

СТАНОВИЩЕ

от д-р **Виктория Сарафян**, дм, дмн,

професор по имунология в Медицински университет – Пловдив,

специалист по клинична имунология и по медицинска биология,

ръководител на Катедра „Медицинска биология“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен

“доктор”

Професионално направление - *медицина*

Докторска програма - *медицинска биология*

Автор: д-р Десислав Грозев Томов, докторант на самостоятелна подготовка

Тема: “ **Определяне на оксидативен стрес чрез използване на течна хроматография с мас спектрометрична детекция** ”

Научен ръководител:

Проф. д-р Добрин Свиначков, дмн

Общи данни

Рецензията е изготвена в изпълнение на Заповед № Р-2051/18.07.2023 на Ректора на МУ-Пловдив, въз основа на представен на хартиен и електронен носител дисертационен труд. Прочитът на дисертацията оставя цялостното впечатление за добросъвестно изработена и компетентно написана дисертация, в която докторантът се очертава като изграден специалист по клинична лаборатория с научни познания в областта на медицинската биология. Той е натрупал несъмнен опит в профилираната си подготовка по мас спектрометрия и научен поглед в съвременната медицинска биология.

Дисертацията е структурирана по правилата за изготвяне на дисертационен труд с оптимален баланс между отделните ѝ части. В настоящия ѝ вид отделните раздели са представени, както следва: въведение – 1 стр.; литературен обзор – 24 стр.; цел и задачи – 1 стр.; материал и методи – 15 стр.; резултати и дискусия – 32 стр., изводи и приноси – 2 стр. и цитирани 159 литературни източници на 17 страници.

Актуалност на тематиката

Високата честота, системните прояви и инвалидизацията при голяма част от дегенеративните, хронични възпалителни и аутоимунни заболявания ги поставят във фокуса на научните проучвания. В комплексната етиопатогенеза на много от тях сериозна роля играе оксидативният стрес. Свободните радикали и техните производни причиняват окислителни промени в липиди, протеини, нуклеинови киселини и въглехидрати. Някои от тях са обратими, но други действат цитотоксично и могат да причинят клетъчна смърт. Поради изключително краткото си време на съществуване ($10^{-9} - 10^{-12}$ sec) свободните радикали по настоящем се оценяват предимно косвено чрез измерване на продуктите от тяхното действие върху различни биомолекули.

Широкото навлизане на метаболомиката и протеомиката в съвременната медицинска практика допринесе за развитие на разделителните техники и на мас спектрометричния анализ. Той гарантира висока чувствителност и специфичност и дава възможност за количествена оценка на вещества според тяхното съотношение маса/заряд. Може да се използва и за детекция на изопростаните, които са продукт на липидната пероксидация. Поради факта, че те са стабилни молекули във всички човешки тъкани и органи, могат да се използват за оценка на оксидативния стрес.

В научната литература се откриват ограничен брой публикувани методи за тяхната детекция вероятно поради дългата и сложна пробоподготовка. Базирайки се на тези данни, се откроява актуалността на дисертационния труд на д-р Д. Томов, който открива много удачна изследователска ниша. Научен ръководител и докторант аргументират необходимостта от разработване и валидиране на нови методи за анализ на 8-isoPGF2-alpha в различни биологични матрици, които да бъдат предложени за диагностика в ежедневната практика. Крайният резултат на този мащабен лабораторен труд доказва потенциала на изследователите, които създават конкретен методичен протокол с широко клинично-лабораторно приложение.

Познаване на проблема

В литературния обзор личи отлично познаване на проблема и творчески анализ на цитираната литература. Разгледани са характеристиките, класификацията и генерирането на реактивните форми в организма. Подробно е описано влиянието на свободните радикали върху белтъци, нуклеинови киселини, липиди и въглехидрати. Задълбочено е представено участието на окислителния стрес в патогенезата на невродегенеративни, метаболитни, онкологични и аутоимунни заболявания.

Съществена част от обзора е свързана с представяне на методите за анализ на оксидативния стрес. Авторът се насочва основно към методите за анализ на изопростани в биологична матрица и представя предимствата и недостатъците на прилаганите до момента техники. Мас спектрометричната детекция е описана подробно, с познаване на детайлите, а не само като принципи и механизми.

Добро впечатление правят обобщените изводи от литературния обзор, които очертават нерешените проблеми и методичните предизвикателства.

Целта е логично изведена. Тя звучи ясно и напълно съответства на съдържанието на работата.

Задачите са формулирани конкретно и точно. Чест прави на докторанта изключително стегнатият и конкретен изказ на поставените задачи, което е показател за зрял и изграден учен. Повечето млади докторанти се увличат в многобройни дребни задачи и подзадачи и губят фокуса. В случая са определени 2 методични задачи, свързани с разработване, оптимизиране и валидиране на метод за анализ на 8-isoPGF2-alpha в кръвна плазма и в слюнка. Съвсем логично следват и другите 2 задачи, насочени към приложение на разработените методи за анализ на 8-isoPGF2-alpha в кръвна плазма като биомаркер на оксидативен стрес при пациенти с аутоимунен тиреоидит на Хашимото и в слюнка като локален маркер за оксидативен стрес в устната кухина.

