

**ДО:**  
**Доц. Мила Георгиева, д-р**  
**Р-л Отдел „Научна дейност и кариерно развитие”**  
**Медицински Университет, Варна**

**Като член на Научно жури, определен със Заповед № Р-109-384/09.11.2017г.**  
**на Ректора на МУ-Варна, ул. Марин Дринов № 55, 9002 Варна**

**Приложено представям РЕЦЕНЗИЯ**

във връзка с процедура за присъждане на ОНС „ДОКТОР” на **Д-р Антония Пламенова Хачмериян**, докторант на самостоятелна подготовка по докторска програма ФИЗИОЛОГИЯ към Катедра Физиология и Патофизиология/УНС по Физиология, Медицински Факултет при МУ-Варна

**Изготвил Рецензията:** Проф. д-р Димитър Николов Терзииванов, дм, дмн  
Научни специалности: Фармакология и Клинична фармакология и терапия  
Медицински Факултет, СУ „Св. Климент Охридски”

**Адрес и контакти:**

Пощенски адрес: Медицински Факултет, УБ „Лозенец”, ул „Козяк” 1, 1407 София  
Електронен адрес: [terziiv@yahoo.com](mailto:terziiv@yahoo.com)  
Телефони: +3592 9607 346; +359898575494

*Рецензията е съставена в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ, Варна.*

# РЕЦЕНЗИЯ

от Проф. д-р Димитър Терзииванов, дм, дмн  
Медицински Факултет, СУ „Св. Климент Охридски”

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен '**доктор**'  
в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика,  
професионално направление: 4.2. Биологични науки, специалност "ФИЗИОЛОГИЯ НА  
ЖИВОТНИТЕ И ЧОВЕКА"

**Автор:** Д-Р АНТОНИЯ ПЛАМЕНОВА ХАЧМЕРИЯН

**Форма на докторантурата:** самостоятелна подготовка

**Катедра:** Катедра по физиология и патофизиология/УНС по Физиология, МФ, МУ,  
Варна

**Тема:** ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДОКАЗАТЕЛСТВА ЗА ХИПОКОАГУЛАБИЛИТЕТ,  
ПОРОДЕН ОТ ТИМУСНИТЕ ПЕПТИДИ ТИМУЛИН, ТИМОЗИН-АЛФА 1 И  
ТИМОЗИН-БЕТА 4

**Научен ръководител:** Проф. д-р Негрин Негрев, дм, дмн

## 1. ОБЩО ПРЕДСТАВЯНЕ НА ПРОЦЕДУРАТА И ДОКТОРАНТА

Представените документи са съставени според изискванията на МЕДИЦИНСКИ  
УНИВЕРСИТЕТ "ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ"- ВАРНА за провеждане на  
защита за присъждане на образователната и научна степен „доктор" и научната степен  
„доктор на науките" и включва следните документи:

- молба до Ректора на МУ-Варна за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд
- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта
- копие от диплома за висше образование
- заповед за зачисляване в докторантура
- заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан изпит за докторантски минимум по специалността
- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на Дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- декларация за оригиналност и достоверност на резултатите и приносите в дисертационния труд, както и на приложените документи
- други документи, свързани с хода на процедурата

## 2. КРАТКИ БИОГРАФИЧНИ ДАННИ ЗА ДОКТОРАНТА

**ПРОФЕСИОНАЛНО РАЗВИТИЕ:** През 2011 д-р Антония Пламенова Хачмериян завършва МУ, Варна, а от 2012 до настоящия момент работи като асистент в Катедра Физиология и Патофизиология, УНС Физиология на МУ, Варна. От 2013 е специализант по

**Физиология на животните и човека.** От 2014г е академичен наставник на 6 студента по Оперативна Програма **Развитие на човешките ресурси.**

Научните интереси и разработки на д-р Хачмериян са фокусирани върху изучаване мястото и ролята на тимуса в хемостазната каскада. Чрез подходящо дизайнирани експерименти върху плъхове тя проследява последователно ефектите на тимусните пептиди тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4 върху хемокоагулацията при експериментални животни. В този контекст виждам нейната докторска работа като успешна екстензия на разработките на изследователската група на проф. д-р Негрин Негрев, дм, дмн, един от несъмнените познавачи на този процес у нас, в експерименталното изучаване и дефиниране на модулаторите (ендогенни и екзогенни) на хемостазата и хемокоагулацията при бозайници.

