

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд
на Доц. Регина Семьоновна Комса-Пенкова, дб

На тема: „Нов поглед върху ролята на генетичните и негенетични
рискови фактори в патогенезата на тромботични инциденти при
пациенти с венозен тромбоемболизъм и репродуктивни проблеми“
представен за придобиване на научна степен “Доктор на науките”

изготвена от проф. д-р Татяна Иванова Влайкова, дб
Катедра Химия и Биохимия, Медицински факултет,
Тракийски университет, Стара Загора,
тел: 0888 002438, e-mail: tvlaykov@mf.uni-sz.bg

1. БИОГРАФИЧНИ ДАННИ ЗА КАНДИДАТА

Доц. Регина Комса-Пенкова, завършва Държавния университет г. Вилнюс, Литва, специалност „Биохимия”. Професионалната и кариера е свързана с МУ-Плевен, където започва работа като асистент в катедра „Химия и биохимия” през 1984. Има придобита специалност „Биохимия” в системата на СДО към МНЗ през 1989г. През 1994 г защитава дисертационен труд на тема „Термостабилност на фибрилари колагени, влияние на различни фактори“ и придобива ОНС „Доктор“ (тогава „кандидат на науките“). От 1997 доц. Пенкова е доцент по Биохимия и ръководител на секция „Биохимия“ към катедра „Химия, Биохимия, Физика и Биофизика”.

Доц. Пенкова е била ръководител на Катедра „Химия, Биохимия, Физика и Биофизика”, ръководител на Отдел „Международно Сътрудничество“, Заместник декан на Факултета по медицина, председател на МУС на Факултета по медицина, председател на Акредитационна комисия на Факултета по медицина.

Повече от 10 години Доц. Комса-Пенкова работи в направление Програми на Европейския съюз като Създава отдел „Международно сътрудничество”, регистрира ВМИ-Плевен в програмата на Европейския съюз “Сократ” (1998г) и разработва Институционален проект за включване на ВМИ-Плевен в Европейската кредитна система за специалността „Медицина” (2000г). Ръководител е на **четири** пилотни проекти по програмата на **Европейския съюз** за развитие и подобряване на професионалното обучение, като три от тях са наградени с отличие. Съвместно с колеги от други катедри на МУ-Плевен, доц. Пенкова инициира и разработва два Европейски проекта за обучение в областта на клиничното хранене, който продължава много успешно вече 13 години и е придобил изключителна световна популярност - в курсовете на тази

програма са участвали повече от 42 000 слушатели от 53 държави от петте континента.

Доц. Комса-Пенкова е научен ръководител на един докторант на самостоятелна подготовка, успешно защител дисертационен труд по Биохимия през 2010 (доц. д-р П. Иванов), и е втори научен ръководител на успешно защитил през 2012 докторант от друга катедра (д-р К.Бакърджиева). Понастоящем доц. Пенкова е научен ръководител на още 3 докторанти на самостоятелна подготовка от Секция „Биохимия“.

2. АНАЛИЗ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

2.1. Актуалност на дисертационния труд

Тромбозата и тромбоемболиите, придизвикани от запушване с тромб на кръвоносни съдове, са рискови състояния, които могат да доведат до сериозни увреждания на засегнатите органи (бял дроб, сърце, бъбреци, мозък) и до летален изход. Въпреки че, в съвременното лечение на такива случаи, стандартното се прилагат антикоагулантна профилактика, венозният тромбоемболизъм (ВТЕ) продължава да е една от водещите причини за смърт сред хоспитализирани пациенти. Развитието на дълбоката венозна тромбоза (ДВТ) и последващият белодробен тромбоемболизъм (БТЕ) се провокират от спектър от рискови фактори (оперативна намеса, травма, обездвижване и т.н.), но в много случаи (от 25% до 50%) те се развиват без видима причина, като рискът от евентуален първи или пореден инцидент на ВТЕ остава недооценен. Ето защо се смята, че освен придобитите рискови фактори, голямо значение имат и вродените рискови фактори, т.е. наследствеността, като най-често развитието на тромбоза/емболия има мултифакторна генеза.

Проблемите в реализирането на нормална бременност (репродуктивните неудачи, спонтанните аборти и ражданията на мъртъв плод) са важен личен и обществен проблем, засягащ почти всяка десета семейна двойка, като по-голямата част от тези проблеми се приема, че се дължат на генетични причини. В последните години, все по-голямо значение се отдава на нарушенията на хемостазата на майката (вродена или придобита тромбофилия), като фактор, въвличен в спонтанните аборти в първи и втори триместър на бременността и за преждевременното отлепване на плацентата и прееклампсията.

