

## **РЕЦЕНЗИЯ**

**от проф. д-р Мариета Иванова Костянева, дм,  
Катедра по очни болести, Медицински Университет, Пловдив,**

Относно: дисертационния труд на **Д-р Зарка Иванова Стойчева** на тема **„Очни заболявания с дефицит на лимбални стволови клетки – диагностика, микроструктурен анализ и терапевтичен подход“**, за присъждане на образователна и научна степен **„доктор“** по научна специалност **„Офталмология“**, шифър 03.01.36, с научен ръководител: **Проф. Христина Групчева, д.м.н.** и научен консултант: **Доц. д-р Яна Манолова, д.м.**

### **Биографични данни**

Д-р Зарка Стойчева е родена на 10.02.1988 год. Завършва средно образование през 2007 година в ГПЧЕ „Екзарх Йосиф“, гр. Разград. През периода 2007 – 2013 год. следва медицина в Медицински Университет – Варна. Специализант е към Катедрата по очни болести и зрителни науки, МУ – Варна от 2014год. до 2018 год. Успешно полага държавен изпит за специалност по очни болести през 2018. В периода 2016 год. – 2019 год. е редовен докторант към същата катедра. Понастоящем работи като лекар-специалист в Специализирана Очна болница - Варна. Докторантката владее английски и немски език и има много добра компютърна грамотност.

### **Обща характеристика на дисертационния труд.**

Структурата на представената за защита дисертация е съобразена със съвременните стандарти за изготвяне на подобен труд. Дисертационният труд е написан на 207 страници, включващи 79 фигури и 17 таблици. След

съдържание – 2 стр., Съкращения - 1 стр., Списък на фигурите – 5 стр, Списък на таблиците – 2 стр. и увод – 2 стр., в него са включени следните основни раздела: Литературен обзор – 45стр., Цел и задачи – 1 стр., Методология на дисертационния труд – 14 стр., Резултати – 61 стр., Дискусия – 28 стр., Изводи – 2 стр., Заключение – 2 стр., Приноси – 2 стр., Публикации, свързани с дисертационния труд – 1 стр., Литература – 38 стр.

Библиографията включва 358 източника, от които 8 източника на кирилица и 350 на латиница, голяма част от които са публикувани след 2009г.

#### **Актуалност и значимост на темата на дисертацията**

Различни патологични състояния могат да увредят изключително сензитивната тъкан на лимба (анатомичната зона, представляваща границата между роговица, склера и конюнктива) и да доведат до инсуфициенция на лимбалните стволови клетки. Роговичният епител не е в състояние да поддържа своята цялост. Настъпва инвазия на непрозрачен конюнктивален епител, васкуларизация, при което роговицата губи своята функция и прозрачност. Абнормният роговичен епител е нестабилен и възникват епителни дефекти. В крайните стадии може да се достигне до стромална цикатризация и перфорация. Пациентите имат силно изразени субективни оплаквания от намалено зрение, болка, сълзене, зачервяване, дискомфорт, което оказва негативно влияние върху качеството им на живот.

Представеният от д-р Зарка Стойчева дисертационен труд е посветен на детайлно изучаване и анализ на корнео-склералния лимб в норма и при различни патологични състояния. Навременната диагностика на дефицит на лимбални стволови клетки е важна за определяне на правилния терапевтичен

подход. При ненавременна, неправилна диагностика и терапевтичен подход може да се стигне до трайна загуба на зрителна острота.

**Литературният обзор** е написан интелигентно и компетентно. Обхваща приблизително 25% от дисертационния труд (45 страници ) и показва добро познаване на проблема. В него са описани анатомията и физиологията на лимбалната зона, различните патологични състояния, които могат да доведат до дефицит на лимбални стволови клетки, методите за диагностика и различните терапевтични подходи актуални към момента.

### **Цел и задачи на дисертационния труд**

Основната цел на дисертационния труд е правилно формулирана, а именно да се извърши подробен микроструктурен анализ на състояния, свързани с недостатъчност на лимбални стволови клетки и да се направи оценка на клиничната ефективност от приложените терапевтични подходи.