Владее писмено и говоримо английски и немски езици. Член е на БДФН, EUPS и БЛС.

### **3. АКТУАЛНОСТ НА ТЕМАТИКАТА И ЦЕЛЕСЪОБРАЗНОСТ НА ПОСТАВЕНИТЕ ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ**

При бозайниците тимусът, за разлика от другите жлези с ендокринна и екзокринна функция, не се е категорично „самоопределил“ и е обект на постоянен и нарастващ изследователски интерес въпреки претърпяваната възрастова инволюция. В историческа перспектива изследователските интереси са били насочени към разбиране и идентифициране на неговия имунологичен и невроендокринен потенциал и участие във възпалителни реакции от различно естество. През последните няколко десетилетия, обаче, нараства интереса към участието на тимуса, чрез тимусните пептиди тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4, в процесите на хемостаза и хемокоагулация. Изучаването на факторите участващи във Вирховата триада, екзогенни и ендогенни, е било винаги актуално предвид ключовото значение на коагулационната каскада в реализиране физиологичните функции на кръвообръщението. Въпреки нейното интензивно изучаване вече повече от 160 години, все още малко се знае за сложните взаимодействия на органите, участващи в имуногенезата (в частност тимуса, имунната и невроендокринна системи) с коагулационната каскада. Екстравертирането на тези взаимодействия е от изключителна клинична стойност предвид използването на хормонални и имуномодулиращи лекарствени продукти, които малко или много интерферират с хемостазата.

Проблема се разработва както на експериментално, така и на клинично ниво. Натрупаните данни разкриват зависимост на хемокоагулацията от статуса на тези тимусни пептиди, но дискуссионен остава въпроса дали ефектите на тимусните хормони върху хемостазата са директни или опосредствани от други тимусни функции, предвид участието на тимуса в имунни и невроендокринни *мрежи* от сигнални пътища, с променлива във времето *up-* и *down-* регулация. И, какъвто е случаят и с другите ендогенни активни субстанции при прилагането им като лекарствени продукти, винаги открит за дискусии е въпросът в *какви дози* и *кога* да се прилагат в експериментални и клинични ситуации, за да миметират *ad maximum* физиологичния фон на ефектите си. Още повече, че тимусните пептиди показват циркаден секреторен ритъм (*Mcgillis, JP. et al. Circadian rhythm of thymosin-a1 in normal thymectomized mice. J Immunol. 1983;131:148-151*). Клинико-епидемиологичните данни за денонощна цикличност на някои кардиоваскуларни нарушения, свързани с процеса на тромбообразуване са стигматични, но не разкриват възможните механизми, чрез които би могла да се обясни тази, емпирично наблюдавана, циркадна ритмичност в триадата на *Virchow*.

В този контекст дисертационният труд на д-р Хачмериян предоставя нови данни върху ролята на тимусните пептиди в процеса на кръвосъсирване, по-специално техните ефекти

върху някои интегрални и ранни биомаркери на хемокоагулацията и върху пусковите механизми на хемокоагулационната каскада по вътрешната и външна системи. Проблемът е много актуален предвид неговото приоритетно значение за теоретичната и клинична медицина.

Задачите, дефинирани от докторанта, са представени в йерархична последователност и се приближават *ad maximum* до естествената динамика на този многостъпален физиологичен процес, каквато е хемостазната каскада. Специално бих желал да отбележа точната и експресивна формулировка на целта и 3-те задачи за нейното охарактеризиране, което говори за задълбочено познаване на проблема от докторанта.

Това ми дава основание да твърдя, че проблематиката, избрана за дисертационен труд, е с висок научно-медицински приоритет и научният ръководител на Дисертацията проф. д-р Негрин Негрев, дм, дмн е подходил евристично към проблема, насочвайки докторанта д-р Антония Хачмериян да използва високо информативни фармако-физиологични методи и подходи при охарактеризиране мястото и ролята на тимуса като тригер в този процес.

