

СТАНОВИЩЕ

От доц. Д-р Калинка Маринова Демирова, д.м. специалист по „Патофизиология“ член на Научно жури, със заповед за Становище № Р-109-635 от 13.11.2018 на Ректора на МУ-Варна

Относно: Защита на дисертационен труд на тема

„Патофизиологични аспекти на активния

тубуло-интерстициален бактериален нефрит по клинично-лабораторни данни“

по процедура за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, докторска програма по „Патофизиология“.

Всички необходими документи за защита на досегашния труд са подготвени прецизно в съответствие с изискванията на процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ и правилника на МУ „Проф. д-р. Параскев Стоянов“-Варна.

Автор д-р Стоянка Танчева Илиева,

асистент към катедра „Обща медицина и Клинична лаборатория“ на факултет по медицина, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ Варна

Научен Ръководител : Доц. Д-р. Радко Радев

Научен Консултант : Проф. Д-р. Ганка Бекярова

КРАТКИ БИОГРАФИЧНИ ДАННИ:

Д-р Стоянка Танчева Илиева е завършила висшето си образование по Хуманна медицина във ВМУ- Варна през 1986год. През периода 1988 до 1990г, работи като асистент в катедрата по патофизиология към ВМИ-Варна, а от 1990, след конкурс, е избрана за редовен асистент към звеното клинична лаборатория на катедрата по Вътрешни блести, което впоследствие се оформя като самостоятелна Ктедра по Клинична лаборатория, я понастоящем Катедра по Обща медицина и Клинична Лаборатория, УНС Клинична лаборатория. През този период д-р Танчева натрупва не

само практически опит и знания по клинична лаборатория, но непрекъснато разширява ползреността на научните си познания чрез придобиване на специалност по: клинична лаборатория (1993), по вътрешни болести (1999), по обща медицина (2002) по психотерапия и психологическо консултиране (2018). Освен това тя завършва магистратура по здравен мениджмънт (2007) и по психология (2017г). Своя практически опит по многостранни научни познания д-р Танчева предава на студентите от факултета по медицина и в Медицински колеж- Варна.

Член е на: Български лекарски съюз, Българското научно дружество по клинична лаборатория и Българското нефрологично дружество.

АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Представеният дисертационен труд разглежда много актуален и значим медицински и социален проблем, а именно проучване на патофизиологичните аспекти на активния тубуло-интерстициален бактериален нефрит по клинично-лабораторни данни, като се акцентира върху възможността за тяхното приложение при ранно и точно диагностициране, проследяване развитието и изхода на заболяването. Тези въпроси имат изключително съвременно значение не само за адекватния подход към пациентите, но и за правилното и компетентно решение при осъществяването на бъбречните трансплантации.

СТРУКТУРА И СЪДЪРЖАНИЕ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Дисертационният труд е представен в 145 стандартни страници. Структурата му е логично построена и включва следните раздели: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материал и методи, резултати и обсъждане, изводи, научни приноси, използвана литература, заглавия на приложените статии свързани с дисертационния труд и заглавия на публикувани резюмета от участие в различни научни форуми.

Трудът е богато онагледен с 21 фигури и 29 таблици. Библиографията включва 487 литературни източника, от които 28 са на кирилица и 459 на латиница.

Във въведението дисертантката конкретно представя основният въпрос, който я насочва към проучване на бактериалните инфекции на бъбреците- това е трудното и относително късно диагностициране на тези заболявания поради оскъдната клинична симптоматика и незначителните оплаквания на болните. Обект на нейните проучвания е тубулоинтерстициалният бактериален нефрит, който според СЗО се изявява като остро или хронично неспецифично възпалително заболяване предимно на интерстициума, на тубулите и/или на легенчето на бъбреците с последващо засягане на кръвоносните съдове и гломерулите, което е резултат от директна бактериална инвазия. Заразяването може да се осъществи както по асцендентен така и по десцендентен път.

Поставя се въпросът за трудностите при посавяне на правилна диагноза, при точното локализиране на инфекциозния процес и мониторинг на неговата активност- въпроси, които са важни с оглед на лечението или на последващите усложнения. Акцентира се на факта, че ТИБН много често не може да бъде разграничен от възпалителните

процеси в другите части на урогениталната система. Ето защо идеята за практическото приложение на надеждните и неагресивни съществуващи клинично-лабораторни изследвания (тестове и методики) и въвеждането на нови биомаркери е изключително актуално. На тези въпроси е посветен дисертационният труд на д-р Танчева.