За целта са поставени 6 задачи, които са ясно мотивирани и формулирани:

1. Да се извърши обзор на публикациите в литературата и оценка на съвременните диагностичните подходи при състояния с дефицит на лимбални стволови клетки и терапевтичен подход.
2. Да се направи оценка на етиологията на заболяванията, характеризиращи се с недостатъчност на лимбални стволови клетки при пациенти, преминали лечение в СБОБАЛ Варна.
3. Да се направи микроструктурен анализ на зоната на лимба при пациенти с дефицит на лимбални стволови клетки с помощта на *in vivo* конфокална микрокопия (Heidelberg Rerina Tomograph II Rostock Cornea Module (HRT II-

RCM) и предно-сегментна оптична кохерентна томография (RTVue-100; Optovue INC).

4. Да се сравнят резултатите от ефективността на проведеното лечение.
5. Да се оцени субективната симптоматика и зрителна функция при пациенти с дефицит на лимбални стволони клетки преди и след проведено лечение.
6. Да се създаде рисков профил на пациентите с дефицит на лимбални стволони клетки.

Проучването, което е проведено в Катедрата по очни болести и зрителни науки на Медицински университет – Варна за период от 2 години, включва общо 109 очи на 104 индивида разделени в две групи. Група I обхваща 64 пациента с дефицит на лимбални стволони клетки, а Група II (норма) обхваща 40 индивида. Определени са включващите и изключващите критерии за участниците във всяка една група.

За нуждите на изследването пациентите са преминали пълен офталмологичен преглед с определяне на зрителна острота, биомикроскопия на предна очна повърхност и оценка на състоянието на структурите ѝ с помощта на предно-сегментна кохерентна томография и *in vivo* конфокална микроскопия. Описани са: карта за оценка на очен лимб в норма и карта за оценка на очни заболявания с дефицит на лимбални стволони клетки. Отразени са терапевтичните подходи при очни заболявания с дефицит на лимбални стволони клетки.

Използвани са значим брой, подходящи статистически методи за обработка и анализ на резултатите – дисперсионен, вариационен, корелационен, регресионен, сравнителен, графичен анализи и др. в статистически пакет SPSS v.20.0 (SPSS, Inc, Ghicago, IL, USA).

## **Резултати.**

Резултатите са представени в 5 части, които следват поставените задачи.

Основните причини за дефицит на лимбални стволови клетки в проведеното изследване са две – 1. очни заболявания, които включват птеригиум, инфекции/кератити, синдром на сухото око, булозна кератопатия и 2. травми.

При изследването на основните причини за дефицит на стволови клетки при пациентите с едноочно и двучно засягане е установено, че най-честата причина за едноочното засягане са травмите, докато при пациентите с двучно засягане се наблюдава синдромът на сухото око и носене на контактни лещи, както и наличието на ятрогенни фактори и очни заболявания. По отношение на половия признак няма съществена разлика между мъжете и жените.

С помощта на *in vivo* конфокална микроскопия и предно-сегментна оптична кохерентна томография е извършена детайлизирана микроструктурна оценка на лимбалната зона.

Повърхностни конюнктивални епителни клетки се наблюдават при пациенти както с тотален дефицит, така и в засегнатата роговична зона при пациенти с частичен дефицит на лимбални стволови клетки. Установява се, че клетките са хиперрефлексивни със светло ядро и неясни граници, а в дълбочина под конюнктивализираните роговични епителни клетки е налице гъста мрежа от хиперрефлексивни линеарни и криволинейни структури – стромален колаген. Характерните за конюнктивалната тъкан чашковидни клетки са наблюдавани по анормалната роговична епителна тъкан.

Направен е сравнителен анализ на дебелината на лимбалния епител в четири квадранта в контролна група и на количествените данни при пациентите с дефицит на ЛСК, получени чрез предно-сегментна оптична

кохерентна томография и *in vivo* конфокална микроскопия. При пациентите от контролната група се наблюдава значително по-голяма дебелина на лимбалния епител, в сравнение с лицата с дефицит на ЛСК. Изчислена е средната плътност на дългите нерви ( на  $\text{mm}^2$ ) и средната плътност на суббазалния нервен плексус (на  $\text{mm}^2$ ).

Тази част от резултатите е най-подробна, информативна и полезна за клиничната практика.

За изследването на субективната симптоматика при пациенти с дефицит (важна част от процеса на лечение, която се свързва с качеството на живот) последните са попълвали въпросници - преди и на 8-ми ден след проведеното лечение. Болка, фотофобия, зачервяване, сълзене са основните фактори от субективната симптоматика. При приблизително една трета от пациентите е проведено консервативно лечение, а при по-голямата част от тях - хирургично лечение, като най-често е използвана трансплантация на амниотична мембрана.