Материали и методи

Коректно са описани използваната апаратура и реактиви. Аналитичните методи са представени с впечатляваща прецизност и точност, което позволява и възпроизводимост на получените данни.

Клиничният материал включва 95 пациента с аутоимунен тиреоидит на Хашимото, разпределени в три групи според функционалната активност на жлезата – с хипо-, еу- и хипертиреоиден статус. Втората клинична група е с 35 пациента с поставена металокерамична конструкция в устната кухина. Коректно е отразено участието на специалистите ендокринолози и протетични дентални лекари.

Цитирана е финансовата подкрепа от МУ-Пловдив по два вътреуниверситетски проекта, които са станали база за разработването на настоящия дисертационен труд. Това е доказателство, че докторантът и колективите, с които работи, имат значителен научен потенциал и опит с генерирането и реализирането на изследователски проекти.

Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Резултатите са онагледени с 31 фигури и 26 таблици. Безспорно оригиналните резултати са представени, следвайки набелязаните задачи на дисертационния труд.

Резултатите от разработването и валидирането на течно-хроматографския метод с мас спектрометрична детекция за определяне на 8-isoPGF2-alpha в кръвна плазма и в слюнка са изложени последователно и детайлно. Включват оптимизация на етапите на метода – преданалитичен стадий, процедури за подготовка на пробите, оптимизиране на хроматографските методи и на мас спектрометричната детекция и финално валидиране на метода.

Анализът на получените резултати от приложението на метода при пациентите с тиреоидит на Хашимото в сравнение с контролната група доказва значението на 8-isoPGF2alpha като биомаркер за свободнорадикалова увреда при това заболяване поради по-високите му нива при болните спрямо контролите, макар и при липса на статистически значими разлики. Потвърждава се и корелация между степента на затлъстяване, наличието на аутоантитела и оксидативния стрес.

Резултатите по четвъртата задача показват връзка между нивата на отделените Co^{2+} - йони и нивата на 8-isoPGF2-alpha само на втория час в

стимулирана слюнка преди и след поставяне на металокерамична конструкция. Въпреки липсата на статистически значими разлики в средните нива преди поставяне и на втория час след поставяне на металокерамичната конструкция, е на лице тенденция към покачване на концентрацията на изопростан в стимулираната слюнка.

Обсъждането на комплексните резултати е сравнително ограничено вероятно поради факта, че наличната научна литература по проблема е лимитирана. Това поставя автора в положение сам да анализира собствените си данни, без да може да се опре на достоверни научни източници. От друга страна, тази инсуфициентност на дискусията по отношение на съпоставимост очертава и оригиналния методичен подход и постигнатите резултати. Би било удачно в края на дискусията да се посочат бъдещи приложения и насоки, които дисертантът вижда в приложението на разработените методи.

Изводите са ясни и информативни и отразяват същността на изследването. Приемам изводите от дисертационния труд като съдържание и като лично дело на докторанта. Оценявам факта, че те следват конкретно поставените 4 задачи и убедително и систематизирано представят резултатите на проучването.

Приносите с оригинален характер приемам напълно и те са достатъчни за подобен дисертационен труд. Приносите с потвърдителен характер не считам за необходимо да се посочват.

Библиографията включва 159 литературни източника, които вярвам, че докторантът познава реално и в пълен текст.

Авторефератът е изготвен по стандартния начин и отразява коректно дисертационния труд.

Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Д-р Десислав Томов е първи автор на три публикации по темата на дисертационния труд. Двете оригинални статии са публикувани в *Journal of Medical Biochemistry*, IF 2.157, Q3(SJR), а третата е в *J Clin Exp Dent.*, Q2(SJR). Резултатите от научните проучвания са представени на 2 национални и 3 международни форума. Личният принос на докторанта в разработваната

тематика личи и от участието му в два успешно реализирани научни проекта, финансирани от МУ - Пловдив.

Познавайки професионалните компетенции на д-р Томов като лекар – специалист по клинична лаборатория, придобитата допълнителна тясна квалификация в областта на хроматографските анализи и надградения научен капацитет, съм убедена в това, че дисертационният труд е негово лично дело под умелото ръководство на научния му ръководител – доказан експерт в течната хроматография с мас спектрометричната детекция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на д-р Десислав Грозев Томов съдържа научни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България за придобиване на образователната и научна степен “доктор” и на Правилника на МУ - Пловдив.

Поради гореизложеното, убедено *давам своята положителна оценка* за проведеното изследване и предлагам на членовете на научното жури да присъдят образователната и научна степен “доктор” по медицинска биология на д-р Десислав Грозев Томов.

24.07. 2023 г.

Рецензент:



Заличено на основание
Чл.5 §1, б.“В” Регламент (ЕС)2016/679

проф. д-р Виктория Сарафян, дм, дмн