#### 4. ПОЗНАВАНЕ НА ПРОБЛЕМА

Критичният прочит на литературния обзор на Дисертацията недвусмислено показва, че д-р Хачмериян познава проблема в дълбочина и приоритетно подрежда известната в литературата информация. Много аналитично тя използва сравнителния подход за да опише и контрастира различните функции на тимусните пептиди тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4, чрез които тимусът участва в имунологични и невроендокринни процеси, както и в повлияване на системите на хемостаза и хемокоагулация. Детайлно са описани физиологичните, фармакологични и терапевтични качества на тимусните хормони, обект на дисертацията. Високо оценявам *компетентното селектиране* на обемната информация и представянето ѝ в контекста на извършената експериментална работа.

Много скрупулъзно д-р Хачмериян описва взаимоотношенията *имунна система и хемокоагулация*, от една страна, и *ендокринна система и хемокоагулация*, от друга, за да потърси и по възможност дефинира в изследователската си работа, мястото и ролята на тимусните пептиди на интерфейса между тези две системи.

Определено внимание заслужава факта, че при представяне на литературния обзор докторантът непрекъснато търси клиничната релевантност и потвърждение на наблюдаваните и публикувани експериментални данни за тимусните пептиди, за да открие и маркира противоречивостта на тези данни. Този методичен подход заслужава висока оценка, според мен, защото разкрива сериозно и задълбочено, от страна на докторанта, познаване на проблемите свързани с екстраполиране на данни от животни върху хора, за което, разбира се, заслугата е на нейния научен ръководител и Катедрата, в която е изработена дисертацията.

Следвайки възприетата логика за „*каузалност*”, д-р Хачмериян завършва литературния обзор с 4 задълбочени изводи, които съвсем естествено обосновават логиката на поставената цел и резултиращите експериментални задачи на дисертацията.

Специално се спирам на факта, че е намерен добър баланс между обемите на ‘Литературния Обзор’ и ‘Обсъждането’, съответно, съотнесени към обема на ‘Резултати’ в полза на ‘Резултати’.

Всичко това ми дава основание да твърдя, че докторантът познава задълбочено разработвания в Дисертацията проблем и под вещото методично ръководство на авторитетния си научен ръководител, подхожда аналитично и задълбочено към неговото разрешаване.

## 5. МЕТОДИКА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Експерименталното проучване е проведено съгласно Добрата Експериментална Практика и европейското виждане за работа с експериментални животни. Заслужава специално да се отбележи прецизността при провеждане на експериментите, съобразени с изискванията на Добрата хронобиологична практика, за да се минимизират хронобиологичните вариации на ендокринума и хемокоагулацията върху достоверността на получаваните резултати. Във връзка с това са били взети в съображение сезонното разпределение на цикъла светло/тъмно и експериментите са провеждани само през периода на пролетното равноденствие. За разлика от повечето експериментални изследвания с животни, при които традиционно се използват дози, превишаващи многократно ендогенната 24-часова продукция, докторантът е прилагал трите тимусни пептиди в ниски фармакологични дози определени въз основа на литературни данни и в предварително експериментално проучване, което заслужава специално отбелязване, както и удачно избрания път на въвеждане. Държа да отбележа тридневното приложение на всеки от 3 тимусни пептиди, което дава висока степен на сигурност за достигане на стационарни нива на тези пептиди. Този момент е особено значим от *фармакокинетична гледна точка*, защото предоставя възможност да се предполага с висока степен на вероятност, че регистрираните *фармакодинамични ефекти* на инжектираните тимусни пептиди са наблюдавани в състояние, ако не на *steady-state*, то поне на *quasi steady-state*. Това предположение ми дава основание да приема, че *установените ефекти на тези пептиди върху хемокоагулационната каскада са високо достоверни*.

Дизайна на отделните експерименти е високо информативен и предоставя възможност за получаване на релевантни и адекватни на поставените цели и задачи отговори. За да осигури сравнимост на получените резултати, докторантът е използвал в дизайна на различните експерименти както контролни групи животни, третирани с физиологичен разтвор, така и активни контроли, претретирани с тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4.