В следващата глава „Дискусия”, която заема 28 страници от дисертационния труд, се прави сравнителен анализ между проучванията на дисертанта и аналогични проучвания в световен мащаб. Въз основа на изчерпателното обсъждане се правят 10 изводи:

1. Очните заболявания с дефицит на лимбални стволови клетки изискват извършването на прецизна диагностика и избор на подходящ терапевтичен подход.

2. В съвременната литература има ограничен брой проучвания изследващи лимбалната зона и използването на нови технологии за извършването на микроструктурен анализ, като липсва алгоритъм за диагностика и лечение

3. При направената оценка на етиологията на заболяванията, характеризиращи се с недостатъчност на лимбални стволови клетки е установено, че с най-голяма честота са пациентите с очните заболявания като птериgium, инфекции/кератити, синдром на сухото око и булозна кератопатия, следвани от състояния след механична или химическа травма, като при тях най-често е засегнато едното око в повечето случаи дясно око.

4. Извършеният микроструктурен анализ на зоната на лимба показва, че резултатите от нашето проучване не се различават съществено от тези на другите автори, като средната плътност на дългите нерви е 10,6 нерва/mm<sup>2</sup>, а средната плътност на суббазалния нервен плексус е 41,4 mm/mm<sup>2</sup>.

5. Не е установена съществена разлика между средния брой на клиновидните базални клетки в централния роговичен епител от гледна точка на възраст и на квадранта при роговичния епител на лимба.

6. При извършения сравнителен анализ на дебелината на епитела между пациентите на възраст под и над 40 години чрез IVCM и AS-OCT, се установява наличието на съществена разлика в средните стойности в отделните зони, като резултатите при пациентите над 40 години са сигнификантно по-ниски.

7. Анализът на проведените терапевтични подходи показва, че малко повече от две трети от пациентите са претърпели хирургична намеса, като най-често прилаганото лечение е трансплантация на амниотична мембрана.

8. Оценката на субективната симптоматика и зрителната функция при пациентите с дефицит на лимбални стволови клетки показва, че в най-голяма степен влияние оказва болката следвана от фотофобията, които след

провеждането на лечението с трансплантация на амниотична мембрана намаляват значително.

9. Основните рискови фактори за тотален дефицит на лимбални стволови клетки са химическите изгаряния и травмите, а рискови фактори за частична загуба са ятрогенните фактори и синдрома на сухото око.

10. Според резултатите от нашето изследване най-често срещаният рисков профил с дефицит на лимбални стволови клетки е млад мъж с намалена зрителна острота на засегнатото око, при който обективната и субективна симптоматика и настъпилите усложнения водят до значително намаляване на зрението и влошаване на качеството на живот.

Описаните приноси изхождат от направените изводи. Във връзка с дисертационния си труд д-р Зарка Стойчева е представила 4 публикации, 2 от които са под печат и в 2 от тях тя е първи автор.

**В заключение,** оценката на представения от д-р З. Стойчева дисертационен труд на тема „**Очни заболявания с дефицит на лимбални стволови клетки – диагностика, микроструктурен анализ и терапевтичен подход**” е положителна, със следните аргументи:

1. актуалност на темата

По-доброто познаване на лимбалните стволови клетки може да помогне не само за разбирането на патогенезата на състоянията свързани с дефицитът им, но може и да подобри диагностиката, лечението и следователно прогнозата на пациентите. Навременната диагноза позволява правилен и своевременен терапевтичен подход. В съвременната медицина с напредващите технологиите и възможностите се полагат все повече усилия за разработване и подобряване на техниките за диагностика на лимбален дефицит на стволови клетки.



2. използване и усвояване на модерни диагностични методи в тази област, като in vivo конфокална микроскопия, предно сегментн кохерентна томография

3. убеденост, че резултатите са изцяло лично дело на дисертантката.

Надявам се, че д-р Зарка Стойчева ще продължи и в бъдеще да се развива като специалист и научен работник.

С настоящата рецензия изразявам мнението си, че трудът отговаря на възприетите изисквания за присъждането на образователна и научна степен „доктор” в Закона за развитие на академичния състав в Република България и препоръчвам на членовете на почитаемото Научно Жури да гласуват положително за присъждане на д-р Зарка Стойчева образователната и научната степен ”ДОКТОР” по офталмология.



Проф. М. Конарева-Костянева

02.06.2019год.