Литературният обзор е представен като многостранно, детайлно и целенасочено анализиране на литературните данни по отношение на заболяванията на пикочноотделителната система. Прави добро впечатление патофизиологическият подход при интерпретирането на причинно-следствените връзки по отношение етиологията и патогенезата на ТИБН. Детайлно са описани както известните класически патологични механизми за това заболяване, така и съвременните възгледи за работа на цитокините и оксидативните процеси. Подробно са обяснени плюсовете и минусите на редица лабораторни методи за диагноза и прогнозиране на развитието на заболяването. Специално внимание е отделено на бактериурията, левкоцитурията, протенурията. Подчертана е ролята на β -2 микроглобулина като маркер за увреждане на тубулите. Подробно са описани Европейските препоръки за изследване на урина. Посочени са и основните изводи от литературния обзор.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Поставената цел на дисертационния труд е да се изследва диагностичната надеждност и се извърши анализ на някои актуални клинично-лабораторни параметри в процеса на диагнозата и проследяването на ТИБН, като се оценят възможностите за мониториране на неговата активност. За реализиране на тази цел са изведени две основни задачи допълнени с няколко съпътстващи подзадачи, свързани в логическа последователност и обхващащи в пълнота поставения проблем.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Материалът и методите са компетентно подбрани за решаването на поставените задачи. Проведени са изследвания в три работни посоки-

1- Моделиране на остър тубуло-интерстициален нефрит на експериментални животни. 48 мъжки бели плъха чрез интравенозно инжектиране на бактериална суспензия от *St. aureus* и *E. coli*, с цел проучване на биохимични и хистоморфологичните изменения при това заболяване. Опитите са проведени при спазване на всички правила за научни разработки с животни

2- Направено е скринингово изследване на определени показатели при 130 здрави лица с цел установените база данни за дадения район да послужат като реална основа за сравнение на получените резултати от третата работна постановка-

3- Изследвания на 105 болни с клинично доказан а ТИБН.

Подбраните изследователски методи, хематологични, биохимични, цитологични, хистологични и микробиологични, са напълно адекватни на поставената задача. Приложена е и собствена методика, въведена от докторантката. Използван е богат набор

от статистически методи, приложени удачно, съобразно целта на проучването и търсените зависимости.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проучването и тяхното обсъждане са изчерпателно представени, добре онагледени с таблици и фигури и са добре структурирани според поставените задачи.

Първо са коментирани резултатите установени при експерименталната постановка. Доказано е статистическо увеличаване нивото на левкоцитите в кръвта с наличие на токсични грануляции в тях и на количеството на CRP при заразените плъхове. Тези данни говорят за развитие на септично състояние след iv инокулиране на бактериалната суспензия.

Протеинурията е друг основен клиничен маркер на бъбречните заболявания. Установени са различни уропротеини, като е акцентирано върху β -2 микроглобулина – маркер за нарушена тубулна реабсорбция. Установено е силно, статистически значимо повишаване количеството на този протеин- маркер за увреждане на тубулната реабсорбция. Резултатите говорят за тежка тубулопатия.

При уринен седимент, паралелно с бактериурията е наблюдавана и левкоцитурия. При оцветяване с 1% процент разтвор на methylenblau (метод разработен от д-р Танчева) се установяват т.н. активни левкоцити (блестящи клетки, glitter cells).

Хистоморфологичната картина потвърждава лабораторните данни за развитие на активен ТИБН с левкоцитна инфилтрация в интерстициума, дегенеративни промени на тубулните клетки в бъбрека и пиурия.

Във втората група, проучване при здрави лица са представени референтни стойности на някои уропротеини в различни дименсии, спазвайки европейските насоки за уринен анализ. Резултатите дават възможност за достоверно сравняване с резултатите установени при болни лица.

При третата постановка са изследвани уропротеинни маркери- общ протеин, албумин и β -2 микроглобулин и се доказва тяхната диагностична ефективност при болни с активен ТИБН с помощта на статистически анализ и интерпретация на ROC крива.