Изследвани са 2 интегрални показатели на хемостазата и 10 показатели на хемокоагулацията, чиято активност е била оценена чрез кинетични и ELISA методи, между които: 1. Интегрални показатели на хемостазата (**aPTT** и **PT**); 2. Ранни маркери на хемокоагулацията (**Fibrinopeptide A** и **Prothrombin fragment 1+2**); 3. Основни плазмени фактори на интринзич и екстринзич системите. Аналитичните методи за количественото им определяне са съвременни и валидирани. За високата професионална компетентност и взискателност на докторанта говори фактът, че след приключване на всеки експеримент животните са били аутопсирани и таргетни, за кръвоизливи, органи са били изследвани макро- и микроскопски за микрохеморагии и ДИК синдром (дисеминирана интраваскуларна коагулация).

Държа да подчертая добрата и компетентна експериментална подготовка на докторанта.

Използваният статистически апарат за количествени сравнения и оценки е адекватен.

## 6. ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД И ПРИНОСИТЕ

Представените резултати и техният анализ следват логиката на поставената в дисертационния труд цел – *да се проучат ефектите на тимусните пептиди тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4, върху коагулацията у плъхове*. Поставените три основни

експериментални задачи на проучването са адекватно решени, като специално искам да отбележа прецизността и вещината, с която те са реализирани.

Експерименталните резултати са много прегледно и пестеливо представени в таблици и фигури, които говорят „сами за себе си”. Подчертавам тази характеристика на Дисертацията, тъй като я намирам за много значима поне по две причини: **1.** Означава, че дисертантът, с помощта на своя научен ръководител, е добре осмислил получените резултати; и **2.** Рецензентът, без да се запознава с придружаващия текст, може сам да направи своите изводи и заключения. Много добра е била идеята в гл. **5. ЗАКЛЮЧИТЕЛНО ОБСЪЖДАНЕ**, фигури №№ 18 и 19 да бъдат цветни и да представят обобщените изводи и установените нови факти за ролята на трите тимусни пептиди върху плазмените фактори на коагулационната каскада по интринзич и екстринзич системата (Фиг. 18) и върху плазмените фактори на коагулационната каскада по интринзич и екстринзич системата, **протромбиновото време- PT и активираното парциално тромбoplastиново време- aPTT (Фиг. 19)**

Според мен използвания от д-р Антония Хачмериян подход „стъпка по стъпка” се е оказал удачен, тъй като получаваната информация се усложнява и задълбочава постепенно и се използва йерархично.

СИЛНИТЕ СТРАНИ на дисертационния труд, подредени каузално, според мен, се свеждат до:

1. Установеното значимо *намаляване* концентрациите на **FP A** и **PF 1+2** под влияние на инжектираните тимусни пептиди правилно се приема за резултиращ ефект от инхибираната хемокоагулация на по-ранните й нива.
2. Установеното значимо *удължаване* на **aPTT** и **PT** след тридневно приложение на тимусните пептиди тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4 на мъжки плъхове Wistar, което дисертантът основателно интерпретира като тенденция към хипокоагулABILИТЕТ.
3. Установеното значимо *инхибиране* от тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4 на пусковия механизъм на хемокоагулацията по външната система и идентифицирането на фармакодинамичния таргет на този ефект – индуцираната от тях редуцирана плазмена концентрация на **TF** и активността на **FVII** - спрегнато със значимо повишени концентрация и активност на **TFPI**.
4. Установената значимо *намалена* активност на плазмени фактори **XII, XI, IX** и **X** като фармакодинамичен ефект от потискащото действие на тимулин, тимозин-алфа 1 и тимозин-бета 4 върху хемокоагулационната каскада по вътрешната система.

Някои технически пропуски - напр. цитираните на стр. 27 от Автореферата автори *Molinero, Soutto et al. 2000* не са посочени в раздел VIII. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА – никак не променят високото качество на дисертационния труд.

Приемам научните приноси като логично последствие от компетентното решаване на поставената цел и задачи в дисертационния труд. Колективно взети, приносите дават основание за сериозна и професионална дискусия на необходимостта от прецизен лабораторен

контрол на хемостазата при пациенти, използващи тимусните пептиди като терапевтична опция, в дози много по-високи от експерименталните.

Интензивното разработване на този проблем може да допринесе за по-сигурното обезопасяване на тези лекарствени продукти, приемани и *от болни на антикоагулантна терапия*.

Колективно взети, данните от Дисертацията обогатяват нашето виждане за изключително сложните и мрежови взаимоотношения между тимусергичната сигнализация и триадата на *Virchow*.

