

До Председателя на Научното жури  
При Медицински университет – Плевен,  
Назначено със заповед № 937/24.04.2018 г.  
На Ректора на МУ – Плевен, по процедура  
за защита на дисертационен труд за придобиване на  
образователна и научна степен „ДОКТОР“ в катедра  
„Физиология и патофизиология“ на МУ – Плевен с  
кандидат Д-р Армине Вардани Григорян.

## **РЕЦЕНЦИЯ**

**От проф. д-р Благой Иванов Маринов, д.м.**

**Катедра по Патологична физиология, Медицински Университет – Пловдив**

**Относно: Дисертационен труд на д-р Армине Вардани Григорян „ИЗСЛЕДВАНЕ РЕГЕНЕРАЦИЯТА НА КОСТНА ТЪКАН В МОДЕЛ НА ОСТЕОПОРОЗА С ЕСТРОГЕНЕН ДЕФИЦИТ ПРИ ЖЕНСКИ ПЛЪХОВЕ ВИСТАР СЛЕД ИНТРАОСАЛНО ПРИЛОЖЕНИЕ НА НОВИ БИОАКТИВНИ ХИБРИДНИ НАНОМАТЕРИАЛИ“ за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по научна специалност 01.03.05 - „Патофизиология“ Катедра „Физиология и патофизиология“, във факултет „Медицина“ на МУ – Плевен**

### **Биографични данни**

Д-р Армине Григорян е родена в град Ереван, Армения. След средното си образование завършва Института по традиционна медицина в същия град с отличен успех и придобива магистърска степен. От студентската скамейка е с подчертан интерес към изследователската работа и логично след преместването си в България през 2011 г. постъпва на работа в Катедрата по патофизиология на МУ – Плевен. Там тя доказва професионалните си качества и израства като изследовател, вземайки участие във всички проекти и инициативи на Катедрата, свързани с изучаване на вазоактивни пептиди, матриксни металопротеинази и ролята им при съдовата

регулация, оксидативния стрес на съдовата стена, костното ремоделиране и остеопорозата. Усилията, които полага ѝ се отплащат и през 2017 г. тя е вече специалист-патофизиолог със стабилен научно-изследователски актив, който води и до настоящата дисертационна разработка.

Д-р Григорян членува и в редица специализирани и съсловни организации, сред които Българско дружество по физиологични науки и Български Лекарски Съюз. Владее свободно английски, руски и арменски езици.

### **Актуалност на проблема**

Разработеният от д-р Григорян дисертационен труд е посветен на социално значимите заболявания на 21-я век. Остеопорозата засяга над 200 милиона жени по света, като само в България всяка година се регистрират над 90.000 счупвания, което води до много преки и непреки разходи за тези пациенти. Постменопаузалната остеопороза е заболяване със сложна патогенеза. Тя е резултат от ендокринен дисбаланс отключващ различни системни и локални патологични процеси. Медикаментите подобряващи костното ремоделиране, предотвратяват възникването на усложнения. От друга страна обаче болните често имат тежки съпътстващи заболявания, които затрудняват изборът на медикамент. Ето защо днес много често се прибегва към оперативното лечение на фрактурите, което води до бързо възстановяване на пациентите. В същото време ортопедите трябва да поемат високия риск от усложнения, които се дължат на недостатъчна стабилност на фиксацията и лошо качество на остеопоротичната кост. Едно от високотехнологичните решения на този проблем би било използването на специално покритие върху имплантите, което би засилило регенераторните способности на костта. В настоящата дисертация се прави опит да се хвърли светлина върху патогенезата на остеопорозата и кинетиката на костна регенерация след интраосално приложение на композитни материали, съдържащи нанодиаманнти.

### **Техническа реализация на дисертацията**

Дисертацията се състои от 131 стр., съдържа 42 фигури и 11 таблици. Трудът има класическа структура и включва: Въведение – 2 стр.; Литературен обзор – 38 стр.; Цел и задачи - 1 стр.; Материали и методи - 16 стр.; Резултати - 27 стр.; и Обсъждане - 17

стр.; Изводи - 1 стр.; Приноси - 1 стр.; Библиография – 17 стр., обхващаща 214 източника, от които 204 - на латиница. Списък на публикациите и съобщенията, свързани с дисертационния труд – 1 стр.

