблемни кожни рани. Дисертационният труд отговаря напълно на качествените и количествените критерии, заложи в изисквания към дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен “доктор” на МУ-Плевен и Закона за развитие на академичния състав в РБ. Поради това давам положителна оценка на труда и призовавам членовете на Научното жури да присъдят на д-р Цветан Венелинов Соколов, образователна и научна степен “ДОКТОР” по научна специалност „Ортопедия и травматология”.

11.08.2022 г

Проф. Георгиев, дмн

REVIEW

By Prof. Dr. Hristo Georgiev, PhD, DSc
Professor with the Department of Orthopaedics and Traumatology, Faculty of Medicine,
Sofia Medical University, Vice Dean of MF

Regarding: doctoral dissertation „Application of platelet-rich plasma for treatment of problematic skin wounds”.

By Order of the Rector of MU Pleven № 2034 / 26.07.2022 I have been appointed a member of the Peer-review committee and by a Decision of the latter (Record №1), I have been selected to review the doctoral dissertation of Dr. Tsvetan Venelinov Sokolov, doctoral candidate on individual training for acquiring a doctoral degree in major Orthopaedics and Traumatology“, in professional field 7.1 „Medicine” higher education field 7. „Healthcare and Sports ”.

Chronic and hard to heal wounds, including decubital and postoperative wounds are a serious medical and social problem for contemporary medicine. Two percent of EU healthcare budget is spent on treatment of such skin ulcerations. They are usually associated with concomitant diseases – chronic venous insufficiency, diabetes, malnourishment, incontinence etc. On the background of the major disease problematic skin wounds additionally worsen patient’s quality of life – they lead to inconvenience or even disability. Conventional therapy of these wounds includes various types of dressings, debridement and skin grafts. From early XXI century, this problem is being addressed by application of stem cells, growth factors and extracellular matrix. Thus, the damaged part is provided with cellular elements necessary for its recovery or regeneration on site and the process is controlled by local factors. The method of using platelet-rich plasma is part of this type of "regenerative medicine". This is a volume fraction of blood plasma that has an elevated platelet count, compared to baseline serum levels. It is believed that true tissue regeneration requires three components - cells, growth factors and scaffolding. Platelet-rich plasma provides two of them - growth factors and scaffolding.

The dissertation of Dr. Ts. Sokolov is the first one in Bulgaria dedicated to these problems. Its relevance is defined by the high percentage of people in Bulgaria suffering from the mentioned pathologies- over 100 000 patients annually. Reviewed methodology is novelty for Bulgaria and the dissertation author is a pioneer of applying the method.

The dissertation has a structure typical for this type of papers; it consists of 222 pages, 66 tables and 64 figures and graphs. It comprises of introduction (3 p.), literature review (43 p.), and references (22 p. of which 10 literary sources in Cyrillic script and 261 in Latin script) and an authorship declaration (1 p.). In the rest of his dissertation Dr. Sokolov formulates his objective and six tasks resulting from it, the clinical methodology of the research, research cohort, author's results, analyses of results and author's conclusions and algorithm for applying platelet-rich plasma for treatment of problematic skin wounds.

Literature review is extensive enough, while meeting the requirements for dissertation's volume. It comprises 20 % of the paper. It examines all aspects of the topic as the author of the dissertation presents the following in logical order:

- the historical development of biological wound treatment from the late XX century until the first clinical report of Marx et al. (1998) for the application of platelet-rich plasma in support of wound and bone healing.,

- Wound healing cascade of acute skin wounds with its three phases – inflammation, proliferation and remodelling.

- Intrinsic factors (age, comorbidities) and extrinsic factors (medications, radiation, chemotherapy, emotional stress) affecting wound healing.

Twenty-five per cent of the review is devoted to etiopathogenesis of chronic and hard to heal wounds. In this review for the first time I personally find such a comprehensive and synthesized presentation of contemporary concepts concerning problematic skin wounds, related to GF and proteolytic enzymes, in the cytokine profile and inflammation response, in cellular profile and activity, in the composition of extracellular matrix, presence of active oxygen species free radicals and nitric oxide and the accumulation of necrotic tissue.

