

## РЕЦЕНЗИЯ

от

**проф. д-р Нели Петкова Сивкова, дм, FEBO**

**Ръководител на Катедра по очни болести,**

**Медицински Университет - Пловдив**

на

**дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен**

**“доктор” по научната специалност “Офталмология”**

**Автор:** д-р Катерина Меглена Бомерт

**Форма на докторантурата:** свободна

**Катедра:** Катедра по очни болести и зрителни науки, МУ- Варна

**Тема:** Терапевтичен подход към предна очна повърхност – проследяване с ин виво конфокална микроскопия

**Научен ръководител:** проф. д-р Христина Групчева, дмн, FEBO, FICO (Hon)

### *Кратки биографични данни*

Д-р Бомерт е родена на 27.02.1989г. във Франкфурт на Майн, Германия. Средното си образование е завършила в гимназия “Фридрих-Десауер” в родния си град като в периода 2005-2006г., една учебна година, учи в щата Тексас, САЩ.

През 2014г. завършва магистратура по медицина в МУ-Варна. Непосредствено след това започва специализация по вътрешни болести в болница Хохтаунусклиникен в град Бад Хомбург, Германия. Работила е в отделенията по гастроентерология, по спешна медицина и гериатрия. През 2017г. д-р Бомерт придобива специалност и по спешна медицина. През 2018г. тя започва специализация по очни болести в Катедрата по очни болести и зрителни науки на МУ-Варна. Работила е като специализант в Специализирана очна болница за активно лечение гр. Варна и СБАЛ “д-р Иванови” в гр. Бургас.

От 2018г. е докторант на самостоятелна подготовка към МУ-Варна под научното ръководство на проф. д-р Хр. Групчева.

През 2018г. д-р Бомерт е носител на наградата за млад изследовател в конкурса на името на проф. Стоимен Дъбов в конференцията “Новости в офталмологията”.

Владее отлично немски (матерен език) и английски, а български език на добро ниво. Има много добра компютърна грамотност. Членува в Български лекарски съюз и Българското дружество по офталмология (БДО). В момента подготвя членството си в Немското дружество по офталмология (DOG).

### ***Актуалност на темата на дисертационния труд***

Тъканното биоинженерство е съвременна област в медицината, ориентирана към бъдещето. Използването на амниотична мембрана (АМ) за покриване на компрометирана предна очна повърхност е с дълга традиция в областта на очната хирургия. Рутинното приложение на АМ крие известни неудобства, сред които е сравнително бързото ѝ резорбиране и недостатъчно тектонично укрепване при заболявания, свързани със силно изтъняване на роговицата. В последно време амниотичната мембрана бе въведена в тъканното инженерство като биоматрица за растеж и култивиране на лимбални епителни стволови клетки. Методът на отглеждане и култивиране на жизнени алогенни стволови клетки е иновативен подход в решение на този проблем. Това прави темата на дисертацията актуална и интересна както за страната, така и за световната клинична и експериментална офталмологична наука.

### ***Структура на дисертационния труд***

Дисертационният труд е написан на 155 стандартни машинописни страници. Структуриран е правилно. Съдържа:

- Въведение и литературен обзор (39 стр.);
- Цел и задачи (1 стр.);
- Материал и методи (29 стр.);
- Резултати (20 стр.);
- Обсъждане и изводи (14 стр.);
- Библиография и собствени публикации (35 стр.);
- Съкращения, списък на фигурите и таблиците (5 стр.);
- Резюме на английски и на български език (12 стр.).

Работата е онагледена с 24 фигури и 15 таблици. Литературният обзор включва 310 литературни източника, всички на латиница.

От представената **литературна справка** личи много доброто познаване на проблема. Литературният обзор е изчерпателен и включва както публикации с историческа стойност, така и съвременни публикации по темата от последните 5 години. Целта на дисертацията е логично изведена и правилно формулирана, а именно: да се разработи и използва съвременна биологична терапия, която да се приложи при заболявания на предната очна повърхност като се постигне микроструктурна интеграция, доказана посредством *in vivo* конфокална микроскопия.

За постигане на целта са поставени 5 основни задачи.

**Методите** на изследването са описани подробно и изчерпателно. Те могат да бъдат разделени на 2 групи – експериментални и клинични.

В експерименталната част са представени методите, отнасящи се до

разработването на биопrodukта Alloheal®, произведен от култивирани лимбални епителни стволови клетки, които са получени от алогенна донорна корнео-склерална тъкан върху криоконсервирана и термолизирана амниотична мембрана (AM). Д-р Бомерт подробно описва включващите и изключващи критерии за придобиване на AM от плацента, както и всички стъпки за получаване както на стандартната AM, така и на биопrodukта Alloheal®. Авторът предлага оригинално собствено конструирано гъвкаво устройство за фиксиране на криоконсервираната и термолизирана AM, носеща култивираните лимбални стволови клетки (ЛСК).

Клиничната част включва оценка на интеграцията на култивираните епителни стволови клетки в реципиентната роговица преди и след приложението на Alloheal® посредством метода на *in vivo* конфокалната микроскопия (Heidelberg Retina Tomograph-HRT3 RCM, Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Германия). Дебелината на роговицата преди и след приложението на биологичното лечение е измерена посредством предносегментна оптична кохерентна томография (Cirrus 5000, Zeiss, Germany). Хистологичното изследване на *ex vivo* култивираните ЛСК, както и на самата AM е извършено посредством контрастна светлинна микроскопия на препарати с оцветявания с хематоксилин/еозин (H/E) и по метода Diff-Quik.