### **Структура на дисертационния труд**

**Литературният обзор** започва с преглед на социалната значимост на остеопорозата, като се подчертава ролята на матриксните металопротеинази в патогенезата на костната резорбция и възможността за приложение на модерни наноматериали, както самостоятелно, така и комбинация с остеопротективни медикаменти. Въпреки натрупаните данни за процесите на костното ремоделиране на клетъчно и молекулярно ниво, все още липсва цялостна информация за факторите, които регулират този процес. Естрогените действат върху различни видове клетки, включително Т-клетки. Естрогенният дефицит променя регулаторното взаимодействие между Т-клетките и стромални клетки, което води до абнормна продукция на редица цитокини. Напоследък, все повече се говори за остеопорозата като автоимунно и възпалително заболяване. На финала е направен преглед на съвременните тенденции за комплексно лечение на остеопорозата и особено прилагането на импланти и проблемите, свързани с тяхното надеждно фиксиране. Литературният обзор е многостранен и задълбочен, като всички препоръки, направени по време на предзащитата са взети под внимание. Общото впечатление е, че дисертантката притежава умения да обобщава и анализира информация, както и високата степен на осведоменост по разработвания проблем.

**Целта** е формулирана ясно и точно, задачите са адекватни за изпълнението ѝ и следват в логична последователност. Съотношението от цел с шест задачи е много добро.

**Материалът и методите** са подбрани точно. Прави впечатление прецизирането на експерименталния протокол, който отговаря на всички съвременни нормативни изисквания за работа с опитни животни. Аналитичните методики са изчерпателно описани. Използвани са обективни, съвременни начини за определяне на различни биомаркери. Диагностичният комплекс е на много високо ниво и е добре обоснован.

Не мога да не обърна внимание на отличната комуникация и сътрудничество с различни институти и лаборатории към БАН - Института по молекулярна биология, Централната лаборатория по приложна физика, където са създадени и оценявани биоразградими наноструктурирани материали, които да могат да функционират в условия на тежка остеопороза.

**Резултатите** са изложени логично и са добре онагледени. Развитие на остеопорозата е потвърдено чрез експлантиране на феморалните кости от опитните животни, подлагането им на нанонатиск и отчитане на показатели като твърдост (MPa), еластичност (GPa) и дълбочина на проникване (nm). Успешното развитие на модела за остеопороза е потвърдено и с помощта на хистологични и хистохимични изследвания. Получените експериментални данни доказват, че модела за развитие на остеопороза при плъхове е успешен, което позволява на дисертантката да премине към проучване на влиянието на композитни инжекционни наноматериали върху регенерирането на костната тъкан.

Получаването на наноструктурирани хибридни материали е извършено на основата на биосъвместими и биоразградими полимерни хидрогелове и нанодиаменти. Приложението им се свързва с липсата на възпалителни реакции и добрата биосъвместимост. Това оправдава приложението на създадените в БАН полимерни матрици върху експериментален модел на остеопороза при плъхове.

В настоящото проучване не се установяват статистически значими разлики в серумните концентрации на Ca, P и Mg при различните групи експериментални животни. Ето защо на практика определянето на серумните концентрации на Ca, P и Mg при естрогендефицитна остеопороза не би било от полза при диагностицирането на заболяването. В съображение влизат различни костни маркери - серумни и уринарни молекули с висока специфичност, отразяващи ензимната активност на остеобластите и остеокластите или разпадните продукти на костната тъкан. Активността на MMP-9 и MMP-13 сигнификантно са увеличава след направената овариектомия като хронична естрогенна недостатъчност отключва порочен кръг на стимулираната остеокластогенезата чрез производството на про-остеокластогенни цитокини: TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  и IL-4, RANKL. Естрогенният дефицит водещ до

свърхекспресията на MMP-9 и MMP-13 е пряко свързан и с изявата на локалното възпаление и оксидативния стрес.