Platelets' biology and functions are presented at a very high scientific level. This section proves the author's scientific knowledge, but in my opinion, the section is very narrowly profiled and challenging to orthopaedic readers.

Undoubtedly, the most interesting part of the review is the presentation of the concept and results of the application of platelet-rich plasma for the treatment of acute and chronic skin wounds. Scientific publications of over 25 contemporary authors who have worked on the issue have been reviewed.

The literature review concludes with a summary of already proven advantages of the researched methodology and synthesizes unsolved and debatable issues – specifying optimal platelet concentration, necessity to activate platelet-rich plasma with physical, chemical or biological activators, frequency of method application, specifying type of subsequent wound

dressing, rehabilitation of the patients, etc. Some of those issues have been resolved by the dissertation submitted for review.

Chapter II contains the objective and tasks. The objective is clearly formulated– “To study the reliability and significance of the platelet-rich plasma method, to estimate its effectiveness and applicability for treatment of problematic skin wounds“. The six tasks are very specific, clear, properly defined and fully correspond to the objective set.

Chapter III includes clinical materials and methodology.

The opportunity of Dr. Sokolov to work at one of the leading orthopaedics and traumatology clinics in Bulgaria, namely UMBAL Kanev AD, enables him to collect enough clinical material for statistically reliable conclusions. He has included 154 hospitalized patients with problematic skin wounds. Platelet-rich plasma has been applied to 83 patients (54 %), the conventional method of debridement and sterile gauze dressing soaked in 0,9% sodium chloride saline solution has been applied to 71 patients. The period of the research has been 6 years and 6 months. The majority (54%) of the patients are over 50 years of age. Clear exclusion criteria have been introduced. Precise contemporary classifications such as Total Wound Score, Total anatomic score of wound and Total Score of Wound data have been used for assessment. Each wound is to be assessed before applying treatment with platelet –rich plasma, on the 4-th, 8-th, 12-th week and every four weeks until complete wound healing, or in the event of no positive outcome- until the 12th week, when treatment has to be discontinued. The author uses reliable contemporary statistical methods used in biomedical science for data processing.

Both groups included in the study are homogeneous. The group treated with platelet-rich plasma (EG) consists of 30 patients (36,1%) of them with acute wounds, 25 (30,1%) with hard to heal wounds and 28 (33,7%) with chronic wounds. There are no significant sex variation between groups and among patients. In the EG 79,5% of patients have traumatic wounds, 18,1% of them have decubital wounds and -2,4% of wounds are of inflammation origin. The most frequent patient aetiologies for EG are: Decubitus cutis defectus cutis– 13 patients, Fractura mal later extr clavi defectus cutis– 9 patients, Fractura crutis, ORIF, defectus cutis– 6 patients.

Author’s treatment algorithm includes:

- Surgical or acute debridement until reaching healthy tissue and forming a wound closely resembling a geometric figure. The latter is necessary in order to precisely calculate the scope and wound area.

- Preparation of platelet-rich plasma –drawing autologous venous blood from patient, preparing tubes and centrifuging. Separation of platelet –rich plasma and its activation. The latter is done by adding 10% calcium dichloride or by 10% 10 ml calcium gluconate.

- Application of activated platelet-rich plasma to the wound bed.

Research results are correctly presented in Section IV. Data show statistically significant differences. Platelet-rich plasma method used for treatment of problematic skin wounds shows a positive outcome and full wound healing in 92.78% patients, unlike the conventional method leading to successful recovery for only 8.45% of patients. The author associates the negative outcome for 7.22% of the EG, with advanced comorbidities.

The conducted analysis of variance shows the same baseline indicators for both groups: age distribution, sex, average age, type of wound - acute, hard to heal and chronic wounds and aetiology. The analysis of the above-mentioned results has proven that the conventional method of treatment of problematic skin wounds does not lead to a good outcome.