За статистическата обработка на резултатите е използван програмен продукт SPSS, 19.0 (SPSS, IBM, USA).

**Резултатите** са систематизирани в 2 основни части – експериментална и клинична. Онагледени са много добре.

В експерименталната част подробно са описани предимствата на конструираното от автора гъвкаво устройство за култивиране на ЛСК в сравнение с използването на медицинското изделие с твърд пръстен CellCrown TM (Sigma-Aldrich). Установява се, че изобретеното собствено устройство предлага по-добри условия за култивиране, транспортиране и най-вече за хирургично приложение на биопrodukта Alloheal®. Сравнени са резултатите при фиксиране на AM посредством 6 и 12 прекъснати шева върху собственото флексибилно устройство като се установява, че AM стои по-стабилно при фиксиране с 12 прекъснати шева. Описани са резултатите от *ex vivo* експанзията на ЛСК върху AM. Извършен е хистологичен анализ на култивираните ЛСК посредством контрастна светлинна микроскопия на клетъчната култура от култивирани ЛСК и на хистологичен препарат от оцветени с хематоксилин/еозин клетки от биопrodukта Alloheal®. Установено е, че оформящите се отвори (дупки) от прекаленото разтягане на AM са по-често срещани при култивиране на ЛСК върху търговския продукт с твърд пръстен CellCrown TM (Sigma-Aldrich) в сравнение с тези при биопrodukта Alloheal®. Гъвкавостта и възможността за лесна манипулация при изобретеното собствено устройство намаляват оперативното време, спомагат за добра адаптация на биопrodukта без гънки и има намален риск от травмиране на клетки и/или на

очната повърхност.

В клиничната част са обобщени резултатите от 22 очи при 19 пациента. При 10 очи е използван биопродукта Alloheal®, а при 15 – класическият метод на покритие на предната очна повърхност с амниотична мембрана. В първата група средната плътност на повърхностния епител на роговицата от  $638\,500 \pm 162\,274$  клетки/mm<sup>2</sup> предоперативно нараства на  $718\,100 \pm 142\,004$  клетки/mm<sup>2</sup> следоперативно. Подобна тенденция се наблюдава и относно средната плътност на базалния епител. Резултатите от AS-OCT показват, че на 7-ия следоперативен ден средната дебелина на роговицата достоверно нараства в групата очи, третирани с биопродукта Alloheal®. Трансплантацията на биопродукта Alloheal® води до възстановяване на дебелината на роговицата и по този начин стимулира реепителизацията и стабилизирането на епитела. При втората група очи с приложение на класическия метод на трансплантация на АМ се установява нарастване на средната плътност на повърхностния епител на роговицата от  $852,47 \pm 314,342$  cells/mm<sup>2</sup> предоперативно на  $905.93 \pm 314.197$  cells/mm<sup>2</sup> следоперативно. Отчита се изтъняване на АМ на 7-мия следоперативен ден. Резултатите, получени от *in vivo* конфокална микроскопия и AS-OCT показват, че пациентите с клинично значима дезинтеграция на клетките от предната очна повърхност, когато покритието с класическата АМ е недоимъчно, имат най-добро повлияване от приложението на биопродукта Alloheal®. Предвид факта, че биопродуктът Alloheal® е нов и изисква повече време за набирание на достатъчен брой пациенти, считам, че относително малкият брой изследвани очи от двете съпоставяни групи с нищо не омаловажава значимостта на получените резултати.

В *обсъждането* се съпоставят постигнатите резултати с тези от цитираната литература. Направените *изводи* са добре формулирани. От тях като по-значими определям следните:

- Поради специфичните си характеристики Alloheal® е първият патентован биологичен продукт на българския пазар, който не е медицинско изделие;
- Покритието на предната очна повърхност с Alloheal® е безопасен, сравнително евтин и ефикасен метод, който е клинично значим в лечението на тежките нарушения на предната очна повърхност;
- С поглед към бъдещето посредством новите възможности, които дават биопродукти като Alloheal®, изработени чрез тъканно инженерство, се постига ефективна регенерация на роговицата.

*Приносите* могат да бъдат сгруппирани по следния начин - с познавателен, с научно-приложен, с потвърдителен и с оригинален характер. Признавам и отчитам оригиналния авторски принос в разработването на гъвкаво устройство за фиксиране, транспорт, култивиране и хирургично прилагане на биопродукта Alloheal®.

**Авторефератът** е представен на 98 страници. Той отговаря на изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

Д-р Бомерт е представила 4 публикации и 4 научни съобщения, свързани с дисертационния труд. От тях най-значимото е публикувано на английски език през 2018г. в сп. Български офталмологичен преглед:

Bommert, C. (2018). Experimental considerations and clinical applications of the innovative bioproduct Alloheal. Bulgarian Review Of Ophthalmology, 62(3), 9-15.

doi:<http://dx.doi.org/10.14748/bro.v0i3.5547>

В **заклучение** представеният дисертационен труд представлява завършена и добре конструирана научна работа с иновативен характер и авторски оригинален принос. Той напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Република България и Правилника на МУ-Варна за неговото приложение. Това ми дава основание да дам своята **положителна оценка и да предложа на членовете на уважаемото научно жури да гласуват положително за присъждане на д-р Катерина Меглена Бомерт на образователната и научна степен "доктор"**.

17.02.2021г.  
гр. Пловдив

Подпис:   
Проф. Д-р Н.Сивкова, дм, FEBO