Основната цел на дисертационния труд на доц. Регина Комса-Пенкова е да анализира и проучи приноса на полиморфизми/генетични варианти в 4 гена, кодиращи тромбофилични фактори, както и ролята на други негенетични рискови фактори (пол, възраст, тютюнопушенето, телесно тегло, хормонзамстителна терапия, и др.) в патогенезата на тромботични инциденти при пациенти с венозен тромбоемболизъм и репродуктивни проблеми. Ето защо убедено смятам, че този труд е актуален и резултатите от него биха имали значение за подпомагане профилактиката на пациенти с такива проблеми.

2.2. Описание на дисертацията

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е съобразен с общите изисквания и е структуриран по стандартен начин. Обхваща общо 446 страници, илюстриран е с 108 фигури и 142 таблици, от които респективно 67 и 117 са в раздела «Резултати». Дисертационният труд включва следните части: Литературен обзор с въведение - 129 стр., Цел и задачи-1 стр., Материали и методи - 58 стр., Резултати -145 стр., Обсъждане със заключение- 56 стр.; Изводи – 4 стр. и Приноси – 2 стр. За улеснение на читателите, в дисертацията са представени използваните съкращения на български и английски език – 2 стр. В дисертацията са цитирани 856 литературни източници, от които един е на кирилица, а останалите са на латиница, като по-голямата част от тях са публикувани през последните 5 години (от 2012 г.).

2.3. Оценка на литературния обзор

Дисертационният труд включва обширен, богат и много информативен литературен обзор, в който многостранно и задълбочено е представен анализ на световната научна информация относно структурата, сигналните пътища, механизмите на регулация и биологичните функции на тромбоцитния интегрин, GPIIb/IIIa (Integrin alpha-V/beta-3), на инхибитор -1 на плазминогеновия активатор (PAI-1), на коагулационен фактор V и на фактор II (протромбин). В допълнение, подробно са описани резултатите от асоциативни изследвания, публикувани в научната литература, свързани с ролята на варианти в гените на тромбофиличните фактори [**PLA1/A2 (rs59181TGB3) в гена на тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa (GP IIb/IIIa, ITGB3), 4G/5G (rs1799889(-) в гена на PAI-1, Фактор V Лайден (rs6025) и FII 20210 G>A (rs1799963) в гена на протромбина]**, обект на дисертационния труд, при различни патологични състояния, като артериални оклузивни заболявания, исхемичен мозъчен инсулт, инфаркт на миокарда, развитие на тромбози, ВТЕ, ДВТ и репродуктивни неудачи, повтарящи се загуби на плода, и други.

Литературният обзор представлява един добре систематизиран, последователен, задълбочен и критичен анализ, който има характер на образователен материал за медико-биологични специалисти, интересувани се от разглежданите тромбофилични фактори.

На основата на този много богат литературен обзор и задълбочения анализ на обемистата литература, доц. Пенкова извежда целите на дисертационния труд. Във връзка с поставените цели са формулирани 6 основни задачи, които са конкретни и са представени последователно и логично.

2.4. Материали и методи

Много добро впечатление прави, че в изследванията са включени много голям брой индивиди, пациенти и контролни, като е проведен

задълбочен подбор на пациентските групи с добре дефинирани включващи и изключващи критерии.

Асоциативните изследвания с пациенти с един или повече инциденти на дълбока венозна тромбоза са проспективни и включват 259 пациенти и контролна група от 219 здрави индивиди от европеидната раса, без анамнеза за ВТЕ (венозен тромбоемболизъм).

При изследванията на пациенти с репродуктивни неудачи от 4862 жени насочени към Център за репродуктивно здраве към УМБАЛ МУ Плевен и КИРМ, за изследвания и консултации, по повод неуспешни бременности и загуба на плода, след прилагане на критериите за подбор, с уточнена гестационна седмица на загуба на плода и включени в проучванията са 2955 жени с поне една неуспешна бременност: 1545 диагностицирани със спонтанен аборт, 1021 с мисед аборт и 233 с мъртво раждане (след 20 гестационна седмица). Контролната група за тези изследвания включва 320 здрави жени без анамнеза за репродуктивни неудачи, венозни или артериални тромбози, СПКЯ и ПКЯ (синдром на поликистозни яйчници или кистозни яйчници), или други проблеми с бременост и раждане.