## **7. ПРЕЦЕНКА НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И ЛИЧНИЯ ПРИНОС НА ДОКТОРАНТА**

Имал съм привилегията да рецензирам някои от публикациите на д-р Антония Хачмериян и познавам и ценя нейния задълбочен и аналитичен подход при представяне и обсъждане на получените експериментални резултати.

Във връзка с Дисертацията докторантът е приложил **3 (три)** рецензирани публикации, от които **1 (една)** в списание с импакт фактор.

Посочената научна активност се основава директно на разработки от дисертационния труд. Във 1(която е с импакт-фактор) /3 публикации д-р Антония Хачмериян е първи автор, което показва нейната водеща роля в съответната разработка. Това ми дава основание да приема, че разработения дисертационен труд е нейна лична заслуга.

Докторантът посочва **466** литературни източника, като обикновено документира цитираните факти с по един-два литературни източника, което означава *много висока селективност* в познаването на тази трудна материя, каквато е хемостазата и нейната регулация в норма и патология. Това много улеснява четеното и концентрира вниманието върху значимите проблеми, разработени в Дисертацията.

Подреждането и представянето на материалите по Дисертацията е направено с висока култура и естетичност.

## **8. АВТОРЕФЕРАТ**

Автореферата е написан прецизно и много аналитично и синтетично представя резултатите, описани в Дисертацията. Структуриран е много подходящо, като към резултатите от разработването на всяка отделна задача има подходяща и задълбочена дискусия, интегрираща получената информация. Финалното заключително обсъждане максимално експресивно обобщава получените резултати. Накратко, Автореферата предоставя пълна представа за несъмнените качества и достойнства на този дисертационен труд.

## **9. СЪОБРАЖЕНИЯ И ПРЕПОРЪКИ**

Във връзка с представения дисертационен труд изказвам следните съображения:

1. Добре щеше да бъде д-р Хачмериян по-детайлно да опише *как са оценени величините на прилаганите дози* тимусни пептиди.
2. Логиката на дизайна на Дисертацията, според мен, предизвиква въпроса: *С какви мотиви и доводи не е тестван ефекта на някой от обичайно използваните в*

*терапевтичната практика директни инхибитори на фактор Ха? Още повече че, и на двете цветни фигури №№ 18 и 19, експлицитно е посочено негативното (инхибиторно) действие на трите тимусни пептиди върху активирания фактор Ха.*

3. Дизайнирането на опитна постановка с последователно прилагане на *директен инхибитор на активирания фактор Ха* и всеки един от 3-те тимусни пептиди щеше да предостави *косвена* информация за отговор на въпроса, който този дисертационен труд отваря – *дали тези тимусни хормони блокират активирането на фактор Х или блокират самия активиран фактор Ха.*

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

*ЕДНОЗНАЧНО ДАВАМ ПОЛОЖИТЕЛНА ОЦЕНКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД, КАТО ПОДКРЕПЯМ ПРИДОБИВАНЕТО НА ОНС „ДОКТОР” ОТ Д-Р АНТОНИЯ ПЛАМЕНОВА ХАЧМЕРИЯН. Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ, Варна. Представените материали и резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания, приети във връзка с Правилника на МУ, Варна за приложение на ЗРАСРБ.*

Дисертационният труд ясно показва, че докторантът Д-Р АНТОНИЯ ПЛАМЕНОВА ХАЧМЕРИЯН **притежава** задълбочени теоретични познания и професионални умения по научната специалност ФИЗИОЛОГИЯ НА ЖИВОТНИТЕ И ЧОВЕКА, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на задълбочени и високо информативни научни проучвания и тяхното адекватно представяне и интерпретиране.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото НАУЧНО ЖУРИ да присъди образователната и научна степен ‘ДОКТОР’** на Д-Р АНТОНИЯ ПЛАМЕНОВА ХАЧМЕРИЯН в докторска програма по ФИЗИОЛОГИЯ НА ЖИВОТНИТЕ И ЧОВЕКА.

София, Декември 2017 г.

**РЕЦЕНЗЕНТ:**

(ПРОФ. Д-Р ДИМИТЪР ТЕРЗИИВАНОВ, ДМ, ДМН)