Посочените резултати биха имали фундаментално значение за разбиране на патогенетичните механизми в развитието на остеопорозата, които биха могли да дадат начало на нови терапевтични стратегии, особено при жени в менопауза. Разрешаването на проблемите с приложението на композитни инжекционни наноматериали и регенерирането на костната тъкан би довело до минимизиране на инфекциите и отхвърлянето на имплантите от приемника, което значително би намалило разходите за лечение на тези пациенти.

**Дискусията** е насочена и компетентна, но остава леко непропорционална в цялостната структура на дисертационния труд. Интерпретират се получените данни и се прави сравнителна съпоставка с различни литературни източници. Подчертава се необходимостта от мултидисциплинарен подход при установяването и третирането на остеопорозата. До момента не съществува успешна стратегия за подобряване на ангиогенезните свойства на макропорести подложки за костно възстановяване. С оглед на това използването на нова, ефективна техника за получаване на „интелигентни“ гелове, съдържащи нанодиаменти има голяма перспектива. Предлаганите полимери PLGA1000-PEG1000-PLGA1000+ND, могат да бъдат използвани като потенциални матрици в костното тъканно инженерство.

Дисертантката е извела 9 извода в отговор на поставените 6 задачи. Изводите са точни и изчерпателни.

Разработеният дисертационен труд има приноси с научен, научно-приложен и потвърдителен характер, а именно:

1. Полимерните матрици, натоварени с нанодиаменти значително понижават MMP-9 в остеокласти и MMP-13 в остеоласти и остеоцити при женски плъхове порода Wistar с развита остеопороза
2. При интраосалното приложение на полимери и полимери, натоварени с нанодиаменти в групите с остеопороза се наблюдава повишаване на SPARC и COL-1

3. Повишаването на серумните концентрации на матриксните металопротеинази представляват маркери за остеокластна активност
4. Серумната концентрация на ALP е повишена при остеопороза, а добавянето на нанодиаменти я понижава.

Авторефератът (70 стр.) отговаря на изискванията и съдържа всички основни данни и изводи от дисертацията, като в същото време е добре онагледен и изпълнен от типографска гледна точка.

#### **Публикационна активност:**

Свързаната с дисертационния труд публикационна активност възлиза на 5 реални публикации – 3 на български и 2 на английски. В посочените трудове д-р Григорян е 1-ви автор, което свидетелства, че тези проучвания са лично дело на дисертанта. Получените резултати са докладвани на 13 международни и национални научни форуми у нас и в чужбина. Д-р Григорян е взела участие и в два вътре университетски и един национален научни проекти, първите от които са инициирани в Катедрата по физиология и патофизиология на МУ-Плевен и касаят пряко тематиката на дисертационната разработка, а резултатите от тях са пряко интегрирани в нея.

#### **Заключение**

Дисертационният труд на д-р Армине Григорян разкрива много добре професионалните ѝ и изследователски качества, както и уменията ѝ да работи в мултидисциплинарни научни колективи в името на разработването на иновативно и оригинално приложение на високотехнологични материали в името на разкриване на интимните механизми на костното ремоделиране и остеопорозата, както и за приложението на тези технологии в бъдещата клинична практика. Разработката представлява лично дело на автора и е очевидно, че е плод на дългогодишен труд.

Считам, че представеният ми дисертационен труд „ИЗСЛЕДВАНЕ РЕГЕНЕРАЦИЯТА НА КОСТНА ТЪКАН В МОДЕЛ НА ОСТЕОПОРОЗА С ЕСТРОГЕНЕН ДЕФИЦИТ ПРИ ЖЕНСКИ ПЛЪХОВЕ ВИСТАР СЛЕД ИНТРАОСАЛНО ПРИЛОЖЕНИЕ НА НОВИ БИОАКТИВНИ ХИБРИДНИ НАНОМАТЕРИАЛИ“

отговаря на изискванията на ЗВО, Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение, както и на Правилника на МУ – Плевен за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“

28.05.2018 год.

гр. Пловдив

Подпис:.....

(Проф. д-р Благой Маринов, д.м.)