Патофизиологичният подход при анализиране на резултатите от експерименталното проучване на аТИБН подкрепени от скрининговото изследване на здрави лица и еднопосочните лабораторни данни от болни хора, както и достоверната диагностична ефективност на определени уропротеинни маркери при активен ТИБН с помощта на ROC кривата и откриването на glitter cells в уринен седимент на пациенти и експериментални животни, позволяват на д-р Танчева да направи предложение за алгоритъм при провеждане на клинично-лабораторни изследвания при активен ТИБН (активен пиелонефрит), с точно описана последователност за всяка манипулация, както и схема за осъществяване на този алгоритъм.

Предложеният от докторантката метод за морфологично диференциране на левкоцитите в уринен седимент чрез оцветяване с methylenblau, който тя сравнява с утвърдения от СЗО метод за доказване на витални сперматозоиди с Eosin Yellow, модифициран от нея за левкоцити в уринен седимент, показва много добри резултати, което ѝ дава основание да препоръча този оригинален авторски метод да се използва за представяне изобщо на виталитет на клетки (култури)

ИЗВОДИ И ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Предложените изводи са ясно формулирани в 4 основни групи, като съответстват на поставените изследователски задачи и логически произтичат от получените резултати.

Приносите на този труд могат да се характеризират като значими теоретико-познавателни и такива с подчертан практико-приложен характер.

Приноси с оригинален характер :

Представен е експериментален модел на активен апостематозен ТИБН, реализиран чрез комбинация от нефротропни патогенни бактерии . Администрирани са протеинни маркери: U protein; U albumin; U β -2 M , представени според Европейските изисквания при референтна група здрави лица при наши локални условия. Намерени са гранични стойности на U albumin mg/g Cr и U β -2 M mg/L при активен ТИБН (аТИБН), като е определена площта на ROC - кривата. Представен е наш метод за откриване и доказване на активни левкоцити (glitter cells) в уринен седимент при активен ТИБН, който може да бъде ползван изобщо за доказване виталност на клетки.

Приноси с потвърдителен характер :

Доказана е ползата и надеждността от изследване на уропротеини, като маркери за локализация на процеса при UTIs. Определянето на диагностичната надеждност на U β -2 M потвърждава патогенезата на Атибн. Наличието на glitter cells доказва възпалителния характер на процеса . Разработена е методика, допълваща алгоритъма за поведение при диагностика и терапевтичен мониторинг на пациенти с аТИБН

Във връзка с дисертацията са предложени три пълнотекстови публикации и 14 доклада в различни форуми.

Д-р Танчева е самостоятелен автор на една от трите посочени публикации и първи автор в останалите две и има над 10 доклада по темата изнесени на различни научни форуми, което е доказателство за ангажираността на кандидатката с изследвания проблем и ѝ дава основание да приема, че разработвания дисертационен труд е нейна лична заслуга.

ОЦЕНКА НА АВТОРЕФЕРАТА

Авторефератът е изготвен според изискванията и отразява синтезирано и точно съдържанието, изводите и приносите на дисертационния труд. Добре е онагледен с 21

фигури и 28 таблици. Той дава пълна представа за качествата и достойнствата на дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационния труд е посветен на изключително актуална тема, разработен е прецизно и представя съвременен, интегративен подход в медицинската практика. Дисертацията отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и правилника за развитие на академичния състав на МУ-Варна.

Дисертационният труд показва, че докторантката д-р Танчева, притежава възможност за самостоятелно провеждане на клинично изследване и умения за собствена интерпретация на научна информация.

Поради гореизложеното давам своето положително становище и убедено предлагам на уважаемото Научно жури да гласува положително за присъждане на д-р Стоянка Танчева на образователната и научна степен „Доктор“ в областта на висшето образование 7, здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1 медицина, по научната специалност „Патофизиология“

Изготвил Становището:.....

Доц. Д-р Калинка Демирева, дм

Специалист: патофизиология

Пощенски адрес: гр.Варна, ул. „Иваан Драсов“ 16,

вх А, ет 5, ап. 21

Телефон : GSM – 0 88 836 0 311

Варна – 19.12.2018