Използваните методи за генотипиране за изследваните полиморфизми/генни варианти в тромбофиличните фактори са адекватни и са представени с изключителна детайлност и изчерпателност, което дава възможност тази част от раздела да служат като учебно ръководство за студенти и специалисти. За определяне серумните концентрации на някои адипокини- адипонектин и лептин, е използван ELISA метода с комерсиални китове, което гарантира възпроизводимост и надеждност на резултатите.

В допълнение, за изследване топографските характеристики, активирането и функционалната активност на тромбоцитите при пациенти и контроли, са ползвани модерни методи от арсенала на молекулната биофизика и имунология: Флоу-цитометрия и Атомно силова микроскопия (АСМ).

Статистическите методи са разнообразни и напълно адекватни за подкрепяне на научните хипотези. Използван е пакет от статистически анализи на SPSS 21.0 за Windows. За първи път в света при научно-изследователска работа са използвани кривите на преживяемост, построени по метода на Kaplan-Meier за оценяване на вероятността за по-ранна проява на следващ инцидент на ДВТ.

2.5. Резултатите и обсъждане

Представените резултати са много, логично свързани и богато илюстрирани с фигури, снимки и таблици. Разделът „Резултати“ се разделя на 5 части, като първите 4 включват резултатите, засягащи конкретен генетичен вариант на разглежданите тромбофилични фактори (PLA1/A2 в гена на тромбоцитен гликопротеин Пб/Пв, 4G/5G в гена на PAI-1,

Фактор V Лайден и FII 20210 G>A в гена на протромбина). Проучвани са ефектите и взаимовръзките на генетичните варианти и негенетични рискови фактори като пол, възраст, тютюнопушене и затлъстяване върху риска от инцидент на ДВТ, върху периода (времето) за получаване на инцидент на ДВТ, върху риска и продължителността на периода на повтарящи се тромботични инциденти, и възрастта на първи инцидент.

Иновативни и оригинални са проучванията за изясняване ефектите на генетичните варианти върху оценяваните с флоу-цитометрия и АСМ (атомно силова микроскопия) активност, морфологични и механични особености на тромбоцитите при контролни индивиди, и при пациенти с ДВТ.

Резултатите от първите 4 раздела с изследвания водят до потвърдителни и оригинални изводи и приноси и недвусмислено показват, че носителството на тромбофиличните варианти на полиморфизмите в гените на тромбоцитния гликопротеин GPIIb/IIIa (PLA2 или С алела), на инхибитор 1 на плазминогенния активатор (PAI-1, 4G алела), на FV (FVL) и на FII (20210A алела) допринася за по-висок риск от единични и повтарящи се инциденти на ДВТ и за по-ранна проява на такива инциденти, като тези асоциации се повлияват от пола (женски пол), възрастта (възраст под 45 години), тютюнопушенето и затлъстяването.

Съществена разлика се открива между морфологията и броя на частиците, отделяни от тромбоцитите при здрави индивиди, носители и неносители на вариантния С алел (PLA2 алел) на GPIIbIIIa, както и при пациенти с ДВТ. Носителството на тромбофиличните алели на GPIIbIIIa (PLA2/С алела), на PA 1 (4G алела) и на протромбина (20210A алела), допринася за по-силна промяна в еластичността на мембраните на тромбоцитите и следователно, до по-голяма еластичност на мембраните на тромбоцитите при здрави индивиди и до по-висока активност на тромбоцитите.

Като последна, пета част на резултатите на дисертационния труд са проведените анализи с пациентки с проблеми по време на бременността и/или раждането (по-конкретно при жени със загуби на плода). Проучени са ефектите на изследваните тромбофилични генетични варианти, самостоятелно и в комбинация с прилагането на хормонална терапия, върху риска за загуба на плода и уточняване на най-рисковите периоди (гестационна седмица или лунарен месец) за проява на тези инциденти. Доц. Пенкова също проучва влиянието на носителството на тромбофиличните полиморфизми/генетични варианти върху риска за рекурентни инциденти и върху активността на тромбоцитите. В допълнение доц. Пенкова изследва в тази група пациенти ефекта на полиморфизъм в още един тромбофиличен фактор MTHFR (677C>T).

Съществени резултати от тази група изследвания са тези показващи, че носителството на тромбофиличните мутации при 4 от изследваните

фактори (без FV) допринася за загуба на плода общо за целия период от бременност, като се наблюдава значително раздвижване в зависимост от лунарния месец и гестационната седмица с обща тенденция на увеличен риск в първите гестационни седмици 1-10г.с. и в края на бременността.