The dissertation author examines correlations between a number of qualitative features and the treatment effect ("Treatment outcome", "Etiological groups" "Cause", "Anatomical location", "Comorbidities", "Area", "Wound depth in mm" etc .; The data are presented in both comprehensive and summarised form and statistically reliably prove that platelet rich plasma leads to significant results in the treatment of problematic skin wounds regardless of aggravating factors, comorbidities and wound location.

In section 4.6 the author presents a comparison of the results based on criterion scales. They allow digital systematization of changes in clinical parameters and their presentation as tables.

As a disadvantage of this section, I can point out excessive explaining of statistical methods. This has already been summarized in the previous section.

Chapter V – 26 pages of "Discussion" presents an extensive comparative analysis of author's views and results on the subject and those of other authors who have worked on the issue. This chapter is the most creative part of the dissertation. It convincingly proves the high erudition of Dr. Tsvetan Sokolov in the presented subject matter. The section also raises debatable and unresolved questions that have not been answered by this paper. Those are topics for future research.

The discussion ends with two algorithms– for preventive and therapeutic application of platelet-rich plasma to problematic skin wounds. Author draws important practical conclusions in Chapter VII– "Conclusions". Those conclusions are too many for such paper–

14, but I completely agree with them and I am convinced that the objective of the paper has been achieved. I fully support the credibility and therapeutic benefit of author's algorithms for preventive and treatment application of platelet-rich plasma to acute, potentially endangered or problematic skin wounds

The placement of Conclusion before the actual conclusions is inexplicable but it does not change the relevance and scientific value of the dissertation

The research is illustrated by photo material presented in chapter IX. Appendices.

As a whole, the dissertation is written in the correct literary language. The graphs and photos used are of high quality and information value, fully consistent with the text. The remarks I made do not change the objectivity, the scientific and practical value of dissertation.

I can point out the following more important contributions of the scientific work of Dr. Tsvetan Sokolov presented to me for review. Those are:

Of methodological nature:

1. An innovative method for wound assessment has been proposed. The method allows changes in clinical parameters to be digitized and grouped in tables to predict treatment outcome.

Of applied scientific and confirmatory nature

1. Follow-up of 83 patients, for whom the results from application of platelet-rich plasma have been assessed. This is the largest number of patients found in literature.

2. For the first time in Bulgaria there is a definition of problematic skin wounds indicated for treatment with platelet-rich plasma.

3. Author's algorithm for preventive and therapeutic application of platelet-rich platelet plasma to acute, potentially problematic and problematic skin wounds has been practically confirmed by objective, statistically reliable analysis.

Author presents 3 publications on the dissertation topic in peer-reviewed scientific journals. He has five reports on the topic and takes part in one research project. Dr. Sokolov is listed as the first author in all of those. They contain separate parts of the discussed material. This fully meets the requirements of the Regulations for the Development of the Academic Staff at MU - Pleven, 2020 and Annex 1 to them. The above applies to the presented Abstract of the dissertation amounting to 53 pages.

In conclusion, the dissertation presented to me for review shows the ability of the dissertation author to compile a scientific thesis and a methodology for its resolution, to select and process material. He also manages to make statistically reliable conclusions on a challenging and specific topic, typical for our national orthopaedics and surgery - namely treatment of problematic skin wounds. The dissertation fully meets the qualitative and quantitative criteria set in the requirements for doctoral dissertations of MU-Pleven and the Development of Academic Staff Act of the Republic of Bulgaria. Therefore, I give a positive evaluation of the work and call on the members of the Peer -review committee to award Dr. Tsvetan Venelinov Sokolov a doctoral degree in Orthopaedics and Traumatology.

11.08.2022

Prof. Georgiev, DSc

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'G. Georgiev', written over the printed name 'Prof. Georgiev, DSc'.