Оригинални резултати са установените с методите на АСМ (атомно силова микроскопия) и флоуцитометрия, взаимовръзки между носителството на тромбофиличните алели PLA2, FII20210A, 4GPAI-1 и FVL и наномеханичните свойства и активността на тромбоцитите: височината и площта на тромбоцитите, еластичността на мембраните, активността им и микрочастиците (броя, големина, форма, обем) при жени с нормална бременност и такива със загуба на плода.

Обсъждането на резултатите е задълбочено и последователно. В него доц. Пенкова успява критично да анализира получените резултати и да изведе най-съществените изводи и приноси от тях.

2.6. Оценка на изводите и приносите

В края на дисертационния труд са изведени значителен брой (29) изводи, които са в съответствие с получените резултати. Приносите са систематизирани в две основни групи: 5 оригинални с научно-теоретичен характер и потвърдителни с научно-приложен характер. Приемам напълно изведените приноси и оценявам високо тяхната оригиналност и научна стойност.

3. ПУБЛИКАЦИОННА АКТИВНОСТ

Доц. Пенкова представя списък със значителен брой научни съобщения, свързани с дисертационния труд: 38 публикации в пълен текст в Български списания (18 от които в списание със Scopus импакт ранк, SIR-Акушерство и гинекология); 14 съобщения в списания в чужбина, като 9 са статии пълен текст (7 в списания с ИФ, общ ИФ=19.093), а 5 са абстракти от международни научни форуми (ИФ=19.036). Безспорен е личният принос на доц. Пенкова, което се доказва с големия брой публикации, в които тя е водещ (първи и последен автор) или втори автор – 33 (63%). Резултати от изследванията по дисертационния труд са представени на 16 научни форума в България и на 12 в чужбина. Няма представена информация за цитиранията на публикациите на доц. Пенкова, свързани с дисертацията, но в Scopus се установяват 270 независими цитирания на 35 от публикациите на доц. Комса-Пенкова и h-индекс 7.

4. АВТОРЕФЕРАТ

Запозната съм с Автореферата на дисертационния труд, който напълно одобрявам. Той изцяло отговаря на съдържанието на дисертацията и представя изследваните групи индивиди и показатели, основните резултати, изводи и приноси от тях.

5. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ

Удовлетворена съм от факта, че основната част от препоръките, отправени по време на вътрешната защита са взети под внимание от доц.

Пенкова при подготовката на окончателния вариант на дисертационната работа.

Забелязват се само някои технически неточности при оформянето на текста: а) прието е да има обща номерация на фигурите и таблиците, която да се следва в целия дисертационен труд, докато в работата на доц. Пенкова във всяка глава има отделна номерация; б) описани са два метода, диференциална сканираща калориметрия (ДСК) и изотермична титрационна калориметрия (ИТК), за които не са представени резултати; в) в някои от таблиците са представени твърде много първични данни от статистическите анализи, което води до затруднения при тяхното анализиране (нпр. таблица 10, 12, 18, 20 и др. – не е нужно да се представят и двете централни величини- медиана и средна стойност със съответните 95%CI, а в таблици 11, 13, 19, 21 и др – са излишни стойностите на χ^2 и df).

Бих искала, обаче, да подчертая, че посочените дребни забележки, не умаловажават високата стойност на дисертационния труд и не променят моето изключително положително впечатление за работа, представена от доц. Пенкова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд на тема **„Нов поглед върху ролята на генетичните и негенетични рискови фактори в патогенезата на тромботични инциденти при пациенти с венозен тромбоемболизъм и репродуктивни проблеми** е един задълбочен, последователен и широкообхванат труд, който е резултат от многогодишните научни търсения на доц. Комса-Пенкова, свързани с изясняване на патогенетичните механизми и рисковите фактори за развитие на ВТЕ и репродуктивни неудачи, реализирани в колаборация с колеги от основни клиники от МУ-Плевен.

Смятам, че представената дисертационна работа се отличава с актуалност, оригиналност, мащабност и има логична постройка, с добре формулирани и прецизно изпълнени задачи. Получени са резултати, водещи до значителен брой оригинални фундаментални и потвърдителни научно-приложни приноси. Всичко това определя моята много висока оценка, която заедно с изпълнените количествени и качествени критерии на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Плевен, ми дават пълно основание да гласувам **положително „за“** и да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъди на **Доц. Регина Семьоновна Комса-Пенкова, дб** научната степен **“Доктор на науките“**

31.07.2017



/проф. Татяна Влайкова, дб/